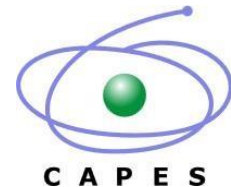




UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**ANÁLISE DOS COMPOSTOS DA GLÂNDULA TIBIAL DE MACHOS EUGLOSSINI  
(HYMENOPTERA: APIDAE) EM REMANESCENTES DE MATA ATLÂNTICA DE  
DIFERENTES GRAUS DE CONSERVAÇÃO**

Projeto de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, como um dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Silvia Helena Sofia

Discente: Giovanna Gabriely Cesar

Londrina

2023

## RESUMO

A tribo Euglossini constitui um grupo de abelhas neotropicais, conhecidas popularmente como “abelhas das orquídeas”, que reúne cerca de 250 espécies. Os machos apresentam modificações morfológicas associadas à coleta de substâncias químicas, que são armazenadas no terceiro par de pernas. Tais substâncias são usadas para compor buquês de perfumes, os quais são utilizados no acasalamento. Apesar da alta capacidade de voo, áreas desmatadas podem atuar como barreiras para algumas espécies desse grupo. Entretanto, pouco se sabe sobre possíveis efeitos dessa limitação ao deslocamento sobre a coleta de fragrâncias. Assim, o objetivo primário do estudo é analisar o conjunto de fragrâncias presentes nas tíbias posteriores de machos de algumas espécies Euglossini, amostradas em ambientes com diferentes graus de perturbação antrópica (áreas urbanas, fragmentos florestais e mata primária bem preservada), na região norte do Paraná. Os machos serão atraídos com iscas odoríferas, coletados, e as substâncias das tíbias posteriores serão analisadas com um sistema de cromatografia em fase gasosa acoplado à espectrometria de massa (GC-MS). Também, serão feitas medidas de desgaste alar e tamanho do corpo, como indicativos de idade e condicionamento físico. Espera-se obter o perfil químico dos buquês dos machos amostrados e informações a respeito das condições físicas destes, podendo estabelecer correlações entre os buquês e o estado dos fragmentos florestais e, adicionalmente, os aspectos físicos. Tais resultados contribuirão para a ampliação do conhecimento a respeito deste grupo importante de abelhas e dos efeitos da fragmentação de habitats no comportamento destas.

**Palavras-chave:** fragrâncias; iscas-odoríferas; cromatografia gasosa; fragmentação da Mata Atlântica; floresta tropical

## INTRODUÇÃO

A tribo Euglossini compreende o grupo de abelhas conhecidas popularmente como “abelhas das orquídeas”, devido ao comportamento característico de coleta de fragrâncias em diferentes fontes, principalmente em flores, das quais se destacam as orquídeas (DRESSLER, 1982). Este grupo pertence à família Apidae (DRESSLER, 1982; CAMERON, 2004) e inclui cerca de 250 espécies (MOURE & MELO, 2022), distribuídas em cinco gêneros distintos: *Eufriesea*, *Euglossa*, *Eulaema*, *Exaerete* e *Aglae* (CAMERON, 2004; ROUBIK & HANSON, 2004).

As abelhas Euglossini têm distribuição geográfica praticamente restrita à Região Neotropical (ROUBIK & HANSON, 2004), com algumas poucas espécies podendo estar presentes na região sul dos Estados Unidos (SILVEIRA, MELO & ALMEIDA, 2002). No Brasil, essas abelhas se fazem presentes ao longo de todo o território, incluindo, assim, todos os biomas (SILVEIRA, MELO & ALMEIDA, 2002). Estes insetos possuem, como principais características morfológicas, integumento com coloração metálica, língua bastante longa, alta capacidade de voo e pernas modificadas nos machos (JANZEN, 1971; DRESSLER, 1982; MICHENER, 2007).

As abelhas Euglossini, por sua forte relação com as orquídeas, possuem alta relevância na polinização das espécies deste grupo, sendo, muitas vezes, seus únicos polinizadores (DRESSLER, 1968; DODSON *et al.*, 1969; RAMÍREZ, 2009). Também, principalmente devido à alta capacidade de voo, são muito importantes na polinização de diversas espécies de angiospermas, incluindo espécies de distribuição mais esparsa (DRESSLER, 1968; ACKERMAN, 1983; ROUBIK & HANSON, 2004; MITKO *et al.*, 2016). Assim, é ressaltado o papel fundamental destes polinizadores na preservação e manutenção das florestas da Mata Atlântica.

Os machos Euglossini possuem as túbias posteriores morfológicamente expandidas, contendo uma fenda, que dá acesso a um tecido esponjoso (“glandular”), no qual armazenam substâncias químicas extraídas de diferentes fontes (DRESSLER, 1982; CAMERON, 2004). O conjunto destas substâncias compõe o chamado “buquê de fragrâncias”. Até recentemente, faltavam observações e estudos que permitissem comprovar, definitivamente, o papel exato de tais

fragrâncias (POKORNY *et al.*, 2017). Contudo, um estudo publicado recentemente demonstrou que os perfumes adquiridos por machos da espécie *Euglossa dilemma* Bembe & Eltz, 2011 estimularam as fêmeas para o acasalamento, sugerindo que a seleção sexual é a chave moldando a evolução da comunicação por perfumes nas abelhas das orquídeas (HENSKE *et al.*, 2023).

Diante disso, buquês de perfumes poderiam ser indicadores de aptidão e, conseqüentemente, ligados à seleção para o acasalamento. Caracteres morfológicos também podem indicar isso. O desgaste alar, que demonstra capacidade ou tempo investido em voo e idade (REBÊLO & GARÓFALO, 1991; MUELLER & WOLF-MUELLER, 1993), já foi associado à habilidade de sobrevivência e relacionado positivamente com complexidade e volume dos buquês de fragrâncias (ELTZ *et al.*, 1999; ELTZ *et al.*, 2015). O tamanho do corpo, em diferentes grupos de abelhas, também pode ser um indicador de desempenho (ALCOCK, 1996).

Há evidências de que os machos Euglossini sejam capazes de habitar áreas urbanas ou perturbadas (NEMÉSIO, 2007; LÓPEZ-URIBE *et al.*, 2008; FERRONATO *et al.*, 2017) e de voar por quilômetros entre fragmentos florestais, transpondo matrizes (RAW, 1989; TONHASCA *et al.*, 2003; POKORNY *et al.*, 2015). Por outro lado, para algumas espécies, há indícios de sensibilidade ao desmatamento (POWELL & POWELL, 1987; SOFIA & SUZUKI, 2004; GIANGARELLI *et al.*, 2009) e dependência de ambientes florestais (NEMÉSIO, 2010, 2011; NEMÉSIO *et al.*, 2016). Assim, áreas desmatadas podem atuar como barreiras e restringir a dispersão de algumas espécies (POWELL & POWELL, 1987; MILET-PINHEIRO & SCHLINDWEIN, 2005; ROSA *et al.*, 2015). Como diversas espécies vegetais dependem destas abelhas para a sua polinização, o declínio e/ou limitação de dispersão destas pode afetar negativamente a reprodução de tais espécies de plantas (DRESSLER, 1982; POWELL & POWELL, 1987).

Atualmente, a Mata Atlântica encontra-se altamente fragmentada, restando apenas cerca de 12,4% de sua cobertura vegetal bem preservada (SOS MATA ATLÂNTICA & INPE, 2019). Além disso, a maior parte dos fragmentos existentes são pequenos (RIBEIRO *et al.*, 2009). No norte do Paraná, a redução da Mata Atlântica se deu de forma muito rápida e intensa, principalmente devido

à expansão agrícola e urbana (TOREZAN, 2002), sendo que o estado ainda tem um dos maiores índices de desmatamento (SOS MATA ATLÂNTICA, [s.d.]). Neste bioma, ocorrem cerca de 50 espécies de Euglossini, metade destas endêmicas (NEMÉSIO, 2009).

Diante das informações e do cenário de fragmentação da Mata Atlântica, estudos que foquem na relação entre os efeitos da fragmentação e o comportamento de coleta de fragrâncias pelos machos Euglossini são de grande relevância e ainda escassos. Deste modo, o presente estudo se propõe a investigar, na região norte do Paraná, se machos de espécies de Euglossini, coletados em ambientes mais e menos perturbados, apresentam buquês de fragrâncias distintos, relacionando isso com a condição ambiental dos fragmentos e, também, com aspectos morfológicos individuais.

## OBJETIVOS

### Geral

Este estudo tem como objetivo geral analisar e comparar o conjunto de compostos químicos presentes nos buquês de fragrâncias de machos Euglossini de duas espécies (provavelmente, *Eufriesea violacea* (Blanchard, 1840) e *Euglossa pleosticta* Dressler, 1982), amostrados em ambientes com diferentes graus de perturbação antrópica, a fim de verificar a possível variação desses conjuntos, conforme a condição do ambiente.

### Específicos

- I) Analisar a composição química dos buquês dos machos de duas espécies de Euglossini presentes em diferentes remanescentes florestais e áreas urbanas;
- II) Comparar, de forma intraespecífica, os conjuntos de compostos químicos de machos pertencentes a diferentes áreas, com diferentes graus de perturbação;
- III) Avaliar a similaridade entre os conjuntos químicos das espécies amostradas;
- IV) Testar a possível correlação entre caracteres físicos (desgaste alar e tamanho corporal) e buquês de fragrâncias (volume e complexidade) dos machos.

### Hipóteses

- I) Na mesma espécie, machos coletados em ambientes mais preservados apresentarão um conjunto mais complexo de substâncias químicas armazenadas do que machos de ambientes urbanos e reservas florestais em propriedades particulares.
- II) Machos de espécies diferentes apresentarão composições distintas nos seus buquês.
- III) Haverá variação proporcional entre desgaste alar, tamanho corporal e volume/complexidade dos buquês de fragrâncias, dentro de cada espécie.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de estudo

Este projeto será realizado prioritariamente em áreas inseridas no projeto de Pesquisa Ecológica de Longa Duração – Mata Atlântica no norte do Paraná (PELD-MANP), que avalia fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual e sítios de reflorestamento, no norte do Paraná. As amostragens ocorrerão em seis fragmentos remanescentes de Floresta Estacional Semidecidual (TOREZAN, 2002). Destes, três serão remanescentes localizados em áreas rurais e três em perímetro urbano. As áreas urbanas serão: um fundo de vale (provavelmente margem do Córrego Água Fresca, afluente do Ribeirão Cambé, região central de Londrina, PR (BARROS, 2010)), o Parque Municipal Arthur Thomas (23°15' - 23°30'S, 51°15' - 51°00'O), último remanescente florestal de grande porte na área urbana da cidade, com área total de 85,47 ha, região sul de Londrina, PR (PREFEITURA DE LONDRINA, 2022) e mais uma área a ser definida.

Dos remanescentes florestais em áreas rurais, um será o Parque Estadual Mata dos Godoy (23°27'S, 51°15'O), remanescente florestal mais bem preservado no norte do Paraná, com cerca de 680 ha de floresta dentro do Parque, em conexão com área de 1600 ha no entorno, totalizando cerca de 2280 ha (IAT-PR; SOFIA, SANTOS & DA SILVA, 2004; SOFIA & SUZUKI, 2004). Outros dois remanescentes menores, reservas legais em áreas privadas, irão constituir as demais áreas, sendo que estas ainda serão definidas. As principais possibilidades são: Fazenda Bule (23°24'19"S,

51° 19' 31''O), Fazenda Congonhas (22°59'52''S, 50°56'30''O) ou RPPN Fazenda Alvorada (22°49'04''S, 51°11'25''O) (SÍTIO PELD MATA ATLÂNTICA DO NORTE DO PARANÁ, [s.d.]).

## Obtenção dos dados

### *Coleta e identificação de indivíduos*

Serão avaliadas no estudo as espécies *Eufriesea violacea* e *Euglossa pleosticta*, sendo estas escolhidas devido à presença já conhecida na região (SOFIA, SANTOS & DA SILVA, 2004). Para cada espécie, 6 a 8 indivíduos serão coletados e analisados. As amostragens ocorrerão no período de outubro de 2023 a março de 2024 e serão baseadas em Giangarelli *et al.* (2015), Ferronato *et al.* (2017) e Pokorny *et al.* (2013), com algumas modificações.

Os machos serão atraídos a oito fragrâncias (eucalipitol, eugenol, vanilina, beta-ionona, acetato de benzila, benzoato de benzila, salicilato de metila e cinamato de metila), aplicadas em iscas odoríferas (FERRONATO *et al.*, 2017). As iscas ficarão dispostas na borda dos fragmentos, dentro de infusores de metal para chá, a fim de evitar o contato direto das abelhas com as fragrâncias e consequente interferência nas análises (POKORNY *et al.*, 2013; SANTOS, 2015). Cada isca ficará suspensa à sombra, a 1,5 metros do solo, espaçadas entre si por 2 a 3 metros.

Os machos atraídos serão coletados com rede entomológica e armazenados vivos em frascos individuais, com etiqueta contendo local, data, horário e fragrância visitada. No laboratório, os espécimes serão anestesiados em gelo e identificados. Em seguida, serão eutanasiados em *freezer* – 20° C e terão suas tíbias posteriores retiradas do corpo e mergulhadas em um frasco contendo 500 µL de hexano ultrapuro por 2 minutos. O restante do material coletado será armazenado em *freezer* – 20° C, seguindo metodologia descrita por Pokorny *et al.* (2013) e Santos (2015).

### *Extração e análise de fragrâncias*

O solvente será transferido para outro frasco, com auxílio de micropipeta e ficará armazenado em *freezer* – 20° C, até o momento das análises químicas. Posteriormente, as amostras serão analisadas em um sistema de cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (GC-MS), marca SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010SE, no Laboratório Multiusuário de

Análise de Materiais de Moléculas (LAMM) da Universidade Estadual de Londrina. O protocolo a ser utilizado deve também seguir Santos (2015), com algumas modificações. As análises serão realizadas com base em protocolos de estudos anteriores, com protocolos de temperatura variando de 60°C a 300°C, já descritos para machos de *Euglossini*, com elevação 5°C/min e manutenção constante desta por 15 minutos no final na análise.

### *Medidas morfométricas*

Serão removidas as asas dianteiras de cada indivíduo, com a finalidade de montagem de lâminas com ambas as asas, facilitando a visualização do desgaste alar. Estas lâminas serão fotografadas e, com as fotografias, será possível calcular o percentual de desgaste alar a partir da medida da área total e da área ausente de cada asa. Para isso, será utilizado o programa de computador ImageJ® (RASBAND, 1997–2014). Para estimar o tamanho corporal, será obtida a medida do tamanho da cabeça, que será removida e fotografada para facilitar a medição. Adicionalmente, o tórax (largura intertegular) também será medido através de fotografias.

### **Análise dos Dados**

Serão registrados os tempos de retenção e das áreas de picos gerados para os diferentes compostos químicos (cromatogramas), referentes aos perfis químicos de cada espécie e nas diferentes áreas. As quantias individuais de fragrâncias serão calculadas pela soma das áreas presentes em todas as amostras. Deste modo, será possível comparar as quantidades individuais de fragrâncias intra e interespecificamente nas diferentes áreas de estudo (ELTZ *et al.*, 1999). Adicionalmente, para as análises comparativas de (dis)similaridade, todos os cromatogramas gerados serão analisados qualitativamente com base na presença e ausência das substâncias químicas, usando o índice de Bray-Curtis (POKORNY *et al.*, 2013). Para avaliar a existência de correlações entre as medidas morfométricas e os buquês, serão utilizados o ranque de coeficiente de correlação de Spearman ( $r_s$ ) e o teste de correlação de Pearson (LUDWIG & REYNOLDS, 1988; ZAR, 1996). Para as análises comparativas e estatísticas deverão ser utilizados os programas PAST



(HAMMER *et al.*, 2001) e R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2020). Análises de frequência de ocorrência e dominância também serão utilizadas para identificar a presença dos machos de Euglossini nas diferentes iscas-odores.

## RESULTADOS ESPERADOS

Ao obter o perfil químico do conjunto de fragrâncias (buquê) das espécies escolhidas, em diferentes remanescentes florestais rurais e urbanos, espera-se que este trabalho forneça informações acerca: i) do modo como os machos das espécies estudadas estão conseguindo explorar os diferentes ambientes para coletar fragrâncias químicas; ii) dos possíveis efeitos de uma paisagem fragmentada na obtenção de recursos essenciais para um comportamento ligado ao acasalamento neste grupo de abelhas; iii) da relação entre os buquês de fragrâncias dos machos Euglossini e algumas características físicas.

## CRONOGRAMA

Atividade / trimestre	ano 1				ano 2			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Cumprimento dos créditos em disciplinas	X	X	X	X	X			
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboração e entrega do projeto	X	X						
Instalação do projeto			X					
Coleta de dados			X	X	X	X	X	X
Análise dos dados			X	X	X	X	X	X
Redação de relatório				X				
Redação da dissertação				X	X	X	X	X
Qualificação						X		
Defesa								X
Entrega da dissertação								X
Submissão do artigo								X

## ORÇAMENTO

<b>Despesas</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Valor por unidade (R\$)</b>	<b>Valor Total (R\$)</b>
Fragrâncias químicas	40	30,00	1200,00
Rede entomológica	2	70,00	140,00
Alfinetes entomológicos	100 / 1 caixa	50,00	50,00
Naftalina pct 30 g	5 pacotes 30g	2,00	10,00
Hexano - suitable for HPLC, ≥97.0% (GC)	2,5 L	726,00	726,00
Frascos (vials) - VIAL EM BOROS.(N9)CAP. 2ML, CX C/ 100UN	3 cx	102,00	306,00
Ponteiras (plasticas) - 1000 uL - pct com 1000	1 pct	70,00	70,00
Microseringa para Cromatografia Gasosa Modelo 725N Agulha Fixa Capacidade 250 µL - Hamilton	1 un	433,00	433,00
TAMPA DE ROSCA COR AZUL C/ SEPTO DE SILICONE/TEFLON, CX C/ 100UN	3 pct	122,00	366,00
Microtubos plásticos armazenamento - 2 ML - pct com 500	2 pct	175,00	350,00
Gás Hélio - Descrição do produto: Hélio 5.0 Analítico Cil T - Quantidade: 8,5 m <sup>3</sup>	8,5 (m <sup>3</sup> )	155,00	1317,50
Infusor de Inox para chá	20 un	11,90	238,00
Materiais diversos para laboratório (papel de filtro, algodão, papel toalha, papel sulfite, tinta impressora)	30	30,00	900,00
Combustível coletas	125 L	6,00	750,00
Alimentação	20,00	35,00	700,00
<b>Total de Gastos</b>			<b>7556,50</b>

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN, J. D. 1983. Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 20, n. 3, p. 301-314.
- ALCOCK, J. 1996. The relation between male body size, fighting, and mating success in Dawson's burrowing bee, *Amegilla dawsoni* (Apidae, Apinae, Anthophorini). **Journal of Zoology**, v. 239, n. 4, p. 663-674.
- ÁREAS DE ESTUDO DO PELD MANP. Sítio PELD Mata Atlântica do Norte do Paraná, [s.d.]. [https://www.uel.br/projetos/labre/peld/areas\\_peld\\_manp.htm](https://www.uel.br/projetos/labre/peld/areas_peld_manp.htm) (acesso em março de 2023)
- ATLÂNTICA, SOS Mata. SOS Mata Atlântica, [s.d.]. <https://www.sosma.org.br/causas/mata-atlantica/> (acesso em abril de 2023)
- BARROS, R. H. 2010. Análise Socioambiental do Córrego Água Fresca em Londrina. In: PARANÁ, Secretaria de Estado da Educação. Superintendência de Educação. **O professor PDE e os desafios da escola pública paranaense**. Curitiba: SEED/PR., 2014. V.1. (Cadernos PDE). [www.gestaoescolar.diaadia.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=20](http://www.gestaoescolar.diaadia.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=20) (acesso em março de 2023)
- CAMERON, S. A. 2004. Phylogeny and biology of Neotropical orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Entomology** 49:377-404.
- DRESSLER, R. L. 1968. Pollination by euglossine bees. **Evolution**, p. 202-210, 1968.
- DRESSLER, R. L. 1982. Biology of the orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Ecology and Systematics** 13: 373-394.
- ELTZ, T. *et al.* 1999. Fragrance collection, storage, and accumulation by individual male orchid bees. **Journal of Chemical Ecology** 25:157-176.
- ELTZ, T. *et al.* 2015. Correlates of perfume load in male orchid bees. **Chemoecology** 25:193-199.
- FERRONATO, M. C. F. *et al.* 2017. Orchid bee (Apidae: Euglossini) communities in Atlantic forest remnants and restored areas in Paraná state, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 352-361.

- GIANGARELLI, D. *et al.* 2009. *Eufriesea violacea* (Blanchard) (Hymenoptera: Apidae): an orchid bee apparently sensitive to size reduction in forest patches. **Neotropical Entomology** 38:610-615.
- GIANGARELLI, D. *et al.* 2015. Orchid bee (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) assemblages from three different threatened phytophysiognomies of the subtropical Brazilian Atlantic forest. **Apodologie** 46:71-83.
- HAMMER, O. *et al.* 2001. PAST Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica** 4, 1-9.
- HENSKE, J. *et al.* 2023. Function of environment-derived male perfumes in orchid bees. **Current Biology**.
- JANZEN, D. H. 1971. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. **Science** 171:203-205.
- LÓPEZ-URIBE, M.M. *et al.* 2008. Nectar-foraging behavior of euglossine bees (Hymenoptera:Apidae) in urban areas. **Apidologie** 39:410-418.
- LUDWIG, J. A; REYNOLDS, J. F. 1988. **Statistical ecology: a primer in methods and computing**. New York: John Wiley & Sons.
- MICHENER, C. D. 2007. **The Bees of the World**. 2 ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore. 953p.
- MILET-PINHEIRO, P. & SCHLINDWEIN, C. 2005. Do euglossine males (Apidae, Euglossini) leave tropical rainforest to collect fragrances in sugarcane monocultures?. **Revista Brasileira de Zoologia** 22:853-858.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)**. Resolução CONAMA N° 02, de 08/03/1990.
- MITKO, Lukasz *et al.* 2016. Olfactory specialization for perfume collection in male orchid bees. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 10, p. 1467-1475.

- MOURE, J. S. & MELO, G. A. R. 2022. Euglossini Latreille, 1802. In MOURE, J. S., Urban, D. & MELO, G. A. R. (Orgs). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region - online version**. <http://www.moure.cria.org.br/catalogue> (acesso em abril de 2023)
- MUELLER, U. G. & WOLF-MUELLER, B. 1993. A method for estimating the age of bees: age-dependent wing wear and coloration in the wool-carder bee *Anthidium manicatum* (Hymenoptera: Megachilidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 6, p. 529-537.
- NEMÉSIO, A.; AUGUSTO, S. C.; ALMEIDA, E. A. B. 2007. *Euglossa decorata* Smith (Hymenoptera: Apidae) in central Brazil—biogeographic implications. **Lundiana: International Journal of Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 57-61.
- NEMÉSIO, A. 2009. Orchid bees (Hymenoptera: Apidae) of the Brazilian Atlantic forest. **Zootaxa** 2041:1-242.
- NEMÉSIO, A. 2010. *Eulaema* (*Apeulaema*) *felipei* sp. n. (hymenoptera: apidae: euglossina): A new forest-dependent orchid bee found at the brink of extinction in northeastern Brazil. **Zootaxa** 62:51-62.
- NEMÉSIO, A. 2011. *Euglossa marianae* sp. n. (Hymenoptera: Apidae): A new orchid bee from the Brazilian Atlantic Forest and the possible first documented local extinction of a forest-dependent orchid bee. **Zootaxa** 68: 59-68.
- NEMÉSIO, A. *et al.* 2016. Effects of climate change and habitat loss on a forest-dependent bee species in a tropical fragmented landscape. **Insect Conservation and Diversity** 9:149-160.
- PARQUE ESTADUAL MATA DOS GODOY. **Instituto Água e Terra**, 2023. <https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Parque-Estadual-Mata-dos-Godoy-PEMG> (acesso em março de 2023)
- PARQUE MUNICIPAL ARTHUR TOMAS. **Prefeitura de Londrina**, 2022. <https://portal.londrina.pr.gov.br/parques-municipais/parque-municipal-arthur-thomas> (acesso em março de 2023)

- POKORNY, T. *et al.* 2013. Cuticular hydrocarbons distinguish cryptic sibling species in euglossa orchid bees. **Apidologie** 45:276-283.
- POKORNY, T. *et al.* 2015. Dispersal ability of male orchid bees and direct evidence for long-range flights. **Apidologie**, v. 46, p. 224-237.
- POKORNY, T. *et al.* 2017. Blown by the wind: the ecology of male courtship display behavior in orchid bees. **Ecology** 98:1140-1152.
- POWELL, A.H. & POWELL G.V.N. 1987. Population dynamics of male euglossine bees in Amazonian Forest fragments. **Biotropica** 19:176-179.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- RAMÍREZ, S. R. 2009. Orchid bees. **Current Biology**, v. 19, n. 23, p. R1061-R1063.
- RASBAND, W.S. 1997-2018. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>
- RAW, A. 1989. The dispersal of euglossine bees between isolated patches of easterns Brazilian wet forest (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 33:103-107.
- REBÊLO, J. M. M. & GARÓFALO, C. A. 1991. Diversidade e sazonalidade de machos de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) e preferências por iscas-odores em um fragmento de floresta no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 51, n. 4, p. 787-799.
- RIBEIRO, M. C. *et al.* 2009. The Brazilian atlantic forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation** 142:1141-1153.
- ROSA, J. F. *et al.* 2015. Permeability of matrices of agricultural crops to euglossina bees (Hymenoptera, Apidae) in the atlantic rain forest. **Apidologie** 46:692-702.
- ROUBIK, D. W. & HANSON, P. E. 2004. **Orchid bees of tropical America: biology and field guide**. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Heredia, Costa Rica.

- SANTOS, A. B. 2015. **Dinâmica das populações, estrutura genética e química cuticular de Euglossini em fragmentos de Caatinga e Mata Atlântica de Sergipe, Brasil.** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. 2002. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação.**
- SOFIA, S. H. & SUZUKI K. M. 2004. Comunidade de machos de abelhas euglossina (Hymenoptera: Apidae) em fragmentos. **Neotropical Entomology** 33:393-702.
- SOFIA, S. H.; SANTOS, A. M.; DA SILVA, C. R. M. 2004. Euglossine bees (Hymenoptera, Apidae) in a remnant of Atlantic Forest in Paraná state, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 94, n. 2, p. 217-222.
- SOS MATA ATLANTICA & INPE. 2019. SOS Mata Atlântica e INPE lançam novos dados do Atlas do bioma. [http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod\\_Noticia=5115](http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=5115) (acesso em maio de 2023)
- TONHASCA, A. *et al.* 2003. Dispersal of euglossine bees between fragments of the Brazilian atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology** 19:99-102.
- TOREZAN, J. M. D. 2002. Nota sobre a vegetação do rio Tibagi. Pp. 103-108. In: M.E. Medri; E. Bianchini; O.A. Shibatta & J.A. Pimenta (eds.). **A bacia do Rio Tibagi** M.E. Medri. Londrina. Pp. 103-107.
- ZAR, J. H. 1996. **Biostatistical analysis**. 3 ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.

Ciente e de acordo,



**Dra. Sílvia Helena Sofia**  
Depto. Biologia Geral  
Universidade Estadual de Londrina