



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de
Recursos Naturais

Efeito da assimetria flutuante em uma comunidade de Odonata.

EGON LUIS VILELA DO VALLE

2019

EGON LUIS VILELA DO VALLE

Efeito da assimetria flutuante em uma comunidade de Odonata.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Aprovada em: 20/02/2019

Prof. Dra. Vanessa Stefani Sul Moreira
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Everton Tizo Pedroso
Universidade Estadual de Goiás

Prof. Dr. Kleber Del-Claro
Universidade Federal de Uberlândia (Orientador)

UBERLÂNDIA
Fevereiro – 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

V181e Valle, Egon Luis Vilela do, 1990
2019 Efeito da assimetria flutuante em uma comunidade de Odonata
[recurso eletrônico] / Egon Luis Vilela do Valle. - 2019.

Orientador: Kleber Del-Claro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1330>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ecologia. 2. Odonata. 3. Distribuição da gordura corporal. 4.
Stressess. I. Del-Claro, Kleber, 1965, (Orient.) II. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação
de Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 574

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320

Telefone: (34) 3225-8641 - www.ppgeco.ib.ufu.br - ecologia@umarama.ufu.br



ATA

ATA DA 271ª APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO JUNTO AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS, INSTITUTO DE BIOLOGIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Aos vinte dias de fevereiro de dois mil e dezoito (20/02/2019), às quinze horas, na sala 14A, bloco 2D, *Campus* Umarama, situado na Avenida Pará, 1720, Bairro Umarama, Uberlândia-MG, teve início a 269ª Apresentação de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais do(a) discente **Egon Luis Vilela do Valle**, matrícula número **11712ECR004**, título "**Influência da assimetria flutuante em uma comunidade de Odonata**", área de concentração **Ecologia**, linha de pesquisa **Ecologia comportamental e de interações**, com os seguintes doutores compondo a banca examinadora: **Kleber Del Claro (INBIO-UFU)**, presidente, **Vanessa Stefani Sul Moreira (INBIO-UFU)** e **Everton Tizo Pedroso (UEG)**. Iniciando os trabalhos, o(a) Presidente, André Rosalvo Terra Nascimento, apresentou a comissão examinadora e o(a) candidato(a), além disso, agradeceu a presença do público e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente, o tempo de arguição e resposta foram estabelecidos conforme as normas do Programa. A seguir, o(a) Senhor(a) Presidente concedeu a palavra aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a). Finalizada a arguição, que ocorreu dentro dos termos regimentais, a banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais. Em face do resultado obtido, a banca examinadora considerou o(a) candidato(a) **Aprovado**. Esta defesa é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após o cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da Universidade. Nada mais havendo a tratar, foram encerrados os trabalhos às **16 horas e 30 minutos**. Foi lavrada a presente ata que, após lida e aprovada, foi assinada pela banca examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Kleber Del Claro, Presidente**, em 20/02/2019, às 15:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Everton Tizo Pedroso, Usuário Externo**, em 20/02/2019, às 15:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vanessa Stefani Sul Moreira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 20/02/2019, às 15:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1022295** e o código CRC **2569722C**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador, o Prof. Dr. Kleber DelClaro, que primeiro me aceitou com um material de estudo novo para ele, e depois acreditou que eu seria capaz de aprender e conduzir uma pesquisa com um material de estudo totalmente novo a mim. Pela confiança em ambas as ocasiões, obrigado professor. Gostaria de agradecer a banca examinadora pelo auxílio prestado a finalização deste trabalho, em especial para as professoras Vanessa Stefani e Helena Maura Torezan, seus conselhos me ajudaram não somente na execução deste e tantos outros trabalhos, mas também muitas vezes resgataram minha confiança e levantaram meu espírito.

A minha mãe, irmão, tia e avós que me deram força durante esse caminho sejam através de afetos e carinhos ou de broncas e gritos, todos merecidos e necessários no seu devido momento. A meus amigos de Uberlândia (e alguns que já estavam em minha vida anos antes disso) Drielly, Renan M., Ruthe, Lino, Renan P., Arthur Henrique e Pedro, sem alguns de vocês teria sido muito mais difícil essa trajetória, e sem nenhum de vocês teria sido impossível, nenhuma lágrima ou sorriso que tive ao lado de vocês será esquecido ou desvalorizado e espero que saibam disso. Aos amigos também de laboratório Drielly, Ruthe, Iasmin e Fernando pela imensa ajuda que me deram nos projetos desenvolvidos.

Agradeço enfim ao Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, pelo apoio ao projeto e ao laboratório. Ao CNPq e CAPES, pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO GERAL	1
INTRODUCTION	4
MATERIALS AND METHODS	6
Site of Study.....	6
Statistical Analysis.....	8
RESULTS	9
DISCUSSION	12
CONCLUSÕES GERAIS	15
REFERÊNCIAS	17

RESUMO

A assimetria flutuante (FA) é um indicador das diferenças entre os lados de um organismo, frequentemente atribuída ao estresse durante o desenvolvimento. Este estudo teve como objetivo analisar a FA em nível de comunidade para dois subordens de Odonata: Anisoptera e Zygoptera. O foco foi explorar a relação entre a FA e características relacionadas à aptidão física, como massa muscular e gordura corporal. Espécimes foram coletados em uma reserva de cerrado local e seus valores morfométricos foram medidos para calcular a FA. Regressões lineares e análises GLM foram usadas para quantificar as relações entre as variáveis. Os resultados revelaram uma correlação negativa entre a FA, a massa muscular e a área da asa, mas apenas para Zygoptera. Nenhuma associação foi encontrada entre as reservas de gordura e a FA. Os resultados significativos em Zygoptera sugerem que essa instabilidade simétrica pode estar relacionada a fatores fisiológicos e anatômicos específicos a subordem. A FA observada em Zygoptera ocorre durante a fase de formação dos músculos de voo, indicando estresse durante a fase aquática. Ao contrário da massa muscular, as reservas de gordura sofrem atrofia após a emergência, deixando reservas mínimas para a fase adulta. É provável que a FA não cause danos significativos ao bem-estar geral dos indivíduos. No entanto, em Zygoptera, a FA pode afetar o desempenho físico devido à sua relação com a área da asa e a massa muscular, que são vitais para atividades reprodutivas como combate e forrageamento. Assim, a FA pode afetar o desempenho físico de Zygoptera, mas possivelmente não o bem-estar geral dos indivíduos.

PALAVRAS-CHAVE: pressões seletivas, músculos de voo, gordura corporal, seleção sexual.

ABSTRACT

Fluctuating asymmetry (FA) is an indicator of the differences between the sides of an organism, often attributed to developmental stress. This study aimed to analyze FA at a community level for two suborders of Odonata: Anisoptera and Zygoptera. The focus was on exploring the relationship between FA and fitness-related traits like muscle mass and body fat. Specimens were collected from a local savanna reserve, and their morphometric values were measured to calculate FA. Linear regressions and GLM analysis were used to quantify the relationships between the variables. The results revealed a negative correlation between FA, muscle mass, and wing area, but only for Zygoptera. No association was found between fat reserves and FA. The significant results in Zygoptera suggest that this symmetric instability may be linked to specific physiological and anatomical factors. The FA observed in Zygoptera occurred during the formation phase of flight muscles, indicating stress during the aquatic phase. Unlike muscle mass, fat reserves experience atrophy post-emergence, leaving minimal reserves to the adult phase. It is likely that FA does not cause significant harm to the overall well-being of individuals. However, in Zygoptera, FA may impact fitness performance due to its relationship with wing area and muscle mass, which are vital for reproductive activities like combat and foraging. Thus, FA could affect the fitness performance of Zygoptera but not the general welfare of individuals.

KEY-WORDS: selective pressures, flight muscle, body fat, sexual selection.

INTRODUÇÃO GERAL

Assimetria flutuante consiste nas diferenças morfométricas entre os lados de um organismo. É um dos métodos mais utilizados como parâmetro em estudos com bioindicadores para avaliação de impacto ambiental (Pinto et al., 2015; Reis et al., 2011), além de estar relacionado à condição corpórea de indivíduos em alguns grupos (Knierim et al., 2007; Tuyttens et al., 2008). A assimetria flutuante ocorre através de pequenas divergências na simetria do corpo, não compondo um modelo perfeitamente bilateral. É atribuída a distúrbios ontogenéticos frequentemente causados pelo estresse durante as fases de desenvolvimento do indivíduo (Palmer and Strobeck, 1986; Pinto et al., 2012), além de falhas genéticas e mutações recentes (Clarke and McKenzie, 1987; Harvey and Walsh, 1993; Jones, 1987; Parsons, 1990). A simetria de um indivíduo evidencia a sua capacidade genética de desenvolver suas estruturas mesmo que em condições ambientais não favoráveis (Bonn et al., 1996). Nesse contexto, a assimetria avalia a aptidão dos indivíduos em suportar o estresse ambiental, já que esta pode comprometer a sobrevivência e o *fitness* dos mesmos (Chang et al., 2007; Clarke and Ridsdill-Smith, 1990; Hardersen and Frampton, 1999; Kanegae and Lomônaco, 2003; Møller, 1997; Parsons, 1996, 1990). A assimetria também é considerada como índice de sucesso reprodutivo para muitos táxons (Bonn et al., 1996; Thornhill, 1992a) pois que é um indicador de fitness e estabilidade genética (Moller, 1991).

O reflexo da assimetria flutuante nos indivíduos e na comunidade já é bem reportado na literatura para vários grupos de artrópodes, sendo os principais pontos as alterações de estruturas corporais, mudanças no comportamento sexual, e modificações químicas nos exsudatos (Klingenberg and McIntyre, 1998; Thornhill, 1992a, 1992b; Weller and Ganzhorn, 2004). A assimetria age nas estruturas corporais de forma diferenciada, mais ou menos intensamente à depender da estrutura, considerando sua importância. Estruturas mais importantes como asas e olhos no caso de Odonata devem possuir processos ontogenéticos mais estáveis, portanto, sendo menos susceptíveis a alterações na simetria (Palmer and Strobeck, 1986).

A ordem Odonata é frequentemente utilizada como bioindicador da qualidade ambientes aquáticos, além de um ótimo modelo em estudos de assimetria flutuante. Odonata tem sido utilizada em mensurações de qualidade de água e presença de poluentes químicos devido ao seu estágio larval aquático (Hardersen, 2000; Hardersen and

Frampton, 1999), com grande importância em trabalhos de avaliação e monitoramento ambiental (Nascimento et al., 2018). Além disso, a ordem também é utilizada como indicador em estudos de conservação devido a sua posição na cadeia trófica, sendo tanto em seu estágio larval quanto adulto uma peça importante na teia alimentar. Como modelo, também responde muito bem questões de assimetria flutuante, devido a seu estágio aquático larval e terrestre adulto delimitando o momento do fim dos processos ontogenéticos, este que se dá horas a dias após a emergência do adulto (Arthur D. Whedon, 1929). Outra característica que a torna um bom modelo de assimetria é o nível de influência que condições externas podem exercer sobre o estágio de ninfa, sendo facilmente afetado por temperaturas extremas (Chang et al., 2007; Strong and James, 1992), quantidade de alimento no sistema (Dmitriew et al., 2007), densidade larval, deficiência de oxigênio (Strong and James, 1992), presença de predadores (Dmitriew and Rowe, 2005), poluição (Beketov, 2004; Hardersen, 2000; Hardersen and Frampton, 1999) e presença de parasitas (Bonn et al., 1996).

Na época de reprodução, as odonatas apresentam sistemas de competição reprodutiva baseados em territorialismo e combate corpo a corpo entre machos, forrageamento de machos por fêmeas, ou a alternância entre ambas as estratégias (Alves-Martins et al., 2012; Del-Claro and Guillermo-Ferreira, 2011; Vilela et al., 2017). Independente da estratégia utilizada, após a corte o macho tende a guardar a fêmea, impedindo que haja a corte com outros machos antes do ato de oviposição, o que pode afetar o fitness do parceiro anterior, pela substituição dos gametas dele por de um novo parceiro (Fincke, 1984; Mcvey and Smittle, 1984; Waage, 1979).

Estudos já demonstraram diversas relações entre a assimetria, fitness e outras características em espécies de Odonata, no entanto, a assimetria como um padrão à nível de toda uma comunidade ainda não foi testada. Sendo assim, o foco principal deste estudo é desenvolver uma análise de assimetria flutuante em uma comunidade de Odonata. Desta forma, iremos investigar se respostas comumente obtidas em nível de espécie se repetem em níveis sistemáticos superiores, focando principalmente em Odonata e suas subordens Anisoptera e Zygoptera. Também avaliamos as relações entre assimetria e fatores comumente relacionados ao *fitness* dos indivíduos, como “tamanho corporal”, “massa muscular” e “gordura corporal”, além de outras características morfológicas de machos capturados durante a época reprodutiva. Em suma, testamos cinco hipóteses: (1) em nível de comunidade, indivíduos com maior assimetria serão os de maior tamanho corporal,

pois corpos maiores demandam mais recursos e energia no desenvolvimento, e estão sob maior pressão de necessidade de alimentos no sistema; (2) a assimetria não será relacionada ao tamanho das asas, pois estas são uma característica essencial ao estilo de vida e reprodução, e espera-se que os processos ontogenéticos ligados à formação deste caractere sejam estáveis o suficiente a evitar uma forte relação; (3) a assimetria será maior em indivíduos com menos massa muscular, pois a formação de massa muscular se inicia nos primeiros instares larvais, quando há uma grande influência da AF; (4) a assimetria será maior em indivíduos com menor teor de gordura corporal; AF é um índice comumente negativamente relacionado ao fitness, enquanto que o oposto se observa ao teor de gordura corporal; (5) no geral, a assimetria será negativamente relacionada a fatores de impacto no fitness dos indivíduos, já que o objeto de estudo se compõe basicamente de machos em época de competição sexual.

INTRODUCTION

Fluctuating asymmetry (FA) is an index of the difference between the sides of an organism, whether bilateral or radial. It is one of the most commonly used methods in studies of bioindicators to assess environmental impacts (Pinto et al., 2015; Reis et al., 2011) and also to evaluate the welfare of individuals in some taxa (Knierim et al., 2007; Tuytens et al., 2008). Asymmetry occurs as small divergences from a perfect bilateral symmetric model and is commonly attributed to ontogenetic disorders caused by stress during the initial development of the individual (Palmer and Strobeck, 1986; Pinto et al., 2012). Other causes may include genetic flaws and new mutations (Clarke and McKenzie, 1987; Harvey and Walsh, 1993; Jones, 1987; Parsons, 1990). The symmetry of an individual also reveals its genetic capacity to develop structures during ontogeny regardless of environmental stress (Bonn et al., 1996).

In this context, the fluctuating asymmetry index evaluates the ability of individuals to withstand environmental stress, as it could affect their survival and fitness (Chang et al., 2007; Clarke and Ridsdill Smith, 1990; Hardersen and Frampton, 1999; Kanegae and Lomônaco, 2003; Møller, 1997; Parsons, 1996, 1990). FA is considered a valuable index of mating success for many taxa (Bonn et al., 1996; Thornhill, 1992a), and it is also recognized by individuals as a sign of genetic fitness, as symmetry is a desirable trait in a mate (Møller, 1991).

The effects of FA on individuals and communities have been well-documented for many arthropod taxa. FA has the ability to alter body structures, mating behavior, and even pheromone secretion chemistry (Klingenberg and McIntyre, 1998; Thornhill, 1992a, 1992b; Weller and Ganzhorn, 2004). Asymmetry acts differently on body structures, with varying intensity depending on the structure and its importance to the organism. For instance, more important structures such as wings in Odonata are expected to have more stable ontogenetic processes and therefore be less susceptible to changes in symmetry (Palmer and Strobeck, 1986).

The order Odonata is frequently used as a bioindicator of aquatic environment quality and serves as an excellent model in studies of fluctuating asymmetry. Odonata is commonly employed in studies concerning water quality and the presence of chemical pollutants due to its aquatic larval stage (Hardersen, 2000; Hardersen and Frampton, 1999), making it of great importance in environmental evaluation and monitoring. Additionally, this order is also utilized in conservation studies due to its position in the trophic chain, as both the larval and adult stages play significant roles in the food web.

The larval stage of Odonata is particularly well-suited for investigations related to fluctuating asymmetry, as it has a well-defined endpoint for ontogenetic processes that concludes shortly after adult emergence, typically lasting from a few hours to several days, depending on the species (Arthur D. Whedon, 1929). Another advantageous characteristic that makes it a suitable model for the asymmetry index is the extent to which external conditions can influence the nymph stage. During the larval aquatic stage, individuals can be highly affected by factors such as extreme water temperatures (Chang et al., 2007; Strong and James, 1992), food availability (Dmitriew et al., 2007), larval density, oxygen deficiency (Strong and James, 1992), predation pressure (Dmitriew and Rowe, 2005), pollution (Beketov, 2004; Hardersen, 2000; Hardersen and Frampton, 1999), and parasitism (Bonn et al., 1996).

During the reproductive season, the majority of Odonata species exhibit competitive behavior among males, including combat, territorialism, active search, and foraging for females near ponds and watercourses. Some species may even switch between these tactics throughout their lives (Alves-Martins et al., 2012; Del-Claro and Guillermo-Ferreira, 2011; Vilela et al., 2017). Regardless of the strategy employed, males tend to guard ovipositing females, as the sperm from the last male to court the female fertilizes 60% to 100% of the deposited eggs (Fincke, 1984; Mcvey and Smittle, 1984; Waage, 1979).

Previous research has demonstrated the influence of fluctuating asymmetry on fitness and other traits in Odonata species. However, to the best of our knowledge, no study has assessed the influence of fluctuating asymmetry at the community level within this order. The main focus of this study was to analyze fluctuating asymmetry within a neotropical savanna Odonata community. Additionally, we aimed to evaluate whether the same results observed at the species level would be replicated at the community level for Odonata and its suborders Anisoptera and Zygoptera. We also investigated the relationship between fluctuating asymmetry and common fitness traits such as body size, muscle mass, body fat, as well as other morphological traits of the captured males during the mating season. We examined any patterns of ontogenetic selective stabilization in any of the investigated characteristics.

In summary, we tested five hypotheses: (1) at the community level, individuals with the highest fluctuating asymmetry should have larger body lengths, as larger bodies require more resources for development and are under higher pressure due to variations in food availability; (2) fluctuating asymmetry would not be related to wing shape, as

wings are a vital feature in Odonata, and the ontogenetic processes involved in wing formation are expected to be stable enough to avoid a strong correlation with fluctuating asymmetry; (3) fluctuating asymmetry would be higher in individuals with less muscle mass, as muscle formation begins in the early larval stages when there is a high influence of fluctuating asymmetry, and therefore the least fit individuals would also be the most asymmetric; (4) fluctuating asymmetry would also be higher in individuals with less body fat, as fluctuating asymmetry is commonly negatively related to fitness while body fat is positively related to it; (5) In general, fluctuating asymmetry would be negatively related to traits associated with individual fitness, considering that the study focused exclusively on mature males during the mating season.

MATERIALS AND METHODS

Site of Study

This study was conducted at the Private Ecological Reserve of "Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia" (CCPIU) in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil (18°59'S, 48°17'W), from December 2017 to May 2018. The reserve is situated within a patch of Cerrado *Sensu Restrito*, surrounded by an area heavily impacted by human activities in the city of Uberlândia (Figure 1). The Ecological Reserve is intersected by a 5 km long watercourse characterized as a Vereda.



Figure 1: Ecological Reserve of CCPIU, comprehending a patch of Cerrado vegetation inside the city of Uberlândia – image via ArcGiz software database.

The Cerrado sensu stricto is a Brazilian biome characterized by trees and shrubs reaching heights of three to eight meters, with a dense presence of herbaceous plants in the interspaces (Oliveira and Marquis, 2002). Within the Cerrado, the vereda is a type of vegetation that occurs over groundwater outcrops, resembling a marsh-like environment (Araújo et al., 2002). Veredas contribute to the formation of watercourse galleries and are heavily utilized by Odonata during the reproductive season.

Specimens were collected using nets from 8:00 to 15:00 at eight transects every two weeks. The transects were strategically placed to encompass five different watercourses: one transect located near ponds, one near a lake, one near a vereda, two near a mire, and three near a stream (Figure 2). These sites were selected to ensure a higher diversity in the sampling of species within the community, as it had been previously observed that different species tended to visit different watercourses (Alves-Martins et al., 2012).

After capturing each specimen, we placed them in cryotubes within a thermal box. Subsequently, the individuals were subjected to low temperatures ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) for 24 hours to ensure their death. In the laboratory, the specimens were identified at the species level using the identification guides by Heckman (2008) and Lencioni (2006). We then scanned the samples and utilized ImageJ (Schneider et al., 2012) to measure various parameters, including body length, left and right wing area, as well as the lengths of the left and right fore, mid, and hind tibia (Figure 3).

To minimize measurement errors, all measurements were taken twice.



Figure 2: Transects of the study: (A) vereda, (B) mire, (C) lake, (D) ponds and (E) stream – image via Google Earth database.

The thoraxes of the samples were removed and dried in a sterilization oven at 60 °C for eight hours. Each sample's thorax dry mass was then estimated and subjected to a 24-hour bath in chloroform. After the chloroform bath, the samples were dried again and re-weighed. The difference between the weights before and after the chloroform bath was used to calculate the fat content (Marden, 1989; Plaistow and Siva-Jothy, 1974). To estimate muscle mass, the thoraxes of the specimens were submerged in a solution of 0.8M potassium hydroxide (KOH) for 48 hours. Afterward, they were dried again and re-weighed to obtain the difference in weight before and after the KOH bath. This difference was used to estimate the muscle mass (González-Tokman et al., 2012; Plaistow and Siva-Jothy, 1974).

Statistical Analysis

A Student's t test was conducted to check all doubled measurements and avoid measurement error. A Fluctuant Asymmetry Index (FA) was calculated by the formula:

$$FA = \frac{\sum \left(\frac{|R - L|}{(R + L)/2} \right)}{N}$$

Where R are the values on the right side of the body samples, L represents the values on the left side, and N represents the total number of body structures measured (Cornelissen and Stiling, 2005). All statistical analyses for this research were performed using the R software (R Core Team, 2008). To ensure a normal distribution of the data, a Lilliefors test was applied to all variables, and necessary transformations were applied when required. The variable FA was subjected to a log transformation to meet the assumptions of normality for the tests conducted.

Several linear regressions were performed in order to quantify the strength of the relationship among the variables, we conducted the following tests: Fluctuant Asymmetry Index per Percentage of Muscle Mass for the whole community and for Zygoptera suborder only; and Fluctuant Asymmetry Index per Percentage of Body Fat for both suborders. Because the Anizoptera community data distribution was not normal, a Pearson correlation had to be performed, as it is a non-parametric test.

To check the obtained results, we replicated the linear regressions of Fluctuating Asymmetry Index (FA) per Muscle Mass at the suborder level using the five most abundant morphotypes: *Erythrodiplax latimaculata*, *Erythrodiplax umbrata*, *Erythrodiplax juliana*, Morphotype 2, and Morphotype 3. This was done to compare the results with their respective suborders. In some cases, the FA variable for certain morphotypes required log transformations to satisfy the assumptions of normality for the test.

To also examine the relationship among Fluctuant Asymmetry Index and both body and wing size to both suborders, a GLM analysis with a quasibinomial family was performed.

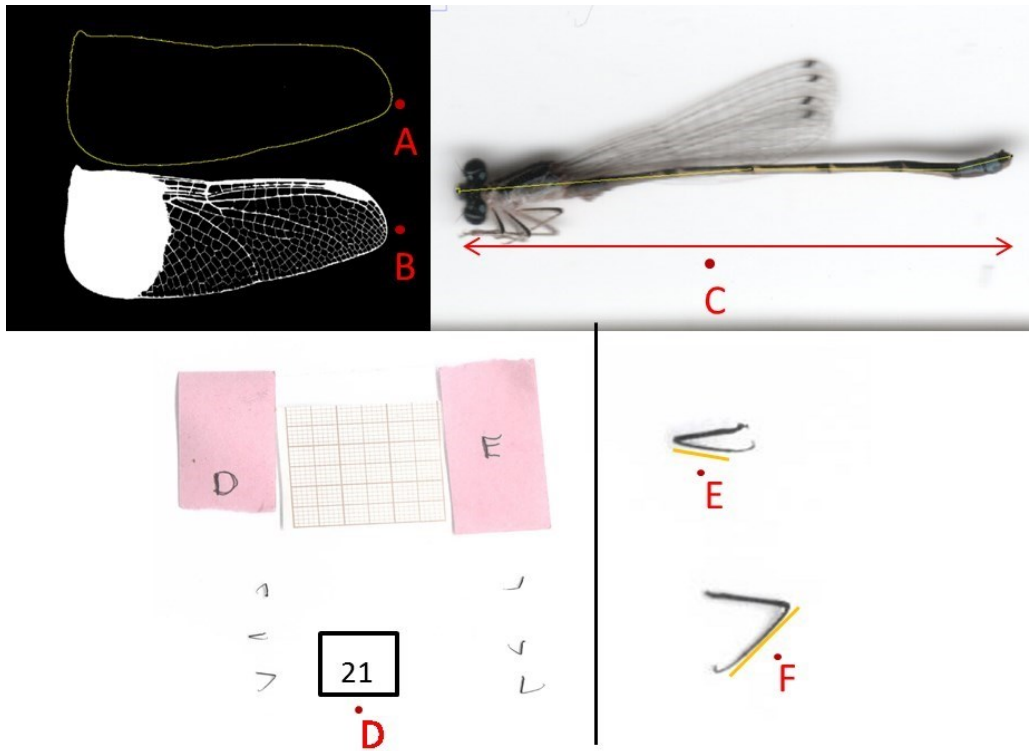


Figure 3: Images of the measurements on ImageJ: (A) wing area, (B) negative wing, (C) full body length, (D) full image scanning of individual 21 fore, mid and hind legs, (E) zoom in of the individual 21 mid tibia, (F) zoom in of the individual 21 hind tibia.

RESULTS

A total of 158 individuals were captured, comprising 24 morphotypes, 4 families and both suborder Anizoptera and Zigoptera. The most abundant species were *Erythrodiplax latimaculata* and *Erythrodiplax umbrata*, and the rarest ones were *Neoneura sylvatica* and *Minagrion waltheri*.

Table 1: Species found at the site of study, number of individuals captured, freshwater habitat selection. V: vereda; M: mire; L: lake; P: ponds; S: stream.

Species	Area					Total
	Vereda	Mire	Lake	Ponds	Stream	
ANIZOPTERA						
Libellulidae						
<i>Erythemis credula</i> Hagen, 1861	0	3	0	0	0	3
<i>Erythrodiplax fusca</i> Rambur, 1842	0	0	0	2	0	2
<i>Erythrodiplax juliana</i> Ris, 1911	2	7	0	2	0	11
<i>Erythrodiplax latimaculata</i> Ris, 1911	0	4	4	13	0	21
<i>Erythrodiplax umbrata</i> Linnaeus, 1758	1	0	0	16	0	17
<i>Erythrodiplax sp. 01</i>	0	4	0	4	0	8
<i>Erythrodiplax sp. 02</i>	0	2	0	0	0	2
<i>Erythrodiplax sp. 03</i>	1	9	1	2	1	14
Morphotype 01	1	8	1	2	0	12
<i>Zenithoptera lanei</i> Santos, 1941	1	3	0	1	0	5
ZIGOPTERA						
Calopterygidae						
<i>Hetaerina rosea</i> Selys, 1853	0	0	0	0	4	4
<i>Mnesarete pudica</i> Hagen in Selys, 1853	1	1	0	2	1	5
Coenagrionidae						
<i>Acanthagrion sp.</i>	2	1	2	1	1	7
<i>Argia sp. 01</i>	0	0	0	0	4	4
<i>Argia sp. 02</i>	0	0	0	0	4	4
<i>Argia sp. 03</i>	0	1	0	1	0	2
<i>Cyanallagma sp.</i>	0	0	0	0	2	2
<i>Minagrion waltheri</i> Selys, 1876*	1	1	0	0	0	2
Morphotype 02	0	4	3	0	0	7
Morphotype 03	0	0	0	1	13	14
Morphotype 04	0	0	0	1	1	2
<i>Oxyagrion microstigma</i> Selys, 1876	0	1	3	0	1	5
Protoneuridae						
<i>Neoneura sylvatica</i> Hagen in Selys, 1886	0	0	0	0	1	1

Epipleoneura williamsoni Santos, 1957 0 0 0 0 4 4

Our measurements were precise enough to not show significant differences on a T test ($F_{132}=1.245,95$; $P>0.05$), and sufficiently accurate to be used on further tests. Our data revealed a significant negative correlation between the asymmetry presented by the species community and the muscle mass, thus, there is a general tendency for the males with less muscle mass to present a higher level of asymmetry ($F_{1,132} = 0.213$; $R^2 = 0.038$; $P < 0.05$) (Figure 4). The Pearson correlation performed with the suborder Anizoptera did not evince the same results, with no apparent relation between muscle mass and asymmetry (Figure 4).

The muscle mass in the Zigoptera suborder also undergo a negative influence of the asymmetry, with a significant negative correlation ($F_{1,71} = 0.313$; $R^2 = 0.085$; $P < 0.05$) (Figure 4). As for the individual morphotypes results, the Morphotype 03 of the Zigoptera was the only one to show significant results for a relation between its FA and muscle mass (Table 2). The linear regression between fat reserves and asymmetry index did not indicate any relation to Anizoptera neither Zigoptera, when analyzed separately.

Table 2: Values of the linear regression performed for morphotypes.

Species	Values		
	F	R ²	P
ANIZOPTERA			
<i>Erythrodiplax juliana</i>	$F_{1,7} = 1.945$	0.106	0.206
<i>Erythrodiplax latimaculata</i>	$F_{1,15} = 3.283$	0.125	0.090
<i>Erythrodiplax umbrata</i>	$F_{1,14} = 0.715$	0.000	0.412
ZIGOPTERA			
Morphotype 02	$F_{1,8} = 0.961$	0.000	0.961
Morphotype 03	$F_{1,5} = 12.978$	0.666	0.016

The GLM found no influence of the asymmetry on body length or wing area for the both suborders, but removing the body length of the suborder Zigoptera analysis showed significant results ($F=$; $df=67$; $P=0.01$) (Figure 5), revealing that the individuals with the smallest wings are most affected by the asymmetry on this environment.

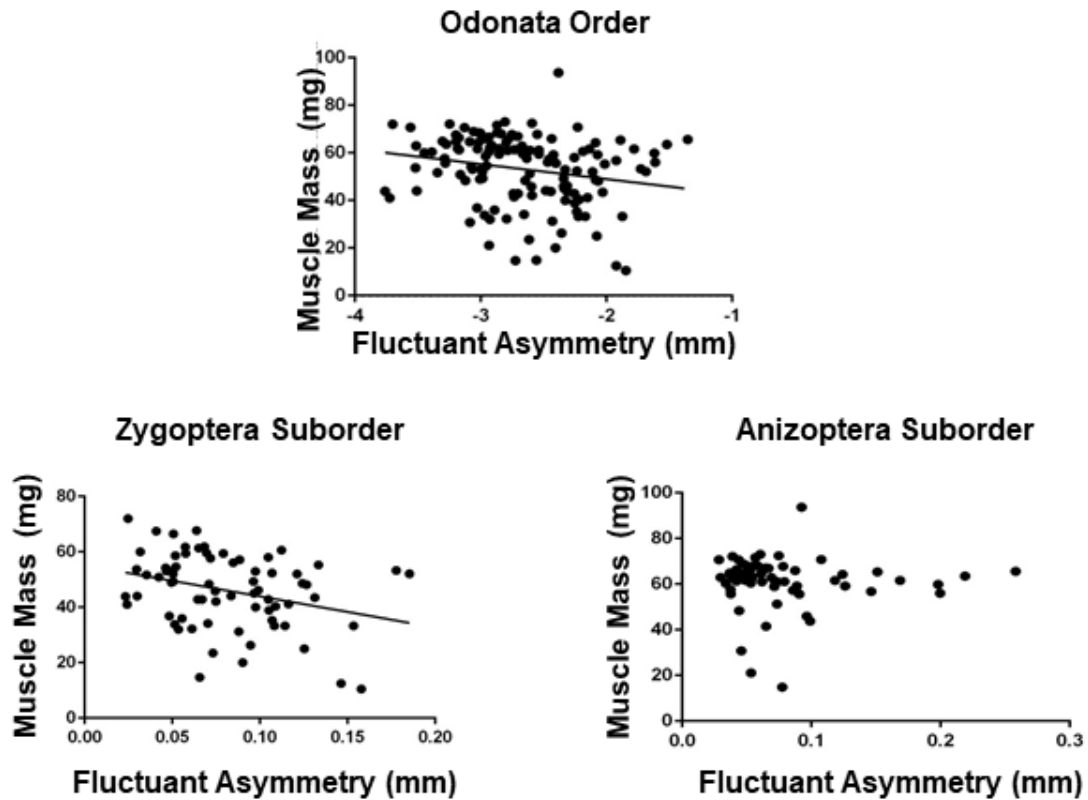


Figure 4: Plot of linear regression models along different data subsets, the Odonata order, and the suborders Zygoptera and Anizoptera.

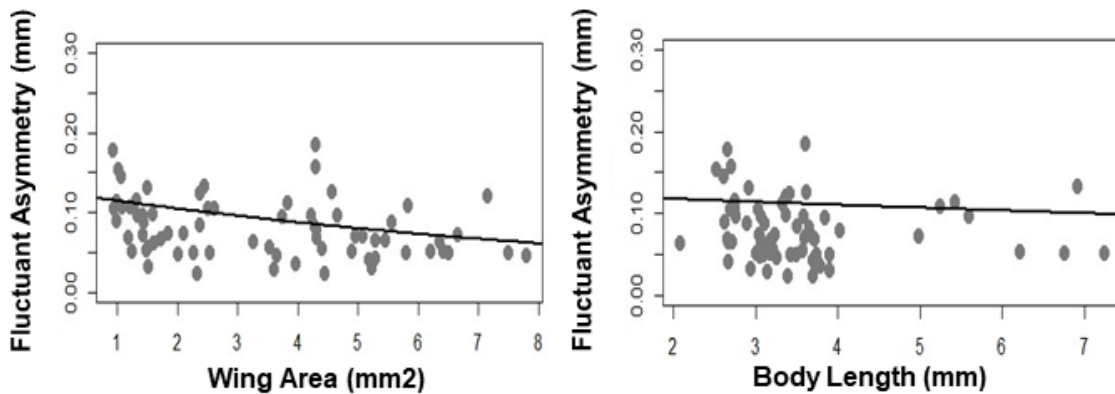


Figure 5: Comparison between the effect of the asymmetry on the wing area and body length for the suborder Zygoptera.

DISCUSSION

Our data contradicts the hypothesis that fluctuating asymmetry (FA) is directly proportional to body length, suggesting that larger species are not necessarily more affected by FA, despite their higher energy requirements for growth and flight. Possible hypothesis would be (1) the environmental stress capable of driving the asymmetry, may

not be strong enough to impact the body size of the species on that environment; (2) body length may be a trait not variable enough to be shown on a community dataset; (3) or that body length it's just not influenced by the ontogenetic factors that may drive the asymmetry.

Regarding wing size, it was initially expected that fluctuating asymmetry (FA) would have little to no influence on it, or at least not to the same extent as body length. Since wings are considered crucial aspects of the Odonata life history, it was hypothesized that the selective pressure acting on them would have already established a stable genetic capacity for ontogenetic growth regulation, thereby minimizing asymmetry (Carchini et al., 2000). However, contrary to expectations, the results indicated a negative correlation at the community level, suggesting that smaller wings tend to be more asymmetrical. To the best of our knowledge, this finding has not been previously reported in the literature. Nonetheless, studies by Córdoba-Aguilar (1995) and Moller (1991) have shown a negative correlation between asymmetry and the size of a given trait. It is important to note that the size and shape of wings can impact the flight performance and fitness of damselflies (Samejima and Tsubaki, 2010). Additionally, at the species level, it has been demonstrated that wings can be influenced by environmental stress (Harvey and Walsh, 1993).

Since the observed effect was only evident in the suborder Anisoptera, it is plausible to suggest that this community-wide pattern of symmetric instability may be attributed to specific factors related to the physiology or anatomy of Zygoptera. For example, the morphology of the wing joint in Anisoptera restricts certain wing movements that are more easily performed by Zygoptera (Rüppell and Hilfert-Rüppell, 1989). To compensate for these limitations, Anisoptera tends to exhibit nearly twice the wing beat frequency compared to Zygoptera, while Zygoptera exhibits a considerably larger stroke amplitude (Rüppell and Hilfert-Rüppell, 1989). This greater need for a higher wing beat frequency in Anisoptera may contribute to a higher selective pressure, resulting in increased stability of wing symmetry in this suborder.

The results regarding the relationship with muscle mass suggest a higher overall stability for the trait in the Anisoptera suborder. While no relationship was found for the Anisoptera, a negative correlation was observed for the Zygoptera suborder. We hypothesize that morphological and physiological factors may be responsible for a selective stabilizing pressure on muscle mass in Anisoptera. The importance of muscle

mass development is evident in the Anisoptera suborder, as they exhibit a significant increase in muscular cell length (50%) and mitochondrial volume (150%) between the initial period of emergence and reproduction (Marden, 1989). Mature Odonata males are known for their substantial investment in flight muscles (Marden, 1989). Moreover, flight muscle formation in Odonata gradually begins in the first larval instar, even before the atrophy of abdominal muscles (Büsse et al., 2015; Maloeuf, 1935). This indicates that the observed FA in Zygoptera likely occurs during the ontogenetic formation phase and may stem from stress in the aquatic environment during the larval stage or due to genetic flaws.

Regarding the analysis of different morphotypes, all tested species of the *Erythrodiplax* genus demonstrated results consistent with those of the Anisoptera suborder, providing further support for the previous findings. Although one of the two tested Zygoptera morphotypes did not align with the overall results of the suborder, it is worth noting that this particular morphotype had the largest wing area among all Zygoptera species. The results regarding wing size suggest that larger species are less impacted by FA. Therefore, even if the muscle mass of this specific Zygoptera morphotype is not affected by FA, it does not invalidate the results obtained for the community as a whole.

The lack of a relationship between body fat and fluctuating asymmetry (FA) in both suborders suggests a limited or negligible impact of FA on the welfare of the individuals in the community. Unlike muscle mass, which undergoes development during various stages including post-emergence, fat reserves experience atrophy during a specific stage of muscular development (Whedon, 1929). This atrophy results in minimal to no fat reserves after emergence, with any observed fat in the individuals originating from the adult phase activity. The absence of a correlation between body fat and FA in the community indicates that FA does not significantly affect the general welfare of the Odonata individuals. While muscle mass primarily forms during larval instars and after emergence, fat reserves undergo atrophy and subsequently accumulate through feeding. This suggests that FA may have a greater impact on the fitness rather than the overall welfare of Odonata individuals, as indicated by the lack of correlation between FA and body fat.

The hypothesis that fluctuating asymmetry (FA) may affect fitness and traits related to it is supported by the observed relationship between wing area, muscle mass, and FA in the Zygoptera suborder. These traits are crucial for reproductive scenarios

involving male combat and foraging for mating partners, as they require optimal flight performance (Samejima and Tsubaki, 2010). In the case of the Zygoptera suborder, FA could potentially interfere with fitness performance, although it may not have a significant impact on the general welfare of the individuals.

In future research, it would be interesting to compare males and females to observe the different effects of selective pressure on stability, considering that females are not subject to sexual selection. Additionally, studying the flight energetic costs for each species and examining the relationship with FA would provide insights into whether a higher energetic demanding flight can stabilize symmetry ontogenetic factors.

CONCLUSÕES GERAIS

Nossos resultados demonstram as seguintes relações envolvendo assimetria flutuante: (1) não há relação entre assimetria flutuante e o tamanho corporal dos indivíduos, para a ordem ou nenhuma de ambas subordens; (2) para o tamanho de asas existe uma relação inversamente proporcional para a subordem Zygoptera, porém não observada em Anizoptera e toda a ordem; (3) a assimetria está inversamente relacionada ao teor de massa muscular, porém novamente apenas para a subordem Zygoptera; (4) a assimetria não demonstrou relação com o teor de gordura corporal para nenhuma dos testes realizados; (5) no geral a assimetria não demonstrou relação alguma com fatores comumente relacionados ao “fitness” para a subordem Anizoptera, e demonstrou em Zygoptera relações apenas em caracteres relacionados a performance de voo.

Adicionalmente, fizemos testes para assimetria e massa muscular nas cinco espécies mais abundantes capturadas, três da subordem Anizoptera e duas de Zygoptera, para comparar os resultados obtidos em suas respectivas subordens. Os mesmos resultados foram encontrados para todas as espécies menos Morfotipo 2 de Zygoptera, que não apresentou relação de massa muscular com assimetria. No entanto a espécie é a que possui o maior tamanho de asa médio de todas as observadas, o que confere com o teste realizado para tamanho de asas em que as espécies com maiores asas são as menos afetadas pela assimetria.

Como o tamanho corporal não apresentou influência na assimetria flutuante, sugerimos que o estresse ambiental possa não ser suficientemente forte para influenciar o tamanho corporal das espécies da comunidade, ou que nossos testes não possam avaliar

pequenas variações existentes. Como a assimetria é diretamente ligada à capacidade gênica de regulação de crescimento, também há a possibilidade do caractere apenas não estar inserido em uma área do código genético com influência no efeito de assimetria.

A não relação entre gordura corporal para nenhum dos testes pode ser considerado um indicador de bem estar dos indivíduos enquanto na forma adulta. A literatura informa que próximo ao fim dos processos ontogenéticos, as reservas de gordura são exauridas na formação das últimas estruturas após a emergência dos indivíduos para o estágio adulto. Sendo assim, reservas de gordura encontradas são provenientes apenas do obtido em atividade durante a vida adulta e podem ser consideradas como indicadores de bem estar animal. Neste caso a relação da assimetria com gordura corporal apenas se daria de forma indireta, em que a assimetria de caracteres possa influenciar a capacidade do indivíduo de obter energia e acumular reservas de gordura corporal. Como isso não foi observado, inferimos que nenhum dos indivíduos coletados estava sob esse tipo de estresse.

Para ambos os resultados de tamanho de asas e teor de massa muscular no tórax, compostos majoritariamente de músculos de voo, a relação negativa entre esses caracteres e a assimetria flutuante indica uma possível instabilidade sobre caracteres de desempenho de voo. Como testes apenas demonstraram essa relação para a subordem Zygoptera, é possível que este resultado esteja ligado a diferenças fisiológicas e morfológicas relacionados ao voo entre as subordens. Um exemplo morfológico disto reside no fato da anatomia de asas de Anizoptera lhe conferir um menor ângulo de batimento de asas durante o voo que para a Zygoptera. Esta diferença de ângulo obriga Anizoptera a possuir um ritmo de batimentos de asa maior que o dobro apresentado por Zygoptera, e confere também mais precisão de voo e agilidade de manobras. Sabendo disto, apresentamos a hipótese que as diferentes pressões sobre o voo das subordens possam apresentar diferentes resultados na estabilidade genética na formação destes mesmos caracteres. No caso, possivelmente Anizoptera pode já ter sido submetida a uma seleção estabilizadora para assimetria em caracteres de voo.

REFERÊNCIAS

- Alves-Martins, F., Del-Claro, K., Jacobucci, G.B., 2012. Sexual size dimorphism, mating system and seasonality of a Neotropical damselfly, *Telebasis carmesina* (Coenagrionidae). *Int. J. Odonatol.* 15, 263-273. <https://doi.org/10.1080/13887890.2012.719422>
- Araújo, G.M., Barbosa, A.A.A., Arantes, A.A., Amaral, A.F., 2002. Composição florística de veredas no Município de Uberlândia, MG. *Rev. Bras. Botânica* 25, 475-493. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042002012000012>
- 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, 200-204. <https://doi.org/10.1023/B:RUSE.0000025972.29638.46>
- Bonn, A., Gasse, M., Rolff, J., Martens, A., 1996. Increased fluctuating asymmetry in the damselfly *Coenagrion puella* is correlated with ectoparasitic water mites: Implications for fluctuating asymmetry theory. *Oecologia* 108, 596-598. <https://doi.org/10.1007/BF00329031>
- Büsse, S., Helmker, B., Hörnschemeyer, T., 2015. The thorax morphology of *Epiophlebia* (Insecta: Odonata) nymphs - Including remarks on ontogenesis and evolution. *Sci. Rep.* 5, 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep12835>
- 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. <https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1286>
- Chang, X., Zhai, B., Liu, X., Wang, M., 2007. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Coperana annulata* (selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 67, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.04.004>
- Clarke, G.M., McKenzie, J.A., 1987. Developmental Stability of Insecticide Resistant Phenotypes in Blowfly; a Result of Canalizing Natural Selection. *Nature* 325, 345- 346. <https://doi.org/10.1038/325345a0>
- Clarke, G.M., Ridsdill Smith, T.J., 1990. The effect of avermectin B1 on developmental stability in the bush fly, *Musca vetustissima*, as measured by fluctuating asymmetry. *Entomol. Exp. Appl.* 54, 265-269. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01337.x>
- Córdoba-Aguilar, A., 1995. Fluctuating Asymmetry in Paired and Unpaired Damselfly Males *Ischnura denticollis* (Burmeister) (Odonata: Coenagrionidae). *J. Ethol.* 13, 129-132. <https://doi.org/10.1007/BF02352572>
- Cornelissen, T., Stiling, P., 2005. Perfect is best: Low leaf fluctuating asymmetry reduces herbivory by leaf miners. *Oecologia* 142, 46-56. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1724-y>
- Del-Claro, K., Guillermo-Ferreira, R., 2011. Resource Defense Polygyny by *Hetaerina rosea* Selys (Odonata: Calopterygidae): Influence of Age and Wing Pigmentation. *Neotrop. Entomol.* 40, 78-84. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000100011>
- Dmitriew, C., Cooray, M., Rowe, L., 2007. Effects of early resource-limiting conditions on patterns of growth, growth efficiency, and immune function at emergence in a damselfly (Odonata: Coenagrionidae). *Can. J. Zool.* 85, 310-318. <https://doi.org/10.1139/Z07-004>
- Dmitriew, C., Rowe, L., 2005. Resource limitation, predation risk and compensatory growth in a damselfly. *Oecologia* 142, 150-154. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1712-2>

- Fincke, O.M., 1984. Sperm Competition in the Damselfly *Enallagma hageni* Walsh (Odonata : Coenagrionidae): Benefits of Multiple Mating to Males and Females Author (s): Ola M . Fincke Published by : Springer Stable URL : <https://doi.org/10.1007/BF00299623>
- González-Tokman, D.M., Córdoba-Aguilar, A., Forbes, M.R., 2012. Effect of juvenile hormone analog in a natural host-parasite system. *Ecol. Ecol.* 26, 1055-1066. <https://doi.org/10.1007/s10682-011-9546-y>
- 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. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2000.00204.x>
- Hardersen, S., Frampton, C.M., 1999. Effects of short term pollution on the level of fluctuating asymmetry - A case study using damselflies. *Entomol. Exp. Appl.* 92, 1-7. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00518.x>
- Harvey, I.F., Walsh, K.J., 1993. Fluctuating asymmetry and lifetime mating success are correlated in males of the damselfly *Coenagrion puella* (Odonata: Coenagrionidae). *Ecol. Entomol.* 18, 198-202. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1993.tb01090.x>
- Heckman, C.W., 2008. *Encyclopedia of South American Aquatic Insects: Odonata - Zygoptera.* Springer, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8176-7>
- Jones, J.S., 1987. An asymmetrical view of fitness. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/325298a0>
- Kanegae, A.P., Lomônaco, C., 2003. Plasticidade Morfológica, Reprodutiva e Assimetria Flutuante de *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) sob Diferentes Temperaturas. *Neotrop. Entomol.* 32, 37-43. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2003000100005>
- Klingenberg, C.P., McIntyre, G.S., 1998. Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution* (N. Y). 52, 1363. <https://doi.org/10.2307/2411306>
- Knierim, U., Van Dongen, S., Forkman, B., Tuytens, F.A.M., Špinko, M., Campo, J.L., Weissengruber, G.E., 2007. Fluctuating asymmetry as an animal welfare indicator - A review of methodology and validity. *Physiol. Behav.* 92, 398-421. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.014>
- Lencioni, F.A.A., 2006. *Damselflies of Brazil - An illustrated identification guide.* All Print Editora, São Paulo.
- Maloef, N.S.R., 1935. The Postembryonic History of the Somatic Musculature of the Dragonfly Thorax. *J. Morphol.* 58. <https://doi.org/10.1002/jmor.1050580104>
- Marden, J.H., 1989. Bodybuilding Dragonflies: Costs and Benefits of Maximizing Flight Muscle. *Physiol. Zool.* 62, 505-521. <https://doi.org/10.1086/physzool.62.2.30156182>
- Mcvey, E., Smittle, J., 1984. Sperm Precedence in Dragonfly *Erythemis Simplicicollis* 30, 619-628. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(84\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0022-1910(84)90046-5)
- Moller, A.P., 1991. Sexual ornament size and the cost of fluctuating asymmetry. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 243, 59-62. <https://doi.org/10.1098/rspb.1991.0010>
- Møller, A.P., 1997. Developmental Stability and Fitness : A Review. *Am. Nat.* 149, 916-932. <https://doi.org/10.1086/286030>
- Nascimento, A.L., Alves-Martins, F., Jacobucci, G.B., 2018. Assessment of ecological water quality along a rural to urban land use gradient using benthic macroinvertebrate-based indexes. *Biosci. J.* 34, 194-209. <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n1a2018-37842>

- Oliveira, P., Marquis, R., 2002. The Cerrados Of Brazil, The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. Columbia University Press, New York.
<https://doi.org/10.7312/oliv12042>
- Palmer, A.R., Strobeck, C., 1986. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 1-391-421. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.002135>
- Parsons, P.A., 1990. Fluctuating Asymmetry: an Epigenetic Measure of Stress. *Biol. Rev.* 65, 131-145. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1990.tb01186.x>
- Parsons, P.A., 1996. Rapid development and a long life: An association expected under a stress theory of aging. *Experientia* 52, 643-646. <https://doi.org/10.1007/BF01925565>
- Pinto, N.S., Silva, D.P., Rodrigues, J.G., De Marco, P., 2015. The Size But not the symmetry of the Wings of *Eulaema nigrita* Lepeletier (Apidae: Euglossini) is Affected by Human-Disturbed Landscapes in the Brazilian Cerrado Savanna. *Neotrop. Entomol.* 44, 439-447. <https://doi.org/10.1007/s13744-015-0316-3>
- Plaistow, S., Siva-Jothy, M.T., 1974. Energetic constraints and male mate securing tactics in the damselfly *Calopteryx splendens xanthostoma* (Charpentier). *Proc. R. Soc. London B Biol. Sci.* 264, 1233-1239.
- Reis, E. dos, Pinto, N., Carvalho, F., Juen, L., 2011. Efeito da integridade ambiental sobre a assimetria flutuante em *Erythrodiplax basalis* (Libellulidae: Odonata)(Kirby). *EntomoBrasilis.* 4, 103-107. <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v4i3.153>
- Rüppell, G., Hilfert-Rüppell, D., 1989. Kinematic analysis of maiden flight of Odonata. *J. Exp. Biol.* 144, 13-42. <https://doi.org/10.1242/jeb.144.1.13>
- Samejima, Y., Tsubaki, Y., 2010. Body temperature and body size affect flight performance in a damselfly. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 64, 685-692. <https://doi.org/10.1007/s00265-009-0886-3>
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods.* <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Strong, L., James, S., 1992. Some effects of rearing the yellow dung fly *Scatophaga stercoraria* in cattle dung containing ivermectin. *Entomol. Exp. Appl.* 63, 39-45. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1992.tb02417.x>
- Strong, L., James, S., 1992. Some Effects of Rearing the Yellow Dung Fly *Scatophaga-Stercoraria* in Cattle Dung Containing Ivermectin. *Entomol. Exp. Appl.* 63, 39-45.
- Team, R.D.C., 2008. R: A language and environment for statistical computing.
- Thornhill, R., 1992a. Female preference for the pheromone of males with low fluctuating asymmetry in the Japanese scorpionfly (*Panorpa japonica*: Mecoptera). *Behav. Ecol.* 277-283. <https://doi.org/10.1093/beheco/3.3.277>
- Thornhill, R., 1992b. Fluctuating asymmetry, interspecific aggression and male mating tactics in two species of Japanese scorpionflies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 30, 357- 363. <https://doi.org/10.1007/BF00170603>
- Tuytens, F., Heyndrickx, M., De Boeck, M., Moreels, A., Van Nuffel, A., Van Poucke, E., Van Coillie, E., Van Dongen, S., Lens, L., 2008. Broiler chicken health, welfare and fluctuating asymmetry in organic versus conventional production systems. *Livest. Sci.* 113, 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.02.019>

- Vilela, D.S., Del-Claro, K., Guillermo-Ferreira, R., 2017. The Influence of Body Size and Agility in Displacement Capacity of Male Damselflies (Odonata, Protoneurinae). *J. Insect Behav.* 30, 759-767. <https://doi.org/10.1007/s10905-017-9655-8>
- Waage, J.K., 1979. Dual function of the damselfly penis: Sperm removal and transfer. *Science* (80). 203, 916-918. <https://doi.org/10.1126/science.203.4383.916>
- Weller, B., Ganzhorn, J.U., 2004. Carabid beetle community composition, body size, and fluctuating asymmetry along an urban-rural gradient. *Basic Appl. Ecol.* 5, 193-201. <https://doi.org/10.1078/1439-1791-00220>
- Whedon, A.D., 1929. Muscular Reorganization in the Odonata during Metamorphosis. *Biol. Bull.* 56, 177-192. <https://doi.org/10.2307/1536935>
- Whedon, A.D., 1929. Muscular Reorganization in the Odonata during Metamorphosis. *Biol. Bull.* 56, 177-192. <https://doi.org/10.2307/1536935>