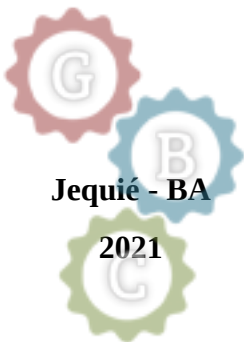




UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA,
BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO



USO DE BORBOLETAS FRUGÍVORAS NO BIOMONITORAMENTO DE
POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA POR ATIVIDADES DE MINERAÇÃO EM
BRUMADO – BAHIA, BRASIL



ELOITO CAIRES DE MATES

Jequié - BA

2021



ELOITO CAIRES DE MATES

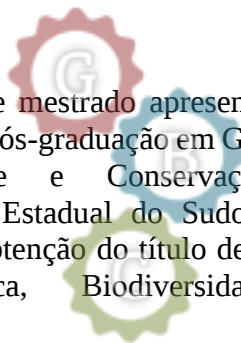


Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

**USO DE BORBOLETAS FRUGÍVORAS NO BIOMONITORAMENTO DE
POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA POR ATIVIDADES DE MINERAÇÃO EM
BRUMADO – BAHIA, BRASIL**



Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, para obtenção do título de Mestre em Genética, Biodiversidade e Conservação.



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Orientador: Prof^o. Dr^o. Raymundo José de Sá Neto

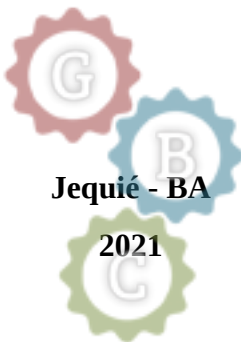
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Lorena Andrade Nunes

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Castellani



Jequié - BA

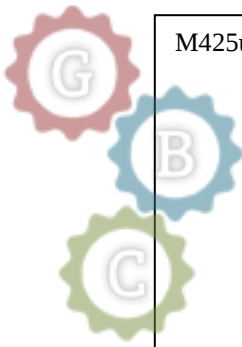
2021



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



M425u Mates, Eloito Caires de.

Uso de borboletas frugívoras no biomonitoramento de poluição atmosférica por atividades de mineração em Brumado – Bahia, Brasil / Eloito Caires de Mates.- Jequié, 2021. 65f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação do Prof. Dr. Raymundo José de Sá Neto e das coorientadoras Profa. Dra. Lorena Andrade Nunes e Profa. Dra. Maria Aparecida Castellani)

1.Poluição atmosférica 2.Mineração 3.Morfometria Geométrica
4.Borboletas frugívoras 5.Bioindicador 6.Assimetria Flutuante
I.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.Título

CDD – 363.7392

Rafaella Cância Portela de Sousa - CRB 5/1710. Bibliotecária – UESB - Jequié



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
Nº 16.825, de 04.07.2016

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “Uso de Borboletas Frugívoras no Biomonitoramento de Poluição Atmosférica por Atividades de Mineração em Brumado - Bahia, Brasil”.

Autor (a): Eloito Caires de Mates

Orientador (a): Prof. Dr. Raymundo José de Sá-Neto

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: GENÉTICA, BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Raymundo José de Sá-Neto – UESB / Vitória da Conquista-BA

Prof. Dr. Rafael Soares de Arruda – UFMT / Sinop

Profa. Dra. Raquel Perez-Maluf – UESB / Vitória da Conquista-BA

Data de realização: 11 de junho de 2021.

Campus de Jequié (73) 3528-9725 | ppggbc@uesb.edu.br



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

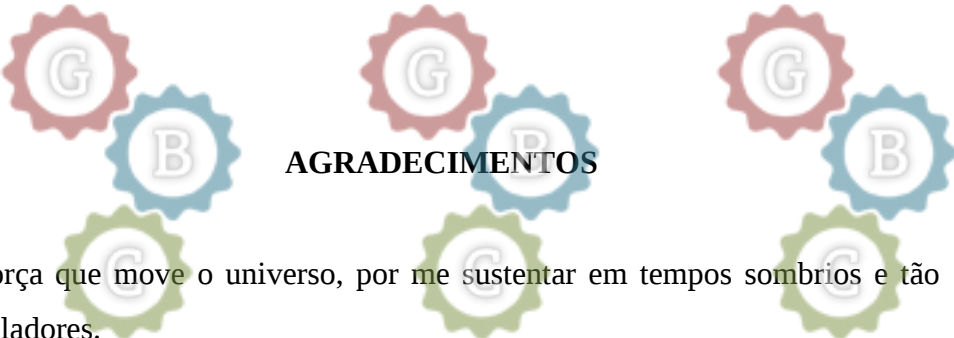


Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Aos que melhoram o mundo por amor à ciência, dedico.

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



AGRADECIMENTOS

À força que move o universo, por me sustentar em tempos sombrios e tão desoladores.

Aos meus pais, que são minha fonte de amor inesgotável e porto sempre seguro onde posso atracar sempre que me sentir perdido.

Ao meu irmão, minha sobrinha e minha cunhada que vibram e fazem parte de cada conquista sempre.

Aos familiares que foram e são anjos em minha vida, especialmente Beto, Tina, Carol, Thaynna, Nana, Lilian, Lili e Márcio...Não sei se teria chegado aqui sem vocês, muito obrigado.

Aos amigos que tenho o privilégio de ter em minha vida, Thaís, Jhon, Mary e em especial Larissa Adelita pelo suporte, amor e companheirismo, serei eternamente grato.

À Ana Caroline Plácido Cardoso pela ajuda com as fotografias, não tenho palavras para expressar minha gratidão.

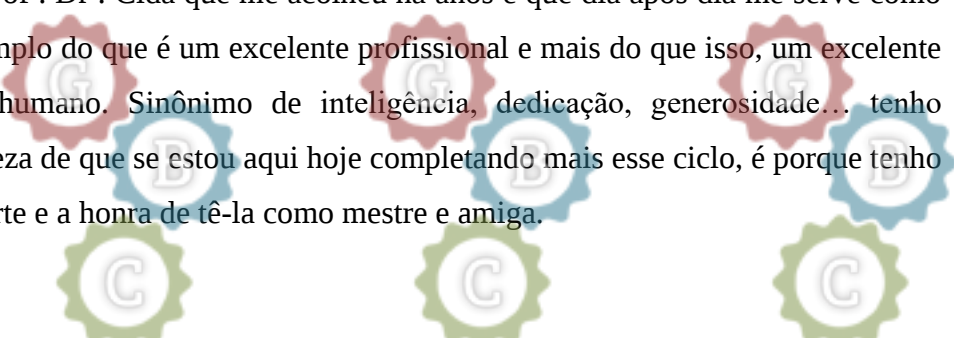
À Zenóbia e à Maria Carolina pela amizade verdadeira, pelo amor e pelas melhores risadas no laboratório e fora dele.

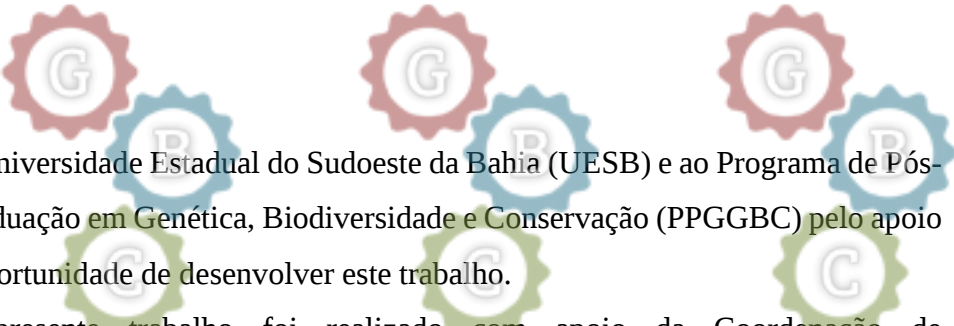
À Selminha e Aldenise por me passarem ainda que sem perceber um pouquinho do amor pelo laboratório e pela ciência.

Ao meu orientador, o Profº. Drº. Raymundo por ser um exemplo de profissional competente, por me ajudar a ampliar um pouco mais a visão do que é ciência e por ser um orientador humano que enxerga a pessoa e não mais um outro artigo, deixo aqui o meu muito obrigado.

À Profª. Drª. Lorena que sempre esteve disposta a ajudar, que tem por filosofia de vida que conhecimento é para compartilhar, que é uma profissional humana e dedicada, e me serve de inspiração.

À Profª. Drª. Cida que me acolheu há anos e que dia após dia me serve como exemplo do que é um excelente profissional e mais do que isso, um excelente ser humano. Sinônimo de inteligência, dedicação, generosidade... tenho certeza de que se estou aqui hoje completando mais esse ciclo, é porque tenho a sorte e a honra de tê-la como mestre e amiga.





À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) pelo apoio e oportunidade de desenvolver este trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse trabalho, o meu mais sincero obrigado.



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



BIOGRAFIA

Natural de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil, é Engenheiro Agrônomo formado pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista. Se formou no ano de 2018 e no ano seguinte ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação (PPGGBC) da mesma universidade, campus de Jequié, tendo como orientador o Profº. Drº. Raymundo José de Sá-Neto e como Coorientadores a Profª. Drª Lorena Andrade Nunes e a Profª. Drª. Maria Aparecida Castellani.



Programa de Pós-Graduação em
Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em
Genética, Biodiversidade e Conservação

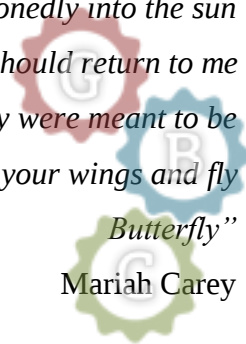


Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

*“Spread your wings and prepare to fly
For you have become a butterfly
Fly abandonedly into the sun
If you should return to me
We truly were meant to be
So spread your wings and fly
Butterfly”
Mariah Carey*



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação



RESUMO

Neste trabalho, são apresentados os resultados da pesquisa que foi realizada na cidade de Brumado, Bahia, Brasil, localizada na região nordeste do país e sudoeste do estado. A cidade é conhecida por desenvolver em seus domínios atividades ligadas a exploração de minério, sendo o do tipo magnesita o mais difundido. O trabalho foi conduzido em duas áreas, sendo a primeira área exposta a pluma de poluentes atmosféricos emitidos por empresa que trabalha com extração do minério magnesita e a segunda área sem a exposição da pluma de poluentes. Foram usadas no estudo duas espécies de borboletas frugívoras (*Eunica tatila* e *Hamadryas februa*) que fazem parte de um acervo mantido no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. Os espécimes foram coletados em ambas as áreas durante um período de 23 meses e de forma ininterrupta, sendo realizada a primeira coleta no mês de março do ano de 2016.

As borboletas tiveram todas as asas removidas, fotografadas e digitalizadas com o auxílio de softwares específicos que são usados em análises que se aplicam a técnica da morfometria geométrica. Foram realizadas análises de função discriminante e validação cruzada para avaliar a forma da asa e teste-*t* com correlação de Welch para avaliar o tamanho da asa, foram feitas também análises de Assimetria Flutuante comparando áreas através de One-Way ANOVA.

Os resultados apontam que as asas anteriores são bons biomarcadores e que ambas as espécies podem ser utilizadas em estudos de biomonitoramento, no entanto, a espécie *Hamadryas februa* se destaca como um importante bioindicador podendo contribuir para uma rápida identificação de agentes estressores e assim ajudar na mitigação de possíveis impactos ambientais.

Palavras-chave: Poluição atmosférica; Mineração; Morfometria Geométrica; Borboletas frugívoras; Bioindicador; Assimetria Flutuante



ABSTRACT

In this work, are the results of the research that was carried out in the city of Brumado, Bahia, Brazil, located in the northeast of the country and southwest of the state. The city is known for developing in its domains activities related to the exploration of ore, being the magnesite type the most widespread. The work was conducted in two areas, the first area being exposed to the plume of atmospheric pollutants emitted by a company that works with the extraction of magnesite ore and the second area without exposure to the plume of pollutants. Two species of fruit-feeding butterflies (*Eunica tatila* and *Hamadryas februa*) belonging to collection deposited in the Laboratory of Entomology at the State University of Southwest Bahia (UESB), the campus of Vitória da Conquista, Bahia, Brazil were used in the study. The specimens were collected in both areas for 23 months and without interruption, the first collection being carried out in March of 2016.

The butterflies had all their wings removed, photographed, and digitized with the help of specific software that is used in analyzes that apply the technique of geometric morphometrics. Discriminant function and cross-validation analyzes were performed to evaluate a wing shape and a t-test with Welch's correlation to evaluate the wing size, as well as Fluctuating Asymmetry analysis comparing areas through One-Way ANOVA.

The results show that the forewings are good biomarkers and that both species can be used in biomonitoring studies, however, the species *Hamadryas februa* stands out as an important bioindicator that can contribute to the quick identification of stressors and thus help in mitigation of possible environmental impacts.

Keywords: Air pollution; Mining; Geometric Morphometrics; Fruit-feeding butterflies; Bioindicator; Fluctuating Asymmetry



LISTAS DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Marcos anatômicos (amarelo) e semi-marcos anatômicos (vermelho) em asa anterior (A) e posterior (B) da espécie *Eunica tatila* e anterior (C) e posterior (D) da espécie *Hamadryas februa* 35

Figura 2. Variação na forma da asa anterior direita de indivíduos da espécie *Eunica tatila* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas. 37

Figura 3. Variação na forma da asa posterior direita de indivíduos da espécie *Eunica tatila* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas. 37

Figura 4. Variação na forma da asa anterior direita de indivíduos da espécie *Hamadryas februa* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas. 38

Figura 5. Distância média dos marcos anatômicos para o centróide da asa de borboletas amostradas em áreas da pluma de mineração e fora da pluma de mineração de magnesita em Brumado, Bahia, Brasil 40

CAPÍTULO II

Figura 1. Representação de ambas as asas (direita e esquerda) com os marcos anatômicos (amarelo) e semi-marcos anatômicos (vermelho) em asa anterior (A) e posterior (C) da espécie *Eunica tatila* e anterior (B) e posterior (D) da espécie *Hamadryas februa* 54

Figura 2. Boxplot de One-Way ANOVA indicando a variação da Assimetria Flutuante em asas anteriores e posteriores de *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* em áreas expostas a pluma de poluentes e em áreas não expostas a pluma de poluentes na região de Brumado, Bahia, Brasil..... 57

Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e Conservação

Genética, Biodiversidade e Conservação



LISTAS DE TABELAS



CAPÍTULO I

Tabela 1. Número de indivíduos de borboletas usados, separados por espécie de borboletas, asa anterior e posterior, e ambiente com influência e sem influência da pluma de poluentes em Brumado, Bahia, Brasil 34

Tabela 2. Percentual de Alocação Correta por validação cruzada (VC) para as espécies de borboleta *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* em área com pluma de mineração e em área sem pluma em Brumado, Bahia, Brasil37

CAPÍTULO II

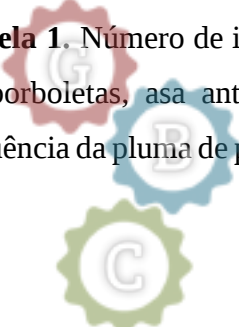
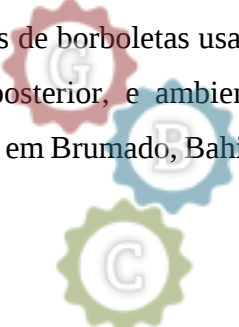


Tabela 1. Número de indivíduos de borboletas usados, separados por espécie de borboletas, asa anterior e posterior, e ambiente com influência e sem influência da pluma de poluentes em Brumado, Bahia, Brasil..... 52



LISTAS DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AED – Demanda energética absoluta

ANOVA – Análise de variância

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CBD - Convenção Internacional sobre Diversidade Biológica

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CO - Monóxido de carbono

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

DNA - Ácido desoxirribonucleico

ER – Eficiência relativa

FA – Assimetria Flutuante

FAPESB - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

ME – Erro do marcador

N – Nitrogênio

NO₂ – Dióxido de nitrogênio

Nox - Óxidos de nitrogênio

O₃ – Ozônio

OMS – Organização Mundial da Saúde

PM - Materiais particulados

PPGGBC – Programa de Pós-Graduação em Genética, Biodiversidade e

Conservação

PTS – Material particulado

S.A - Sociedade Anônima

SO – Óxido de enxofre

SO₂ - Dióxido de enxofre

SP -São Paulo

UESB – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

VC – Validação cruzada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 Conservação da biodiversidade.....	17
2.2 Poluição atmosférica e seus efeitos sobre a biodiversidade.....	19
2.3 Morfometria geométrica.....	20
2.4 Borboletas frugívoras como bioindicador.	22
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	23
CAPÍTULO I: A morfologia alar de borboletas frugívoras como biomarcador de poluição atmosférica.....	30
Resumo.....	30
1. Introdução.....	31
2. Material e métodos.....	33
3. Resultados.....	36
4. Discussão.....	41
5. Conclusão.....	43
Referência.....	43
CAPÍTULO II: Assimetria Flutuante de borboletas frugívoras em área de mineração.	48
Resumo.....	48
1. Introdução.....	49
2. Material e métodos.....	51
3. Resultados.....	55
4. Discussão.....	58
5. Conclusão.....	59
Referência.....	60
CONCLUSÕES GERAIS	65

1. INTRODUÇÃO

Existem muitas fontes naturais de poluentes atmosféricos gasosos. Estes incluem vulcões, incêndios florestais e vazamentos de gás de áreas úmidas anaeróbicas. Em alguns casos, a magnitude das emissões naturais de poluição do ar pode rivalizar ou exceder as associadas às atividades humanas. Em outros casos, as emissões antropogênicas são mais importantes e estão aumentando em quantidade devido ao crescimento da população humana e devido a desenvolvimentos tecnológicos que resultam na emissão de poluentes (Freedman, 1995).

Esses poluentes que são lançados na atmosfera oriundos das mais diversas fontes, podem atuar sobre a biodiversidade provocando uma série de alterações, segundo Bell *et al.* (2017) em espécies vegetais, os poluentes do ar acabam exercendo efeitos negativos sobre o metabolismo, através do envolvimento de reações químicas e comprometimento da integridade das suas membranas celulares, resultando em redução do crescimento e desenvolvimento de plantas, enquanto em espécies animais, de acordo com Barker e Tingey (1992), os efeitos dos poluentes atmosféricos acidificantes, incluindo: dióxido de enxofre e ácidos derivados, material particulado (incluindo partículas radioativas), oxidantes fotoquímicos e compostos orgânicos (pesticidas transportados pelo ar), podem provocar efeitos fisiológicos (menor reprodução) ou efeitos ecológicos (perda de recursos alimentares). Efeitos na morfologia causados por poluentes atmosféricos são relatados por Gorriz *et al.* (1994) através de estudos com passeriformes e pequenos mamíferos, mostrando mudanças na morfologia de cílios do epitélio traqueal, de animais presentes em área de usina de carvão.

Sanseverino e Nessimian (2008), elenca dentre outros fatores, o aumento de gases poluentes, como algumas das alterações humanas que têm como consequência a mudanças na biologia de organismos e espécies, e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. E segundo esses autores, a observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações.

Sendo assim, a morfometria geométrica, abrange uma série de técnicas que visam descrever e representar a geometria das formas estudadas. Enquanto

nas abordagens tradicionais a variação da forma é estudada através da covariação entre pares de medidas lineares, a morfometria geométrica é capaz de descrever e localizar mais claramente as regiões de mudanças na forma e sobretudo, de construir e reconstituir graficamente estas diferenças (Moraes, 2003). A partir dessa técnica também é possível avaliar perturbações de natureza genética ou ambiental que os organismos podem enfrentar durante o desenvolvimento embrionário, as quais ele deve superar para que possa expressar o fenótipo pré-determinado (Nunes, 2012).

Borboletas são muito utilizadas em estudos sobre conservação de habitats degradados porque necessitam de plantas e habitats específicos para a sua sobrevivência, e por essa razão são especialmente vulneráveis à degradação ambiental, respondendo rapidamente às mudanças na vegetação e no clima. Sua taxonomia é relativamente bem conhecida e as técnicas de coleta são simples. Sua presença pode indicar comunidades ricas em espécies, e sua ausência, indicar perturbação e fragmentação (Araújo & Lima, 2009).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Conservação da biodiversidade

A biologia da conservação, é uma nova etapa na aplicação da ciência aos problemas de conservação, trata da biologia de espécies, comunidades e ecossistemas que são perturbados, direta ou indiretamente, por atividades humanas ou outros agentes. Seu objetivo é fornecer princípios e ferramentas para preservar a diversidade biológica (Soulé, 1985). Segundo Gaston (2010) a Convenção Internacional sobre Diversidade Biológica (CBD) define "'Diversidade biológica' como sendo a variabilidade entre organismos vivos de todas as fontes, incluindo, entre outros, ecossistemas terrestres, marinhos e outros ecossistemas aquáticos e os complexos ecológicos dos quais eles fazem parte; isso inclui diversidade dentro das espécies, entre espécies e ecossistemas".

Para Primack (1993) a biologia da conservação pode ser vista como uma ciência multidisciplinar que aborda a atual crise da biodiversidade. Sodhi e Ehrlich (2010) relatam que “nossas ações colocaram a humanidade em uma profunda crise ambiental. Destruímos, degradamos e poluímos os habitats naturais da Terra e de fato, praticamente

todos eles sentiram a influência das espécies dominantes. Como resultado, a grande maioria das populações e espécies de plantas e animais, partes importantes dos sistemas de suporte à vida humana, está em declínio e muitas já estão extintas”. Em geral, várias ameaças, como destruição de habitat, superexploração, mudança climática e espécies invasoras, levam a um aumento no risco de extinção de espécies (Brook *et al.*, 2008).

A perda de habitat e a redução de áreas naturais causadas pelas atividades antrópicas são as principais ameaças para a biodiversidade e a conservação das espécies (Sawchik *et al.*, 2005). A fragmentação do habitat envolve a transformação de grandes extensões de habitat em vários fragmentos menores de área total menor, isolados um do outro por uma matriz de habitat alterado (Wilcove *et al.*, 1986). A perda de habitat reduz a quantidade total de habitat adequado e, se tudo o mais for igual, diminui o tamanho da população, limitando a capacidade da paisagem de apoiar indivíduos. Sendo assim, populações menores estão sujeitas a maior risco de extinção por eventos estocásticos (Gaggiotti & Hanski, 2004).

Em um mundo cada vez mais dominado por humanos, onde a maioria de nós parece alheia à liquidação do capital de recursos naturais da Terra, a exploração de populações biológicas se tornou uma das ameaças mais importantes à persistência da biodiversidade global (Peres, 2010). Uma das principais causas do declínio de muitas espécies é a superexploração, resultando na possibilidade de risco de extinção em alguns casos (Crookes & Blignaut, 2019). A superexploração em meados do século XX causou o declínio e a extinção das populações de crocodilos do Nilo em muitas partes de sua área (De Smet, 1998).

Uma outra ameaça à conservação segundo Simberloff (2010) é a invasão de espécies, que no final acaba causando a extinção de outras espécies. Sendo uma espécie invasora “aquela que chega (geralmente com assistência humana) a um habitat que não havia ocupado anteriormente, depois estabelece uma população e se espalha de forma autônoma”.

De acordo Spangenberg (2007) a poluição também pode ser considerada uma força condutora no que se refere a perda de biodiversidade no cenário global.

2.2 Poluição atmosférica e seus efeitos sobre a biodiversidade

De acordo com a etimologia da palavra, poluição significa sujeira (do latim, *polluere*, significa sujar). No contexto atual, a palavra poluição ganhou importância devido à crise ambiental vivida pelo planeta e uma definição mais completa e aceita atualmente para poluição é “a degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; criem condições adversas sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente a biota; afetem condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente e lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões estabelecidos” (Brasil, 1981).

A poluição do ar é composta por uma mistura heterogênea de compostos de partículas gasosas e sólidas, que incluem principalmente ozônio (O₃), monóxido de carbono (CO), dióxido de enxofre (SO₂), óxidos de nitrogênio (NO_x), líquidos e materiais particulados (PM). O PM é uma mistura complexa de partículas extremamente pequenas e gotículas de líquido nas quais partículas primárias são emitidas diretamente na atmosfera, como a fuligem do diesel, enquanto partículas secundárias são criadas através da transformação físico-química de gases, como a formação de nitratos e sulfatos a partir do ácido nítrico gasoso e do dióxido de enxofre, respectivamente (Sun & Shang, 2018). A maioria dos poluentes do ar, por exemplo, material particulado (MP) e poluentes gasosos, como óxidos de nitrogênio (NO_x) ou ozônio troposférico (O₃), têm a capacidade de direta ou indiretamente de agir como moléculas pró-oxidantes, causando danos aos lipídios, ao DNA e / ou proteínas, a menos que o sistema antioxidante seja regulado positivamente. Não obstante, pode ocorrer um excedente de pró-oxidantes e, como consequência, a taxa na qual as moléculas danificadas se acumulam pode aumentar. Esta patologia é comumente referida como estresse oxidativo (Menzel, 1994; Halliwell e Gutteridge, 2015). Os NO_x estão entre os mais abundantes poluentes químicos urbanos e são considerados indicadores confiáveis de poluição geral do ar urbano (OMS, 2006).

Segundo Lovett (2009) nas últimas quatro décadas houve muita investigação sobre os efeitos da poluição atmosférica nos ecossistemas, e grande parte de seu trabalho se concentrou em respostas biogeoquímicas de lagos, florestas e estuários a níveis elevados de deposição de enxofre e nitrogênio. E segundo o mesmo autor, muitos estudos mostram que espécies vegetais e animais diferem em sensibilidade à poluição do ar e suas consequências biogeoquímicas, como a acidificação do solo e da água.

Os efeitos desses poluentes são sutis, mas podem ser graves. Alterações na composição de espécies de plantas devido ao enriquecimento de N podem não causar extinções imediatas, mas os efeitos podem se propagar através da cadeia alimentar para afetar muitos organismos em um ecossistema. Da mesma forma, aumentar o teor de N de uma árvore pode não a matar, mas pode torná-la mais suscetível a pragas e patógenos que podem matá-la. Mercúrio pode não matar peixes, mas pode reduzir o sucesso reprodutivo dos mergulhões que os comeram. Além disso, os efeitos da poluição do ar podem interagir com os resultantes de outras mudanças ambientais, incluindo mudanças climáticas, mudanças no uso da terra e introdução de espécies exóticas, para produzir estresse severo nos ecossistemas naturais (Lovett, 2009).

No geral, prevê-se que os níveis de poluição do ar existentes nos corredores urbanos e industriais possam ter impactos deletérios na eficiência de forrageamento de insetos e nas interações planta-inseto. Níveis de poluentes ambientais, tipos de voláteis que compreendem a pluma, sensibilidade das antenas de insetos aos constituintes da pluma, a abundância de plantas hospedeiras no ambiente e as condições do ar (ventoso *versus* calmo) do local, podem afetar de maneira diferente a extensão dos impactos ecológicos negativos (Fuentes *et al.*, 2016). Por isso, atualmente tem se tornado cada vez mais importante saber como isso tudo ocorre e tentar de alguma forma monitorar os impactos através do uso de técnicas adequadas, fazendo uso por exemplo da morfometria geométrica, que pode ser empregada em diversos estudos morfométricos.

2.3 Estudos morfométricos

A morfometria é o estudo quantitativo da forma biológica, variação da forma e covariação da forma com outras variáveis ou fatores bióticos ou abióticos. Essa quantificação introduz o rigor muito necessário na descrição e comparação entre morfologias. A aplicação de técnicas morfométricas, portanto, beneficia qualquer campo de pesquisa que dependa da morfologia comparativa: isso inclui sistemática e biologia evolutiva, bioestratigrafia e biologia do desenvolvimento (incluindo estudos de padrões de crescimento dentro de espécies, modularidade e padrões evolutivos, como heterocronia, etc.) (Webster & Sheets, 2010).

As análises morfométricas são cada vez mais difundidas em conjunto com análises de dados moleculares. Exemplos de tais usos combinados de dados incluem o mapeamento de dados de forma em filogenias inferidas a partir de sequências de DNA,

análises genéticas quantitativas baseadas em genealogias extraídas de informações de marcadores moleculares ou avaliações dos efeitos da hibridação na assimetria de forma. Portanto, ferramentas flexíveis para análise morfométrica são necessárias para uma crescente comunidade de usuários em várias áreas da ecologia e biologia evolutiva (Klingenberg, 2010).

Segundo Catalano (2010) o campo da morfometria geométrica compreende uma vasta gama de métodos para descrever a forma quantitativamente e os métodos mais utilizados em morfometria geométrica são baseados em pontos de referência. Nesse método, as localizações relativas de um conjunto de pontos identificados individualmente, "pontos de referência" que são biologicamente homólogos (de preferência como pontos, curvas ou superfícies delimitadoras), são remodelados em um conjunto de variáveis biométricas comuns, as "shape coordinates" (Schaefer & Bookstein, 2009).

A visualização das mudanças de forma está no cerne da morfometria geométrica. De fato, uma das principais vantagens da morfometria geométrica é que as diferenças de forma podem ser visualizadas diretamente como ilustrações ou animações por computador. Vários tipos diferentes de visualizações de formas e alterações de formas têm sido amplamente utilizados na morfometria geométrica. Eles são baseados principalmente em dois princípios: visualização da mudança de forma, mostrando os deslocamentos relativos dos pontos de referência correspondentes em diferentes formas ou mostrando a deformação de uma grade regular, um contorno ou uma superfície que é interpolada da mudança de forma. Essas duas abordagens também podem ser usadas em combinação. Os avanços na computação gráfica tornaram mais fácil produzir ilustrações atraentes de mudanças de forma em duas ou três dimensões com ambas as abordagens, e a animação por computador possui um potencial ainda maior (Klingenberg, 2013).

Pequenas diferenças em padrões morfométricos como desvios de simetria (Assimetria Flutuante) também podem ser vistos de uma melhor maneira com o auxílio dessa técnica. A assimetria flutuante (FA), representa pequenas variações aleatórias na simetria de caracteres bilaterais e é um parâmetro amplamente usado como medida de instabilidade de desenvolvimento em plantas e animais (Díaz *et al.*, 2004). A avaliação de FA na morfologia de um organismo está emergindo rapidamente como uma ferramenta importante para a avaliação das respostas biológicas ao estresse ambiental (Fair & Breshears, 2005).

2.4 Borboletas frugívoras como bioindicador

As borboletas correspondem a 13% de uma riqueza de 146.000 espécies de lepidópteros no mundo, sendo conhecidas no Brasil 3.288 espécies de borboletas classificadas em seis famílias: Hesperíidae, Lycaenidae, Nymphalidae, Papilionidae, Pieridae e Riodinidae (Brown Jr & Freitas, 1999).

As borboletas frugívoras fazem parte da família Nymphalidae (Lamas, 2004), e pertencem a quatro subfamílias: Biblidinae, Charaxinae, Nymphalinae e Satyrinae (Wahlberg *et al.*, 2009).

Considerando-se a sua biologia, as larvas da maioria das espécies de borboletas possuem hábito fitófago enquanto os indivíduos em fase adulta podem ser classificados em dois grupos tendo em vista sua preferência alimentar. As espécies que consomem néctar e, ocasionalmente, pólen, são inseridas no grupo de borboletas nectarívoras, com representantes em todas as famílias de borboletas. Enquanto aquelas que se alimentam preferencialmente de frutas fermentadas, exsudados de fezes e vegetais são classificadas como frugívoras, as quais incluem apenas membros da família Nymphalidae (Devries, 1987).

Entre os insetos, as borboletas são de suma importância em estudos conservacionistas, principalmente em ambientes fragmentados ou antropizados, fornecendo dados sobre perturbações e processos ambientais (Freitas *et al.*, 2003).

Tan (2018) em estudo de laboratório, com experimentos controlados analisando os impactos deletérios da fumaça no desenvolvimento e sobrevivência de borboletas, concluiu que há um retardo no desenvolvimento desses insetos, bem como uma diminuição no peso da pupa.

E segundo Arce (2015), realizando um estudo sobre o efeito dos poluentes particulados em alguns parques urbanos do município de Osasco, SP, verificou que borboletas, independentemente de serem frugívoras ou nectarívoras, podem ser usadas como indicadores biológicos de poluição do ar.

No presente estudo, as duas espécies de borboletas avaliadas são consideradas frugívoras e para facilitar a compreensão do trabalho, ele foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo é discutido o uso da morfometria alar dessas borboletas como um

biomarcador de poluição atmosférica e o segundo capítulo tem como foco o estudo da Assimetria Flutuante em área de mineração.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar a morfometria de borboletas frugívoras em área com influência direta da pluma de poluentes atmosféricos liberados pelo beneficiamento do minério magnesita, com a morfometria de borboletas em área sem essa influência.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar presença de Assimetria Flutuante (FA) em borboletas frugívoras presentes em área com influência direta da pluma de poluentes.
- Comparar a forma das asas de borboletas frugívoras, presentes em área com influência direta da pluma de poluentes com os da área de referência.
- Comparar o tamanho de asa de borboletas frugívoras, presentes em área com influência direta da pluma de poluentes com os da área de referência.

4. REFERÊNCIAS

RAUJO, PF. & LIMA, SF. 2009. Borboletas como bioindicadoras do estado de conservação de uma área de reserva legal - Patrocínio/MG. In: congresso de ecologia do Brasil, 9., São Lourenço. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil. São Lourenço: Congresso de Ecologia do Brasil, 2009. p. 1 - 3.

ARCE, P. A. 2015. Borboletas como bioindicadores biológicos de qualidade do ar: um estudo nos parques urbanos da cidade de Osasco, SP. 115f. Dissertação (Mestrado em Gestão Ambiental e Sustentabilidade), Universidade Nove de Julho (UNINOVE), Programa de Pós-Graduação em Administração, São Paulo, Sp, 2015.

BAI, Y; MA, L.B; XU, S.Q. & WANG, G.H. 2015. A Geometric Morphometric Study of the Wing Shapes of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) from the Qinling Mountains and Adjacent Regions. *Florida Entomologist*, [s.l.], v. 98, n. 1, p.162-169. Florida Entomological Society.

BARKER, JR. & TINGEY, DT. (Ed.). 1992. Air pollution effects on biodiversity. New York: van Nostrand Reinhold.

BELL, JNB.; POWER, SA. & DOLEY, D. 2017. Plants and atmospheric pollution. In: THOMAS, B.; MURRAY, BG.; MURPHY, DJ. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, v. 3: Crop Systems. 2 Ed. p. 332-340.

BRASIL. 1981. Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília (DF): Congresso Nacional, 1988. Lei nº. 6.938 de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Brasília (DF): Diário Oficial da União.

BROWN JR., K. S.; FREITAS, A. V. L. 1999. Lepidóptera. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. (Org.). *Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX*, 5: invertebrados terrestres. São Paulo: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). p. 227-243

BROOK, B. W., SODHI, N. S. & BRADSHAW, C. J. A. 2008 .Synergies among extinction drivers under global change. *Trends Ecol. Evol.* 23, 453–60.

CROOKES, D.j.; BLIGNAUT, J.n.. 2019. An approach to determine the extinction risk of exploited populations. *Journal For Nature Conservation*, [s.l.], v. 52, p.125-750, Elsevier BV.

DE SMET, K., 1998. Status of the Nile crocodile in the Sahara desert. *Hydrobiologia*. 391, 81–86.

DEVRIES, P.J. 1987. The butterflies of Costa Rica and their natural history,

Volume 1: Papilionidae, Pieridae, Nymphalidae. New Jersey: Princeton University Press, Princeton, US.

DÍAZ, M.; PULIDO, FJ. & MØLLER, AP. 2004. Herbivore effects on developmental instability and fecundity of holm oaks. *Oecologia* 139:224–34.

FAIR, JM. & BRESHEARS, DD. 2005. Drought stress and fluctuating asymmetry in *Quercus undulata* leaves: confounding effects of absolute and relative amounts of stress? *J Arid Environ* 62:235–249.

FREEDMAN, B. 1995. *Environmental Ecology: The Ecological Effects of Pollution, Disturbance, and Other Stresses*. 2. ed. Halifax: Academic Press, 606 p.

FREITAS, A.V. L., R.B. FRANCINI, K.S. BROWN, 2003. Insetos como indicadores ambientais. In L. Cullen Junior, C. ValladaresPádua & R. Rudran. *Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre*: Editora da UFPR, Curitiba, 667 p.

FUENTES, Jose D. et al. 2016. Air pollutants degrade floral scents and increase insect foraging times. *Atmospheric Environment*, [s.l.], v. 141, p.361-374, Elsevier BV.

GAGGIOTTI, O.E., HANSKI, I., 2004. Mechanisms of population extinction. In: Hanski, I., Gaggiotti, O.E. (Eds.), *Ecology, Genetics, and Evolution of Metapopulations*. Elsevier Academic Press, Burlington, pp. 166–337.

GASTON, K. J. Biodiversity. 2010. In: SODHI, Navjot S.; EHRLICH, Paul R. (Ed.). *Conservation Biology for All*. New York: Oxford University Press Inc., New York, p. 27-44.

GORRIZ, A.; LLACUNA, S.; DURFORT, M. & NADAL, J. 1994. A study of the ciliar tracheal epithelium on passerine birds and small mammals subjected

to air pollution: Ultrastructural study. Archives Of Environmental Contamination And Toxicology, [s.l.], v. 27, n. 1, p.1-6. Springer Nature.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M., 2015. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, USA.

KLINGENBERG, C.P. 2013. Visualizations in geometric morphometrics: how to read and how to make graphs showing shape changes. Hystrix, The Italian Journal Of Mammalogy, [s.l.], v. 24, n. 1, p.15-24.

KLINGENBERG, C.P. 2010. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources, [s.l.], v. 11, n. 2, p.353-357.

LAMAS, G. (ed.) 2004. Checklist: part 4A, Hesperioidea – Papilionoidea. In Atlas of Tropical Lepidoptera: checklist (J.B. Heppner, ed.). Association for Tropical Lepidoptera; Gainesville, Scientific Publishers, 439p.

LIMA, C. B. S; NUNES, L.A; CARVALHO, C.A.L; RIBEIRO, M.F; SOUZA, B.A; SILVA, C.S.B. 2016. Morphometric differences and fluctuating asymmetry in *Melipona subnitida* Ducke 1910 (Hymenoptera: Apidae) in different types of housing. Brazilian Journal Of Biology, [s.l.], v. 76, n. 4, p.845-850, 3 maio 2016. FapUNIFESP (SciELO).

LOVETT, Gary M. et al. 2009. Effects of Air Pollution on Ecosystems and Biological Diversity in the Eastern United States. Annals Of The New York Academy Of Sciences, [s.l.], v. 1162, n. 1, p.99-135.

MENZEL, D.B., 1994. The toxicity of air pollution in experimental animals and humans: the role of oxidative stress. Toxicol. Lett. 72:269–277.

MESSIAS, C.G. 2010. Análise da degradação ambiental da micro-bacia do Rio do Antônio em Brumado-BA: Contribuições para o desenvolvimento de programas de Educação Ambiental. 2010.

140 f. Dissertação (Mestrado em Geografia), Universidade de Brasília (UnB), Programa de Pós-Graduação em Geografia, Brasília, DF.

MORAES, D.A. 2003. A morfometria geométrica e a “revolução na morfometria”: localizando e visualizando mudanças na forma dos organismos. Boletim do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, ano III, no. 3, p. 1-5.

NUNES, L.A. 2012. Estruturação populacional, variações fenotípicas e estudos morfométricos em *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) no Brasil. 2012. 85 f. Tese (Doutorado) - Curso de Entomologia, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

OMS, 2006. Air Quality Guidelines: Global Update 2005: Particulate Matter, Ozone, Nitrogen Dioxide, and Sulfur Dioxide. World Health Organization.

PERES, C.A. Overexploitation. 2010. In: SODHI, Navjot S.; EHRLICH, Paul R. (Ed.). Conservation Biology for All. New York: Oxford University Press Inc., New York.

PRIMACK, R. B. 1993. Essentials of Conservation Biology. Sinauer: Sunderland, Massachusetts.

SANSEVERINO, A.M. & NESSIMIAN, J.L. 2008. Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. Oecologia Brasiliensis, Rio de Janeiro, v. 3, n. 12, p.382-405.

SAWCHIK, J. et al. 2005. Distribution patterns and indicator species of butterfly assemblages of wet meadows in southern Belgium. Belgian Journal of Zoology, Bruxelas, v. 135, n. 1, p. 43-52.

SCHAEFER, K.; BOOKSTEIN, F.L.. 2009. Does geometric morphometrics serve the needs of plasticity research? Journal Of Biosciences, [s.l.], v. 34, n. 4, p.589-599..

SEI, Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. Informações geográficas municipais – Brumado, BA. 2018. Disponível em: <[http://sim.sei.ba.gov.br/side/frame_tabela.wsp?tmp.tabela=t106&tmp.origem=side eo](http://sim.sei.ba.gov.br/side/frame_tabela.wsp?tmp.tabela=t106&tmp.origem=side%20eo)>. Acesso em: 24 nov. 2018.

SIMBERLOFF, D. 2010. Invasive species. In: SODHI, Navjot S.; EHRLICH, Paul R. (Ed.). Conservation Biology for All. New York: Oxford University Press Inc., New York.

SODHI, N.S.; EHRLICH, P.R. Introduction. 2010. In: SODHI, Navjot S.; EHRLICH, Paul R. (Ed.). Conservation Biology for All. New York: Oxford University Press Inc., New York.

SOULÉ, M. E. 1985. What Is Conservation Biology? Bioscience, [s.l.], v. 35, n. 11, p.727-734.

SPANGENBERG, J.H.. 2007. Biodiversity pressure and the driving forces behind. Ecological Economics, [s.l.], v. 61, n. 1, p.146-158.

SUN, Q; SHANG, Y. 2018. Particulate air pollution: Major research methods and applications in animal models. Environmental Disease, [s.l.], v. 3, n. 3, p.57-62.

TAN, Y. Q.; DION, E.; MONTEIRO, A. 2018. Haze smoke impacts survival and development of butterflies. Scientific Reports, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-10. Springer Science and Business Media LLC.

UEHARA-PRADO, M. 2003. Efeito de fragmentação florestal na guilda de borboletas frugívoras do Planalto Atlântico Paulista. 2003. 146 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo.

WAHLBERG, N., LENEVEU, J., KODANDARAMAIAH, U., PEÑA, C., NYLIN, S., FREITAS, A.V.L. & BROWER, A.V.Z. 2009. Nymphalid butterflies diversity following near demise at the Cretaceous/Tertiary boundary. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 276:4295-4302.

WEBSTER, Mark; SHEETS, H. David. 2010. A Practical Introduction to Landmark-Based Geometric Morphometrics. *The Paleontological Society Papers*, [s.l.], v. 16, p.163-188.

WILCOVE, D.S., MCLELLAN, C.H., DOBSON, A.P., 1986. Habitat fragmentation in the temperate zone. In: Soule', M.E. (Ed.), *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp. 237–256.

CAPÍTULO I: A morfometria alar de borboletas frugívoras como biomarcador de poluição atmosférica.

(Submetido a revista *Environmental pollution*)

Eloito Caires de Mates^{a*}, Lorena Andrade Nunes^b, Maria Aparecida Castellani^c, Raymundo José de Sá-Neto^a

^aLaboratório de Biodiversidade do Semiárido (Labisa), Universidade do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista, Brasil

^bUniFTC-Centro universitário, Jequié, Brasil

^cLaboratório de Entomologia, Universidade do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista, Brasil

*Autor correspondente.

Endereço de e-mail: eloitomates@gmail.com

Resumo: Ao longo dos últimos anos a poluição do ar tem se tornado cada vez mais um problema de saúde pública e um dos principais desafios das cidades em crescimento, e entre as principais fontes poluidoras a atividade mineradora apresenta um papel de destaque. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos das emissões aéreas de uma indústria mineradora no município de Brumado, Bahia, Brasil, em características morfométricas de duas espécies de borboletas frugívoras, *Hamadryas februa* e *Eunica tatila*. Os espécimes foram coletados em duas áreas distintas: (1) Área com influência direta da pluma de poluentes atmosféricos advindos de indústria mineradora e (2) Área sem influência direta da pluma de poluentes. A forma e o tamanho das duas espécies foram avaliados. Ambas as espécies presentes na área poluída apresentaram modificações importantes na forma da asa e apenas a *H.februa* apresentou diferença no tamanho da asa.

Palavras-chave: Poluição atmosférica; Mineração; Morfometria geométrica; Borboletas frugívoras; Bioindicador

1. Introdução

As borboletas são integrantes da ordem Lepidoptera, considerada a segunda maior ordem de insetos em relação a sua riqueza. São insetos terrestres, holometabólicos, de hábito diurno e, em geral, mastigadores de material vegetal no estágio larval e sugadores de líquidos na fase adulta (Brown e Freitas, 1999). O termo borboletas frugívoras representa os indivíduos adultos da família Nymphalidae, conhecidos por serem atraídos e se alimentarem de frutos e animais em decomposição, além de excrementos e exudatos de plantas (Devries et al., 1997).

As borboletas compreendem pouco menos de 20.000 espécies descritas no mundo das quais estima-se que em torno de 8.000 tenham distribuição neotropical (Lamas 2008). As borboletas neotropicais são muito diversificadas e proporcionalmente pouco conhecidas em relação às espécies de áreas temperadas (Bonebrake et al., 2010) Nymphalidae é a família com maior número de espécies entre as borboletas e possuem acentuada diversidade na região Neotropical, com cerca de 2.850 espécies, das quais 853 espécies são encontradas no Brasil (Casagrande et al., 2021). No entanto, embora a fauna de borboletas do Brasil seja relativamente bem amostrada, ainda existe uma “lacuna de conhecimento” na região nordeste, sendo a caatinga o bioma mais mal representado (Dos Santos et al., 2008).

Borboletas apresentam diversas relações ecológicas com outros organismos, cobrem boa parte dos processos essenciais dos ecossistemas terrestres e contribuem de forma considerável como biomassa alimentar para níveis tróficos superiores (Freitas et al., 2003) Elas possuem papéis importantes no ecossistema, sendo alguns deles polinizador e bioindicador. As borboletas são muito sensíveis às mudanças ambientais, elas são facilmente afetadas mesmo por perturbações relativamente menores no habitat. Portanto, a presença de borboletas pode ser usada como um indicador da qualidade ambiental (Uniyal e Mathur, 1998).

O biomonitoramento é uma ferramenta poderosa para avaliar a saúde ambiental, principalmente em ambientes impactados pela poluição, uma vez que se baseia no conceito de que respostas biológicas podem fornecer indicações seguras dos diversos níveis de estresse impostos pela poluição do

ar aos seres vivos (Shugart et al., 1992). Muitas características morfológicas de insetos adultos mostram uma resposta plástica às condições ambientais das larvas (Boggs e Niitepöld, 2016). O estágio larval é um momento de vulnerabilidade para borboletas, pois possuem um comportamento alimentar herbívoro e locomoção restrita, ficando muito expostas sobre as folhas da vegetação, e, consequentemente, suscetíveis a efeitos de concentração de poluentes do ar, podendo assim refletir em sua morfometria na fase adulta (Shephard, 2020). Nacua et al. (2020) relata que o estágio larval de borboletas como Papilionidae e Nymphalidae são muito sensíveis aos poluentes corrosivos na atmosfera (NO₂, O₃, SO, Material particulado e outros). Esses poluentes reagem com oxigênio úmido e água para formar ácidos inorgânicos e orgânicos, que entram em contato com as borboletas, ocorrendo reações de oxidação e redução, perturbando assim o processo catabólico e anabólico, por fim reduzindo o crescimento populacional. Foi visto também que os insetos que se alimentavam de folhas cobertas por material particulado cresceram mal, o que sugere que altos níveis de poluição do ar podem estar causando efeitos negativos em cascata nas comunidades de criaturas herbívoras.

Os biomarcadores são definidos como medidas funcionais de exposição a vários estressores e podem servir como um sistema de alerta precoce de declínios na qualidade ambiental e na saúde da população (Adams et al., 2001). Sanseverino e Nessimian (2008), elenca dentre outros fatores, o aumento de gases poluentes, como algumas das alterações humanas que têm como consequência a mudanças na biologia de organismos e espécies, e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. E segundo esses autores, a observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações. O aumento da influência negativa (estresse ambiental ou genético) pode atrapalhar os processos de desenvolvimento de um organismo, fazendo com que os indivíduos tenham mais dificuldade em manter um desenvolvimento preciso, o que se reflete no aumento da instabilidade do desenvolvimento (Markow, 1995). A asa em insetos tem se mostrado muito utilizada em estudos com biomarcadores, *Coleoptera* (Mikac et al., 2019), *Lepidoptera* (Živkovic et al., 2019), *Hymenoptera* (Dorneles et al., 2021).

O local onde o estudo foi conduzido fica localizado no município de Brumado, Bahia, Brasil, próximo a uma área de extração do minério magnesita, atividade geradora de poluentes atmosféricos. E onde nessa mesma área há abundância de borboletas.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar se a morfologia alar de borboletas frugívoras encontradas em áreas de mineração sofre alterações e pode ser utilizada como biomarcador de poluição do ar nessas áreas.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo e amostragem

As amostras de *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* foram coletadas no município de Brumado, Bahia, Brasil, em dois ambientes: 1) Sob influência direta da pluma de poluentes atmosféricos advindos da Unidade Industrial Catiboaba da Magnesita Refratários S.A e 2) Sem influência direta da pluma de poluentes. Os indivíduos foram capturados mensalmente no período de março de 2016 a janeiro de 2018, totalizando 23 meses de coleta. Utilizando o método proposto por Pedrotti et al. (2011), usando armadilhas do tipo von someren-rydon com iscas de banana fermentada e espaçadas a 50 metros uma da outra.

A escolha dos dois ambientes para a coleta das borboletas foi baseada em relatório do Estudo de Dispersão da Pluma de Poluentes, realizado por empresa contratada pela Magnesita Refratários. Esse mesmo relatório aponta que os resultados de Material Particulado (PTS) e Dióxido de Enxofre (SO₂) estão de acordo com os padrões estabelecidos pelo CONAMA, exceto o padrão primário dos Óxidos de Nitrogênio (NO_x - concentração média de 01h) (SILVA e outros, 2010).

As borboletas usadas no estudo estão acondicionadas em envelopes entomológicos dentro de caixas plásticas e submetidas a baixas temperaturas por um período entre três e cinco anos, alocadas no laboratório de Entomologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista.

2.2. Obtenção das imagens

Os espécimes foram previamente selecionados pelo critério de qualidade das asas. As asas deveriam apresentar o mínimo de integridade parcial para a colocação dos marcos e semi-marcos (Tab. 1)

Tabela 1. Número de indivíduos de borboletas usados, separados por espécie de borboletas, asa anterior e posterior, e ambiente com influência e sem influência da pluma de poluentes em Brumado, Bahia, Brasil.

Espécie	Asa	Área com influência da pluma	Área sem influência da pluma	Nº de indivíduos
<i>Eunica tatila</i>	Anterior	71	69	140
	Posterior	74	65	139
<i>Hamadryas februa</i>	Anterior	36	36	72
	Posterior	32	31	63

Após a seleção, as asas foram destacadas do corpo do inseto e depositadas sobre uma placa com fundo branco, contendo 1 centímetro de papel milimetrado servindo como referência de tamanho. Foi utilizada outra placa de vidro transparente sobre as asas para mantê-las o mais planas possível. Obtivemos as imagens com auxílio de uma câmera fotográfica (Canon EOS REBEL T3i) acoplada em tripé, com uma distância focal de 48mm.

2.3. Aquisição dos marcos e semi-marcos anatômicos e medida do erro

Após a obtenção das imagens foi gerado em arquivo com extensão TPS no TPSUtil v. 1.78 (Rohlf, 2019) para posterior inserção dos pontos de referência. Para a colocação dos marcos e semi-marcos anatômicos foram selecionadas regiões de intersecção de nervuras e regiões medianas. Os marcos e semi-marcos foram digitalizados na face dorsal da asa direita anterior e

posterior (Fig. 1) usando o programa tpsDIG2 versão 2.31(Rohlf, 2017). A medida do erro do marcador (ME) se faz necessária para que se evite erros importantes de medição, segundo (Palmer, 1994) o número mínimo de indivíduos para o teste deve ser de 30 indivíduos, sendo assim, para saber se o ME era significativo ou não, as asas de 32 indivíduos foram digitalizadas três vezes.

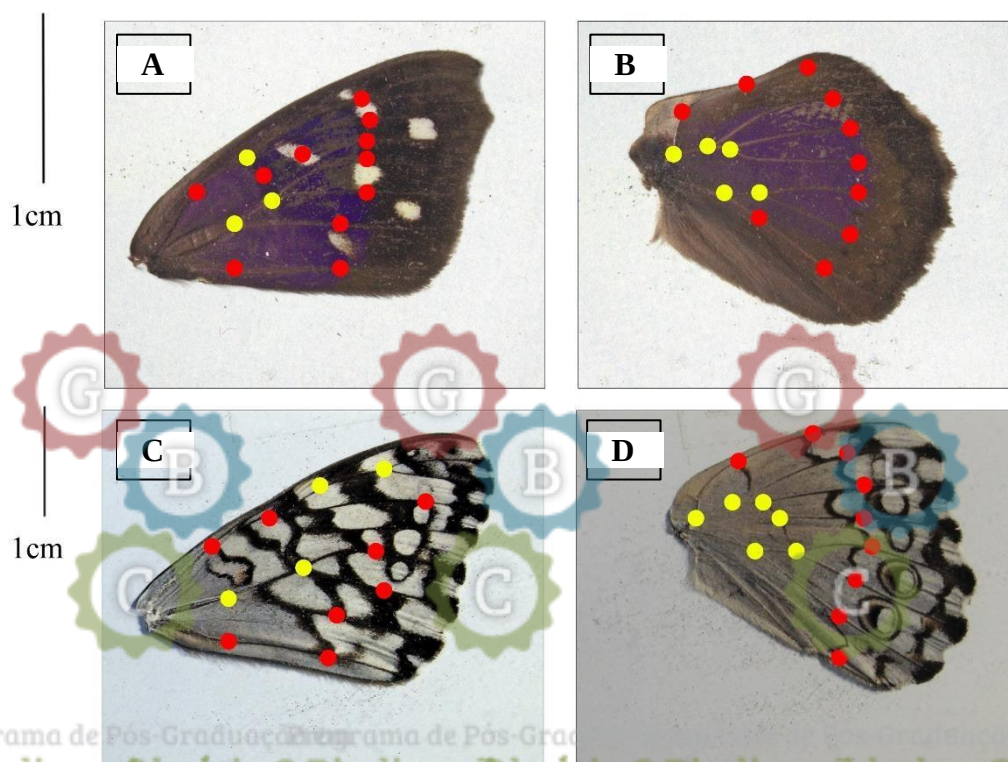


Figura 1. Marcos anatômicos (amarelo) e semi-marcos anatômicos (vermelho) em asa anterior (A) e posterior (B) da espécie *Eunica tatila* e anterior (C) e posterior (D) da espécie *Hamadryas februa*.

2.4. Análise dos dados

Com as coordenadas cartesianas x-y obtidas a partir dos marcos e semi-marcos anatômicos, foi realizado primeiro a sobreposição de procrustes, onde todos os marcos e semi-marcos foram postos em uma mesma configuração de tamanho, posição e orientação (Monteiro e Reis, 1999; Klingenberg, 2011), a partir do programa MorphoJ v. 1.06d (Klingenberg, 2011). Para análise da

forma, foram realizadas as análises de função discriminante e validação cruzada, este teste é realizado uma permutação com 1000 simulações para verificar se os dados observados diferem dos dados aleatorizados.

Para comparar o tamanho das asas entre amostras de borboletas na área da pluma de mineração e fora da pluma de mineração, foi realizado teste t para duas médias independentes com correção de variância de Welch no software R. Foram realizadas comparações para as asas anteriores e posteriores das duas espécies, utilizando um $\alpha = 5\%$.

3. Resultados

3.1. Diferenças na forma das asas de borboletas entre ambientes com influência e sem influência da pluma de poluentes

Modificações na morfologia das asas foram observadas para a espécie *Eunica tatila* (Fig. 2 e 3), com diferenças entre as formas médias da asa anterior ($t^2= 92.70$; número de permutação = 1000; $p<0.0001$) e posterior ($t^2= 158.97$; número de permutação = 1000; $p<0.0001$). Através da validação cruzada houve uma alocação correta de 70,73% dos grupos usando a asa anterior e 72,05% usando a asa posterior (Tab.2). Por sua vez, as modificações morfológicas para a espécie *Hamadryas februa* (fig. 4) foram observadas para a asa anterior ($t^2= 66.67$; número de permutação = 1000; $p=0.0056$), mas não houve diferença na asa posterior ($t^2= 46.33$; número de permutação = 1000; $p=0.4376$). E através da validação cruzada uma média de 65,27% dos grupos foram alocados corretamente usando a asa anterior (Tab.2).

Tabela 2. Percentual de Alocação Correta por validação cruzada (VC) para as espécies de borboleta *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* em área com pluma de mineração e em área sem pluma de mineração em Brumado, Bahia, Brasil.

Espécie	Asa	Áreas de Amostragem		Valor médio
		Sob influência da Pluma de Mineração	Fora da influência da Pluma de Mineração	
<i>E. tatila</i>	Anterior	69,01%	72,46%	70,73%
	Posterior	70,27%	73,84%	72,05%
<i>H. februa</i>	Anterior	58,33%	72,22%	65,27%
	Posterior	46,87%	48,38%	47,62%

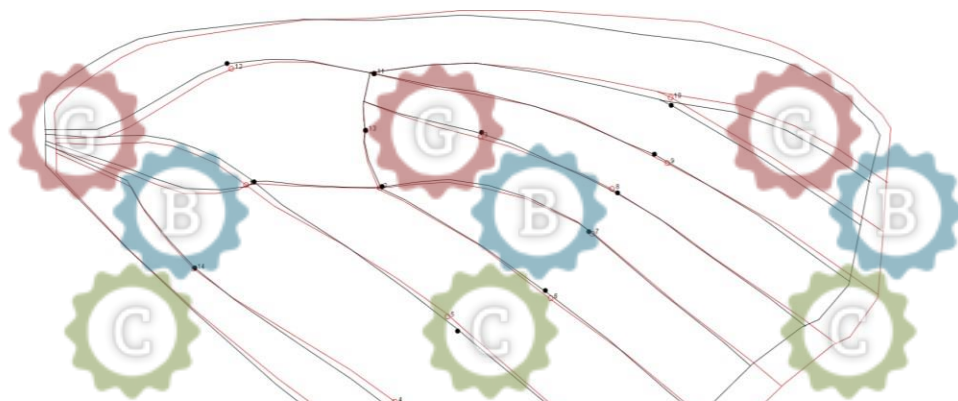


Figura 2. Variação na forma da asa anterior direita de indivíduos da espécie *Eunica tatila* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas.



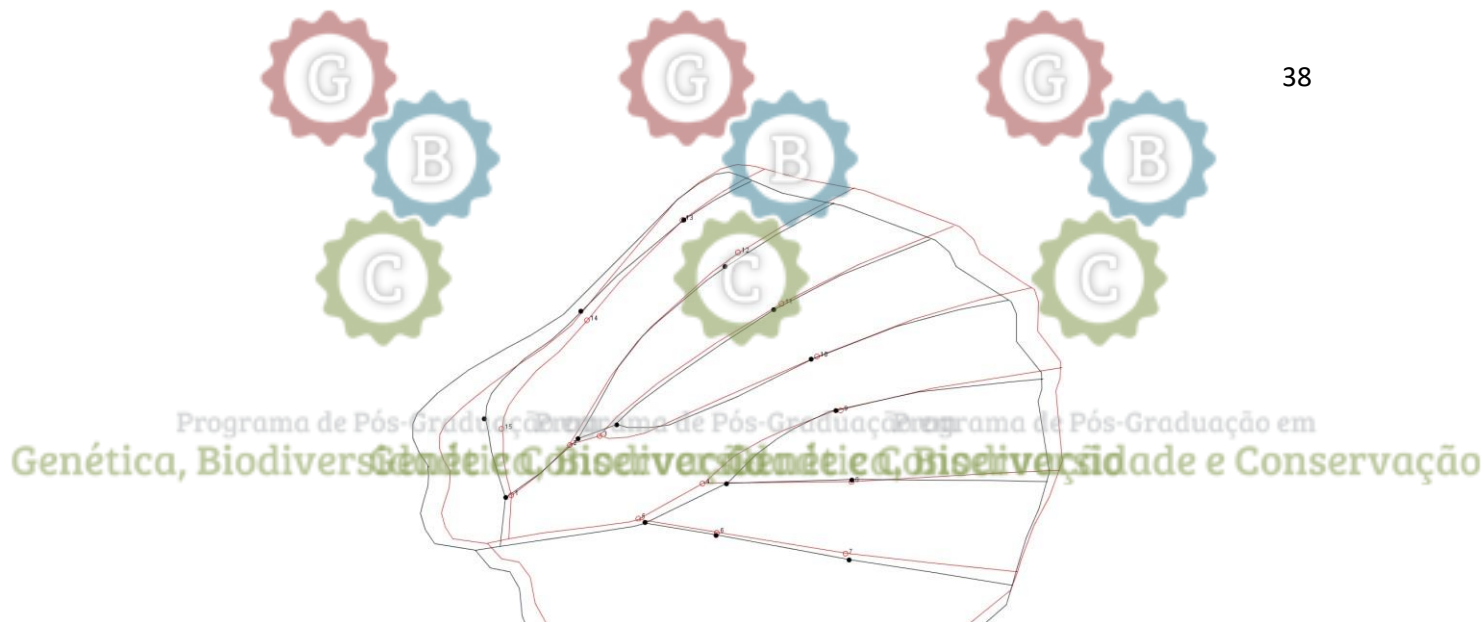


Figura 3. Variação na forma da asa posterior direita de indivíduos da espécie *Eunica tatila* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas.

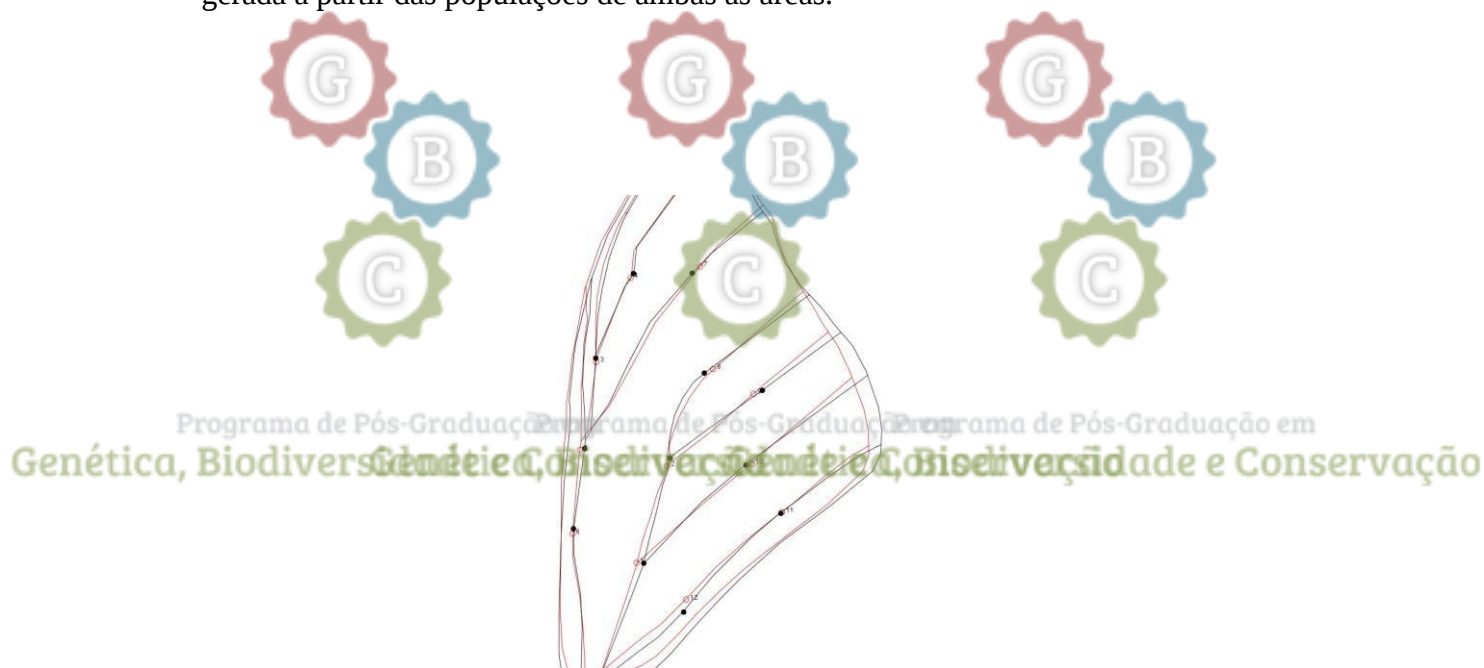


Figura 4. Variação na forma da asa anterior direita de indivíduos da espécie *Hamadryas februa* amostrados na área de pluma de mineração (tonalidade preta) em contraste com a forma média (tonalidade vermelha), que é a forma gerada a partir das populações de ambas as áreas.

3.2. Variação de tamanho

Para a espécie *Eunica tatila* foi observado que a dimensão média da distância ao centróide da asa anterior era de $1.6241 \pm 0.1197\text{cm}$, para as

amostras na pluma de mineração, enquanto houve uma dimensão média de 1.6073 +/- 0.1090 cm para as amostras fora da pluma de mineração (Fig. 5). Isso não representa uma diferença entre as duas amostras ($t^2=0.8728$; GL=137.42; $p = 0.3843$). Para a asa posterior foi observado que a dimensão média do tamanho do centróide foi de 1.7241 +/- 0.1234 cm, para as amostras na pluma de mineração, enquanto houve uma dimensão média de 1.7446 +/- 0.1176 cm para as amostras fora da pluma de mineração (Fig. 5). Isso não representa uma diferença entre as duas amostras ($t^2=-1,0025$ GL=136,08; $p=0.3179$).

Para a espécie *Hamadryas februa* foi observado que a dimensão média da distância ao centróide da asa anterior era de 2.4789 +/- 0.1802 cm, para as amostras na pluma de mineração, enquanto houve uma dimensão média de 3.3370 +/- 0.3376 cm para as amostras fora da pluma de mineração (Fig. 5). Isso representa uma diferença entre as duas amostras ($t^2=-13.4550$; GL=53.447; $p < 0.0001$). Para a asa posterior foi observado que a dimensão média do tamanho do centróide foi de 2.4400 +/- 0.2143 cm, para as amostras na pluma de mineração, enquanto houve uma dimensão média de 3.2692 +/- 0.3504 cm para as amostras fora da pluma de mineração (Fig. 5). Isso representa uma diferença entre as duas amostras ($t^2=-11.289$; GL=49.4; $p < 0.0001$).



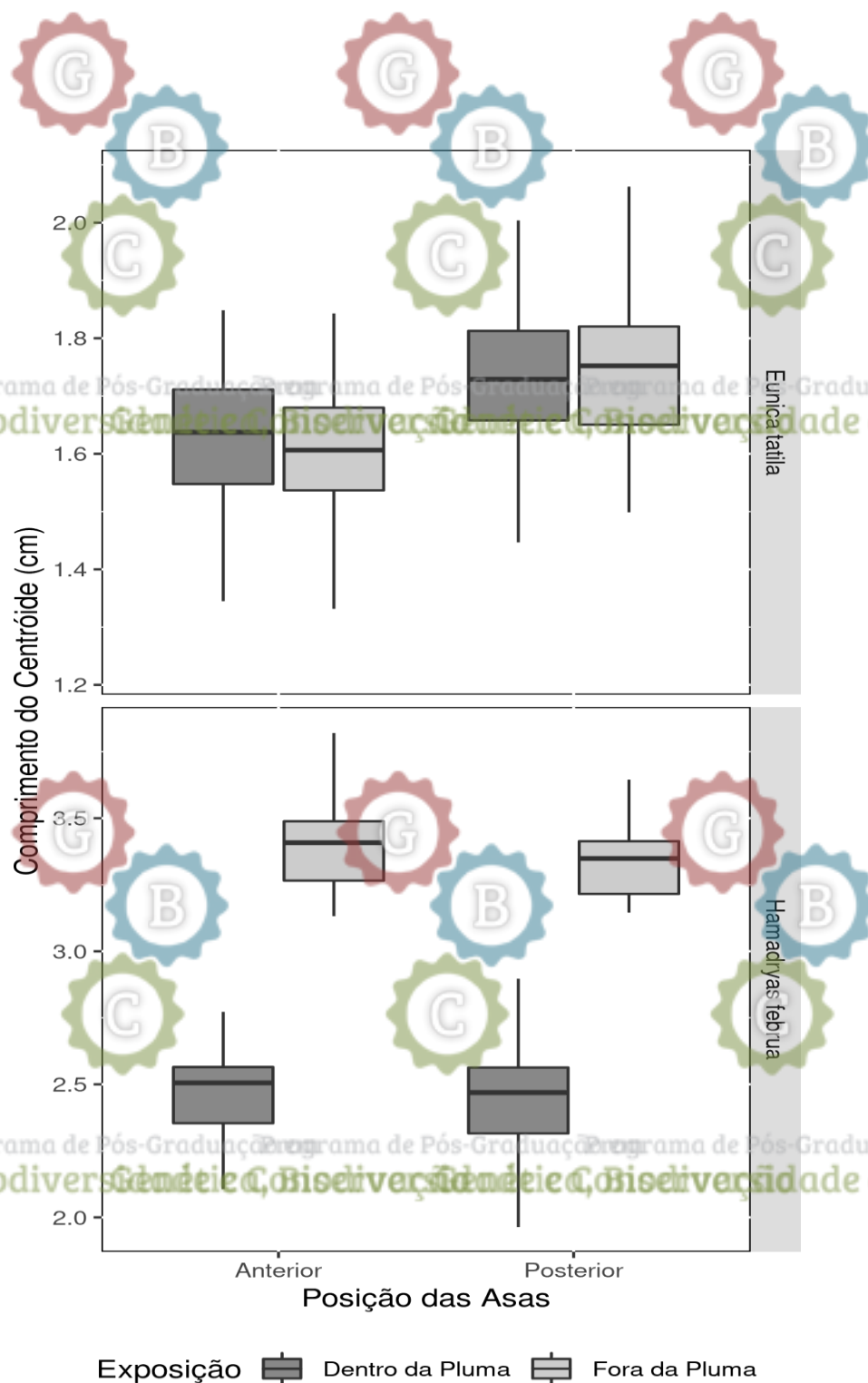


Figura 5. Distância média dos marcos anatômicos para o centróide da asa de borboletas amostradas em áreas da pluma de mineração e fora da pluma de mineração de magnesita em Brumado, Bahia, Brasil.

4. Discussão

Os resultados deste estudo indicam que houve sim, uma alteração no padrão morfológico das asas de *Eunica tatila* e *Hamadryas februa*. Isso poderia ser esperado, visto que em ambientes poluídos as espécies estão mais vulneráveis aos efeitos dos poluentes sobre sua fisiologia, morfologia e ecologia. Esses resultados corroboram com outros estudos utilizando mosca (Montaño-Campaz et al., 2019), abelhas (Szentgyörgyi et al., 2017; Rosa-Fontana et al., 2020), limpets (Abdelhady et al., 2018) e pássaros (Gorriz et al., 1994).

Entretanto, as modificações morfológicas entre as duas espécies são diferentes, na forma, e apenas *H. februa* teve diferenças no tamanho das asas. Isso pode ser fruto do maior porte de *H. februa*, segundo Tscharncke et al. (2002) espécies maiores se reproduzem de forma mais lenta, precisam de mais energia, recursos e exploram áreas maiores do que as espécies menores e segundo Young (2009) o arranjo espacial dos insetos adultos pode ser influenciado pelo local de alimentação no estágio larval.

Consequentemente, este maior tempo para o desenvolvimento larval de *H. februa* pode ocasionar maior tempo de exposição aos poluentes e assim, provocar modificações não só na forma, mas também no tamanho. Esse padrão pode ser observado em outras espécies, Osman et al. (2015) estudando um coleóptero como biomonitor de poluição do solo, percebeu redução no comprimento dos insetos da área poluída, atribuindo isso ao fato de que a deposição de poluentes poderia afetar a palatabilidade das plantas, tornando-as impalatáveis aos insetos fitófagos, que mal-nutridos na fase larval seriam menores na fase adulta. Por sua vez, Shephard et al. (2020) avaliando o efeito da exposição de borboletas ao zinco, que presente em ambientes poluídos pode ser mobilizado em plantas hospedeiras e assim ser consumido por borboletas em sua fase larval, constatou que uma espécie apresentou tempo de desenvolvimento prolongado, tamanho corporal adulto menor e taxa de crescimento mais lenta, consistente com a possibilidade de que a tolerância ao zinco tenha custos no fitness.

As modificações encontradas na asa da espécie *H. februa*, pode alterar a relação entre voo e planagem, visto que segundo DeVries et al. (2010) em geral asas mais estreitas e mais longas são consideradas aerodinamicamente mais

eficientes para voos planados longos, enquanto o padrão de asas largas e curtas que são modificações que a espécie *E. tatila* apresentou, são consideradas mais adequadas para voo ativo. Flockhart et al. (2017) avaliando a distância de migração em borboletas monarcas, percebeu que se elas iniciam a migração de outono de um ponto mais distante do local de hibernação, elas possuem maiores chances de chegar ao local se tiverem asas mais longas e área de superfície de asa maior, enquanto aquelas com asas mais curtas com área de superfície de asa pequena, apresentam maiores chances de chegar em seus locais se já partirem de um ponto mais próximo.

A redução do tamanho encontrado pode influenciar na dispersão, pois borboletas menores podem ter voos mais ágeis, como sugerido por Blanckenhorn (2000), assim poderiam explorar melhor áreas poluídas, visto que poderiam possuir melhor capacidade de deslocamento.

Através da morfometria geométrica das asas foi possível visualizar mudanças na forma da asa anterior, o que indica que é possível utilizá-la como biomarcadores de poluição do ar para as duas espécies. Ilic et al. (2019) comparando os métodos de morfometria tradicional e geométrica, para explorar a variação morfológica de girinos em estágios iniciais de desenvolvimento, observou que diferenças sutis na região da cauda só poderiam ser detectadas através da técnica da morfometria geométrica.

Assim, técnicas de morfologia tradicional devem observar diferenças apenas para variação do tamanho das asas em *H. februa*, consequentemente essa espécie apresenta vantagens como bioindicador, pois apresenta diferença tanto na forma como no tamanho e assim pode ser utilizada tanto em técnicas de morfometria geométrica quanto em técnicas de morfometria tradicional.

Os resultados deste estudo demonstram, que é mais recomendável a utilização das asas anteriores, visto que apresentou melhor resposta para as duas espécies, esse padrão também foi observado por Berns (2014) em seu trabalho com borboletas monarcas, onde a dieta influenciou apenas a forma da asa anterior.

As duas espécies podem ser utilizadas em biomonitoramento da qualidade do ar, mas apenas *H. februa* pode ser utilizada como biomarcador para técnicas de morfometria tradicional. Já para técnicas de morfometria geométrica, as asas anteriores são recomendáveis como biomarcadores nestes estudos.

5. Conclusão

- (1) *Hamadryas februa* responde melhor a mudanças na morfometria.
- (2) A asa anterior apresenta melhores resultados como biomarcadores para ambas as espécies.
- (3) Biomonitoramento com morfometria geométrica é mais sensível e pode detectar pequenas mudanças na forma da asa.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e à Agência Federal de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro - Código de Financiamento 001.

Um agradecimento especial a Ana Carolina Plácido Cardoso e Larissa Adelita Santana Costa Souza (UESB) pelo apoio.

Referências

- Abdelhady, A.A., Abdelrahman, E., Elewa, A.M.T., Fan, J., Zhang, S., Xiao, J., 2018. Phenotypic plasticity of the gastropod *Melanoides tuberculata* in the Nile Delta: A pollution-induced stabilizing selection. *Mar. Pollut. Bull.* 133. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.026>
- Adams, S.M., Giesy, J.P., Tremblay, L.A., Eason, C.T., 2001. The use of biomarkers in ecological risk assessment: Recommendations from the Christchurch conference on biomarkers in ecotoxicology. *Biomarkers* 6. <https://doi.org/10.1080/135475001452724>
- Berns A. R. 2014. A geometric morphometric analysis of wing shape variation in monarch butterflies *Danaus plexippus*. Ph.D. dissertation, University of Michigan, Ann Arbor, MI.
- Blanckenhorn, W.U., 2000. The Evolution of Body Size: What Keeps Organisms Small? *Q. Rev. Biol.* 75. <https://doi.org/10.1086/393620>

Boggs, C.L., Niitepöld, K., 2016. Effects of larval dietary restriction on adult morphology, with implications for flight and life history. *Entomol. Exp. Appl.* 159. <https://doi.org/10.1111/eea.12420>

Bonebrake, T.C., Ponisio, L.C., Boggs, C.L., Ehrlich, P.R., 2010. More than just indicators: A review of tropical butterfly ecology and conservation. *Biol. Conserv.* <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.04.044>

Brown Jr., K.S. & Freitas, A.V.L. 1999. Lepidoptera. In *Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil. Invertebrados terrestres* (C. R. F. Brandão & E.M. Canello, eds). FAPESP, São Paulo, p.227-243.

Casagrande MM, Mielke OHH, Dias FMS 2021. Nymphalidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil. PNUD. Disponível em: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/148720>. Acesso em: 13 Mai. 2021

DeVries, P.J., Murray, D., Lande, R., 1997. Species diversity in vertical, horizontal, and temporal dimensions of a fruit-feeding butterfly community in an Ecuadorian rainforest. *Biol. J. Linn. Soc.* 62. <https://doi.org/10.1006/bijl.1997.0155>

DeVries, P.J., Penz, C.M., Hill, R.I., 2010. Vertical distribution, flight behaviour and evolution of wing morphology in *Morpho* butterflies. *J. Anim. Ecol.* 79. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2010.01710.x>

Dorneles, A.L., Rosa-Fontana, A. de S., dos Santos, C.F., Blochtein, B., 2021. Larvae of stingless bee *Scaptotrigona bipunctata* exposed to organophosphorus pesticide develop into lighter, smaller, and deformed adult workers. *Environ. Pollut.* 272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116414>

Dos Santos, E.C., Mielke, O.H.H., Casagrande, M.M., 2008. Inventários de borboletas no Brasil: Estado da arte e modelo de áreas prioritárias para pesquisa com vistas à conservação. *Nat. a Conserv.* 6.

Flockhart, D.T.T., Fitz-gerald, B., Brower, L.P., Derbyshire, R., Altizer, S., Hobson, K.A., Wassenaar, L.I., Norris, D.R., 2017. Migration distance as a selective episode for wing morphology in a migratory insect. *Mov. Ecol.* 5. <https://doi.org/10.1186/s40462-017-0098-9>

Freitas, A. V. L., R. B. Francini & K. S. Brown Jr. 2003. Insetos como indicadores ambientais. Páginas 125-151, Capítulo 5 In: Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Cullen Jr., L., R. Rudran & C. Valladares-Pádua (organizadores). Editora da UFPR; Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, 667pp.

Gorriz, A., Llacuna, S., Durfort, M., Nadal, J., 1994. A study of the ciliar tracheal epithelium on passerine birds and small mammals subjected to air pollution: Ultrastructural study. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 27. <https://doi.org/10.1007/BF00203900>

Ilic, M., Joji, V., Stamenkovi, G., Markovi, V., Simi, V., Paunovi, M., Crnobrnja-Isailovi, J., 2019. Geometric vs. traditional morphometric methods for exploring morphological variation of tadpoles at early developmental stages. Amphib. Reptil. 40. <https://doi.org/10.1163/15685381-00001193>

Klingenberg, C. P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Molecular Ecology Resources 11: 353-357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>

Lamas, Gerardo. (2008). La sistemática sobre mariposas (Lepidoptera: Hesperioidea y Papilionoidea) en el mundo: Estado actual y perspectivas futuras. Contribuciones Taxonómicas En Órdenes De Insectos Hiperdiversos. 57-70.

Markow, T.A., 1995. Evolutionary ecology and developmental instability. Annu. Rev. Entomol. Vol. 40. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.40.1.105>

Mikac, K.M., Lemic, D., Benítez, H.A., Bažok, R., 2019. Changes in corn rootworm wing morphology are related to resistance development. J. Pest Sci. (2004). 92. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-01077-2>

Montaño-Campaz, M.L., Gomes-Dias, L., Restrepo, B.E.T., García-Merchán, V.H., 2019. Incidence of deformities and variation in shape of mentum and wing of *Chironomus columbiensis* (Diptera, Chironomidae) as tools to assess aquatic contamination. PLoS One 14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210348>

Monteiro, L.R. & Reis, S.F. 1999. Métodos para Superposição de Marcos Anatômicos. In: Princípios de Morfometria Geométrica, Ribeirão Preto; Holos.

Nacua, A.E., Clemente, K.J., Macalalad, E.P., Deocarís, C.C., Galvez, M.C., 2020. Urban Diversity of Butterflies as a Biological Indicator of an Air Quality in Manila, Philippines. *Asian J. Conserv. Biol.* 9.

Osman, W., M. El-Samad, L., Mokhamer, E.H., El-Touhamy, A., Shonouda, M., 2015. Ecological, morphological, and histological studies on *Blaps polycresta* (Coleoptera: Tenebrionidae) as biomonitors of cadmium soil pollution. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4606-4>

Palmer, A.R., 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0830-0_26

Pedrotti, V.S., de Barros, M.P., Romanowski, H.P., Iserhard, C.A., 2011. Borboletas frugívoras (Lepidoptera: Nymphalidae) ocorrentes em um fragmento de floresta ombrófila mista no Rio Grande do Sul, Brasil. *Biota Neotrop.* 11. <https://doi.org/10.1590/s1676-06032011000100036>

Rohlf, F. J. 2017. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.31. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Rohlf, F. J. 2019. tpsUtil, file utility program. version 1.78. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

Rosa-Fontana, A., Dorigo, A.S., Galaschi-Teixeira, J.S., Nocelli, R.C.F., Malaspina, O., 2020. What is the most suitable native bee species from the Neotropical region to be proposed as model-organism for toxicity tests during the larval phase? *Environ. Pollut.* 265. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114849>

Sanseveriano, A.M., Nessimian, J.L., 2008. Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Aust.* 12. <https://doi.org/10.4257/oeco.2008.1203.03>

Shephard, A.M., Mitchell, T.S., Henry, S.B., Oberhauser, K.S., Kobiela, M.E., Snell-Rood, E.C., 2020. Assessing zinc tolerance in two butterfly species: consequences for conservation in polluted environments. *Insect Conserv. Divers.* 13. <https://doi.org/10.1111/icad.12404>

Shugart, L.R., McCarthy, J.F., Halbrook, R.S., 1992. Biological Markers of Environmental and Ecological Contamination: An Overview. *Risk Anal.* 12. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1992.tb00687.x>

Silva, L. S. A. et al. 2010. Relatório técnico: estudo de dispersão de poluentes da Magnesita Refratários S.A. Engenharia de Segurança do Trabalho e Meio Ambiente Ltda, n. 257, 31 p.

Szentgyörgyi, H., Morón, D., Nawrocka, A., Tofilski, A., Woyciechowski, M., 2017. Forewing structure of the solitary bee *Osmia bicornis* developing on heavy metal pollution gradient. *Ecotoxicology* 26. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1831-2>

Tscharntke, T., Steffan-Dewenter, I., Kruess, A., Thies, C., 2002. Characteristics of insect populations on habitat fragments: A mini review, in: *Ecological Research*. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1703.2002.00482.x>

Uniyal VP, Mathur PK (1998) Diversity of butterflies in the Great Himalayan National Park, Western Himalaya. *Indian Journal of Forestry* 21 (2): 150-155.

Young, A.M., 1974. On the biology of *Hamadryas februa* (Lepidoptera: Nymphalidae) in Guanacaste, Costa Rica. *Zeitschrift für Angew. Entomol.* 76. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1974.tb01897.x>

Živković, I.P., Barić, B., Drmić, Z., Balaško, M.K., Bažok, R., Lemic, D., Benitez, H.A., Dominguez Davila, J.H., Mikac, K.M. 2019. Codling moth wing morphology changes due to insecticide resistance. *Insects* 10. <https://doi.org/10.3390/insects10100310>

CAPÍTULO II: Assimetria Flutuante de borboletas frugívoras em área de mineração

(A ser submetido a revista Environmental pollution)

Eloito Caires de Mates^{a*}, Lorena Andrade Nunes^b, Maria Aparecida Castellani^c, Raymundo José de Sá-Neto^a

^aLaboratório de Biodiversidade do Semiárido (Labisa), Universidade do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista, Brasil

^bUniFTC-Centro universitário, Jequié, Brasil

^cLaboratório de Entomologia, Universidade do Sudoeste da Bahia (UESB), Vitória da Conquista, Brasil

*Autor correspondente.

Endereço de e-mail:eloitomates@gmail.com

Resumo: Ao longo dos anos a poluição do ar tem sido cada vez maior e inúmeras são as fontes de poluição, entre essas fontes a poluição através de emissões advindas da indústria mineradora tem ganhado destaque.

Para avaliar a saúde ambiental o biomonitoramento é um mecanismo muito utilizado e tem demonstrado ser muito eficiente quando se faz uso de ferramentas adequadas, como o uso da Assimetria Flutuante como ferramenta na avaliação da qualidade do ambiente.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da poluição do ar em área de mineração no município de Brumado, Bahia, Brasil, sobre a Assimetria Flutuante de duas espécies de borboletas frugívoras que foram coletadas em duas áreas distintas: 1) Área exposta a pluma de poluentes 2) Área sem exposição de poluentes. E em seguida tiveram todas as asas removidas, fotografadas e digitalizadas para que com o uso da técnica da morfometria geométrica, utilizando softwares específicos as análises pudessem ser feitas. Como resultado, ambas as espécies apresentaram valores elevados de Assimetria Flutuante na área exposta a pluma de poluentes, indicando o seu uso em estudos de biomonitoramento.

Palavras-chave: Poluição atmosférica; Mineração; Morfometria geométrica; Borboletas frugívoras; Bioindicador; Assimetria flutuante

1. Introdução

A mineração é uma das principais fontes de poluição no mundo (Pure Earth and Green Cross Switzerland, 2021) entretanto, muitos estudos apontam para a poluição no solo e na água, mas, poucos trabalhos avaliam os efeitos da mineração na poluição do ar, apesar do risco potencial para a saúde humana, devido a velocidade de dispersão e área de influência (Csavina et al., 2012).

A poluição do ar é um problema ambiental bastante associado às atividades industriais urbanas e fluxo de veículos, por isso é um dos principais desafios enfrentados por cidades em crescimento de muitos países desenvolvidos e em desenvolvimento (Komolafe, 2014; Maduna e Tomalić, 2017). Em relação aos principais poluentes atmosféricos, Pires (2002) relata que estão inclusos, o dióxido de enxofre (SO₂), os óxidos de nitrogênio (NO_x) e os particulados sólidos. E por se concentrar em ambientes urbanos, os principais impactos da poluição do ar estão associados à saúde humana. Cohen et al. (2017) afirmam que a poluição do ar contribui de forma substancial para a carga global de doenças, que aumentou nos últimos 25 anos, como resultado das tendências demográficas e epidemiológicas e dos níveis crescentes desse tipo de poluição em países de baixa renda e renda média. Se essas tendências continuarem, grandes reduções nos níveis de poluição serão necessárias para evitar o aumento da carga de doenças, a exemplo de asma, dermatite atópica e rinite alérgica (Van tran et al., 2020). Nas últimas quatro décadas houve muita investigação sobre os efeitos da poluição atmosférica nos ecossistemas, e grande parte dos estudos se concentra em respostas biogeoquímicas de lagos, florestas e estuários a níveis elevados de deposição de enxofre e nitrogênio (Lovett, 2009). Segundo o mesmo autor, muitos estudos mostram que espécies vegetais e animais diferem em sensibilidade à poluição do ar e suas consequências biogeoquímicas, como a acidificação do solo e da água.

Além disso, tem-se outros fatores, como o aumento de gases poluentes, que têm como consequência mudanças na biologia de organismos e espécies,

e na estrutura, dinâmica e padrões de populações e comunidades. A observação de mudanças no desenvolvimento em nível de indivíduo seria uma forma de avaliar essas perturbações (Sanseverino e Nessimian, 2008). O aumento da influência negativa (estresse ambiental ou genético) pode atrapalhar os processos de desenvolvimento de um organismo, fazendo com que os indivíduos tenham mais dificuldade em manter um desenvolvimento preciso, o que se reflete no aumento da instabilidade do desenvolvimento (Markow 1995). Portanto, o biomonitoramento é uma ferramenta poderosa para avaliar a saúde ambiental, principalmente em ambientes impactados pela poluição, uma vez que se baseia no conceito de que respostas biológicas podem fornecer indicações seguras dos diversos níveis de estresse impostos pela poluição do ar aos seres vivos (Shugart et al., 1992).

Para um biomonitoramento eficiente é importante detectar o efeito do estresse rapidamente, para que assim seja possível adotar ações corretivas de manejo a fim de mitigar o estresse antes que ele gere um impacto muito grave, Kim et al (2007) estudando o uso de uma célula de combustível microbiana aplicada como um sistema de biomonitoramento de poluentes, em uma estação de tratamento de águas residuais, viu que o mesmo possuía muitas vantagens para um aviso prévio, especialmente em aplicações práticas como monitoramento em tempo real a cada 10 minutos e alerta rápido.

Em condições normais, o desenvolvimento segue um caminho determinado geneticamente, e pequenas perturbações são controladas. No entanto, sob condições estressantes e limites de tolerância excedidos, o estresse leva à instabilidade do desenvolvimento de tal forma que o desenvolvimento não pode ser restaurado, causando aumento das variações fenotípicas, reduzindo a homeostase de um sistema biológico ou gerando desvios de simetria em um órgão ou na simetria relativa de um organismo. Neste contexto, o estresse identificado em nível morfológico geralmente significa que a plasticidade fisiológica e molecular não foi capaz de amortecer o estresse (Whiteman e Loganathan 2001).

Uma das formas de verificar a plasticidade de um organismo é por meio da assimetria flutuante (FA). Essa análise verifica os desvios pequenos e aleatórios da simetria perfeita da morfologia do organismo e é considerado um fator confiável para medir a estabilidade do desenvolvimento

porque reflete o estresse genético e ambiental e esta tem sido uma teoria importante na biologia evolutiva por décadas (Palmer, 1994).

A FA tem sido utilizada em estudos com animais, especialmente em insetos (Smith et al., 1997; Jones et al., 2005; Floate e Fox, 2000). Borboletas são utilizadas em estudos sobre conservação de habitats degradados porque necessitam de plantas e habitats específicos para a sua sobrevivência, e por essa razão são especialmente vulneráveis à degradação ambiental, respondendo rapidamente às mudanças na vegetação e no clima (Araújo & Lima, 2009). No entanto, poucos trabalhos são encontrados sobre avaliação de FA em borboletas, Henriques e Cornelissen (2019) publicaram o que acreditam ser o primeiro estudo a avaliar FA para uma comunidade de borboletas em gradientes tropicais e ambientais.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar se a Assimetria Flutuante em duas espécies de borboletas frugívoras pode ser utilizada como marcador de estresse induzido por poluição do ar em áreas de mineração, utilizando como hipótese que borboletas das áreas expostas a pluma de poluentes de mineração são mais assimétricas que borboletas das áreas sem exposição a pluma.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo e amostragem

Os espécimes utilizados no estudo pertencem à coleção científica. As borboletas usadas no estudo estão acondicionadas em envelopes entomológicos dentro de caixas plásticas e submetidas a baixas temperaturas por um período entre três e cinco anos e fazem parte da coleção científica do laboratório de Entomologia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), campus de Vitória da Conquista.

As amostras de *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* foram coletadas no município de Brumado, Bahia, Brasil, em dois ambientes: 1) Área exposta a pluma de poluentes atmosféricos advindos da unidade industrial Catiboaba da Magnesita Refratários S.A e 2) Área sem exposição a pluma de poluentes. Os

espécimes foram capturados mensalmente no período de março de 2016 a janeiro de 2018, totalizando 23 meses de coleta. Utilizando o método proposto por Pedrotti et al. (2011), usando armadilhas do tipo von someren-rydon com iscas de banana fermentada e espaçadas a 50 metros uma da outra.

A escolha dos dois ambientes para a coleta das borboletas foi baseada em relatório do Estudo de Dispersão da Pluma de Poluentes, realizado por empresa contratada pela Magnesita Refratários. Esse mesmo relatório aponta que os resultados de Material Particulado (PTS) e Dióxido de Enxofre (SO₂) estão de acordo com os padrões estabelecidos pelo CONAMA, exceto o padrão primário dos Óxidos de Nitrogênio (NO_x - concentração média de 01h) (SILVA e outros, 2010).

2.2. Obtenção das imagens

Os espécimes foram previamente selecionados pelo critério de qualidade das asas. As asas deveriam apresentar o mínimo de integridade parcial para a colocação dos marcos e semi-marcos (Tab. 1)

Tabela 1. Número de indivíduos de borboletas usados, separados por espécie de borboletas, asa anterior e posterior, e ambiente com influência e sem influência da pluma de poluentes em Brumado, Bahia, Brasil.

Espécie	Asa	Área com influência da pluma	Área sem influência da pluma	Nº de indivíduos
<i>Eunica tatila</i>	Anterior	65	65	130
	Posterior	74	58	132
<i>Hamadryas februa</i>	Anterior	36	36	72
	Posterior	29	29	58

Após a seleção, as asas direitas e esquerdas, anteriores e posteriores foram destacadas do corpo do inseto e depositadas sobre uma placa com fundo

branco, contendo 1 centímetro de papel milimetrado servindo como referência de tamanho. Foi utilizada outra placa de vidro transparente sobre as asas para mantê-las o mais planas possível. Obtivemos as imagens com auxílio de uma câmera fotográfica (Canon EOS REBEL T3i) acoplada em tripé, com uma distância focal de 48mm.

2.3. Aquisição dos marcos e semi-marcos anatômicos e medida do erro

Após a obtenção das imagens, as imagens das asas direitas anteriores e posteriores foram espelhadas assumindo a mesma configuração das asas esquerdas, e então foi gerado em arquivo com extensão TPS no TPSUtil (Rohlf, 2019) para posterior inserção dos pontos de referência. Para a colocação dos marcos e semi-marcos anatômicos foram selecionadas regiões de intersecção de nervuras e regiões medianas. Os marcos e semi-marcos foram digitalizados na face dorsal das asas (Fig. 1) usando o programa tpsDIG2 versão 2.31(Rohlf, 2017). Cada indivíduo foi medido 3 vezes com intuito de verificar a existência do erro do marcador (ME), segundo (Palmer, 1994) o número mínimo de indivíduos para o teste deve ser de 30 indivíduos, sendo assim, para saber se o ME era significativo ou não.

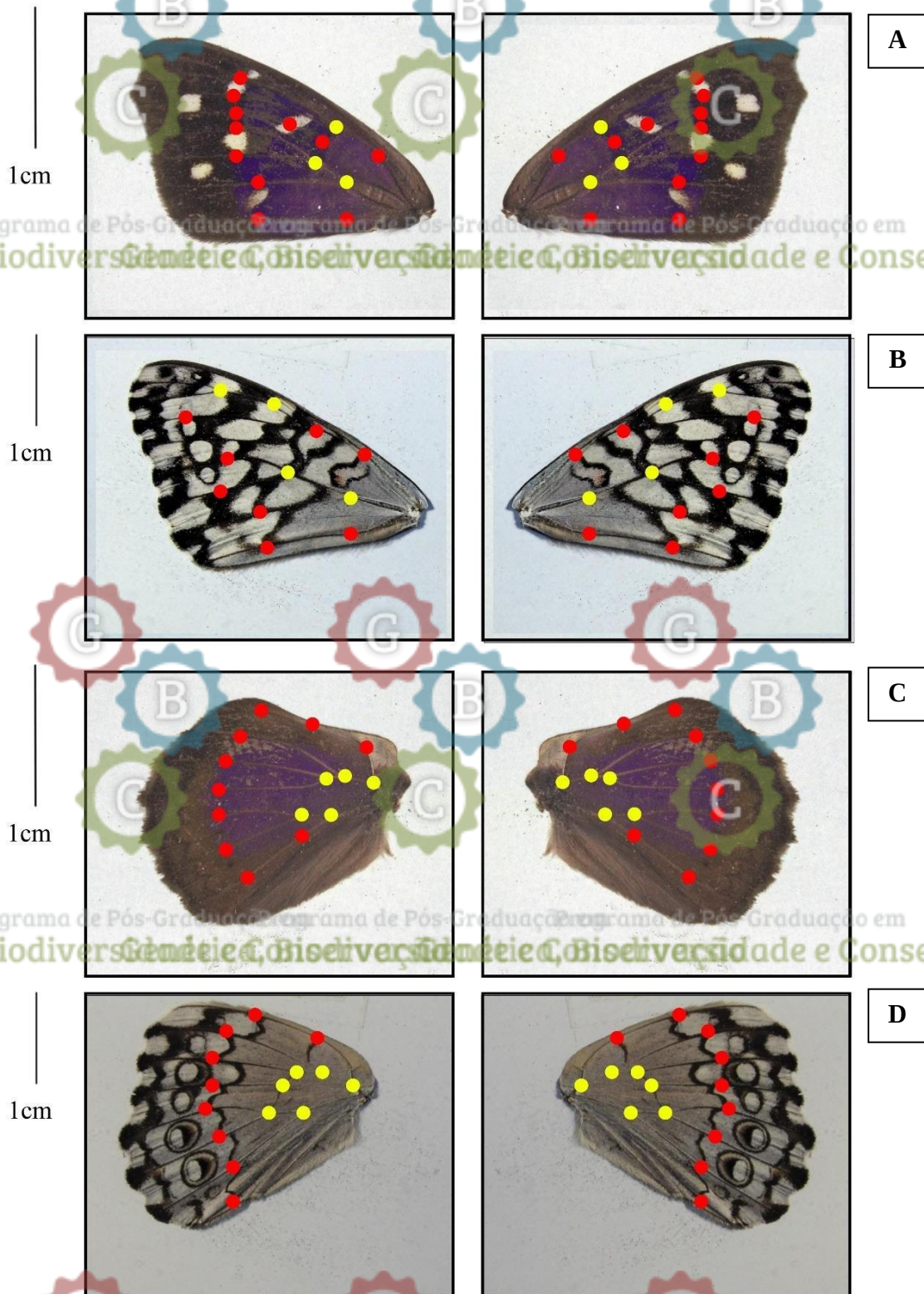


Figura 1. Representação de ambas as asas (direita e esquerda) com os marcos anatômicos (amarelo) e semi-marcos anatômicos (vermelho) em asa anterior (A) e posterior (C) da espécie *Eunica tatila* e anterior (B) e posterior (D) da espécie *Hamadryas februa*.

2.4. Análise dos dados

Com as coordenadas cartesianas x-y obtidas a partir dos marcos anatômicos, foi realizado primeiro a sobreposição de procrustes, onde todos os marcos foram postos em uma mesma configuração de tamanho, posição e orientação (Monteiro e Reis, 1999; Klingenberg, 2011), a partir do programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). O ajuste de Procrustes produz uma forma média e um alinhamento ideal de todas as configurações. Como o ajuste de Procrustes trata todos os pontos de referência igualmente, as informações completas sobre simetria e assimetria com que cada ponto de referência contribui são usadas na análise (Klingenberg, 2015).

Em seguida no mesmo programa foi realizada uma ANOVA de Procrustes para verificar os níveis de FA para o tamanho e a forma das asas. A ANOVA de Procrustes usa as coordenadas dos pontos de referência de todos os dados na amostra (todos os indivíduos, ambos os lados ou configurações originais e refletidas / renomeadas, todas as medições replicadas) (Klingenberg, 2015). A interação lado x espécime serve como uma medida de assimetria flutuante; é o desvio da assimetria de cada indivíduo em relação à média geral da assimetria na forma (Klingenberg & McIntyre, 1998).

Por fim, com base nas coordenadas de Procrustes (Shape FA scores) foi realizada One-Way ANOVA no programa PAST v. 2.17c (Hammer e Harper, 2013).

3. Resultados

3.1. Assimetria Flutuante de *Eunica tatila* em áreas expostas aos poluentes e não expostas e de asas anterior e posterior.

Para as asas anteriores de *Eunica tatila* foi encontrado uma assimetria de 0.041 ± 0.010 nas amostras da área poluída e 0.037 ± 0.008 nas amostras da área não poluída (Fig. 2). Isso representa uma diferença na assimetria flutuante ($F = 6.303$; $GL = 1$ e 128 ; $p < 0.05$).

Já para as asas posteriores de *Eunica tatila* foi encontrado uma assimetria de 0.049 ± 0.018 nas amostras da área poluída e 0.045 ± 0.012 nas amostras

da área não poluída (Fig. 2). Isso não representa uma diferença na assimetria flutuante ($F = 1.754$; $GL = 1$ e 130 ; $p = 0.1817$).

3.2. Assimetria Flutuante de *Hamadryas februa* em áreas (expostas aos

poluentes e não expostas) e de asas (anterior e posterior).

Para as asas anteriores de *Hamadryas februa* foi encontrado uma assimetria de 0.025 ± 0.006 nas amostras da área poluídas e 0.020 ± 0.004 nas amostras da área não poluída (Fig.2). Isso representa uma diferença na assimetria flutuante ($F = 18.28$; $GL = 1$ e 67 ; $p < 0.001$).

Já para as asas posteriores de *Hamadryas februa* foi encontrado uma assimetria de 0.032 ± 0.006 nas amostras da área poluídas e 0.026 ± 0.005 nas amostras da área não poluída (Fig.2). Isso representa uma diferença na assimetria flutuante ($F = 17.72$; $GL = 1$ e 56 ; $p > 0.001$).

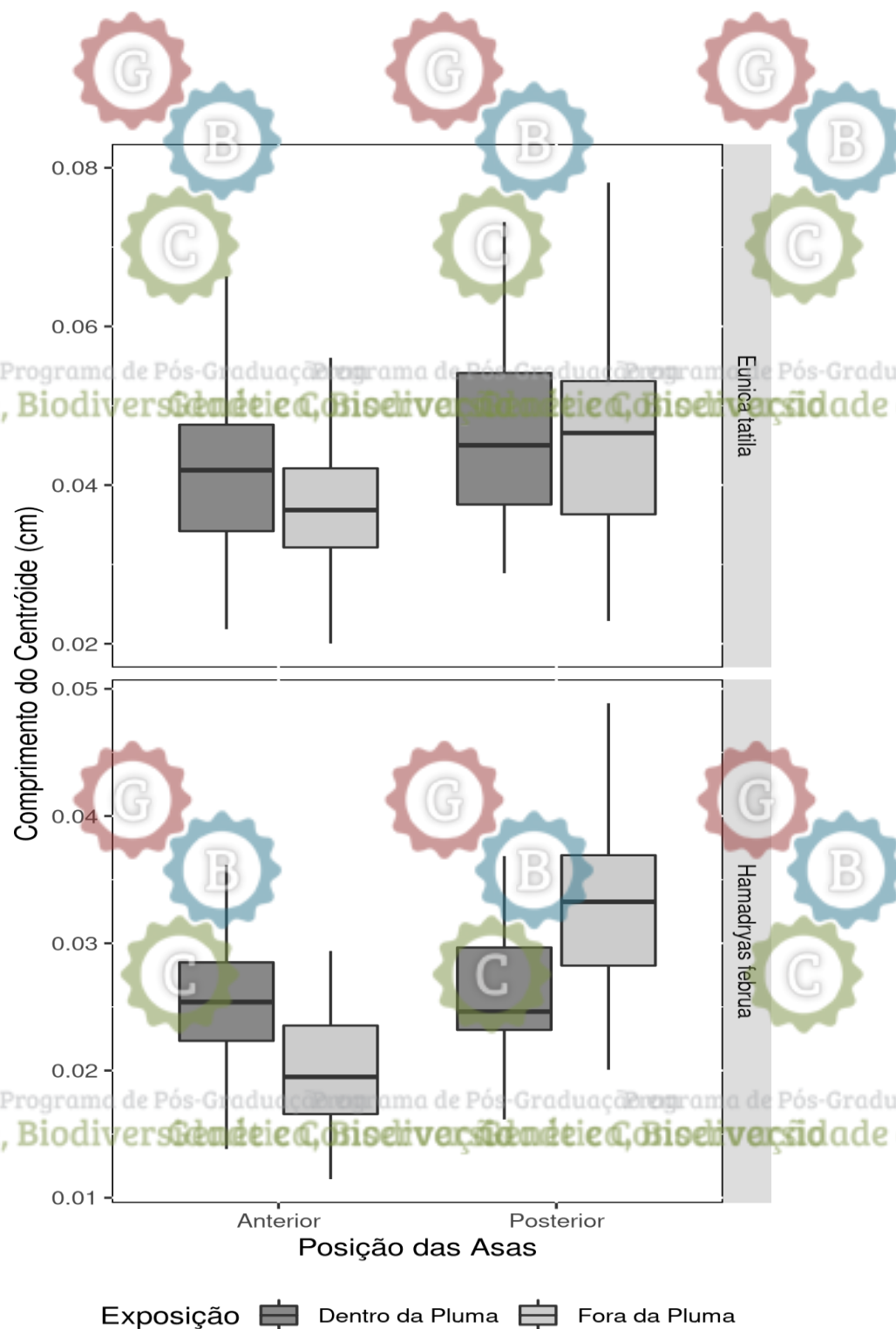


Figura 2. Boxplot de One-Way ANOVA indicando a variação da Assimetria Flutuante em asas anteriores e posteriores de *Eunica tatila* e *Hamadryas februa* em áreas expostas a pluma de poluentes e em áreas não expostas a pluma de poluentes na região de Brumado, Bahia, Brasil.

4. Discussão

No presente estudo percebe-se a maior FA alar em áreas poluídas para ambas as espécies. Esse resultado era esperado haja vista que, organismos submetidos a diversos tipos de estresses como o térmico (Nishizaki et al., 2015), claridade (Campos et al., 2007) entre outros, durante o seu desenvolvimento tendem a apresentar maiores desvios no padrão de simetria. Diferenças como estas são vistas em trabalhos que indicam que a poluição pode ser um fator responsável por variações de simetria, onde as medidas de FA tendem a diferir entre ambientes não perturbados e ambientes impactados pela ação humana (Klisarić et al., 2014; Chudzinska et al., 2014; Nunes et al., 2015). Em comunidades animais, apesar da escassez de informações sobre FA (Henriques e Cornelissen, 2019), é possível encontrar trabalhos sobre FA em ambientes poluídos. Lazic et al. (2013) avaliando a FA de lagartos em áreas urbanas, sugeriram que a poluição do ar por metais, pela queima de benzeno, aumento no uso de veículos motorizados, má qualidade da gasolina, geradores de fonte de calor que usam dentre outras fontes o carvão como combustível, poderia ser uma das explicações plausíveis para um maior valor de FA.

Nossos resultados também indicam que em *H. februa* os maiores valores de FA foram registrados tanto para as asas anteriores quanto posteriores, o que sugere que esta espécie apresenta maior suscetibilidade às variações ambientais do que a *E. tatila*. Isso pode estar relacionado com o tamanho da espécie, uma vez que *H. februa* apresenta um maior tamanho quando comparada a *E. tatila*, Ismail et al. (2006) realizando estudo com um himenóptero, avaliaram duas hipóteses que foram propostas para explicar as consequências do tamanho corporal. A primeira hipótese falava da demanda energética absoluta (AED), que previa que indivíduos maiores estariam em desvantagem em condições estressantes. A segunda hipótese é a da eficiência relativa (ER), que prevê o inverso. Seus resultados sustentaram a hipótese do AED, que previa que, sob condições adversas, indivíduos maiores precisariam usar mais energia para sustentar suas funções corporais e, portanto, sofriam mais.

Nesse contexto, os maiores valores de FA apresentados por *H. februa* tanto entre asas anteriores quanto posteriores, pode indicar que essa espécie apresenta um pior fitness adaptativo quando comparado com a outra espécie

estudada. Em vegetais a Assimetria Flutuante pode ser usada como uma ferramenta de monitoramento de diagnóstico rápida e não destrutiva (Wuytack et al., 2011). Sendo assim, existem diversos trabalhos avaliando os efeitos de poluentes atmosféricos sobre espécies vegetais (Kozlov et al., 1996; Kozlov et al., 2002; Erofeeva e Yakimov, 2020; Chudzinska et al., 2014).

A presença de FA encontrada nesse estudo, confirma que as espécies estudadas podem ser utilizadas em estudos de biomonitoramento, isso confirma outros estudos com borboletas no qual a FA é utilizada como ferramenta que ajuda a detectar fontes de stress, como aumento da elevação (Henriques e Cornelissen, 2019), ou pode ser usada como ferramenta para o monitoramento de populações ao longo do tempo (Schmeller et al., 2010).

Portanto, o uso de FA para biomonitoramento das atividades de mineração pode ser uma maneira rápida e eficaz de detectar o aumento no nível de poluição enquanto ainda está gerando efeitos subletais nas espécies, permitindo a tomada de medidas mitigadoras rápidas e eficazes de controle e, assim, evitar maiores danos para o meio ambiente e, também para saúde pública.

Conclusão

(1) Borboletas encontradas na área poluída apresentam maior assimetria flutuante.

(2) *Hamadryas februa* apresenta pior fitness adaptativo e deve ser a espécie mais adequada para biomonitoramento.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e à Agência Federal de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro - Código de Financiamento 001.

Um agradecimento especial a Ana Carolina Plácido Cardoso e Larissa Adelita Santana Costa Souza (UESB) pelo apoio.

Referências

Araújo, P.F., Lima, S.F., 2009. Borboletas como bioindicadoras do estado de conservação de uma área de reserva legal - Patrocínio/MG. In: congresso de ecologia do Brasil, 9., São Lourenço. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil. São Lourenço: Congresso de Ecologia do Brasil, 2009. p. 1 - 3.

Campo, J.L., Gil, M.G., Dávila, S.G., Muñoz, I., 2007. Effect of lighting stress on fluctuating asymmetry, heterophil-to- lymphocyte ratio, and tonic immobility duration in eleven breeds of chickens. Poult. Sci. 86. <https://doi.org/10.1093/ps/86.1.37>

Chudzinska, E., Pawlaczyk, E.M., Celinski, K., Diatta, J., 2014. Response of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) to stress induced by different types of pollutants - testing the fluctuating asymmetry. Water Environ. J. 28. <https://doi.org/10.1111/wej.12068>

Cohen, A.J., Brauer, M., Burnett, R., Anderson, H.R., Frostad, J., Estep, K., Balakrishnan, K., Brunekreef, B., Dandona, L., Dandona, R., Feigin, V., Freedman, G., Hubbell, B., Jobling, A., Kan, H., Knibbs, L., Liu, Y., Martin, R., Morawska, L., Pope, C.A., Shin, H., Straif, K., Shaddick, G., Thomas, M., van Dingenen, R., van Donkelaar, A., Vos, T., Murray, C.J.L., Forouzanfar, M.H., 2017. Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015. Lancet 389. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30505-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30505-6)

Csavina, J., Field, J., Taylor, M.P., Gao, S., Landázuri, A., Betterton, E.A., Sáez, A.E., 2012. A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. Sci. Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.013>

Erofeeva, E.A., Yakimov, B.N., 2020. Change of leaf trait asymmetry type in *Tilia cordata* Mill. and *Betula pendula* roth under air pollution. Symmetry (Basel). 12. <https://doi.org/10.3390/SYM12050727>

Floate, K.D., Fox, A.S., 2000. Flies under stress: A test of fluctuating asymmetry as a biomonitor of environmental quality. *Ecol. Appl.* 10. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010\[1541:FUSATO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010[1541:FUSATO]2.0.CO;2)

Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp.

Henriques, N.R., Cornelissen, T., 2019. Wing asymmetry of a butterfly community: is altitude a source of stress? *Community Ecol.* 20. <https://doi.org/10.1556/168.2019.20.3.5>

Ismail, M., Vernon, P., Hance, T., Pierre, J.S., van Baaren, J., 2012. What are the possible benefits of small size for energy-constrained ectotherms in cold stress conditions? *Oikos* 121. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20582.x>

Jones, J.C., Helliwell, P., Beekman, M., Maleszka, R., Oldroyd, B.P., 2005. The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* 191. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0035-z>

Kim, M., Sik Hyun, M., Gadd, G.M., Joo Kim, H., 2007. A novel biomonitoring system using microbial fuel cells. *J. Environ. Monit.* 9. <https://doi.org/10.1039/b713114c>

Klingenberg, C.P., McIntyre, G.S., 1998. Geometric Morphometrics of Developmental Instability: Analyzing Patterns of Fluctuating Asymmetry with Procrustes Methods. *Evolution* (N. Y). 52. <https://doi.org/10.2307/2411306>

Klingenberg, C.P., 2011. MorphoJ: An integrated software package for geometric morphometrics. *Mol. Ecol. Resour.* 11. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>

Klingenberg, C.P., 2015. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: Concepts, methods, and applications. *Symmetry* (Basel). <https://doi.org/10.3390/sym7020843>

Klisarić, N.B., Miljković, D., Avramov, S., Živković, U., Tarasjev, A., 2014. Fluctuating asymmetry in *Robinia pseudoacacia* leaves—possible in situ biomarker? *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3211-2>

Komolafe, A.A., Abdul-Azeez, A.S., Biodun, A.A.Y., Omowonuola, A.F., Rotimi, A.D., 2014. Air pollution and climate change in Lagos, Nigeria: Needs for proactive approaches to risk management and adaptation. *Am. J. Environ. Sci.* 10. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2014.412.423>

Kozlov, M. V., Niemelä, P., Junttila, J., 2002. Needle fluctuating asymmetry is a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Ecol. Indic.* 1. [https://doi.org/10.1016/s1470-160x\(02\)00023-7](https://doi.org/10.1016/s1470-160x(02)00023-7)

Kozlov, M. V., Wilsey, B.J., Koricheva, J., Haukioja, E., 1996. Fluctuating Asymmetry of Birch Leaves Increases Under Pollution Impact. *J. Appl. Ecol.* 33. <https://doi.org/10.2307/2404787>

Lazić, M.M., Kaliontzopoulou, A., Carretero, M.A., Crnobrnja-Isailović, J., 2013. Lizards from urban areas are more asymmetric: Using fluctuating asymmetry to evaluate environmental disturbance. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084190>

Lovett, G.M., Tear, T.H., Evers, D.C., Findlay, S.E.G., Cosby, B.J., Dunscomb, J.K., Driscoll, C.T., Weathers, K.C., 2009. Effects of air pollution on ecosystems and biological diversity in the eastern United States. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04153.x>

Maduna, K., Tomašić, V., 2017. Air pollution engineering. *Phys. Sci. Rev.* 2. <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0122>

Markow, T.A., 1995. Evolutionary ecology and developmental instability. *Annu. Rev. Entomol.* Vol. 40. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.40.1.105>

Nishizaki, M. T., S. Barron, and E. Carew. 2015. Thermal stress increases fluctuating asymmetry in marine mussels: environmental variation and developmental instability. *Ecosphere* 6(5):85. <http://dx.doi.org/10.1890/ES14-00399.1>

Nunes, L.A., de Araújo, E.D., Marchini, L.C., 2015. Fluctuating asymmetry in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) as bioindicator of anthropogenic environments. *Rev. Biol. Trop.* 63. <https://doi.org/10.15517/rbt.v63i3.15869>

Palmer, A.R., 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0830-0_26

Pedrotti, V.S., de Barros, M.P., Romanowski, H.P., Iserhard, C.A., 2011. Borboletas frugívoras (Lepidoptera: Nymphalidae) ocorrentes em um fragmento de floresta ombrófila mista no Rio Grande do Sul, Brasil. *Biota Neotrop.* 11. <https://doi.org/10.1590/s1676-06032011000100036>

Pires, M. Emissões oriundas da combustão do carvão. Meio ambiente e carvão. Fundação Estadual de proteção ambiental (FEPAM). Cadernos de Planejamento e Gestão Ambiental, Porto Alegre, n. 2, p. 253-274, 2002.

Pure Earth and Green Cross Switzerland (USA). 2021. The World's Worst Pollution Problems 2016: The Toxics Beneath Our Feet. Disponível em: <http://www.worstpolluted.org/docs/WorldsWorst2016Spreads.pdf>. Acesso em: 19 maio 2021

Sanseveriano, A.M., Nessimian, J.L., 2008. Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Aust.* 12. <https://doi.org/10.4257/oeco.2008.1203.03>

Schmeller, D.S., Dolek, M., Geyer, A., Settele, J., Brandl, R., 2011. The effect of conservation efforts on morphological asymmetry in a butterfly population. J. Nat. Conserv. 19. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2010.11.002>

Shugart, L.R., McCarthy, J.F., Halbrook, R.S., 1992. Biological Markers of Environmental and Ecological Contamination: An Overview. Risk Anal. 12. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1992.tb00687.x>

Smith, D.R., Crespi, B.J., Bookstein, F.L., 1997. Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. J. Evol. Biol. 10. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1997.10040551.x>

Silva, L. S. A. et al. 2010. Relatório técnico: estudo de dispersão de poluentes da Magnesita Refratários S.A. Engenharia de Segurança do Trabalho e Meio Ambiente Ltda, n. 257, 31 p.

Van Tran, V., Park, D., Lee, Y.C., 2020. Indoor air pollution, related human diseases, and recent trends in the control and improvement of indoor air quality. Int. J. Environ. Res. Public Health. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082927>

Whiteman HH, Loganathan BG. 2001. Developmental stability in amphibians as a biological indicator of chemical contamination and other environmental stressors. Kentucky EPA/EPSCoR, USA

Wuytack, T., Wuyts, K., Van Dongen, S., Baeten, L., Kardel, F., Verheyen, K., Samson, R., 2011. The effect of air pollution and other environmental stressors on leaf fluctuating asymmetry and specific leaf area of *Salix alba* L. Environ. Pollut. 159. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.06.037>

CONCLUSÕES GERAIS

O uso de ferramentas adequadas que consigam acessar informações importantes como por exemplo, o estado do meio em que estamos inseridos e os impactos que nossas ações estão gerando a um curto, médio e longo prazo, é uma necessidade cada vez mais urgente. Percebe-se que quanto mais “evoluída” a sociedade foi ficando, maiores foram se tornando os prejuízos ao meio ambiente (desmatamento, extinção de espécies, poluição, mudanças climáticas etc.). Temos utilizado os recursos naturais como se a conta não fosse chegar nunca, no entanto, a fatura já chegou e estamos com a conta em atraso. Se não mudarmos nossos hábitos e aprendermos a manejar o ambiente de maneira sustentável, teremos que nos preparar para enfrentar fenômenos constantes como as secas intermináveis, o aumento do nível do mar, temperaturas recordes nos quatro cantos do globo, doenças etc.

No entanto, o uso de técnicas como a morfometria geométrica nos permite um excelente monitoramento do meio, auxiliando na tomada de decisão em relação ao manejo mais adequado para a manutenção de toda forma de vida. Através desse estudo foi possível perceber que a realização do biomonitoramento usando a morfometria geométrica é mais sensível, podendo detectar pequenas mudanças na forma da asa das borboletas, e que a espécie *Hamadryas februa* responde melhor as mudanças na morfometria e em relação as asas, a asa anterior apresenta melhores resultados como biomarcadores para ambas as espécies.

As borboletas encontradas na área poluída também apresentam maior assimetria flutuante, sendo que, *Hamadryas februa* apresenta um pior fitness adaptativo e portanto, deve ser a espécie mais adequada para estudos de biomonitoramento que futuramente venham a ser realizados pela empresa ou por órgãos oficiais, auxiliando assim em suas ações de mitigação de impacto.