



BRUNA CORRÊA DA SILVA

**MORFOMETRIA, ALOMETRIA E ASSIMETRIA
FLUTUANTE NA INVESTIGAÇÃO DE ESTRESSE POR
METAL PESADO EM INSETOS SUGADORES**

LAVRAS-MG

2019

BRUNA CORRÊA DA SILVA

**MORFOMETRIA, ALOMETRIA E ASSIMETRIA FLUTUANTE NA
INVESTIGAÇÃO DE ESTRESSE POR METAL PESADO EM INSETOS
SUGADORES**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Lucas Del Bianco Faria
Orientador
Me. Tiago Morales Silva
Coorientador

**LAVRAS-MG
2019**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Ciências do Biológicas e ao setor de Ecologia Aplicada, pela oportunidade.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Ao professor Lucas Del Bianco Faria, pela orientação profissional e humana.

Ao Tiago Morales Silva, pela coorientação e amizade.

A todos os colegas de laboratório, pelas risadas em meio a tormenta.

Aos amigos que conheci durante a graduação, por tornarem minha jornada mais significativa.

Aos meus pais, Alessandra e Rick pelo apoio e confiança.

Aos meus irmãos, Pedro e Gustavo, pelas conversas e abraços.

Ao meu terapeuta, por me ajudar a concluir essa fase com saúde.

À República Dedo de moça, pelo acolhimento e por ser minha família em Lavras.

OBRIGADA!

RESUMO

A contaminação de solos agrícolas, especialmente pelo uso intensivo de insumos agrícolas, pode ser um fator estressante para as plantas e demais organismos. Considerando as influências antrópicas nas interações inseto-plantas, este trabalho buscou avaliar a influência do metal pesado chumbo (Pb) presente no solo sobre os traços morfométricos de indivíduos da espécie herbívora sugadora *Brevicoryne brassicae* que se desenvolveram em cultivo de couve-manteiga *Brassica oleracea* (var. acephala). Mudanças de couve manteiga, foram cultivadas em solo não contaminado (controle) e contaminado experimentalmente com nitrato de chumbo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) na concentração de 0,60 g/kg de solo, sendo 10 plantas para cada tratamento. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação aberta na fazenda experimental da UFLA no município de Ijaci, Minas Gerais, Brasil. As antenas, tíbias e o comprimento total do corpo foram medidos em 144 pulgões, para verificação das alterações nos traços morfométricos. Para testar se houveram diferenças nas medidas morfométricas entre os tratamentos, foram empregados modelos lineares generalizados de efeito misto (GLMM). As relações alométricas do comprimento da tíbia e antena direita em função do comprimento total do corpo foram investigadas utilizando o método *major axis* (MA). Para análise da assimetria flutuante, foram empregados modelos mistos com verossimilhança restrita (REML). Como resultados, a morfometria não variou significativamente entre os tratamentos e a assimetria flutuante não aumentou na presença do contaminante. Embora a alometria tenha apresentado um padrão negativo para os traços mensurados, houve uma variação no coeficiente alométrico, evidenciando uma diferença nas taxas de crescimento entre os apêndices e o comprimento corporal total, sendo essa mais sensível na detecção desse impacto.

Palavras-chave: *Brevicoryne brassicae*, couve, chumbo, contaminação, traços morfométricos

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1. Morfometria	1
1.2. Alometria.....	1
1.3. Assimetria flutuante.....	2
1.4. A contaminação do ambiente e os insetos.....	2
2. REFERÊNCIAS.....	5
3. INTRODUÇÃO.....	9
4. METODOLOGIA.....	10
4.1. O sistema de estudo.....	10
4.2. Obtenção e mensuração dos insetos.....	11
4.3. Análise dos dados.....	14
4.3.1. Morfometria.....	14
4.3.2. Alometria.....	14
4.3.3. Assimetria flutuante.....	14
5. RESULTADOS.....	15
6. DISCUSSÃO.....	20
7. AGRADECIMENTOS.....	22
8. REFERÊNCIAS.....	24

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Morfometria

Aspectos nas histórias de vida dos indivíduos são influenciados pelo tamanho do corpo (CARDILLO et al., 2005). O estudo das relações morfométricas em alguns insetos permitem avaliar a relação entre fitness e tamanho, sendo que muitos estudos mostram que tamanhos maiores estão associados a benefícios no fitness (BENNETT & HOFFMANN, 1998; BLANCKENHORN, 2000).

A morfometria consiste em uma análise quantitativa da forma (BOOKSTEIN, 1992). A forma tradicional de se avaliar os padrões morfométricos é medindo distâncias lineares entre pontos predeterminados no corpo, depois compará-los estatisticamente (TATSUTA, TAKAHASHI & SAKAMAKI, 2017). Dessa forma, métodos morfométricos são capazes de mensurar alterações ecológicas nos organismos, que são difíceis de serem identificadas (CARIVEAU et al., 2016).

1.2. Alometria

Buscando evitar confusões nos estudos sobre o crescimento relativo, o termo alometria foi cunhado pela primeira vez em 1936, em um artigo publicado por Julian Huxley e Georges Teissier (GAYON, 2000). A alometria pode ser definida como o tamanho de cada parte ou órgão do corpo em função do tamanho total, ou seja, há uma relação entre o crescimento e a forma dos organismos (SHINGLETON et al. 2007).

A alometria pode ser definida como alometria ontogenética, alometria estática e alometria evolutiva ou filogenética. Na alometria ontogenética o crescimento de uma parte do corpo é comparado ao tamanho corporal total durante o desenvolvimento de um único indivíduo. A alometria estática busca avaliar alterações nos padrões de crescimento entre indivíduos de uma mesma espécie, em um mesmo estágio do desenvolvimento. Já a alometria evolutiva ou filogenética avalia a relação do tamanho entre corpo e órgãos em diferentes espécies (KLINGENBERG & ZIMMERMANN, 1992; STERN & EMLÉN, 1999).

Relações alométricas são determinadas por dois parâmetros principais, o intercepto (b) e o coeficiente alométrico ou ângulo (α). Quando o α é igual a 1, a taxa

de crescimento do corpo e dos apêndices corporais é a mesma, ocorrendo uma isometria. A alometria ocorre quando o α é diferente de 1, sendo chamada de negativa ou de hipoalometria quando o α é menor que um, o que quer dizer que os órgãos crescem a uma taxa menor que o corpo, e sendo chamada de positiva ou hiperalometria quando o α é maior que um, demonstrando que os órgãos crescem a uma taxa mais rápida que o corpo (SHINGLETON, MIRTH & BATES, 2008).

1.3. Assimetria flutuante

A assimetria flutuante ocorre quando traços bilaterais apresentam variações aleatórias em seu tamanho em ambos os lados em torno de um eixo de simetria bilateral, podendo ser utilizada como uma medida da instabilidade no desenvolvimento dos organismos (PALMER & STROBECK, 1986).

A contaminação dos organismos por toxinas não naturais, como por exemplo, pesticidas e metais pesados podem aumentar os níveis de assimetria flutuante. McKenzie & Clarke (1988) demonstraram que a resistência ao inseticida Diazinon em *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae) é produzida inicialmente por um aumento na assimetria flutuante.

Em contrapartida, estudos mais recentes demonstraram que a assimetria flutuante não é um bom indicador da instabilidade no desenvolvimento em experimentos envolvendo estresse na alimentação e poluição por químicos. Bjorkstein et al. (2000) não encontrou aumento dos níveis de assimetria flutuante em dípteros da espécie *Cyrtodiopsis dalmanni* Wiedemann (Diptera: Diopsidae), quando as larvas foram submetidas a estresse alimentar. Floate & Fox (2000), fizeram a exposição da mosca *Musca domestica* L. (Muscidae) ao pesticida ivermectina durante os estádios larvais, não encontrando diferenças nos níveis de assimetria flutuante para os traços mensurados nas asas.

1.4. A contaminação do ambiente e os insetos

As respostas dos insetos aos tóxicos podem fornecer um meio de monitoramento com baixo custo e eficiente para avaliar os efeitos prováveis da contaminação química no ambiente (WALTON, 1989). A contaminação no solo pode ser detectada através dos insetos presentes que funcionam como bioindicadores, como

dípteros, himenópteros, coleópteros, odonatos, lepidópteros, ortópteros, dentre outros (AZAM et al., 2015; GRAMIGNI et al., 2013; KATAGI & TANAKA, 2016; MARYANSKY et al., 2002).

As mudanças na forma de uso do solo em combinação com o uso incorreto de agroquímicos são as principais causas do rápido declínio da biodiversidade em várias paisagens (BENTON, VICKERY & WILSON, 2003; BIANCHI, BOOIJ & TSCHARNTKE, 2006; ROBINSON & SUTHERLAND, 2002). Essas práticas de modo intensivo podem causar degradação química do solo, como resultado do acúmulo de elementos e/ou compostos tóxicos, como os metais pesados, em níveis indesejáveis e, conseqüentemente, a incorporação desses elementos na cadeia trófica (GIMENO-GARCIA, ANDREU & BOLUDA, 1996; RAMALHO, AMARAL-SOBRINHO & VELLOSO, 2000).

Estudos avaliando insetos que se desenvolveram em solo industrial contaminado com Urânio (U) e Molibdênio (Mo), mostraram o potencial dos metais em se dissipar pelas redes tróficas (GONGALSKY, 2006). Os metais pesados como chumbo (Pb), o Zinco (Zn) e o Cádmiio (Cd), presentes em sistemas agrícolas, apresentam mobilidade nas cadeias alimentares e o modo de alimentação dos insetos pode influenciar na bioacumulação (BUTT et al., 2018). A toxicidade dos metais está ligada principalmente ao fato de não serem degradáveis pelos organismos, acumulando-se nos mesmos e no ambiente (ALI et al., 2013).

Contudo, pouco se conhece sobre a transferência de metais pesados em invertebrados terrestres e o efeito desses contaminantes no desenvolvimento dos indivíduos. Trabalhos têm demonstrado a intoxicação dos polinizadores por diversos poluentes, em especial por metais pesados (EXLEY, ROTHERAY & GOULSON, 2015; MEINDL & ASHMAN, 2013; MORON et al., 2012). Alguns estudos demonstraram a transferência de metais pesados como o cádmio, o zinco, o cobre e o níquel entre plantas, insetos herbívoros (afídeos, gafanhotos e lagartas) e invertebrados predadores (joaninhas, percevejos e aranhas) (CHERUIYOT et al., 2013; GREEN, DIAZ & TIBBETT, 2010; PETERSON et al., 2003). Quanto aos efeitos dos metais pesados sobre a biologia dos insetos, trabalhos têm demonstrado efeito tóxico agudo sobre ovos e formas jovens, causando desenvolvimento prolongado e mortalidade, adultos com locomoção deprimida, diminuição no crescimento, disfunção cognitiva e mortalidade em polinizadores, dentre outros efeitos. (BAYLEY et al., 1995; DEVKOTA & SCHMIDT, 1999; EXLEY,

ROTHERAY & GOULSON, 2015; MORÓN et al., 2012; VAN OOIK, RANTALA & SALONIEMI, 2007).

Tratando-se dos efeitos da contaminação por metais pesados sobre o tamanho corporal desses organismos os estudos são ainda mais escassos. Görur (2006), avaliou como o chumbo (Pb) e o cobre (Cu) afetam a estabilidade no desenvolvimento dos afídeos em cultivo de repolho e rabanete, encontrando maiores níveis de assimetria flutuante nos indivíduos expostos ao metais pesados. Apesar disso, pouco se conhece sobre os efeitos dos metais pesados em outros parâmetros morfométricos e qual deles detectaria mais facilmente as variações morfológicas. Com isso, este trabalho busca contribuir para o preenchimento da lacuna do conhecimento do efeito de metais pesados sobre o tamanho corporal dos indivíduos.

2. REFERÊNCIAS

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals: Concepts and applications. **Chemosphere**, 91, p.869-881, 2013.

AZAM, I.; AFSHEEN, S.; ZIA, A.; JAVED, M.; SAEED, R.; SARWAR, M. K.; MUNIR, B. Evaluating Insects as Bioindicators of Heavy Metal Contamination and Accumulation near Industrial Area of Gujrat, Pakistan. **BioMed Research International**, p.1–11, 2015.

BAYLEY, M.; BAATRUP, E.; HEIMBACH, U.; BJERREGAARD, P. Elevated copper levels during larval development cause altered locomotor behavior in the adult carabid beetle *Pterostichus cupreus* L. (Coleoptera: Carbidae). **Ecotoxicology Environmental Safety**, 32(2): p. 166-70, 1995.

BENNETT D.M., HOFFMANN A.A. Effects of size and fluctuating asymmetry on field fitness of the parasitoid *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Animal Ecology**, 67: p. 580–591, 1998.

BENTON, T.G., VICKERY, J.A. & WILSON, J.D. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? **Trends in Ecology Evolution**, 18: p. 182-188, 2003.

BIANCHI, F.J.J.A., BOOIJ, C.J.H. & TSCHARNTKE, T. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. **Proceedings of the Royal Society**, 273: p. 1715-1727, 2006.

BJORKSTEN, T.; DAVID P.; POMIANKOWSKI A. & FOWLER K. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. **Journal of Animal Ecology**, 13 p.89-97, 2000.

BLANCKENHORN, W. U. The Evolution of Body Size: What Keeps Organisms Small? **The Quarterly Review of Biology**, 75(4), 385–407, 2000.

BOOKSTEIN, F. **Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.

BUTT, A.; QURAT-UL-AIN; REHMAN, K.; KHAN, M. X. & HESSELBERG, T. Bioaccumulation of cadmium, lead, and zinc in agriculture-based insect food chains. **Environmental Monitoring and Assessment**, 190(12), 2018.

CARDILLO, M.; MACE G.M.; JONES, K.E.; BIELBY, J.; BININDA-EMONDS, O.R.P.; SECHREST, W.; ORME, C.D.L.; PURVIS, A. Multiple Causes of High Extinction Risk in Large Mammal Species. **Science**, v. 309, Issue 5738, p. 1239-1241, 2005.

CARIVEAU, D. P.; NAYAK, G. K.; BARTOMEUS, I.; ZIENTEK, J.; ASCHER, J. S.; GIBBS, J. & WINFREE, R. The Allometry of Bee Proboscis Length and Its Uses in Ecology. **Plos one**, 11(3), 0151482, 2016.

CHERUIYOT, D.J.; BOYD, R.S.; COUDRON, T.A. & COBINE, P. Biotransfer, bioaccumulation and effects of herbivore dietary Co, Cu, Ni and Zn on growth and development of the insect predator *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Chemical Ecology**, 39, p. 764–772, 2013.

DEVKOTA, B. & SCHMIDT, G.H. Effects of heavy metals (Hg²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺) during the embryonic development of acridid grasshoppers (Insecta, caelifera). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 36(4), p.405-14, 1999.

EXLEY, C.; ROTHERAY, E.; GOULSON, D. Bumblebee Pupae Contain High Levels of Aluminium. **Plos one**, 10(6): 0127665, 2015.

FLOATE, K. D. & FOX, A. S. Flies under Stress: A Test of Fluctuating Asymmetry as a Biomonitor of Environmental Quality. **Ecological Applications**, 10(5), 1541, 2000.

GAYON, J. History of the Concept of Allometry. **American Zoologist**, 40: p.748–758, 2000.

GIMENO-GARCIA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of organic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v.92, p.19-25, 1996.

GONGALSKY, K. B. Bioaccumulation of metals by soil-dwelling insects in a uranium production area. **European Journal of Soil Biology**, 42, p:S180–S185, 2006.

GÖRÜR, G. Developmental instability in cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) populations exposed to heavy metal accumulated host plants. **Ecological Indicators**, 6(4), p: 743–748, 2006.

GRAMIGNI, E., CALUSI, S., GELLI, N., GIUNTINI, L., MASSI, M., DELFINO, G., CHELAZZI, G., BARACCHI, D., FRIZZI, F., SANTINI, G. Ants as bioaccumulators of metals from soils: Body content and tissue-specific distribution of metals in the ant *Crematogaster scutellaris*. **European Journal of Soil Biology**, 58, p:24–31, 2013.

GREEN, I. D., DIAZ, A. & TIBBETT, M. Factors affecting the concentration in seven-spotted ladybirds (*Coccinella septempunctata* L.) of Cd and Zn transferred through the food chain. **Environmental Pollution**, 158, p:135–141, 2010.

KATAGI, T. & TANAKA, H. Metabolism, bioaccumulation, and toxicity of pesticides in aquatic insect larvae. **Journal of Pesticide Science**, 41(2), p:25–37, 2016.

KLINGENBERG, C. P. & ZIMMERMANN, M. Static, Ontogenetic, and Evolutionary Allometry: A Multivariate Comparison in Nine Species of Water Striders. **The American Naturalist**, 140(4), p.601–620, 1992.

MARYANSKI, M., KRAMARZ, P., LASKOWSKI, R., & NIKLINSKA, M. Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in

carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc- or cadmium-contaminated food. **Ecotoxicology**, 11(2), p.127–139, 2002.

MCKENZIE J.A. & CLARKE G.M. Diazinon Resistance, Fluctuating Asymmetry and Fitness in the Australian Sheep Blowfly, *Lucilia cuprina*. **Genetics Society of America**, 120, p.213-220, 1988.

MEINDL, G. A., & ASHMAN, T.-L. The effects of aluminum and nickel in nectar on the foraging behavior of bumblebees. **Environmental Pollution**, 177, p:78–81, 2013.

MOROŃ, D.; GRZEŚ, I.M.; SKÓRKA, P.; SZENTGYÖRGYI, H.; LASKOWSKI, R.; POTTS, S.G.; WOYCIECHOWSKI, M. Abundance and diversity of wild bees along gradients of heavy metal pollution. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, n. 1, p.118-125, 2012.

PALMER, A. R., & STROBECK, C. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 17(1), p.391–421, 1986.

PETERSON, L. R., TRIVETT, V., BAKER, A. J.M., AGUIAR, C., & POLLARD, A. J. Spread of metals through an invertebrate food chain as influenced by a plant that hyperaccumulates nickel. **Chemoecology**, 13, p. 103–108, 2003.

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL-SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1289-1303, 2000.

ROBINSON, R.A. & SUTHERLAND, W.J. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. **Journal of Applied Ecology**, 39: p. 157-176, 2002.

SHINGLETON, A. W., FRANKINO, W. A., FLATT, T., NIJHOUT, H. F., & EMLEN, D. J. Size and shape: the developmental regulation of static allometry in insects. **BioEssays**, 29(6), p. 536–548, 2007.

SHINGLETON, A.W., MIRTH, C.K., & BATES P.W. Developmental model of static allometry in holometabolous insects. **Proceedings of the Royal Society**, 275, p. 1875–1885, 2008.

STERN D.L., EMLEN D.J. The developmental basis for allometry in insects, **Development**, 126: p.1091-1101, 1999.

TATSUTA, H., TAKAHASHI, K. H., & SAKAMAKI, Y. Geometric morphometrics in entomology: Basics and applications. **Entomological Science**, 21(2), p.164–184, 2017.

VAN OOIK, T., RANTALA, M.J. SALONIEMI, I. Diet-mediated effects of heavy metal pollution on growth and immune response in the geometrid moth *Epirrita autumnata*. **Environmental Pollution**, 145 (1): p.348-354, 2007.

WALTON, B. T. Insects as indicators of toxicity, bioaccumulation and bioavailability of environmental contaminants. **Environmental toxicology and chemistry**, 8(8), p. 649–658, 1989.

3. INTRODUÇÃO

As mudanças na forma de uso do solo em combinação com o uso exagerado de agroquímicos são as principais causas do rápido declínio da biodiversidade em várias paisagens (BENTON, VICKERY & WILSON, 2003; BIANCHI, BOOIJ & TSCHARNTKE, 2006; ROBINSON & SUTHERLAND, 2002). Essas práticas de modo intensivo podem causar degradação química do solo, como resultado do acúmulo de elementos e/ou compostos tóxicos, como os metais pesados, em níveis indesejáveis e, conseqüentemente, a incorporação desses elementos na cadeia trófica (GIMENO-GARCIA, ANDREU & BOLUDA, 1996; RAMALHO, AMARAL-SOBRINHO & VELLOSO, 2000).

Os insetos são potenciais indicadores de contaminação por metais pesados, principalmente por responderem a esses impactos através da redução da sobrevivência, do crescimento, alterações no desenvolvimento e na emergência, podendo ser utilizados para biomonitoramento (AZAM et al., 2015; SILDANCHANDRA & CRANE, 2000). Desintoxicações podem ser refletidas em traços da história de vida, pois, tolerar substâncias tóxicas exige um gasto energético dos organismos, que distribuem sua energia para todos os processos fisiológicos visando manter o fitness maximizado (KOZLOWSKY, 1992; MARYANSKI et al., 2002).

O tamanho é um importante indicador do fitness nos insetos (BEUKEBOOM, 2018), podendo sofrer alterações junto de outros traços morfométricos, devido a fatores genéticos e ambientais presentes durante o desenvolvimento, influenciando a morfometria, os padrões alométricos e a assimetria flutuante (AF) (KLINGENBERG & NIJHOUT, 1999; SHINGLETON et al., 2007). A morfometria é utilizada para realizar uma análise quantitativa da forma através da avaliação do tamanho do corpo e das partes corporais (ADAMS, ROHLF & SLICE, 2004). A alometria é a relação entre o tamanho de um órgão e o tamanho corporal total, ou entre dois órgãos (STERN & EMLÉN, 1999). Populações que se desenvolvem em condições subótimas apresentam respostas fenotípicas, esse tipo de distúrbio pode ser detectado utilizando a morfometria para avaliação das alterações nos padrões morfológicos, alométricos e estabilidade no desenvolvimento (LAZIC et al., 2015).

A assimetria flutuante pode ser definida como alterações que tornam uma característica bilateral maior ou menor que seu tamanho habitual, podendo ser considerada um reflexo de perturbação ambiental (LEARY & ALLENDORF, 1989;

VALEN, 1962). A AF pode ser um indicador de organismos que se encontram sob algum tipo de estresse, como por exemplo, aqueles que se desenvolveram em habitats impactados por metais pesados ou outras substâncias tóxicas (CLARKE, 1993). Graham et al. (2010) aponta a AF como um parâmetro para medir o fitness de forma indireta. Em contrapartida, muitos estudos não encontraram resultados que suportam a hipótese que relaciona níveis de assimetria a instabilidades no desenvolvimento e a redução no fitness dos organismos (BJORKSTEN et al., 2000; FLOATE & FOX, 2000; GÖRUR, LOMONACO & MACKENZIE, 2007).

Mudanças nas plantas hospedeiras, como a acumulação de metais pesados, afetam as estruturas populacionais de consumidores primários, que experimentam um efeito do tipo base-topo (*bottom-up*), onde as espécies de níveis tróficos inferiores exercem efeito sobre as espécies de níveis tróficos superiores (TERBORGH, HOLT & ESTES, 2010). Dessa forma, insetos herbívoros, como os afídeos, respondem diretamente a alterações na planta hospedeira e podem ter seu desenvolvimento afetado (GÖRUR, 2007). Os pulgões se destacam como modelo para detectar influências ambientais na morfologia dos indivíduos e na estrutura populacional devido a reprodução partenogênica, gerando uma prole extensa que vive agregada em colônias, se expondo simultaneamente a possíveis estresses e instabilidades temporais (SOUTO et al., 2012).

Considerando as influências antrópicas na contaminação de solos agrícolas por uso intensivo de agroquímicos, esse trabalho buscou avaliar a influência do metal pesado chumbo (Pb) presente no solo sobre os traços morfométricos dos indivíduos da espécie herbívora *Brevicoryne brassicae* L., que se desenvolveram em cultivo de couve-manteiga *Brassica oleracea* L. (var. *acephala*) contaminado. As seguintes hipóteses foram testadas: (i) o tamanho dos apêndices corporais e o tamanho total do corpo é alterado na presença do contaminante, (ii) os padrões alométricos são alterados devido ao estresse gerado pelo metal pesado e (iii) a presença do chumbo gera níveis maiores de assimetria, apresentando instabilidade no desenvolvimento dos indivíduos.

4. METODOLOGIA

4.1. O sistema de estudo

O metal pesado escolhido para este estudo foi o chumbo (Pb). A contaminação por chumbo está associada a atividades como: fabricação de baterias, combustão de gasolina com chumbo e, principalmente, herbicidas e inseticidas (THANGAVEL & SUBBHURAAM, 2004; WUANA & OKIEIMEN, 2011). Mudanças de couve manteiga, *Brassica oleracea* L. (var. acephala), foram cultivadas em solo não contaminado (controle) e contaminado experimentalmente com nitrato de chumbo ($Pb(NO_3)_2$) na concentração de 0,60 g/kg de solo, sendo 10 plantas para cada tratamento, dispostas de forma aleatória. O plantio foi feito em vasos com capacidade para 12L, com mangueiras interligadas a garrafas do tipo PET, fechando o circuito da água e impedindo a contaminação local. Para cada vaso, foi realizada a mistura de 2Kg de argila expandida para drenagem e 8Kg de solo contendo areia, adubo orgânico e calcário. A irrigação das plantas ocorreu com a frequência de dois dias na semana. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação semiaberta, de modo que os insetos pudessem colonizar as plantas, localizada no Centro de Desenvolvimento de Transferência de Tecnologia-CDTT da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Ijaci em Minas Gerais.

4.2. Obtenção e mensuração dos insetos

Após o estabelecimento dos insetos nas plantas hospedeiras, uma coleta foi realizada no mês de junho, ocorrendo a retirada direta dos pulgões da couve com auxílio de pincel e seu imediato armazenamento em potes com álcool a 70% para melhor conservação das estruturas corporais. A espécie de pulgão selecionada para este estudo foi *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae) por ser a mais abundante. Em cada tratamento foram selecionadas seis plantas com um número expressivo de pulgões, e destas foram selecionados de forma aleatória 12 indivíduos adultos de fêmeas ápteras de *B. brassicae* de cada planta para mensuração dos traços morfométricos, totalizando 144 pulgões mensurados.

Cada indivíduo foi montado em posição dorsoventral sobre lâmina para microscopia e sobreposto com lamínula para planificação das estruturas. As lâminas foram fotografadas em estereomicroscópio Zeiss Axio Zoom.v16, com a lente Apo Z 1.5x/0.37 FWD 30mm e as mensurações realizadas no software Zen 2.3 no Centro de Estudos em Biologia Subterrânea da UFLA. Duas imagens foram obtidas, a primeira

para mensuração do comprimento total do corpo (do topo da cabeça a porção final do abdome - Figura 1-(1)) e a segunda após a planificação do inseto para mensuração do comprimento dos apêndices corporais, sendo eles antenas (antenômeros- Figura 1-(2)) e as tíbias posteriores (junção do fêmur com a tíbia a junção da tíbia com o tarso - Figura 1- (3)). Os apêndices corporais, foram medidos três vezes do lado direito e esquerdo, para estimar possíveis erros de mensuração.

Dos apêndices corporais selecionados para mensuração, as antenas constituem uma estrutura sensorial que tem uma função na orientação, e as tíbias um traço importante para locomoção que permite maior mobilidade na planta hospedeira e fuga dos inimigos naturais (RUIZ-MONTOYA, NÚÑEZ-FARFÁN & DOMÍNGUEZ, 2005; SHAPOSHNIKOV, 1985), ambas as estruturas são comparáveis às de outros grupos de insetos.



Figura 1: *Brevicoryne brassicae*, disposto em posição dorsoventral para mensuração das estruturas (1) Comprimento total do corpo (2) Comprimento dos antenômeros (3) Comprimento da tíbia posterior. Fonte: Da autora.

4.3. Análise dos dados

4.3.1. Morfometria

O teste de correlação foi realizado entre as antenas, tíbias e tamanho corporal através da função *chart.correlation* do pacote *PerformanceAnalytics*, com o objetivo de reduzir variáveis nas análises posteriores, onde apenas o lado direito do corpo foi utilizado para avaliar influências em cada apêndice corporal.

Para testar se houveram diferenças nas medidas corporais entre os tratamentos, foram realizados modelos lineares generalizados de efeito misto (GLMM), assumindo que as plantas são variáveis aleatórias, evitando erros por amostragens repetidas, as medidas corporais são as variáveis resposta e os tratamentos com diferentes concentrações de chumbo (Pb) são variáveis explicativas. Para isso a função *lmer* incluída no pacote *lme4* foi assumida (BATES et al., 2015).

4.3.2. Alometria

As relações alométricas do comprimento da tíbia e antena direita, em função do comprimento total, foram investigadas utilizando o método *major axis* (MA) do pacote *lmodel2*, considerando que os dados possuem distribuição normal, apresentam a mesma unidade métrica e o erro das variáveis é aproximadamente o mesmo (LEGENDRE & LEGENDRE, 2012). Deste modo, é possível analisar como os apêndices de *B. brassicae* variam com o tamanho do inseto. Com a alometria são encontrados os parâmetros que descrevem o crescimento dos indivíduos entre partes corporais e o comprimento total. Os parâmetros α e b são o coeficiente alométrico (slope) e intercepto, respectivamente. O α indica como o tamanho de uma estrutura varia com o tamanho total do indivíduo ou com o tamanho de outra estrutura, e b indica diferença na proporção de tamanho da estrutura avaliada (SHINGLETON, 2010).

4.3.3. Assimetria flutuante

A assimetria flutuante (AF) em ambos os traços mensurados foi calculada conforme a equação abaixo:

$$AF = R - L, \text{ (PALMER \& STROBECK, 1986)}$$

Onde, R é o tamanho mensurado do lado direito e L do lado esquerdo tanto para as antenas quanto as tíbias. Utilizamos a análise de modelos mistos com verossimilhança restrita (REML), que produz estimativas não enviesadas para os valores de assimetria flutuante, através da função *lmer* do pacote *lme4*, considerando os tratamentos como variáveis explicativas e a variação de uma característica individual (erro de mensuração) como variável aleatória. Para avaliar a assimetria em função do tamanho de *B. brassicae*, adicionamos a variável comprimento total à análise, com isso foi possível avaliar se existe interação entre assimetria flutuante nas tíbias e antenas e o tamanho do inseto. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Development CoreTeam, 2017).

5. RESULTADOS

O teste de correlação realizado para os traços morfométricos de ambos os tratamentos, apresentou uma correlação forte entre o comprimento das antenas direita e esquerda (0,95), das tíbias direita e esquerda (0,97) e ainda entre antenas e tíbias (0,85, 0,84, 0,87, 0,86). Os apêndices e o tamanho corporal, não apresentaram uma correlação significativa (Figura 2).

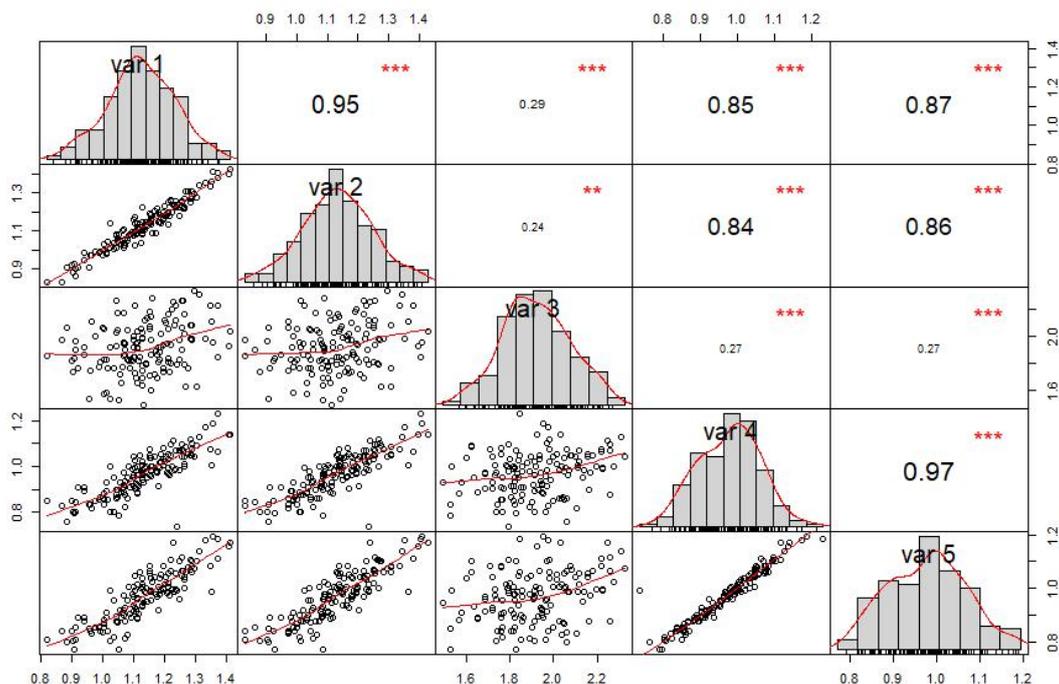


Figura 2: Correlação do comprimento dos apêndices e do tamanho corporal. **var 1:** Antena direita, **var 2:** Antena esquerda, **var 3:** comprimento do corpo **var 4:** Tíbia direita **var 5:** Tíbia esquerda.

As análises morfométricas comparando o tamanho dos apêndices corporais e o comprimento total do corpo (Figura 3), não evidenciaram nenhuma diferença significativa entre os tratamentos. Na ausência do contaminante, o comprimento total do corpo variou de 1,524 a 2,329mm, a antena direita de 0,883 a 1,411mm, a esquerda de 0,903 a 1,428mm, a tíbia direita de 0,736 a 1,860mm, a esquerda de 0,771 a 1,195mm. Na presença do contaminante, o comprimento total do corpo variou de 1,490 a 2,257, a antena direita de 0,821 a 1,372mm, a esquerda de 0,830 a 1,405mm, a tíbia direita de 0,795 a 1,231mm e a esquerda de 0,772 a 1,187mm.

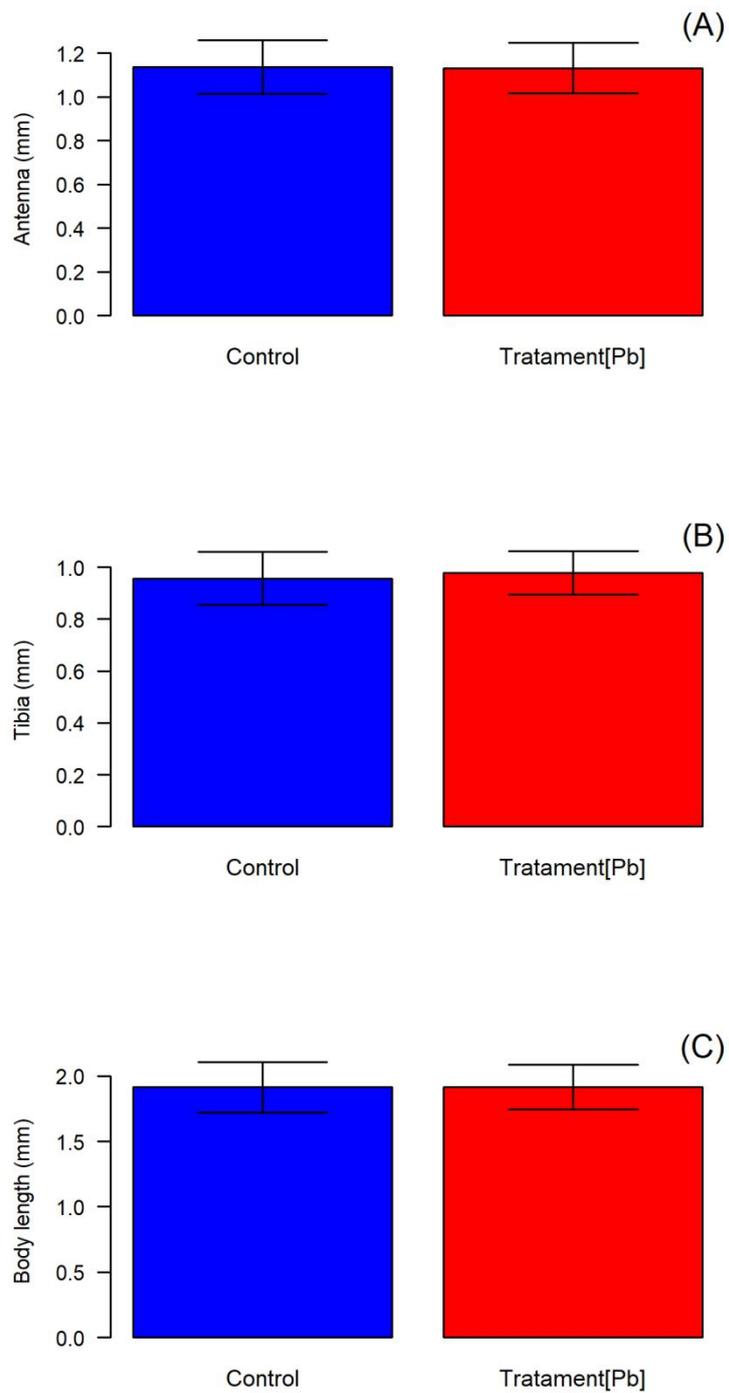


Figura 3: Modelo linear generalizado de efeito misto (GLMM) do comprimento dos apêndices corporais e do corpo na presença (Tratament [Pb]) e ausência de contaminante (Control). **A**: Comprimento da antena **B**: Comprimento da tíbia **C**: Comprimento do corpo.

Para a análise da alometria, foi verificado nos dois tratamentos a ocorrência de alometria negativa, com o coeficiente alométrico variando entre 0 e 1 (Tabela 1).

Tabela 1: Coeficiente alométrico e intervalos de confiança das estruturas corporais nos diferentes tratamentos.

Estrutura	Tratamento	Ângulo	IC (2,5-97,5)
Antena	Controle	0,62	0,23-1,21
	Contaminado	0,78	0,19-2,14
Tíbia	Controle	0,49	0,18-0,91
	Contaminado	0,26	-0,07-0,65

Na ausência do chumbo, as antenas apresentaram o coeficiente alométrico 0,62 (Figura 4) e na presença o coeficiente alométrico 0,78 (Figura 5), ambos, indicam hipoalometria.

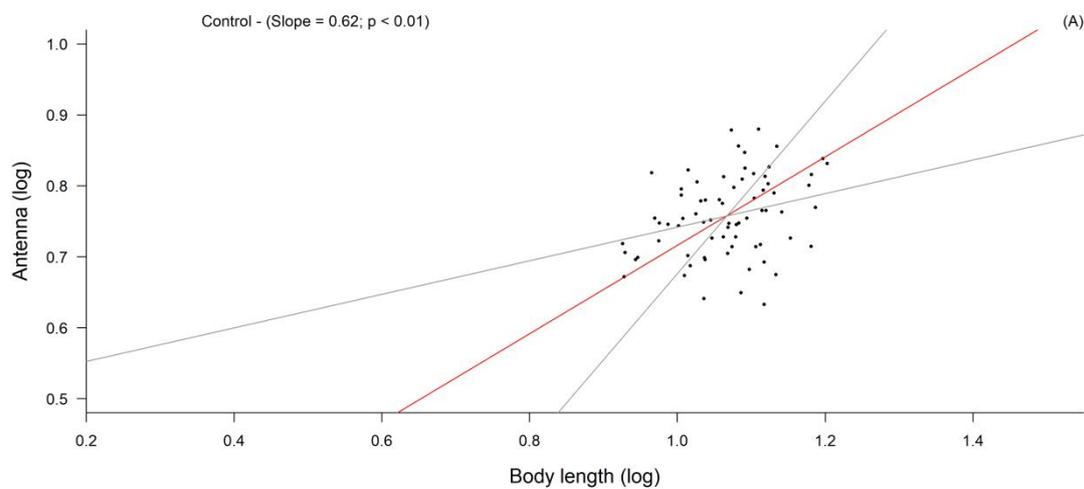


Figura 4: Alometria da antena em relação ao tamanho corporal total no controle.

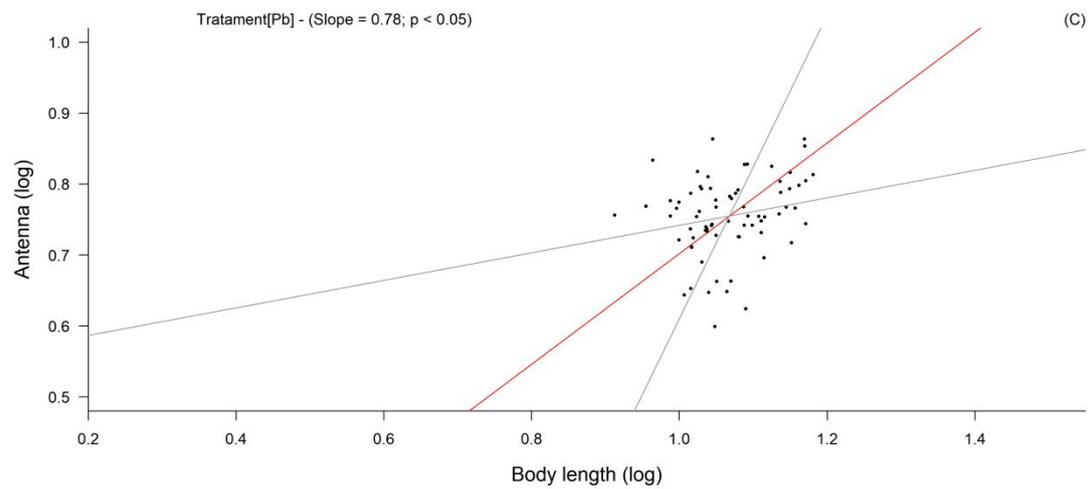


Figura 5: Alometria da antena em relação ao tamanho corporal total no tratamento com chumbo (Pb).

As tíbias, na ausência do contaminante, apresentaram o coeficiente alométrico 0,49 (Figura 6), já no tratamento com o chumbo, apresentaram o coeficiente alométrico 0,26 (Figura 7), ambos indicam hipoalometria.

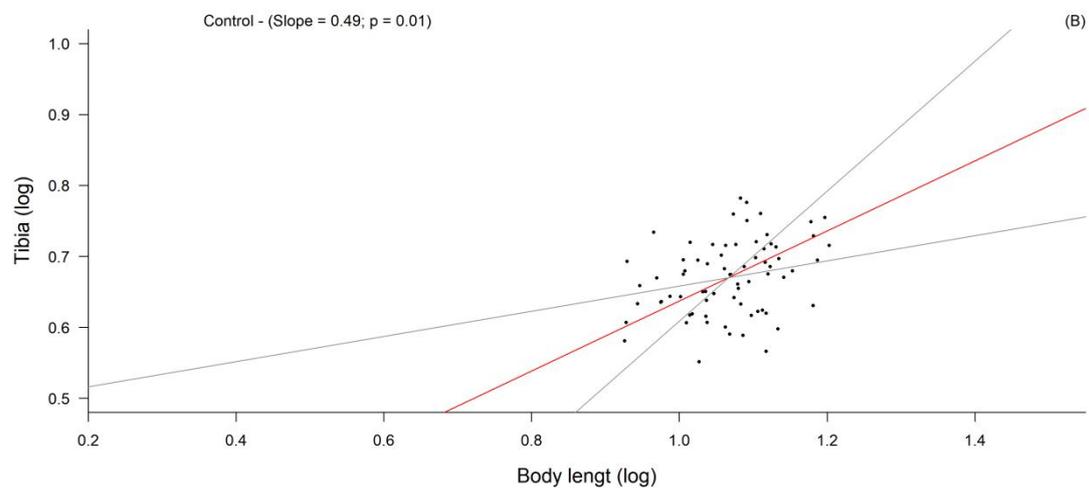


Figura 6: Alometria da tíbia em relação ao tamanho corporal total no controle.

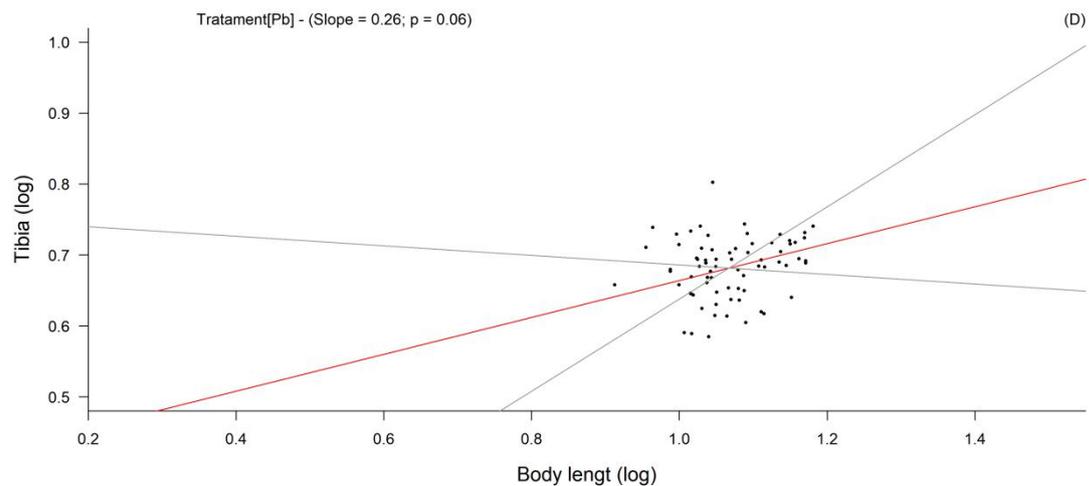


Figura 7: Alometria da tíbia em relação ao tamanho corporal total no tratamento com chumbo (Pb).

Não foi observado a assimetria flutuante entre os lados, seja da antena ou da tíbia. Também não foi observado diferença entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2: Assimetria flutuante da antena e da tíbia de *Brevicoryne brassicae* no tratamento contaminado com chumbo (Pb).

		Estimativa	Erro padrão	G.L.	Valor-T	Valor-P
Antena	Intercepto	1	4	142,0	0,374	0,709
	Contaminado	4	5	142,0	0,781	0,436
Tíbia	Intercepto	-3	2	142,0	-1,339	0,183
	Contaminado	4	3	142,9	1,523	0,130

6. DISCUSSÃO

Medindo-se o tamanho corporal e estruturas como a tíbia e a antena de indivíduos de *Brevicoryne brassicae* que se desenvolveram em plantas cultivadas em solo contaminado por chumbo (Pb) e em plantas controle, foi encontrado que os traços morfométricos dos indivíduos não apresentaram grande variação no tamanho de um tratamento para o outro ou desvios significativos em relação a bilateralidade, não suportando a hipótese da alteração no tamanho das estruturas e da instabilidade no desenvolvimento por assimetria flutuante na presença do metal pesado. Embora os

dois tratamentos tenham apresentado um padrão alométrico negativo, a alometria se mostrou uma ferramenta mais sensível para detectar variações corporais, apresentando diferentes coeficientes alométricos entre os tratamentos.

O padrão alométrico negativo encontrado sugere que o aumento no comprimento do corpo não corresponde a um aumento proporcional dos apêndices corporais. Souza, Monteiro e Faria (2018), avaliaram o efeito de diferentes inseticidas sobre a alometria do parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e encontraram uma tendência para a alometria negativa, embora os resultados tenham demonstrado uma simetria e isometria dos insetos. As tíbias de *B. brassicae* apresentaram uma maior variação no coeficiente alométrico do que as antenas, embora ambas as estruturas tenham uma alometria negativa. Como demonstrado por Mirth, Anthony-Frankino e Shingleton (2016), os parâmetros das relações morfológicas de tamanho, como o coeficiente alométrico e o intercepto, podem variar para diferentes órgãos em uma mesma espécie. Além disso, as relações alométricas são dependentes do tipo de metal pesado utilizado e de quais partes são mensuradas, podendo responder de formas diferentes (HÉDOUIN, 2006).

Os níveis de assimetria flutuante não foram alterados no tratamento com o chumbo (Pb), não sendo possível verificar instabilidade no desenvolvimento dos pulgões. Görur (2006) verificou que o cobre (Cu) e o chumbo (Pb) aumentam a assimetria flutuante de *B. brassicae* associados ao repolho e ao rabanete, porém, os índices que relacionam a instabilidade à reduções no fitness não foram significativos. Moscas da espécie *Cyrtodiopsis dalmanni* Wiedemann (Diptera: Diopsidae) não apresentaram diferenças na assimetria flutuante quando os estádios larvais foram submetidos a estresse alimentar por oferecimento de recursos mais pobres nutricionalmente, apesar da redução do tamanho dos traços nessas condições, indicando que a assimetria flutuante pode não ser um bom indicador de estresse no desenvolvimento dos indivíduos (BJORKSTEN, 2000).

Floate e Fox (2000) levantaram a hipótese da mortalidade diferencial para explicar que a exposição ao pesticida ivermectina durante o desenvolvimento de *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae) não afeta os níveis de assimetria flutuante dos traços mensurados nas asas. As moscas que sobreviveram ao pesticida representam um subconjunto mais robusto da população original, que não tem sua simetria afetada pela condição estressante. Os níveis de assimetria flutuante podem ser enviesados em condições estressantes devido a remoção seletiva de indivíduos

com desenvolvimento instável. Logo, a interação entre a assimetria flutuante individual e a adequação ao estresse pode confundir o efeito do metal pesado sobre a simetria (HENDRICKX, MAELFAIT & LENS, 2003). Nesse sentido, não foi possível detectar esse mecanismo em *B. brassicae*, visto que a mensuração dos indivíduos não abrangeu as gerações e as taxas de mortalidade, sendo medidos indivíduos de uma única geração. Sugere-se que trabalhos futuros busquem identificar esse tipo de efeito.

A ausência de efeito do chumbo sobre os traços morfométricos de *B. brassicae* pode estar relacionada a processos de bioacumulação e desintoxicação dos indivíduos. Merrington et al. (2001), demonstraram que a bioacumulação nos afídeos foi menor do que nas plantas hospedeiras em solos contaminados com cádmio (Cd) e zinco (Zn), evidenciando uma captação relativa do metal e possível criação de uma barreira para seu transporte ao longo da cadeia alimentar. A eliminação de chumbo através do *honeydew* por pulgões é um possível mecanismo de desintoxicação dos organismos, controlando a transferência para outros níveis tróficos (NAIKOO et al., 2019). Por outro lado, alguns organismos produzem características fenotípicas pré-determinadas, as quais limitam a variação do fenótipo e reduzem os efeitos do estresse sobre seu desenvolvimento (LERNER, 1954).

Esse trabalho, contribuiu para a determinação de metodologias eficientes na detecção de impactos nas populações de insetos por ação de contaminantes, em especial metais pesados, tratando-se de aspectos morfológicos. As relações entre estresse, assimetria flutuante e fitness se demonstram razoavelmente fracas e muito heterogêneas, pois apresentam grande variação entre grupos e traços mensurados (LEUNG & FORBES, 1996). Encorajamos o uso das relações alométricas, que se mostraram mais sensíveis para a determinação de alterações mais sutis nos traços morfométricos dos insetos expostos a metais pesados.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas, ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras pelo espaço concedido na fazenda experimental, ao Centro de Estudos em Biologia Subterrânea por ter possibilitado a utilização do

estereomicroscópio e a Leticia Aparecida de Oliveira, pelo suporte na confecção da figura 1.

8. REFERÊNCIAS

ADAMS, D.C., ROHLF, F.J. & SLICE, D.E. Geometric morphometrics: ten years of progress following the ‘revolution’. **Italian Journal of Zoology**, 71: p.5–16, 2004.

AZAM, I., AFSHEEN, S., ZIA, A., JAVED, M., SAEED, R., SARWAR, M. K., & MUNIR, B. Evaluating Insects as Bioindicators of Heavy Metal Contamination and Accumulation near Industrial Area of Gujrat, Pakistan. **BioMed Research International**, p.1–11, 2015.

BATES, D., MAECHLER, M., BOLKER, B., WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, 67(1), 1-48, 2015.

BENTON, T.G., VICKERY, J.A. & WILSON, J.D. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? **Trends in Ecology & Evolution**, 18: p.182-188, 2003.

BEUKEBOOM, L. W. Size matters in insects - an introduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 166(1), p.2–3, 2018.

BIANCHI, F.J.J.A., BOOIJ, C.J.H. & TSCHARNTKE, T. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 273: p.1715-1727, 2006.

BJORKSTEN T., DAVID P., POMIANKOWSKI A. & FOWLER K. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. **Journal of Evolutionary Biology**, 13 p.89-97, 2000.

CLARKE, G. M. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. **Environmental Pollution**, 82(2), p.207–211, 1993.

FLOATE, K. D., & FOX, A. S. Flies under Stress: A Test of Fluctuating Asymmetry as a Biomonitor of Environmental Quality. **Ecological Applications**, 10(5), 1541, 2000.

GIMENO-GARCIA, E., ANDREU, V., BOLUDA, R.. Heavy metals incidence in the application of organic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v.92, p.19-25, 1996.

GÖRÜR, G., LOMONACO, C., & MACKENZIE, A. Relationships between developmental instability in morphological characters and fitness of *Aphis fabae* population reared on two host plants. **Russian Journal of Ecology**, 38(2), p.119–123, 2007.

GÖRÜR, G. Developmental instability in cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) populations exposed to heavy metal accumulated host plants. **Ecological Indicators**, 6(4), p.743–748, 2006.

GRAHAM, J. H., RAZ, S., HEL-OR, H., & NEVO, E. Fluctuating Asymmetry: Methods, Theory, and Applications. **Symmetry**, 2(2), p.466–540, 2010.

HÉDOUIN, L., METIAN, M., TEYSSIE, J.-L., FOWLER, S. W., FICHEZ, R., & WARNAU, M. Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. **Science of The Total Environment**, 366(1), p.154–163, 2006.

HENDRICKX, F., MAELFAIT, J.-P., & LENS, L. Relationship between fluctuating asymmetry and fitness within and between stressed and unstressed populations of the wolf spider *Pirata piraticus*. **Journal of Evolutionary Biology**, 16(6), p.1270–1279, 2003.

KLINGENBERG, C. P., & NIJHOUT, H. F. Genetics of fluctuating asymmetry: A developmental model of developmental instability. **Evolution**, 53(2), p.358–375, 1999.

KOZLOWSKI, J. Optimal allocation of resources to growth and reproduction: implications for age and size at maturity. **Trends in Ecology & Evolution**, 7, p.75-79, 1992.

LAZIĆ, M. M.; CARRETERO, M. A.; CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ, J. & KALIONTZOPOULOU, A. Effects of Environmental Disturbance on Phenotypic Variation: An Integrated Assessment of Canalization, Developmental Stability, Modularity, and Allometry in Lizard Head Shape. **The American Naturalist**, 185(1), p.44–58, 2015.

LEARY, R. F., & ALLENDORF, F. W. Fluctuating asymmetry as an indicator of stress: Implications for conservation biology. **Trends in Ecology & Evolution**, 4(7), 214–217, 1989.

LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. **Developments in Environmental Modelling**. Numerical ecology, Elsevier, Amsterdam. 3rd edition, 2012.

LERNER, I. M. **Genetic homeostasis**. London, Oliver and Boyd, 154p, 1954.

LEUNG, B. & FORBES, M. R. Fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness: Effects of trait type as revealed by meta-analysis. **Écoscience**, 3:4, p.400-413, 1996.

MARYANSKI, M., KRAMARZ, P., LASKOWSKI, R., NIKLINSKA, M. Decreased energetic reserves, Morphological changes and accumulation of metals in Carabid Beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to Zinc or Cadmium contaminated food. **Ecotoxicology**, 11, p. 127–139, 2002.

MERRINGTON, D. MILLER, M. J. MCLAUG, G., KELLER, M. A. Trophic Barriers to Fertilizer Cd Bioaccumulation Through the Food Chain: A Case Study Using a Plant Insect Predator Pathway. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 41(2), p. 151–156, 2001.

MIRTH, C. K., ANTHONY FRANKINO, W., & SHINGLETON, A. W. Allometry and size control: what can studies of body size regulation teach us about the evolution of morphological scaling relationships? **Current Opinion in Insect Science**, 13, p. 93–98, 2016.

NAIKOO, M. I., DAR, M. I., KHAN, F. A., RAGHIB, F., RAJAKARUNA, N. Trophic transfer and bioaccumulation of lead along soil–plant–aphid–ladybird food chain. **Environmental Science and Pollution Research**, 26: p. 23460–23470, 2019.

PALMER, A. R., & STROBECK, C. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 17(1), p.391–421, 1986.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R a Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2016.

RAMALHO, J.F.G.P.; AMARAL-SOBRINHO, N.M.B.; VELLOSO, A.C.X. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1289-1303, 2000.

ROBINSON, R.A. & SUTHERLAND, W.J. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. **Journal of Applied Ecology**, 39: p.157-176, 2002.

RUIZ-MONTOYA, L., NÚÑEZ-FARFÁN, J. & DOMÍNGUEZ, C. A. Changes in morphological traits of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) associated with the use of different host plants. **Ecological Research**, 20(5), p. 591–598, 2005.

SHAPOSHNIKOV, G.C.H. The main features of the evolution of aphids. In: Szelegiewicz, H. (ed) **Proceedings of the international aphidological symposium**, Jablonna, Ossolineum, Wroclaw, Poland, p.19–99, 1985.

SHINGLETON, A. W., FRANKINO, W. A., FLATT, T., NIJHOUT, H. F., & EMLEN, D. J. Size and shape: the developmental regulation of static allometry in insects. **BioEssays**, 29(6), p.536–548, 2007.

SHINGLETON, A. Allometry: The Study of Biological Scaling. **Nature Education Knowledge**, 3(10):2, 2010.

SILDANCHANDRA, W. & CRANE, M. Influence of sexual dimorphism in *Chironomus riparius meigen* on toxic effects of cadmium. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.19, No.9, p. 2309–2313, 2000.

SOUTO, K. C. F. L., SAMPAIO, M. V., PEDROSO, H. L., & LOMÔNACO, C. Biotic and Abiotic Factors Affecting *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) and the Associated Hyperparasitoid *Alloxysta fuscicornis* Hartig

(Hymenoptera: Figitidae) Morphologies. **Neotropical Entomology**, 41(4), p.272–277, 2012.

SOUZA, D., MONTEIRO, A. B., & FARIA, L. D. B. Morphometry, allometry, and fluctuating asymmetry of egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* under insecticide influence. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 166(4), p. 298–303, 2018.

STERN D.L., EMLEN D.J. The developmental basis for allometry in insects, **Development**, 126: p.1091-1101, 1999.

THANGAVEL, P., SUBBHURAAM, C. Phytoextraction: role of hyperaccumulators in metal contaminated soils. **Proceedings of the Indian National Science Academy**, 70, p.109–130, 2004.

TERBORGH, J.; HOLT, R. D.; ESTES, J. A. Trophic cascades: What they are, how they work, and why they matter. In: TERBORGH, J; ESTES, J. A. Trophic cascades: Predators, preys, and the changing dynamics of nature. **Washington: Island Press**, p. 1-20, 2010.

VALEN, L. V. A Study of Fluctuating Asymmetry. **Evolution**, v. 16, n. 2, p. 125-142, 1962.

WUANA, R.A., OKIEIMEN, F.E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **International Scholarly Research Notices: Ecology**, p. 1–20, 2011.