

DIFERENCIAÇÃO MORFOMÉTRICA DE *Tabanus triangulum* Wiedemann, 1828 e *Tabanus occidentalis* Philip, 1976 (DIPTERA: TABANIDAE)

GRATCHELA DUTRA RODRIGUES¹; BOAVENTURA LOBO CENTENO FILHO;
RODRIGO FERREIRA KRUGER²

¹UFPEL – gratirodrigues.gdr@gmail.com

²UFPEL – rfkruger@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As mutucas (Diptera: Tabanidae) correspondem a 4400 espécies com 27% na região neotropical (COSCARÓN & PAPAVERO 2009b). No bioma Pampa, existem 30 espécies e 15 gêneros de mutucas (KROLOW et al 2007), sendo a mais abundante *Tabanus triangulum* Wiedemann, 1828 (Krüger & Krolow 2015).

As fêmeas de Tabanidade realizam repasto sanguíneo em vertebrados (BARROS, 2001) para a maturação dos ovócitos (RAFAEL & CHARLWOOD, 1980). O comportamento hematófago e a intermitência entre os repastos tornam-nas excelentes vetores de agentes patogênicos causadores de doenças, como vírus, bactérias e protozoários (KRINSKY, 1976), com relevante importância econômica, principalmente na produção de rebanhos equinos e bovinos (SILVA et al. 2002).

Além de *T. triangulum*, no bioma Pampa ocorre *Tabanus occidentalis* Philip, 1976. As duas espécies são muito conspícuas quanto a identificação morfológica, diferenciando-se principalmente pelos padrões de coloração (LEITE 2016). Por isso, outros métodos como a morfometria geométrica podem ser empregados para a elucidação de questões relacionadas ao criptismo (KITTHAWEE e DUJARDIN 2009). Este tipo de análise tem sido eficiente na separação de espécies baseando-se em estudos estatísticos dos padrões de forma da asa, por exemplo, com baixo custo (MARTIN et al., 2016).

Assim, considerando que *T. occidentalis* e *T. triangulum* são espécies crípticas capazes de causar impactos econômicos, o presente estudo tem como objetivo diferenciar intra e inter-especificamente populações destas duas espécies coletadas na Planície Costeira do Rio Grande do Sul (PCRS) e Tocantins (TO), utilizando como ferramenta a morfometria geométrica.

2. METODOLOGIA

As coletas dos tabanídeos foram realizadas com armadilhas do tipo Malaise, modelo Townes e ocorreram de 27 de outubro de 2011 a 12 de fevereiro de 2012 na PCRS em três regiões: Região 1, arredores dos Arroios Pelotas, Corrientes e Turuçu; Região 2, reserva biológica do Lami, Vila Pacheca no Rio Camaquã e RPPN Barba Negra; e Região 3, Estação Ecológica do Taim. Além dos exemplares coletados na PCRS, utilizou-se indivíduos de *T. occidentalis* coletados em 2012 por LIMA et al. (2015) na Fazenda Encantada, Taquaraçu, Palmas, TO.

Tabela 1: Espécies e número de espécimes por localidade utilizada no estudo.

Espécie/ local	Região 1	Região 2	Região 3	Tocantins	Total
<i>T. occidentalis</i>	30	-	-	28	58
<i>T. triangulum</i>	30	30	30	-	90

Após todo o procedimento de retirada, fixação em lâmina e obtenção das imagens das asas, do lado direito, de cada indivíduo foram determinados seus marcos anatômicos (FIGURA1) com o auxílio do Software TPSDig.

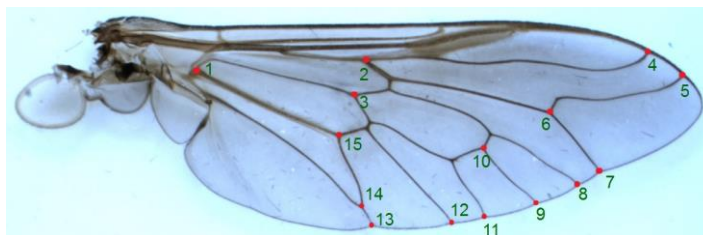


Figura 1: Asa direita do tabanídeo com os marcos anatômicos digitalizados, em uma ordem de 1 a 15, com o software TPSDig.

No presente estudo utilizou-se números próximos de indivíduos em cada grupo com o intuito de diminuir possíveis erros estatísticos (CARDINI et al. 2015) (TABELA 1). Os 15 marcos do tipo I (FIGURA 1) foram usados por apresentarem uma homologia mais clara, serem mais objetivos, por possuírem maior replicabilidade na análise e tendência em diminuir o erro intra-operador durante a digitalização. (BOOKSTEIN, 1991).

Em relação à análise morfométrica seguiu-se a metodologia de TORRES & ESQUIVEL (2015), em que primeiramente foi realizada Análise Generalizada dos Procrustes (GPA) para todo o conjunto de asas, utilizando o critério dos mínimos quadrados (ROHLF & SLICE 1990). A partir do alinhamento dos procrustes foi realizado a Análise dos Componentes Principais (PCA) com o intuito de se reduzir a dimensionalidade dos dados e para observar a tendência da variação interespecífica e intraespecífica. Do total das PC's geradas foram utilizadas até àquela que apresentasse um valor cumulativo superior ou igual 85%, descartando os outros PC's. Após os conjuntos de PC's selecionados, foram determinados: os números de clusters em todo o conjunto de dados usando o critério de informação Bayesiana (BIC) para o modelo baseado em agrupamento (FRALEY & RAFTERY, 2007), confirmando com outros dois testes: a estatística "gap" e o índice de Calinski e Harabasz (CH). A partir das distâncias de Mahalanobis calculadas pelo conjunto dos PC's geradas, foi realizado o método do grupo de pares não ponderados com média hierárquica (UPGMA), objetivando visualizar a proximidade entre os grupos. Já a distância Riemanniana foi utilizada para quantificar as diferenças geométricas da forma da asa e, utilizando como teste estatístico o teste F de Goodall. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *Software R Studio*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se obter uma porcentagem de variância cumulativa igual ou superior a 85% utilizou-se as dez primeiras PC's. Além disso, tanto na variação intraespecífica quanto na variação interespecífica da asa direita, as duas primeiras PC's contribuíram com um valor entre 36% e 39% (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem da variância cumulativa obtida das primeiras 10 componentes principais.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Gênero <i>Tabanus</i>	0,20	0,36	0,50	0,60	0,66	0,72	0,76	0,80	0,84	0,86

<i>T. triangulum</i>	0,20	0,39	0,53	0,61	0,69	0,74	0,79	0,82	0,86	0,88
<i>T. Occidentalis</i>	0,23	0,38	0,50	0,59	0,66	0,72	0,77	0,81	0,84	0,87

Em relação à variação intraespecífica das espécies de *T. triangulum*, coletados nas três localidades, utilizando as duas componentes principais (PC1 e PC2) não foi possível diferenciar os espécimes coletados nas três regiões. Já, com os espécimes de *T. occidentalis* coletados no RS e TO, foi possível observar, com as duas PC's a diferença do morfoespaço.

Em se tratando da estatística de gap, BIC e CH para *T. occidentalis* o número ótimo de cluster para os dados de geometria da asa foi de um, enquanto que para *T. triangulum* foi de três. Por fim, com o teste multivariado realizado a partir das distâncias Riemmanianas foi possível observar que os espécimes de *T. occidentalis* do RS são diferentes da população de *T. occidentalis* de Tocantins ($p < 0,05$). Já para os espécimes de *T. triangulum* coletados nas três regiões da PCRS, os três grupos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Para a variação interespecífica da asa, considerou-se *T. occidentalis* do estado de Tocantins como sendo outro grupo de *Tabanus* ou mesmo uma subespécie de *T. occidentalis* quando comparada às populações do RS. Desse modo, na variação geométrica interespecífica da asa utilizou-se três grupos: *T. triangulum*, *T. occidentalis* do RS e *T. occidentalis* de TO. Assim como nas duas análises anteriores a porcentagem de variância cumulativa registrada pelas duas primeiras PC's foi de 34% e, para obtenção da porcentagem cumulativa superior a 85% utilizou-se as 10 primeiras PC's.

De acordo com a estatística Gap, BIC e CH o número ideal de cluster dos três grupos de *Tabanus* para os dados de geometria da asa foi de um. E, como resultado final, com base no teste F de Goodall realizado a partir das distâncias Riemmanianas, os três grupos apresentaram diferenças significativas em relação ao formato da asa ($p < 0,05$).

Assim, análises de morfometria geométrica corroboram com os resultados da taxonomia clássica quando se trata das duas espécies presentes no RS. Contudo, com a mesma análise pode-se perceber a diferença de *T. occidentalis* de TO dos outros exemplares, incluindo *T. occidentalis* do RS. Assim, este resultado vem em contramão do proposto pela taxonomia usual, mostrando que tais espécimes podem representar uma nova espécie, ou uma nova subespécie, diferentemente, do que até então é descrito na literatura. Dentre os motivos que podem justificar a variação intraespecífica de *T. occidentalis* do RS e TO e que podem ser considerados em estudos futuros são condições ecológicas, ambientais, fatores genéticos além de variáveis adaptativas e fatores geográficos (FRANCO et al 2008).

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi elucidado que *T. triangulum* e *T. occidentalis* são espécies distintas entre si quanto a forma da asa direita. Já, em relação análise intraespecífica, dentro de *T. triangulum*, as localidades R1, R2 e R3 foram consideradas significativamente iguais. E, em se tratando de *T. occidentalis*, as subpopulações do RS e TO são significativamente distintas quanto a forma da asa. Em se tratando da subpopulação de *T. occidentalis* de TO, esta se mostrou mais próxima significativamente de *T. triangulum* do que de *T. occidentalis* do RS, mostrando que são necessários mais estudos sobre tal proximidade entre ambas as espécies dos dois estados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, A. T. M. Seasonality and Relative Abundance of Tabanidae (Diptera) Captured on Horses in the Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 917–923, 2001.
- BOOKSTEIN, F. L. Morphometric Tools for Landmark Data, Geometry and Biology. **New York: Cambridge University Press**, 1991.
- CARDINI, A.; SEETAH, K.; BARKER, G. How many specimens do I need? Sampling error in geometric morphometrics: testing the sensitivity of means and variances in simple randomized selection experiments. **Zoomorphology**, v. 134, n. 2, p. 149–163, 2015.
- COSCARÓN, S; PAPAVERO, N. Catalogue of Neotropical Diptera. Tabanidae **Neotrop Dipter** v.16, p.1–199, 2009b.
- FRALEY, C.; RAFTERY, A.E. Model-based methods of classification: using the mclust software in chemometrics. **J Stat Softw.** v.18, n.6, p.1–13, 2007.
- KROLOW, T. K.; KRÜGER, R. F.; RIBEIRO, P. B. Chave pictórica para os gêneros de Tabanidae (Insecta: Diptera) do bioma Campos Sulinos, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 253–264, 2007.
- KRÜGER, R. F.; KROLOW, T. K. Seasonal patterns of horse fly richness and abundance in the Pampa biome of southern Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 40, n. 2, p. 364–372, 2015.
- LIMA, H. I. L. D. L. **Tabanidae (Diptera) da Planície Costeira do Rio Grande do Sul. 2016. Universidade Federal de Pelotas.** 2016. 119f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Curso de Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal de Pelotas.
- LIMA, H. I. L.; T.K. KROLOW, A. L. HENRIQUES. Checklist of horse flies (Diptera:Tabanidae) from Taquaraçu, Tocantins, Brazil, with new records for the state. **Check List**, v.11, p.1596, 2015.
- MARTIN, M. A.; CRAIOVEANU, C.; SITAR, C.; RÁKOSY, L. Why morphometrics: a short review and a case study on *Zygaena carniolica* (Scopoli, 1763). **Entomologica romanica**, v. 20, n. April, p. 57–62, 2016.
- MORITA, S.I. A phylogeny of long-tongued horse flies (Diptera:Tabanidae: Philoliche) with the first cladistic review of higher relationships within the family. **Invertebr Syst.** v.22, p.311–327, 2008.
- RAFAEL J. A.; CHARLWOOD J D. Idade fisiológica, variação sazonal e periodicidade diurna de quatro populações de Tabanidae (Diptera) no Campus Universitário, Manaus, Brasil. **Acta Amazon** v. 10, p. 907-927, 1980.
- ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Syst Zool.** v.39, p.40–59, 1990.
- SILVA, R. A. M. S; SEIDL, A; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. Biologia, Diagnóstico e Controle. **Embrapa.** p.137. 2002.
- TORRES, A.; MIRANDA-ESQUIVEL, D. R. Wing Shape Variation in the Taxonomic Recognition of Species of *Diachlorus* Osten-Sacken (Diptera: Tabanidae) from Colombia. **Neotropical Entomology**, v. 45, n. 2, p. 180–191, 2016.