



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

Análise temporal genética das populações de *Xylocopa frontalis* (Apidae, Xylocopini) na
Reserva Ecológica do Panga para possível uso sustentável na polinização do maracujá

Nina Guimarães Arantes

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia – MG

Novembro – 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

Análise temporal genética das populações de *Xylocopa frontalis* (Apidae, Xylocopini) na
Reserva Ecológica do Panga para possível uso sustentável na polinização do maracujá

Nina Guimarães Arantes
Profa. Dra. Rute Magalhães Brito
Me. Ana Luisa de Sousa e Castro Melo

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Bacharel em Biotecnologia

Uberlândia – MG
Novembro – 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO BIOTECNOLOGIA

Análise temporal genética das populações de *Xylocopa frontalis* (Apidae, Xylocopini) na
Reserva Ecológica do Panga para possível uso sustentável na polinização do maracujá

Nina Guimarães Arantes

Profa. Dra. Rute Magalhães Brito
Instituto de Biotecnologia

Homologado pela coordenação do Curso de
Biotecnologia em __/__/____

Prof. Dr. Nilson Nicolau Júnior

Uberlândia – MG
Novembro – 2023

Dedicatória

Dedico esse Trabalho à minha avó Nilda que esteve presente durante grande parte do trabalho, mas não conseguiu ver o resultado final.

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Mônica e Wesley e irmã Lia que me apoiaram durante toda a graduação, com conselhos, cuidado, carinho e muito amor.

Agradeço ao meu namorado Leandro por sempre estar ao meu lado durante os momentos mais difíceis e enxugar cada lágrima.

Agradeço aos meus amigos e primos por me fazerem sorrir, não perder as esperanças e não me deixarem esquecer que eu não estava sozinha.

Agradeço ao Shoyu e à Nutella por me amarem incondicionalmente.

Agradeço aqueles que me orientaram durante a realização do projeto, a Me. Ana Luisa de Sousa e Castro Melo e principalmente Profa. Dra. Rute Magalhães Brito, que não desistiram mesmo quando vários problemas apareceram no decorrer da jornada.

Agradeço ao apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), por tornar a realização desse trabalho possível.

Resumo

A *Xylocopa frontalis*, conhecida como "mamangava-de-toco", desempenha papel crucial como polinizadora do maracujá, mas enfrenta declínio populacional devido a fatores humanos. Para reverter essa tendência, propõe-se a construção de ninhos artificiais, transferindo indivíduos de áreas densamente povoadas para menos habitadas, com ênfase na preservação das matas ao redor dos ninhos. A Reserva Ecológica do Panga destaca-se como vital para a conservação dessa espécie e outras. O estudo buscou compreender a genética das populações no Panga e em áreas próximas, utilizando análises de DNA mitocondrial. Foi realizada extração do material genético, sequenciamento do gene *citocromo oxidase I* e análises estatísticas que revelaram 21 haplótipos distribuídos nas cinco áreas, com diversidade haplotípica de 79,2% e nucleotídica de 0,011. Distâncias genéticas indicaram maior similaridade entre o Campus Umuarama e Glória e menor entre Panga 2 e Água Limpa. A análise de PCoA revelou que um incêndio em 2021 afetou a genética das populações no Panga, reduzindo sua identidade genética em comparação com outras áreas, devido à recolonização pós-incêndio. Novas análises e maior amostragem são necessárias para compreender a evolução genética dos locais adjacentes.

Palavras-chave: *Xylocopa frontalis*, Reserva Ecológica do Panga, genética da conservação

Sumário

Introdução	1
Objetivos	3
Material e Métodos.....	3
Resultados e Discussão	6
Conclusão	14
Referências Bibliográficas	14

Introdução

A polinização, principalmente feita por insetos, é fundamental para a agricultura e produção de alimentos no Brasil (WOLOWSKI *et al.*, 2019). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mais de 200 plantas cultivadas no país estão relacionadas direta ou indiretamente ao setor alimentício, sendo 35% dessas dependentes em algum grau de polinização (IBGE, 2021; WOLOWSKI *et al.*, 2019). Dentre essas, se destacam alguns grãos, hortaliças e frutas como o feijão, o café, o tomate, o pepino, a goiaba, o guaraná e, principalmente, o maracujá (GIANNINI *et al.*, 2020).

O maracujá, como é conhecido popularmente o gênero *Passiflora*, engloba 400 espécies encontradas em regiões tropicais e subtropicais do planeta (ZERAİK *et al.*, 2010). Cerca de 79 espécies são nativas do Brasil, com destaque para *Passiflora edulis*, comumente chamado de maracujá-azedo ou maracujá-amarelo (CAZARIN *et al.*, 2014). Sua comercialização e produção representa 95% dos pomares e é cultivado em sua maioria nas regiões nordeste e sudeste do país, sendo seus maiores produtores Ceará, Bahia, Santa Catarina e Minas Gerais (CAZARIN *et al.*, 2014; IBGE, 2021; LANDAU, 2016). A quantidade produzida em 2021 foi de aproximadamente 700 mil toneladas, equivalente ao valor de produção de 1,5 bilhões de reais, com Minas Gerais responsável por 5% desse valor (IBGE, 2021). A produção é destinada principalmente para a indústria de sucos, polpas e produtos industrializados, mas é utilizado também na medicina popular devido a propriedades funcionais em suas sementes, casca e polpa (RAMOS *et al.*, 2007; ZERAİK *et al.*, 2010).

O maracujá-azedo é uma espécie dependente da polinização cruzada por possuir auto-incompatibilidade, sendo incapaz de ser autofecundada (BRUCKNER *et al.*, 2005). Consequentemente, é fundamental que ocorra a polinização, seja ela manual ou natural, para que haja a produção do fruto (WOLOWSKI *et al.*, 2019). Apesar da polinização manual ser mais eficiente no desenvolvimento de frutos maiores e com maior massa de polpa, o uso da população natural de insetos economiza cerca de 30 mil reais a cada três anos de cultivo (DOS SANTOS, 2016; VIEIRA *et al.*, 2010). Em função da estrutura floral do maracujá, são necessários insetos polinizadores maiores para conseguirem transferir o pólen de maneira satisfatória, como abelhas de grande porte dos gêneros *Xylocopa*, *Bombus*, *Eulaema*, *Epicharis* e *Centris* (YAMAMOTO, 2009). Embora essas populações representem apenas 3% do total de abelhas que visitam flores, a *Xylocopa* se destaca na reprodução da cultura citada e suas principais espécies *X. frontalis*, *X. suspecta* e *X. griseescens* são os agentes polinizadores mais eficientes (PEREIRA; GARÓFALO, 2010; YAMAMOTO, 2009).

A *Xylocopa frontalis*, conhecida popularmente como “mamangava-de-toco”, apresenta a maior população do gênero e é avistada em maior frequência polinizando os pomares, o que demonstra sua eficiência no cultivo do maracujá (YAMAMOTO, 2009). Apesar do seu papel importante, houve um declínio em seu número provocado pela perda de seu habitat natural, com a devastação para a agricultura de trechos de matas conservadas, pelo uso de pesticidas e pelo aumento da temperatura global (KLINE; JOSHI, 2020). Entretanto, como fazem ninhos em madeira com baixa dureza ou em cavidades pré-existentes, foi analisada a possibilidade do uso de ninhos artificiais utilizando pedaços de bambu, fechados por seu próprio nó para aumentar as populações nativas (PEREIRA; GARÓFALO, 2010). Para construção dos ninhos e melhor manejo dessa espécie, é importante observar que elas exibem comportamento solitário, caracterizado pela construção dos ninhos pelas suas fêmeas, sem cooperação de outros indivíduos (VIEIRA *et al.*, 2010). Mas, podem apresentar interações sociais em diferentes níveis, com as filhas permanecendo no ninho e possivelmente reutilizando-o para as próximas gerações (GIANNINI *et al.*, 2020). Em média, são depositadas três células a cada período reprodutivo e de quatro a cinco gerações por ano, resultando entre 12 e 15 novas *Xylocopa frontalis* (JUNQUEIRA; AUGUSTO, 2018).



Figura 1. Células de *Xylocopa frontalis* separadas por partições (C) feitas em ninho-armadilha de bambu. Fonte: Autoria própria.

Foi demonstrado que é possível mover esses ninhos para introduzir indivíduos em áreas diferentes, desde que sejam próximas geneticamente, de forma a aumentar em mais da metade a produção de frutos a cada 4 a 8 ninhos colocados por hectare de plantação (JUNQUEIRA; AUGUSTO, 2018; TOLEDO *et al.*, 2017). Nessa proposta, devido à distância de voo de 12km percorrida por essa espécie é fundamental preservar a vegetação nativa em torno do ninho equivalente a esse raio, para que a disponibilidade de recursos não seja prejudicada e o tamanho das populações afetado (FREITAS; OLIVEIRA FILHO, 2001).

A Reserva Ecológica do Panga (REP), criada em 1986 pela Universidade Federal de Uberlândia e reconhecida em 1997 pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), é uma reserva particular do patrimônio natural localizada a aproximadamente 30 quilômetros de Uberlândia (IBAMA, 1997). É uma Unidade de Conservação com objetivo de proteger as espécies, recursos naturais e hídricos presentes em seu território, incentivando a pesquisa científica e educação ambiental (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2020). Cercada por fazendas e próxima a uma rodovia estadual (BR 455), a REP está sujeita a poluição sonora, do ar e de possíveis defensivos agrícolas utilizados no seu entorno.

A fim de promover um manejo sustentável da espécie é de suma importância acompanhar, por meio de técnicas de Genética de Conservação, como as populações se mantêm ao longo dos anos e de que forma fatores não estocásticos, as práticas de conservação e aumento populacional das abelhas influenciaram na dinâmica das populações e nos pomares de maracujá próximos aos ninhos.

Objetivos

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é analisar temporalmente a genética das populações de *Xylocopa frontalis* na Reserva Ecológica do Panga para possível uso sustentável para polinização do maracujá.

Material e Métodos

Foram utilizadas 18 amostras de *Xylocopa frontalis* coletadas nos anos de 2021, 2022 e 2023 na Reserva Ecológica do Panga (19°10'56"S, 48°23'35"W) de ninhos artificiais localizada nas proximidades de Uberlândia-MG (Figura 2) e dados coletados por (TOLEDO, 2013) de 54 amostras, utilizando o método não letal descrito por Arias *et al.* (2013) (Tabela 1).

Tabela 1: Quantidade de amostras utilizadas em análises e seus locais de coleta.

Local de coleta	Quantidade de amostras	Ano de coleta	Referências
Fazenda Água Limpa	16	2012	TOLEDO <i>et al.</i> , 2017
Reserva Ecológica do Panga	15	2012	TOLEDO <i>et al.</i> , 2017

Campus Umuarama	8	2012	TOLEDO <i>et al.</i> , 2017
Campus Glória	15	2012	TOLEDO <i>et al.</i> , 2017
Reserva Ecológica do Panga	18	2021-2023	Presente trabalho

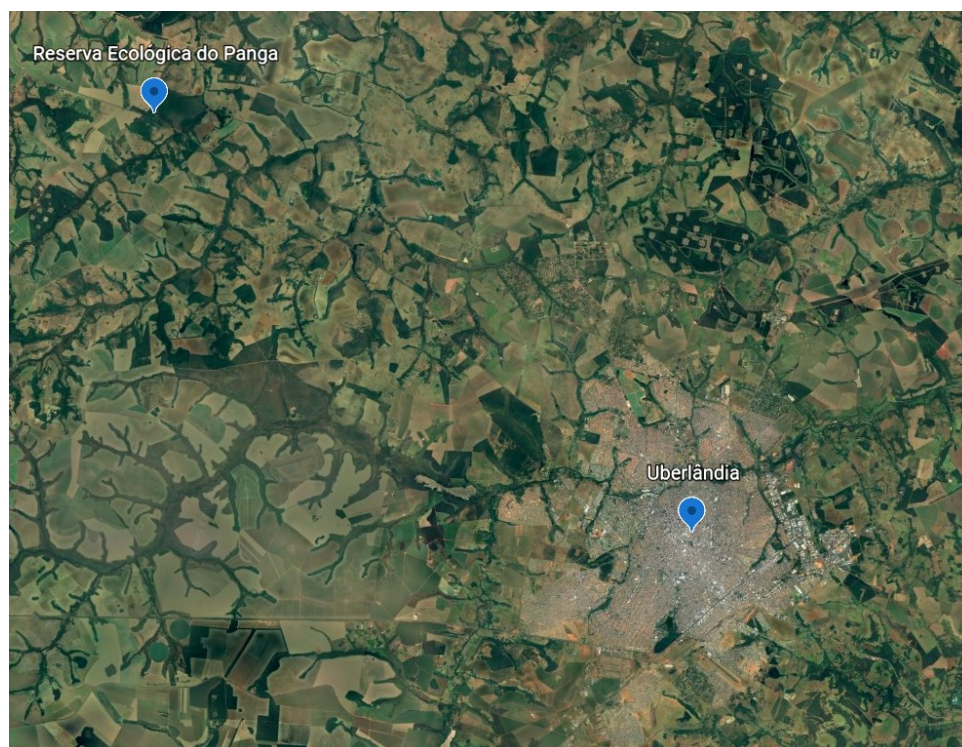


Figura 2. Localização da Reserva Ecológica do Panga em relação à cidade de Uberlândia-MG. Fonte: Google Earth.

Foi retirado o tarso de uma das pernas medianas das abelhas após sua imobilização com um equipamento semelhante a uma seringa, cujo êmbolo é recoberto por uma espuma e sua extremidade fechada com fios resistentes a abrasão pelas abelhas (Figura 3B). A amostra coletada foi armazenada em solução de álcool absoluto em refrigeração até o momento da utilização. O método descrito foi previamente utilizado por (ARIAS *et al.*, 2013; COSTA, 2018; TOLEDO, 2013) para análises sociogenéticas e moleculares de *Xylocopa frontalis* e determinação de marcadores microssatélites de *Xylocopa grisescens*.

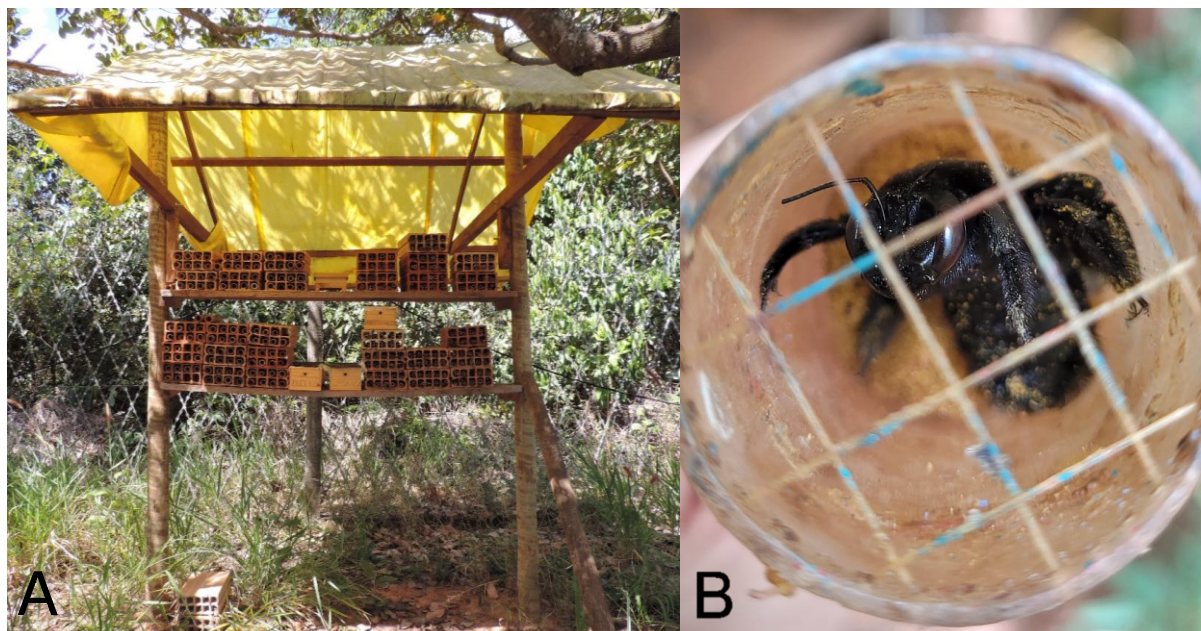


Figura 3. (A) Abrigo utilizado para proteção dos ninhos artificiais de *Xylocopa frontalis* feitos com bambu e apoiados em tijolos do tipo baiano; (B) Fêmea de *Xylocopa frontalis* capturada de abrigo em dispositivo utilizado para retirada do tarso. Fonte: Autoria própria.

Utilizando os tarsos previamente coletados, foi feita a extração do DNA pelo método Chelex descrito por (WALSH; METZGER; HIGUCHI, 1991). Dessa forma, foram adicionados em solução de resina Chelex, incubados a 56°C e 100°C por 30 minutos e 5 minutos respectivamente, centrifugados e armazenados a -20°C. Para obter o DNA mitocondrial, foi feita amplificação de 600 pb do gene *citocromo oxidase I* por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando primer *forward* mtD6 e mtD9 (SIMON *et al.*, 1994) de acordo com (TOLEDO, 2013). Posteriormente, para o sequenciamento, os produtos das PCRs foram enviados ao Laboratório de Sequenciamento e Genotipagem - Multiusuário do CBMEG/UNICAMP.

Com base nos dados resultantes, foram realizadas análises estatísticas utilizando os programas: GENEIOUS para alinhamento e edição das sequências mitocondriais; DNAsp 6.12.03 para análise de quantidade de haplótipos, diversidade haplotípica e nucleotídica; MultiAlin para alinhamento múltiplo de sequências (CORPET, 1988); MEGA v10.2 para construção de árvores filogenéticas de Máxima Verossimilhança e Neighbor Joining, com 2000 *bootstraps* e cálculo de distância genética; NETWORK 4.6.11 para construção de rede de interrelação de haplótipos; GENALEX 6.41 para calcular a distância genética não tendenciosa de NEI, para analisar coordenadas principais (PCoA) e para teste de Mantel. Posteriormente, foram comparadas temporalmente as mudanças ocorridas nas dinâmicas populacionais e

diversidade genética entre as amostras coletadas e as analisadas por Toledo (2013). Por fim, os resultados obtidos foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen).

Para coleta do material foi considerada a Licença permanente para coleta de material zoológico de número 26390-1. Por se tratar de animais invertebrados, não foi necessária análise prévia da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA – UFU) que não estão sob responsabilidade da instituição.

Resultados e Discussão

Dentre as 18 amostras coletadas (Tabela 2), uma não foi amplificada durante a etapa de PCR por se tratar de uma pupa e não possuir material genético suficiente. Além disso, durante o sequenciamento, três amostras não resultaram em sequências de tamanho adequado para análise.

Tabela 2: Amostras coletadas na Reserva Ecológica do Panga.

Amostras	Data de coleta
32 D6D9	08/11/2021
34 D6D9	15/10/2021
35 D6D9	15/10/2021
36 D6D9	08/11/2021
41 D6D9	16/02/2022
42 D6D9	16/02/2022
43 D6D9	16/02/2022
44 D6D9	16/02/2022
45 D6D9	16/02/2022
50 D6D9	31/03/2022
51 D6D9	31/03/2022
52 D6D9	31/03/2022
54 D6D9	31/03/2022
90 D6D9	01/03/2023
91 D6D9	01/03/2023
92 D6D9	01/03/2023

93 D6D9 01/03/2023

94 D6D9 01/03/2023

Em vermelho estão indicadas as amostras que não foram utilizadas nas análises estatísticas.

Após alinhamento múltiplo das sequências, foram observadas 107 mutações, sendo 38 transições T↔C, 11 transições A↔G, 44 transversões T↔A, 4 transversões A↔C e 10 transversões T↔G. Utilizando o GENEIOUS, as sequências foram traduzidas e demonstrou-se que todas as mutações ocorridas são sinônimas, não alterando o aminoácido da proteína.

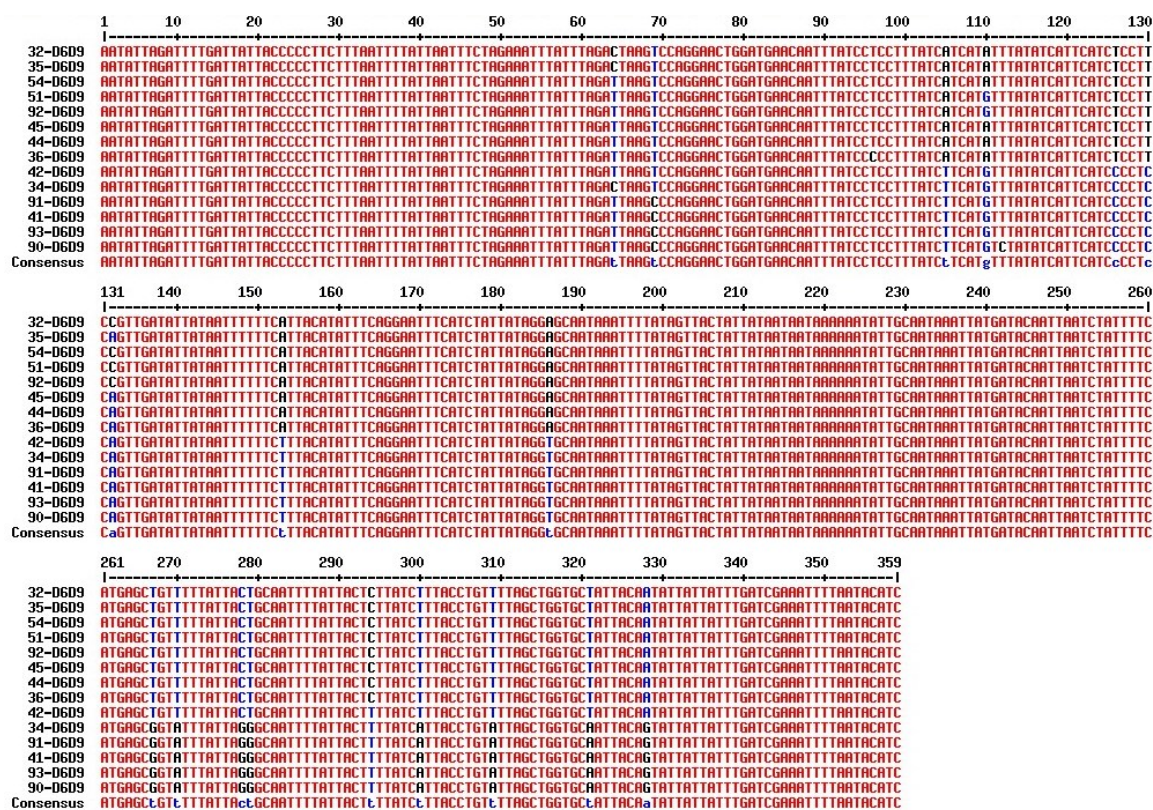


Figura 4. Alinhamento múltiplo das amostras da Reserva Ecológica do Panga utilizando o programa MultiAlin.

Para avaliar as amostras coletadas por Toledo (2013) em conjunto com as novas amostras do Panga no programa DNAsp, foram deduzidos 21 haplótipos a partir das sequências analisadas (Tabela 3). Ou seja, as variações similares nas bases nucleotídicas do DNA mitocondrial de cada indivíduo foram agrupadas em 21 grupos diferentes. Esse resultado variou daquele feito no estudo citado devido às novas sequências compreenderem apenas partes das sequências analisadas por (TOLEDO, 2013). Foi encontrada diversidade haplotípica de 0,7924, isto é, 79,2% de possibilidade de que ao selecionar dois indivíduos de uma população, apresenta haplótipos diferentes. A diversidade nucleotídica demonstrou uma média de 0,01083 do número

de diferenças em nucleotídeos nas sequências de DNA mitocondrial comparadas. Apenas um dos haplótipos (Hap 21) foi encontrado em todas as áreas coletadas.

Tabela 3: Correspondência da identidade de haplótipos encontrados em nova análise (1) e haplótipos analisados por Toledo (2013) (2) e seus locais de coleta.

Haplótipos (1)	Haplótipos (2)	Amostras	Local de coleta
Hap 1	-	34-D6D9	PG
Hap 2	-	91-D6D9, 41-D6D9, 93-D6D9	PG
Hap 3	-	90-D6D9	PG
Hap 4	-	42-D6D9	PG
Hap 5	Hap 5	5-AL, 17C-GL, 2-AL	AL, GL
Hap 6	Hap 17	33-PG	PG
Hap 7	Hap 16	24-AL	AL
Hap 8	Hap 15	5C-AL	AL
Hap 9	Hap 13	31-PG	PG
Hap 10	-	51-D6D9, 92-D6D9	PG
Hap 11	-	36-D6D9	PG
Hap 12	-	54-D6D9	PG
Hap 13	-	32-D6D9	PG
Hap 14	Hap 12	29-AL	AL
Hap 15	Hap 4	27-AL, 23-AL, 2C-AL, 25-AL, 22-AL, 24F-AL	AL
Hap 16	Hap 11, Hap 7	6C-AL, 11C-UFU, 15-GL	AL, UFU, GL
Hap 17	Hap 10	37-GL	GL
Hap 18	Hap 1	8C-GL	GL
Hap 19	Hap 2, Hap 6	16C-GL, 13C-UFU, 9C-UFU, 35-D6D9, 32-PG, 30-PG, 1SOL-PG	GL, UFU, PG
Hap 20	Hap 9	26-AL	AL
Hap 21	Hap 1, Hap 3, Hap 8, Hap 14	10C-UFU, 14C-UFU, 7C-GL, 1-AL, 7- GL, 1C-UFU, 10-GL, 16-GL, 17-GL, 9- GL, 6F-UFU, 15C-UFU, 3C-UFU, 21-AL,	UFU, GL, AL, PG

12-GL, 13-GL, 39-AL, 18C-GL, 45-D6D9,
44-D6D9, 5SOL-PG, 36-PG, 34-PG,
4SOL-PG, 2SOL-PG, 8SOL-PG, 3SOL-
PG, 6SOL-PG, 29F-PG, 35-PG.

PG: Reserva Ecológica do Panga; AL: Fazenda Experimental Água Limpa; GL: Fazenda do Campus Glória; UFU: Campus Umuarama.

O método estatístico de máxima verossimilhança é utilizado para encontrar a melhor estimativa que os dados inseridos dão do resultado com maior probabilidade, ou seja, cria a árvore filogenética mais ideal. Já o método de *neighbor joining* constrói uma árvore filogenética indicando que uma maior proximidade dos dados indica maior relação entre eles. Para maior fidelidade dos dados é utilizado o método de reamostragem de *bootstrap*, onde a análise é repetida quantas vezes escolhidas, e as árvores resultantes são comparadas. A figura 5 mostra as duas árvores filogenéticas encontradas no programa MEGA, nas quais foram feitas 1000 repetições, e os números ao lado das ramificações indicam a porcentagem de árvores encontradas que resultaram nessa ramificação. Ao comparar as duas imagens, não houve discrepâncias significativas entre os agrupamentos do haplótipos nos clados, o que aumenta a confiabilidade nas relações filogenéticas inferidas. A escala abaixo das imagens representa o tamanho entre as ramificações, que indica a grandeza das divergências evolutivas, demonstrando que quanto menor, mais parecidas são as sequências e vice versa.

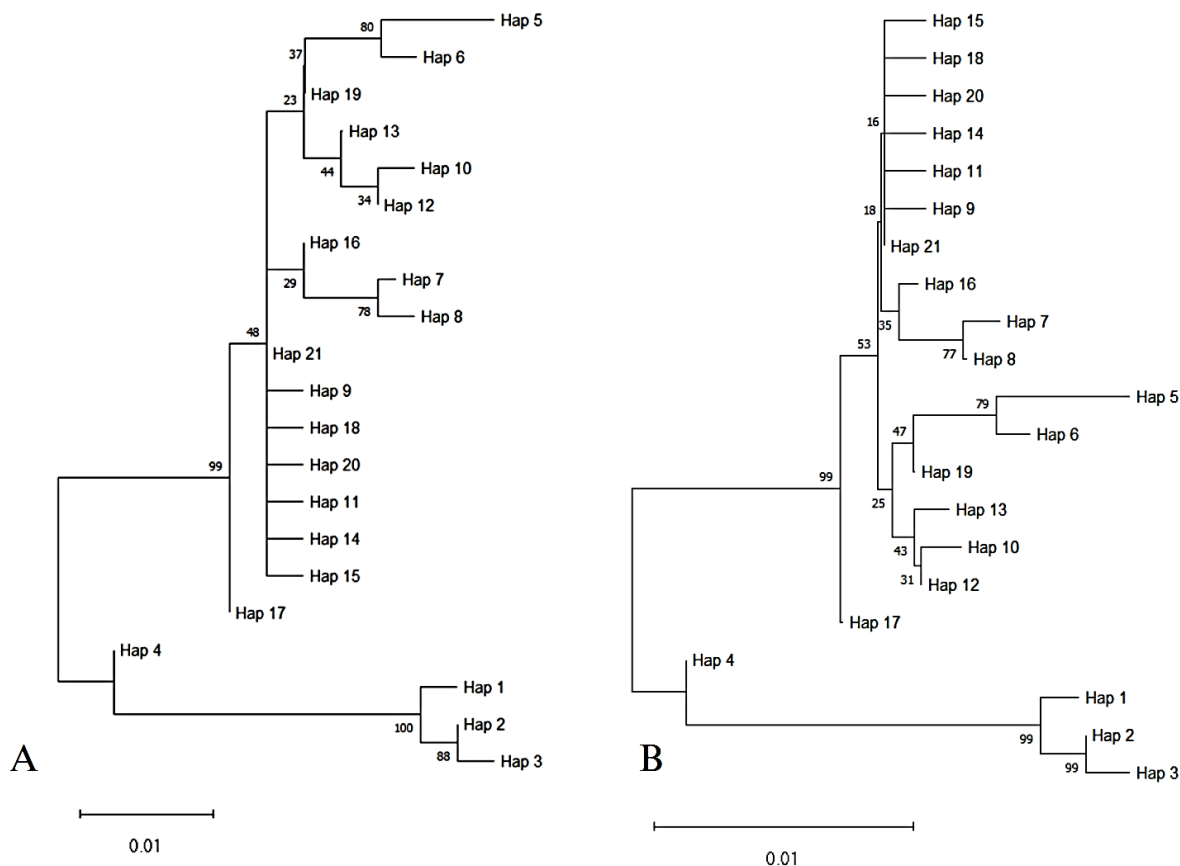


Figura 5. Árvore filogenética entre os haplótipos obtidas usando o software Mega: (A) Método de Máxima Verossimilhança, com 1000 bootstraps; (B) Árvore filogenética utilizando método de Neighbor Joining, com 1000 bootstraps.

A maior distância genética calculada entre as áreas, utilizando métodos de Nei (1978), foi da Fazenda Água Limpa e Panga 2, já a menor foi do Campus Glória e do Campus Umuarama (Tabela 4). Apesar de terem sido coletadas no mesmo local, as amostras PG1 e PG2 apresentaram apenas 45% de identidade. Além disso, as amostras coletadas no Panga nos anos recentes apresentaram identidade menor que 45% em relação aos outros locais.

Tabela 4: Distância Genética e Identidade Genética (NEI, 1978) entre os locais de coleta das amostras.

AL	GL	PG1	PG2	UFU	
0,000	0,433	0,387	0,167	0,419	AL
0,838	0,000	0,966	0,433	0,980	GL
0,948	0,035	0,000	0,446	0,970	PG1
1,792	0,838	0,808	0,000	0,430	PG2
0,869	0,020	0,030	0,843	0,000	UFU

PG1: Reserva Ecológica do Panga coletada em 2012; PG2: Reserva Ecológica do Panga coletada entre 2021 e 2023; AL: Fazenda Experimental Água Limpa; GL: Fazenda do Campus Glória; UFU: Campus Umuarama. Os dados em vermelho indicam a identidade genética e em azul a distância genética.

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) demonstrou três agrupamentos com a mesma distância genética entre locais de coleta (Figura 6). Um dos agrupamentos apresentou as áreas do Campus Glória, do Campus Umuarama e do Panga 1, e ambas áreas do Panga (2021-2023) e da Fazenda Água Limpa ficaram isoladas dos demais. Isso pode ser explicado devido ao fato que no ano de 2021, no mês de setembro, houve um incêndio na Reserva Ecológica do Panga, o que resultou na destruição de 200 hectares de vegetação e morte de diversos organismos (CAVALCANTI, 2021). Após o ocorrido, a primeira geração de *Xylocopa frontalis* no local possivelmente era originária de diferentes locais e não totalmente provinda de descendentes da população original do Panga que foi dispersada, como corroborado pelos resultados encontrados na tabela 3.

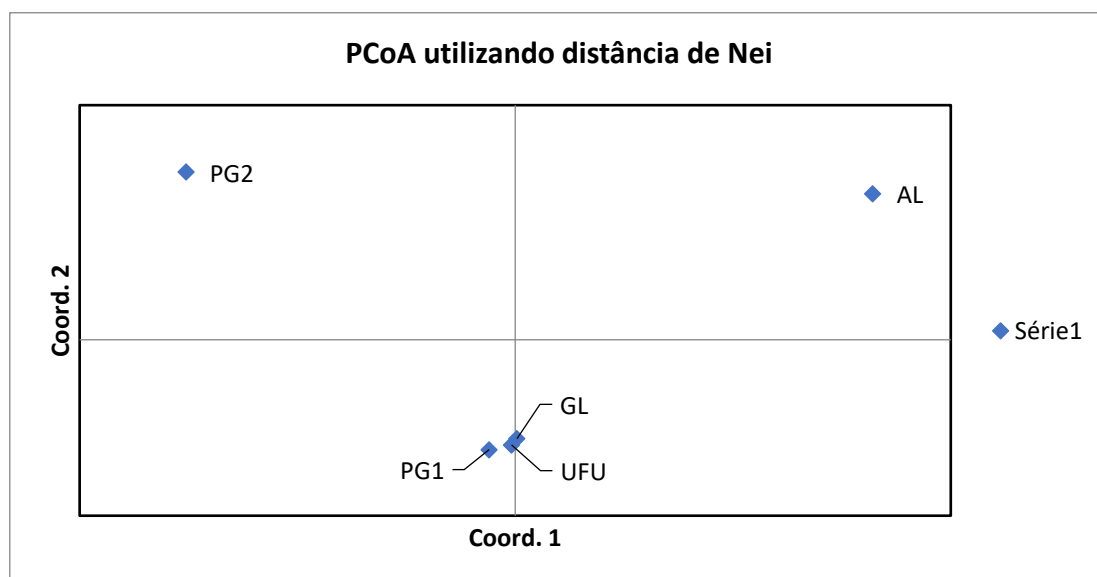


Figura 6. Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base em dados de distância genética de Nei. Fonte: Genalex

Após teste de Mantel utilizando resultados da distância genética de Nei e a distância geográfica entre os pontos de coleta, era esperado encontrar valores inversamente proporcionais, relacionando maiores distâncias físicas com menores identidades genéticas. Porém, não foi possível encontrar correlação entre esses valores como mostra a figura 7.

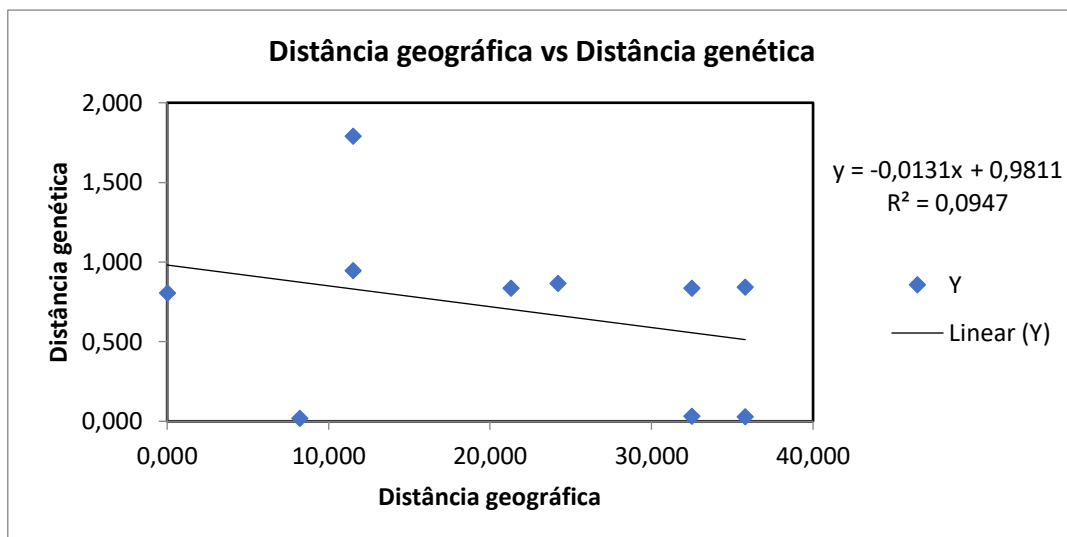


Figura 7. Teste de Mantel entre as distâncias geográficas das áreas e distância genética entre as amostras. Fonte: Genalex.

Analisando a distribuição dos haplótipos por meio da construção de uma rede (figura 8), foi possível notar que mais da metade deles estão relacionados diretamente com o haplótipo 21, que está presente em todas as áreas. Dentre os 21 encontrados, 16 pertencem a exclusivamente uma área. Segundo a classificação proposta por Avise (2000), cinco padrões de distribuição espacial de genótipos dentro de uma espécie podem ser observados. Ao analisar a figura 8, verifica-se que o comportamento dos haplótipos se enquadra quinto padrão proposto, onde há haplótipos exclusivos distribuídos nos locais e fluxo gênico médio limitado à distância percorrida pelas abelhas.

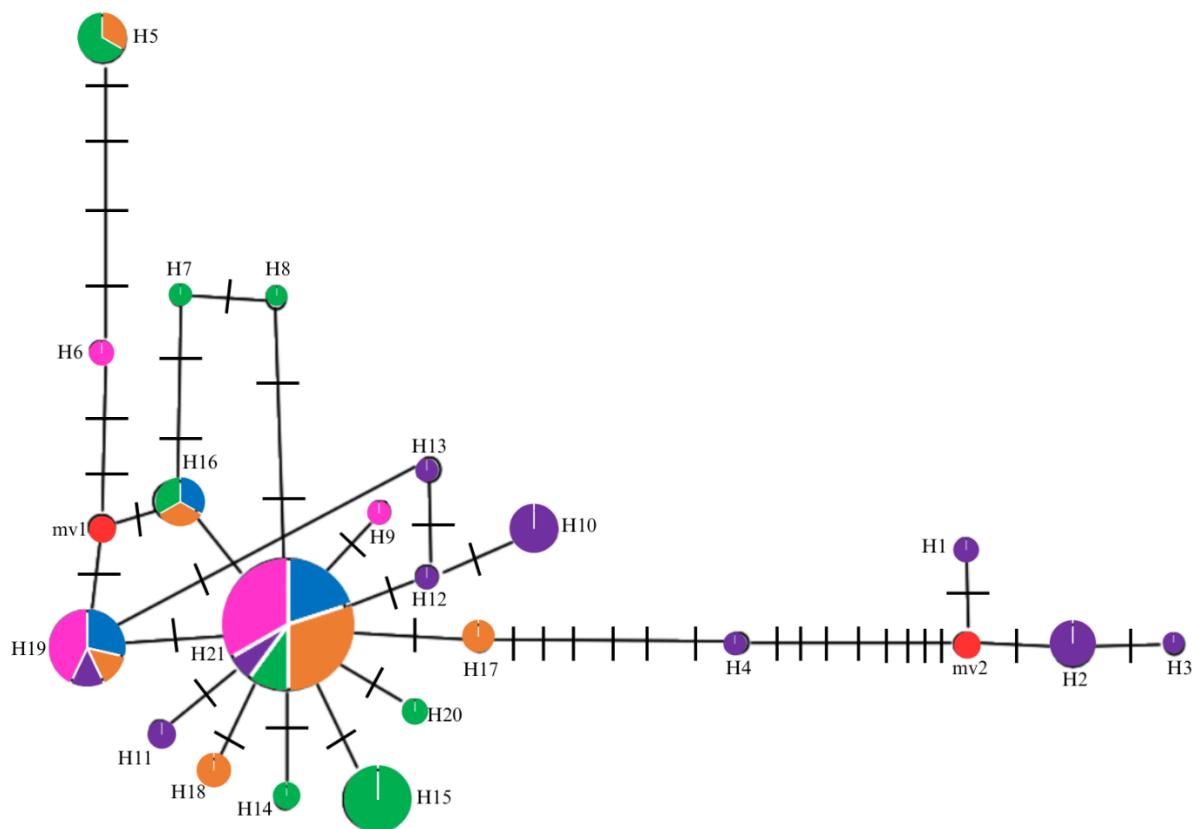


Figura 8. Rede de haplótipos onde os círculos representam os haplótipos, com os tamanhos proporcionais à quantidade de haplótipos por amostra, e as linhas perpendiculares aos ramos ligantes dos círculos representam passos mutacionais. Fazenda Água Limpa: verde; Campus Umuarama: azul; Campus Glória: laranja; Panga (2012): rosa; Panga (2021-2023): roxo. Em vermelho estão representados os vetores médios (haplótipos hipotéticos). Fonte: adaptada de NETWORK

A área que possui maior quantidade de haplótipos exclusivos é o Panga (2021-2023), com um total de oito. O distanciamento deles à direita da figura 8 pode ser explicada pelo possível afunilamento populacional ocorrido pelo incêndio no local e recolonização por indivíduos de áreas adjacentes (figura 9). Devido à proximidade dos locais, e não existência de barreiras geográficas, as populações são geneticamente próximas, demonstrando a possibilidade de que no passado houvesse contatos frequentes entre as *Xylocopa frontalis* da região.

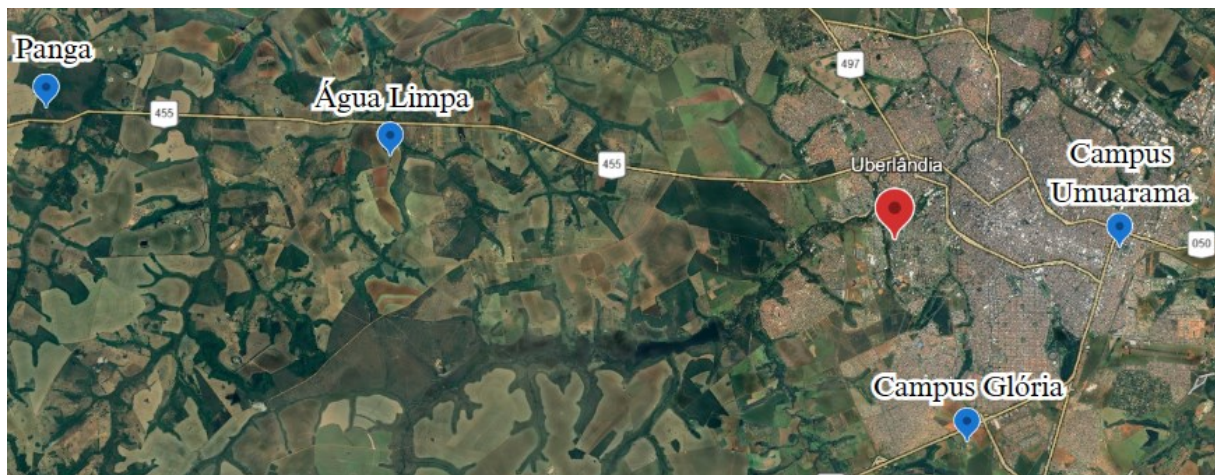


Figura 9. Mapa aéreo dos locais de coleta de amostras próximas à cidade de Uberlândia-MG. Fonte: Google Earth.

Conclusão

Em síntese, o presente estudo buscou analisar geneticamente as populações de *Xylocopa frontalis* em quatro diferentes locais ao longo em um intervalo de 11 anos e como fatores estocásticos e não estocásticos afetaram a dinâmica das populações. Os resultados obtidos revelam que dentre os 21 haplótipos encontrados, aqueles que demonstraram maior distância filogenética em relação aos demais, eram exclusivos das amostras Reserva Ecológica do Panga coletadas entre 2021 e 2023. Além disso, a identidade genética dessas em relação às outras localidades se mostrou menor devido a um incêndio que reduziu a população de *Xylocopa* no local, com abelhas de diferentes áreas se deslocando para o Panga posteriormente. Algumas estratégias podem ser adotadas para melhorar análises futuras e trazer mais informações sobre a dinâmica da população na área estudada como o aumento do número de amostras de cada área, amostragem de novas áreas e as análises de sequências de outras regiões mitocondriais e nucleares. Diante do exposto, o estudo apresentado reafirma a relevância da análise temporal genética de populações em áreas de preservação ambiental para uso sustentável na polinização de culturas de importância econômica para o país. Além disso, destaca a necessidade contínua de investigação e análise mais aprofundada sobre o assunto.

Referências Bibliográficas

ARIAS, M. C. *et al.* Permanent Genetic Resources added to Molecular Ecology Resources Database. *Molecular Ecol. Resources*, v. 13, p. 546–549, 2013.

BRUCKNER, C. H. *et al.* Auto-incompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético. [S.l.]: Embrapa Cerrados, Planaltina, 2005. p. 137–338.

CAVALCANTI, M. *Incêndio atinge Reserva do Panga*. Disponível em: <<https://comunica.ufu.br/noticias/2021/09/incendio-atinge-reserva-do-panga>>.

CAZARIN, C. B. B. *et al.* Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciência Rural*, v. 44, n. 9, p. 1699–1704, 2014.

CORPET, F. *Multli sequence alignment*. Disponível em: <<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>>. Acesso em: 8 nov. 2023.

COSTA, A. *Análise sociogenética de *Xylocopa frontalis* (Olivier) (Apidae, Xylocopini)*. 2018. 248- f. Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

DOS SANTOS, D. L. A. *Polinização Manual versus Polinização Entomófila no Cultivo de Maracujá Amarelo na Região do Distrito Federal*. 2016. Universidade de Brasília, 2016.

FREITAS, B. M.; OLIVEIRA FILHO, J. H. *Criação racional de mamangavas para polinização em áreas agrícolas*. [S.l.: s.n.], 2001.

GIANNINI, T. C. *et al.* Unveiling the contribution of bee pollinators to Brazilian crops with implications for bee management. *Apidologie*, v. 51, n. 3, p. 406–421, 2020.

IBAMA. *Portaria 72, de 04 de julho de 1997*. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=100725>>. Acesso em: 27 out. 2023.

IBGE. *List of Agricultural and Fishing Products*. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/en/statistics/technical-documents/statistical-lists-and-classifications/17176-list-of-agricultural-and-fishing-products.html?=&t=resultados>>. Acesso em: 5 jan. 2023.

IBGE. *Produção de Maracujá*. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/maracuja/br>>. Acesso em: 25 jan. 2023.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. *Perguntas e Respostas sobre RPPN*. Disponível em: <<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/servicos/servicos-do-icmbio-no-gov.br/crie-sua-rppn/perguntas-e-respostas-sobre-rppn>>. Acesso em: 7 nov. 2023.

- JUNQUEIRA, C. N.; AUGUSTO, S. C. *Guia Prático Para Criação e Manejo de Polinizadores do Maracujá-Amarelo*. [S.l: s.n.], 2018.
- KLINE, O.; JOSHI, N. K. Mitigating the effects of habitat loss on solitary bees in agricultural ecosystems. *Agriculture (Switzerland)*, v. 10, n. 4, 2020.
- LANDAU, E. C. *Evolução da Produção de Maracujá*. v. 2010, 2016.
- NEI, M. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics*, p. 583–590, 1978.
- PEREIRA, M.; GARÓFALO, C. A. Biologia da nidificação de *Xylocopa frontalis* E *Xylocopa grisescens* (Hymenoptera, Apidae, Xylocopini) em ninhos-armadilha. *Oecologia Australis*, v. 14, n. 1, p. 193–209, 2010.
- RAMOS, A. T.; CUNHA, M. A. L.; SABAA-SRUR, A. U. O. Uso de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* na redução do colesterol. v. 17, n. 4, p. 592–597, 2007.
- SIMON, C. *et al.* Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 87, n. 6, p. 651–701, 1994.
- TOLEDO, J. A. M. *et al.* Accessing the genetic content of *Xylocopa frontalis* bees (Apidae, Xylocopini) for sustainable management in pollination services of passion fruit. *Apidologie*, v. 48, n. 6, p. 795–805, 2017.
- TOLEDO, J. A. M. *Análise molecular populacional de Xylocopa frontalis (Apidae, Xylocopini) em áreas de plantio do maracujá amarelo em Uberlândia-MG como ferramenta para o manejo sustentável*. 2013. 2013.
- VIEIRA, P. F. DA S. P. *et al.* Valor econômico da polinização por abelhas mamangavas no cultivo do maracujá-amarelo. *Iberoamericana de Economía Ecológica*, v. 15, p. 43–53, 2010.
- WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques*, v. 54, n. 3, p. 506–513, 1991.
- WOLOWSKI, M. *et al.* Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil. *Relatório temático sobre polinização, polinizadores e produção de alimentos no Brasil*, 2019.

YAMAMOTO, M. *Polinizadores do maracujá-amarelo (Passiflora edulis f. flavicarpa Deneger, Passifloraceae) no Triângulo Mineiro: riqueza de espécies, frequência de visitas e a conservação de áreas naturais*. 2009. Universidade Federal de Uberlândia, 2009.

ZERAIK, M. L. *et al.* Maracujá: um alimento funcional? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 3, p. 459–471, 2010.