



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

GABRIEL DA COSTA NOGUEIRA

**EFEITOS DA URBANIZAÇÃO NA NIDIFICAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES
SIMPÁTRICAS DE FORMIGAS DO GÊNERO *CREMATOGASTER***

**FORTALEZA
2024**

GABRIEL DA COSTA NOGUEIRA

EFEITOS DA URBANIZAÇÃO NA NIDIFICAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES
SIMPÁTRICAS DE FORMIGAS DO GÊNERO *CREMATOGASTER*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Lorenzo Roberto Sgobaro Zanette.

Coorientador: Prof. Dr. Yves Patric Quinet.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N712e Nogueira, Gabriel da Costa.

Efeitos da urbanização na nidificação de duas espécies simpátricas de formigas do gênero *Crematogaster* / Gabriel da Costa Nogueira. – 2024.

40 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Lorenzo Roberto Sgobaro Zanette.

Coorientação: Prof. Dr. Yves Patric Quinet.

1. *C. abstinens*. 2. *C. pygmaea*. 3. Polidomia. 4. Poliginia. 5. Unicolonialidade. I. Título.

CDD 577

GABRIEL DA COSTA NOGUEIRA

EFEITOS DA URBANIZAÇÃO NA NIDIFICAÇÃO DE DUAS ESPÉCIES
SIMPÁTRICAS DE FORMIGAS DO GÊNERO *CREMATOGASTER*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em: 31/05/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Lorenzo Roberto Sgobaro Zanette (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Camila Rabelo Oliveira Leal
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Roberth Fagundes de Souza
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por todas as oportunidades de crescimento.

Ao meu professor e orientador Lorenzo Zanette, pelas oportunidades e confiança depositada em meu trabalho.

A UFC e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP pela concessão da bolsa de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos professores pelo apoio dado durante minha longa trajetória.

A Todas as pessoas do meu grupo de pesquisa (EVOLAB).

A toda a minha família e amigos.

RESUMO

A estrutura de colônias de formigas varia muito dependendo do número de ninhos e rainhas. Essas variações tem importantes efeitos funcionais e ecológicos, permitindo que algumas espécies ocupem com sucesso ambientes urbanos fortemente alterados. Além disso, as variações no número de rainhas e de ninhos por colônia definem o nível de compartilhamento de genes dentro da colônia e por consequência o balanço entre conflito e cooperação. Neste estudo, utilizamos duas espécies irmãs, mas com diferenças na sua estrutura colonial, *Crematogaster abstinens*, (monogínica e monodômica) e *Crematogaster pygmaea* (poligínica e polidômica) para investigar os potenciais efeitos da urbanização nas suas estratégias de fundação. Para isso, realizamos mapeamentos de ninhos e coletas de operárias em nove áreas de diferentes cidades do estado do Ceará. Para verificar a qualidade da cobertura da vegetação (nível de urbanização), foi calculado o NDVI em diferentes faixas a partir do quadrante de coleta e mapeamento de ninhos (50 m, 100 m, 200 m) por localidade, para os últimos seis anos (2018-2023). Em 89,1 % das localidades houve uma queda dos valores de NDVI, mostrando que o avanço da urbanização tem afetado negativamente a vegetação e positivamente o número de formigas. As duas espécies apresentaram segregação espacial e uma alta agregação espacial de ninhos. O estudo fornece novas informações e uma visão geral da perda de cobertura vegetal. Esse cenário de degradação tem possibilitado a entrada de espécies invasoras e extinção de espécies nativas.

Palavras-chave: *C. abstinens*; *C. pygmaea*; polidomia; poliginia; transição social; unicolonialidade.

ABSTRACT

The structure of ant colonies varies greatly depending on the number of nests and queens. These variations have important functional and ecological effects, allowing some species to successfully occupy heavily altered urban environments. Furthermore, variations in the number of queens and nests per colony define the level of gene sharing within the colony and consequently the balance between conflict and cooperation. In this study, we used two sister species, but with differences in their colonial structure, *Crematogaster abstinens*, (monogynous and monodomous) and *Crematogaster pygmaea* (polygynous and polydomous) to investigate the potential effects of urbanization on their founding strategies. To this end, we carried out mapping of nests and collect of workers in nine areas of different cities in the state of Ceará. To verify the quality of vegetation cover (level of urbanization), the NDVI was calculated in different ranges based on the nest collection and mapping quadrant (50 m, 100 m, 200 m) per location, for the last six years (2018-2023). In 89.1% of the locations there was a drop in NDVI values, showing that the advance of urbanization has negatively affected the vegetation and positively the number of ants. The two species showed spatial segregation and a high spatial aggregation of nests. The study provides new information and a general overview of the loss of vegetation cover. This scenario of degradation has facilitated the entry of invasive species and the extinction of native species.

Keywords: *C. abstinens*; *C. pygmaea*; mongyny; poygyny; social transition; unicoloniality.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	Material e Métodos.....	11
2.1	Locais de estudo.....	11
2.2	Sistema de estudo.....	11
2.3	Mapeamento das colônias.....	12
2.4	Análise da cobertura vegetal.....	13
2.5	Genotipagem	15
2.6	Análises estatísticas	16
3	RESULTADOS	17
4	DISCUSSÃO	27
5	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A estrutura colonial das formigas é um aspecto chave de sua ecologia, sendo resultado de um longo tempo de evolução social (STEINER *et al.*, 2010; BOURKE, 2011). Uma colônia pode variar em número de ninhos, de monodômica (um ninho) a polidômica (dois ou mais ninhos), e em número de rainhas por colônia, de monogínica (uma rainha) a poligínica (duas ou mais rainhas) (LIU *et al.*, 1998; PFEIFFER & LINSENMAIR, 1998; PEDERSEN & BOOMSMA, 1999). Essas variações no número de rainhas podem ter efeito direto sobre o nível de parentesco entre os indivíduos de cada colônia e, por consequência, podem ser determinantes para a aptidão inclusiva de rainhas e operárias (CROZIER & PAMILO, 1996).

Tanto a monoginia como a monodomia são consideradas características ancestrais e são observadas na maioria das formigas (SANETRA & CROZIER, 2002; DEBOUT *et al.*, 2007; HUGHES *et al.*, 2008; BOOMSMA *et al.*, 2014; BOULAY *et al.*, 2014; ROBINSON, 2014). Nessas espécies, novas colônias são fundadas por uma única rainha (fundação independente) e sua dispersão e acasalamento é realizado geralmente durante o voo (PEETERS & ITO, 2001; PEETERS & MOLET, 2010). Em contrapartida, em espécies em que ocorre a poliginia, uma característica derivada, as rainhas comumente se acasalam dentro ou nas proximidades do ninho de origem, onde a rainha acompanhada de algumas operárias pode fundar uma nova colônia (fundação dependente) (HELANTERÄ *et al.*, 2009; PEETERS & MOLET, 2010; BOULAY *et al.*, 2014; ROBINSON, 2014).

As duas formas de fundação estão diretamente correlacionadas a estratégias distintas de dispersão e uso do habitat. A fundação dependente geralmente resulta em permanência e saturação local de habitat, já a fundação independente pode levar os indivíduos a habitats ainda não colonizados e de qualidade distinta do habitat original (PEETERS, 2012; CRONIN *et al.*, 2013; CRONIN, 2016). No entanto, na fundação independente, realizada por meio de voo (dispersão à longa distância) há uma maior exposição da rainha a predadores e condições abióticas adversas (PASSERA & ARON, 2005; PEETERS & MOLET, 2010; MOTRO *et al.*, 2016). Além disso, nas fundações independentes não-claustrais, antes da emergência de operárias a rainha será a única responsável por obter recursos e, para tanto, deverá novamente se expor aos riscos presentes no ambiente (PASSERA & ARON, 2005; PEETERS & MOLET, 2010). Nas fundações independentes claustrais,

a rainha não se expõe aos riscos do ambiente na busca de recursos, pois suas reservas corporais garantem a sobrevivência da prole, por conta disso não deixam os seus ninhos incipientes (MOTRO *et al.*, 2016). As fundações dependentes e a própria poliginia podem ter evoluído como forma de minimizar os custos associados à fundação de uma nova colônia (HEINZE & FOITZIK, 2009).

Em espécies poligínicas e polidômicas, a amplitude de exploração do habitat é frequentemente superior em relação a espécies monogínicas e monodômicas (DEBOUT *et al.*, 2007, BOULAY *et al.*, 2014). Essa alta eficiência de exploração é resultado da presença de múltiplas rainhas que tendem a gerar um maior número de indivíduos por colônia e a uma distribuição mais ampla das operárias no espaço, favorecendo a eficiência na obtenção de recursos (HEINZE & FOITZIK, 2009). Colônias polidômicas também podem fornecer alternativas de fuga perante o ataque de predadores, já que indivíduos podem rapidamente abandonar um ninho que está sendo atacado e se reagrupar em outro (DROUAL, 1984). Além disso, espécies poligínicas são favorecidas em ambientes com condições imprevisíveis, pois apresentam um maior potencial de crescimento rápido da colônia (TSUJI & TSUJI, 1996; HEINZE; FOITZIK, 2009). Isso é possível, pois o máximo de fecundidade das rainhas poligínicas tendem a ser no início da vida adulta, ao contrário das rainhas monogínicas (HEINZE & FOITZIK, 2009). Essa rápida expansão favorece o monopólio de recursos em possíveis competições e a dominação da área (STUKALYUK *et al.* 2021).

Apesar da poliginia frequentemente estar associada à polidomia (MCIVER *et al.*, 1997; PEDERSEN & BOOMSMA, 1999), espécies monogínicas também podem ser polidômicas (PFEIFFER & LINSENMAIR, 1998; ICHINOSE *et al.*, 2007, BOULAY *et al.*, 2014; CALDATO *et al.*, 2016). Por exemplo, as colônias de *Acromyrmex balzani*, com apenas uma rainha, possuem um ninho formado por vários subnínhos que não são interligados por túneis, mas são conectados pelo movimento de operárias entre ninhos (CALDATO *et al.*, 2016). Também pode ocorrer de uma espécie apresentar variações na sua estrutura colonial dependendo das condições ambientais locais (STUKALYUK *et al.* 2021). A formiga prateada (*Formica selysi*) responde a certas variações ambientais: em ambientes mais frios tende a favorecer a dispersão das rainhas e a fundação de colônias monogínicas independentes, já em ambientes mais estáveis e contínuos tende a favorecer a rápida expansão de colônias poligínicas (PURCELL *et al.*, 2015). De modo similar, na formiga do mel (*Myrmecocystus mendax*)

são encontradas colônias poligínicas e monogínicas, e a ocorrência de poliginia pode ser uma resposta à alta densidade local de ninhos de colônias distintas, que resulta em alta competição por recursos e favorece colônias maiores e com maior capacidade de produção de operárias (ERIKSSON *et al.*, 2019).

A maior eficiência ecológica associada a um processo de dispersão e fundação menos arriscado pode favorecer espécies poligínicas em ambientes altamente modificados e instáveis como áreas urbanas e periurbanas (TSUJI & TSUJI, 1996; HEINZE; FOITZIK, 2009). Além disso, ambientes com alto grau de antropização podem favorecer o predomínio de espécies invasoras, que possuem potencial para eliminar espécies nativas desses ambientes (KING & TSCHINKEL, 2006; NAUGHTON *et al.* 2020). Na formiga invasora *Tapinoma sessile*, por exemplo, foi observado a predominância de colônias monogínicas em ambientes naturais e de colônias poligínicas em ambientes urbanos (BLUMENFELD *et al.*, 2022). Outras espécies invasoras como a formiga argentina (*Linepithema humile*), a formiga de fogo (*Wasmannia auropunctata*) e a formiga cabeça-grande (*Pheidole megacephala*), são bons exemplos de espécies poligínicas muito eficientes na ocupação e exploração de novos ambientes.

A expansão urbana ao longo de décadas tem ameaçado a biodiversidade, promovendo a redução e fragmentação de habitats com impactos nas interações ecológicas e serviços ecossistêmicos associados (MCKINNEY, 2006; SETO *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2018; RIVKIN *et al.*, 2019). Os efeitos contínuos da urbanização nos processos naturais têm possibilitado o estabelecimento de espécies invasoras (HULME, 2009), as quais podem ser mais eficientes na competição com espécies nativas por possuírem requisitos ambientais menos específicos (COLAUTTI E MACISAAC, 2004; BUCZKOWSKI, 2010; BLUMENFELD *et al.*, 2022). As formigas invasoras podem alterar a estrutura e a distribuição espacial das comunidades de formigas nativas. Sanders *et al.*, (2003) mostraram que as comunidades nativas de formigas se distribuem de modo aleatório ou agregado de acordo com a presença ou ausência da formiga argentina (*Linepithema humile*), respectivamente.

Um recurso que permite acompanhar o desenvolvimento da urbanização e seus impactos na vegetação são as imagens de satélites (XUE & SU, 2017). Essas imagens têm possibilitado o acesso a dados com resoluções mais apuradas e fornecem informações diversas, como as condições da vegetação (MALLMANN, PRADO, & PEREIRA FILHO, 2015). Dos diversos índices existentes, o NDVI é um

dos mais relevante e amplamente utilizado para quantificar a qualidade da cobertura vegetal (XUE & SU, 2017). Com essa ferramenta é possível ter uma melhor compreensão das mudanças da vegetação e dos impactos ecológicos associados ao processo de urbanização (WANG *et al.*, 2020).

Dentre as formigas do gênero *Crematogaster*, *Crematogaster abstinens* Forel, 1899 e *Crematogaster pygmaea* Forel, 1904 coocorrem no Ceará e possuem estruturas coloniais distintas. *C. abstinens* é uma espécie monogínica e monodômica, e *C. pygmaea* é poligínica e polidômica. As duas espécies possuem uma relação de grupo-irmão corroborada por evidências em dados sobre a sua história natural (QUINET *et al.*, 2009), morfologia e por resultados preliminares de uma filogenia utilizando marcadores nucleares (*Long-wave rhodopsin & Wingless*) e mitocondriais (Citocromo oxidase da subunidade I) (MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017). Além disso, muitas características de *C. pygmaea* são de espécies monogínicas e apontam para uma dupla estratégia de dispersão, como: a ocorrência de voo nupcial (HAMIDI *et al.*, 2017) e a alta atratividade das rainhas pelas operárias (MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2012). Essas características fornecem um sistema de estudo que permite explorar a relação entre estratégias de fundação e dispersão e características do ambiente, particularmente em áreas fortemente antropizadas. O presente trabalho tem como objetivo responder à pergunta: quais os efeitos da urbanização nas estratégias de fundação de ninhos de duas espécies do gênero *Crematogaster*?

Nossa hipótese é:

I. Áreas urbanizadas favorecem mais a espécie poligínica (*C. pygmaea*) em detrimento da espécie monogínica (*C. abstinens*), por apresentar uma maior distribuição espacial e uma alta densidade populacional.

Predições:

A- A densidade de ninhos de *C.pygmaea* será significativamente maior do que em colônias de *C. abstinens*.

- B- Os ninhos de *C.pygmaea* estarão distribuídos de forma mais agregada, por conta de eventos de brotamento. Em contrapartida, os ninhos de *C. abstinens*, com fundações independentes, estarão menos agregado.
- C- O parentesco intracolonial em *C. pygmaea* será negativamente correlacionado ao tamanho da colônia (nº. de ninhos).*
- D- O parentesco entre colônias de *C. abstinens* que realizam fundações independentes será baixo ($r < 0.3$).*
- E- O parentesco intracolonial de *C. abstinens* será alto ($r > 0.5$).*

* Dados genéticos ausentes deste trabalho, mas em processo de finalização.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Locais de estudo

As operárias foram amostradas nos meses de abril, maio, junho e julho de 2023, em nove áreas no estado do Ceará, sendo: (1) no Condomínio Espiritual Uirapuru – CEU (Fortaleza) – (Cód.: CEU) ($3^{\circ}47'49.4"S\ 38^{\circ}31'13.5"W$), (2) Universidade Estadual do Ceará – UECE – Campus do Itaperi (açude) – (Cód.: UECE_AC) ($3^{\circ}47'31.5"S\ 38^{\circ}33'17.8"W$) e (3) (portaria) – (Fortaleza) (Cód.: UECE_POR) ($3^{\circ}47'15.4"S\ 38^{\circ}33'05.3"W$), (4) Pau Serrado – Loteamento Metrópole (Maracanaú) – (Cód.: PSER) ($3^{\circ}51'48.4"S\ 38^{\circ}39'23.6"W$), (5) Garrote Village (Caucaia) – (Cód.: GARROTE) ($3^{\circ}40'00.0"S\ 38^{\circ}45'06.4"W$), (6) Loteamento Barriguda – (Cód.: BARRIGUDA) ($3^{\circ}55'12.7"S\ 38^{\circ}32'20.8"W$) e (7) Loteamento Solaris (Itaitinga) – (Cód.: SOLARIS) ($3^{\circ}55'31.5"S\ 38^{\circ}32'31.4"W$) (8) Praia do presídio – (Cód.: PRESIDIO) ($3^{\circ}55'57.2"S\ 38^{\circ}19'15.8"W$) e (9) Loteamento Mirante do Iguape (Aquiraz) – (Cód.: IGUAPE)($3^{\circ}57'33.4"S\ 38^{\circ}17'36.5"W$).

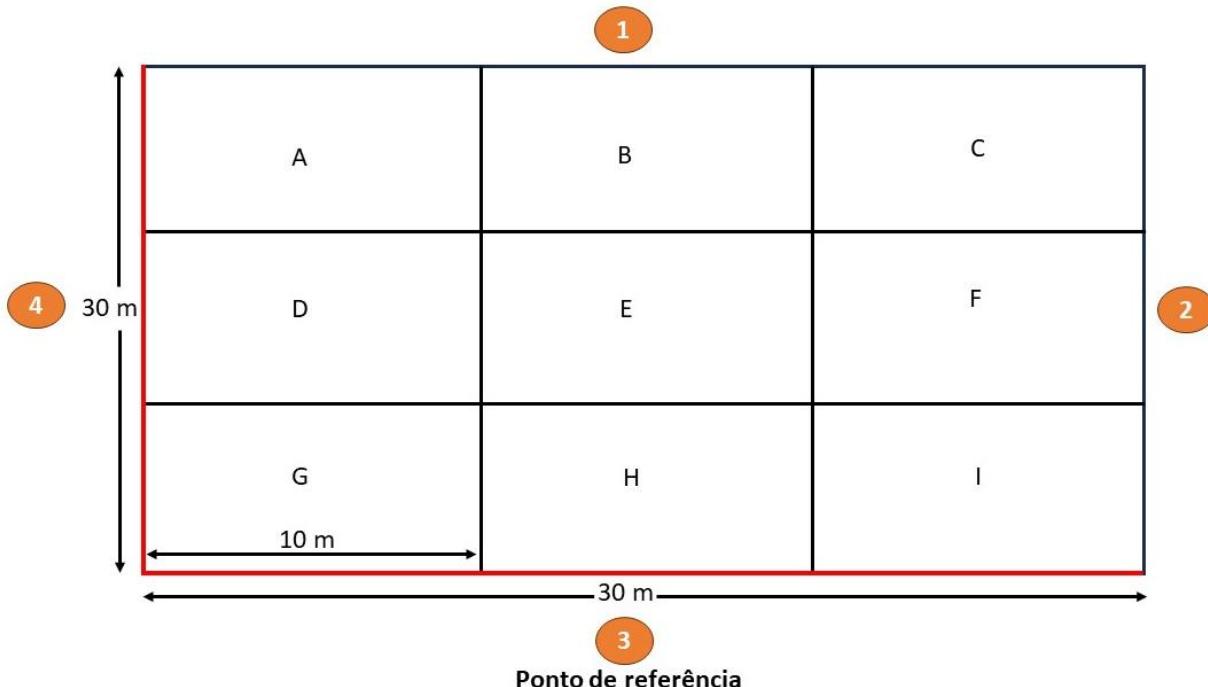
2.2 Sistema de estudo

Um dos fatores que afetam a presença de espécies é a vegetação (TOBIN, 1991; LEAL, 2003; SCHINDLER *et al.*, 2003; HONKANEN *et al.*, 2011). *C. pygmaea* é uma espécie que nidifica na terra e é encontrada em ambientes costeiros e de tabuleiro do estado do Ceará (QUINET *et al.*, 2009; MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017). Normalmente suas colônias são encontradas em áreas que sofreram modificações pelo homem e apresentam uma vegetação predominantemente herbácea. Cada colônia é composta por múltiplos ninhos e mais de uma rainha. Os seus ninhos são simples (único túnel de aproximadamente 25 cm) e interligados formando uma grande rede que facilita o acesso das operárias para a fonte de recursos, que é principalmente néctar obtido por estruturas glandulares das plantas (nectários florais e extraflorais) (QUINET *et al.*, 2009; HAMIDI *et al.*, 2017; MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017). Suas colônias possuem um caráter sazonal, ou seja, durante a estação de chuva o número de ninhos e indivíduos aumenta drasticamente (QUINET *et al.*, 2009).

C. abstinens possui bastante similaridade com *C. pygmaea*, seus hábitos de construção e arquitetura de ninhos e sua morfologia são semelhantes. Assim com a *C. pygmaea*, essa espécie apresenta diferenciação morfológica de castas (MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017). A diferença mais significativa entre as duas espécies está na estrutura colonial, na qual *C. abstinens* possui colônias pequenas com apenas uma rainha e habitam apenas um ninho, e *C. pygmaea* grandes colônias com várias rainhas e múltiplos ninhos (QUINET *et al.*, 2009).

2.3 Mapeamento das colônias

Figura 1 - Representação esquemática do quadrante.

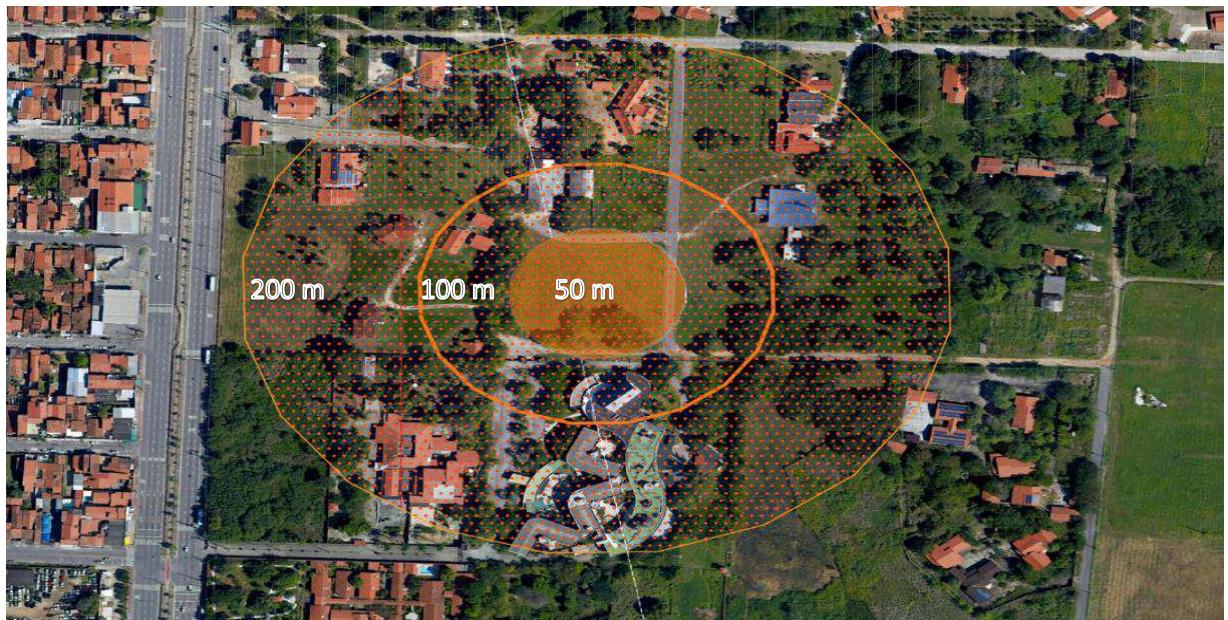


Fonte: elaborado pelo autor.

O método utilizado para o mapeamento dos ninhos foi adaptado de QUINET *et al.*, (2009). Em cada local foi delimitado um quadrante de 30 x 30 m, tendo em vista que as colônias se estendem por uma grande área, utilizando um barbante com marcações a cada 10 metros, e definido um ponto de referência (ex. rua) para garantir a posição correta do quadrante, ou seja, para saber a ordem correta dos subquadrandantes (Figura 1). O quadrante foi dividido em nove subquadrandantes de 10 x 10 m. Em cada subquadrandante foi realizada uma busca ativa por ninhos, cada ninho encontrado foi marcado com uma bandeira numerada (haste de madeira com uma bandeira de cor vermelha ou amarela) próximo à entrada do ninho. Em cada ninho foram coletados no mínimo cinco indivíduos (utilizando um aspirador). Foram coletados indivíduos que estavam transitando na entrada do ninho ou em suas proximidades. Nos ninhos com intensa movimentação foram coletados todos os indivíduos encontrados por um período médio de dois minutos por ninho. O material coletado foi armazenado em microtubos com álcool 96% e congeladas (- 20°C) para as análises moleculares posterior (STARKS, 2002). Após as coletas, foram registradas as coordenadas de cada ninho dentro do quadrante, seguindo o plano cartesiano (coordenadas nos eixos X e Y).

2.4 Análise da cobertura vegetal

Figura 2 - Demonstração das divisões das zonas na área do Condomínio Espiritual Uirapuru (CEU) – Fortaleza-CE.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para verificar o estado de qualidade da vegetação dessas áreas, foi calculado o índice de vegetação de diferença normalizada (NDVI), a partir da seguinte fórmula: $NDVI = (NIR-RED) / (NIR+RED)$ (LILLESAND *et al.* 2004). Esse índice é calculado usando o comprimento de onda refletida na faixa infravermelha (NIR) e na luz refletida na faixa vermelha (RED), e seu resultado varia entre -1 a +1. Valores mais próximos do +1 indicam áreas com vegetação com maior cobertura vegetal e valores negativos ou próximos de 0 indicam ausência de vegetação (REID *et al.*, 2018). O índice foi obtido do banco de Imagens do Satélite CBERS 4 e 4A (sensor MUX) do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), com resolução de 16 m e com cobertura de nuvens abaixo de 50%.

Cada área amostral foi dividida em zonas de 50, 100 e 200 metros de raio, sendo que cada zona se sobrepõe, por exemplo, a zona de 50 está dentro da de 100, tendo como ponto de partida (raio) a região onde se encontra o quadrante (figura 1). Além disso, foi coletado imagens de satélite de seis anos (2018-2023). Em seguida, foi calculado o NDVI para cada uma das zonas, partindo de uma escala mais restrita (50 m) ao quadrante para uma mais ampla (200 m). De início, foi filtrado para a seleção das imagens os meses que foram realizadas as coletas (abril-julho). Quando ausente imagens nesses períodos, quer por conta da cobertura de nuvens acima de 50% que

impossibilitava a análise das imagens ou por conta da própria falta de registro para o período, eram escolhidos meses próximos, e em último caso, era feito uma varredura para todo o ano. Todo o processo de tratamento das imagens até os cálculos do NDVI foram feitos no QGIS, versão 3.34.2.

2.5 Genotipagem

Marcadores microssatélites têm possibilitado descobertas e gerado diversos estudos em diferentes áreas, incluindo a genética de populações, onde alguns de seus usos visa compreender a diversidade e estrutura genética de populações (OLIVEIRA *et al.*, 2006; KOTRESH *et al.*, 2006; MEHMOOD *et al.*, 2016; VIDAL *et al.*, 2021) e podem fornecer subsídios para o desenvolvimento de estratégias para a conservação (WHITE & POWELL, 1997). Os microssatélites são sequências repetidas de DNA altamente polimórficas e isso o torna um marcador genético bastante informativo. Um fator limitante à utilização desses marcadores é a obtenção de *primers* (iniciadores). Há um custo e demanda tempo para obter os iniciadores específicos, pois é necessário isolamento, desenvolvimento e diversos testes (BUSO *et al.*, 2003). Em contrapartida, é possível a utilização de *primers* que foram criados para outras espécies que estejam relacionadas (TAUTZ, 1989).

Para avaliar as relações de parentesco dentro de cada colônia e em cada subpopulação, foram feitas extrações de DNA de 432 indivíduos. O DNA de operárias inteiras utilizando o protocolo HotSHOT (TRUETT *et al.*, 2000). A extração consistiu em adicionar 50 µl de reagente de lise alcalina (NaOH 25 mM / EDTA 0,2 mM) aos tubos contendo uma formiga inteira macerada, e aquecimento em banho maria a 95 °C por 45 minutos. Após isso, as amostras foram resfriadas a 4 °C por 1 minuto, e 50 µl de reagente neutralizante (Tris-HCL 40 mM, pH 5) foi adicionado em cada tubo.

Os ninhos foram selecionados por meio de um sorteio que foi feito no software R (R Development Core Team, VIENNA, 2020) com a seguinte fórmula: faixa1<- c (570,94,39,429,21,333,88,2002,1150,1001,230) sample(faixa1,2). Visando não ter uma concentração de ninhos em apenas uma parcela e para que os ninhos fiquem bem distribuídos, o quadrante foi dividido em três faixas verticais de 10 em 10 metros. Faixa 1 (subquadrantes A, D, G), faixa 2 (subquadrantes B, E, H) e faixa 3 (subquadrantes C, F, I) (Fig.1). No total, foram escolhidos 6 ninhos por área, sendo 2 ninhos em cada faixa.

Os procedimentos foram feitos em laboratórios do departamento de Biologia (UFC) seguindo protocolos padronizados previamente testados (ZANETTE; FIELD, 2008). Inicialmente, foram utilizados quatro loci polimórficos (microssatélites) desenvolvidos e testados para *C. pygmaea* (Cpyg1-4; HAMIDI *et.al.*, 2012) e quatro loci polimórficos desenvolvidos como marcadores multiespecíficos e já testados em seis espécies (*Paraponera clavata*, *Simopelta pentadentata*, *Dorylus molestus*, *Lasius nearcticus*, *Ectatomma ruidum*, *Solenopsis invicta*) (Ant575, Ant1343, Ant11893 e Ant8424; BUTLER *et al.*, 2014). Para a escolha dos primers, foram feitos diversos testes de quantidade e concentração, sendo que os produtos da PCR foram visualizados em eletroforese em gel de agarose. Do conjunto de oito loci foram selecionados 6, os quatro específicos (Cpyg1-4) e dois multiespecífico (Ant1343 e Ant11893). Ant575 não foi selecionado por que durante os testes em eletroforese não houve presença de bandas para *C. abstinentes*. Já Ant8424 (235–259) possui uma faixa de tamanho (pb) que se sobreponha em parte a Ant1343 (252–272), o critério para escolha foi a maior faixa de tamanho do Ant1343. Ambos não utilizados por conta da complexidade da otimização da PCR multiplex de primers e por limitações de tempo.

As reações de PCR foram feitas em um volume total de 10 µl, sendo: 5 µl de Platinum™ Multiplex PCR Master Mix, 3 µl de uma mistura de 6 microssatélites 2 µl de DNA. A mistura de microssatélites foi realizada em 380 µl de solução TE e 10 µl de cada primer (120 µl). O perfil da PCR consiste em: ciclagem térmica de 95 °C por 3 min (um ciclo); 95 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s e 72 °C durante 1 min (40 ciclos); por fim, 72 °C por 10 min (um ciclo). Cada placa de PCR inclui um controle negativo (sem DNA) e positivo (para testar os reagentes).

Os resultados das análises de fragmentos em eletroforese capilar mostraram a ausência de picos para determinados primers (Cpyg1 e Cpyg3), como também picos intensos (Ant1343 e Ant11893). Por esse motivo, não foi possível a inclusão das análises de parentesco neste trabalho.

2.6 Análises estatísticas

Modelos Lineares Generalizados (GLM) foram utilizados para analisar as relações entre os valores de NDVI, tempo (anos), locais de coleta e número de formigas amostradas (para dados com distribuição beta, utilizou-se o pacote glmmTMB) (BROOKS *et al.*, 2017). Em uma primeira análise, para entender as

diferenças entre os NDVI encontrados, utilizamos o NDVI como variável resposta; o ano e locais como variáveis explicativas, e como variável aleatória, as três zonas (raios das áreas de entorno: 50, 100e 200 m). Com o objetivo de analisar a abundância de indivíduos, foi utilizada a quantidade de indivíduos totais como variável resposta, e o NDVI dos locais e de diferentes zonas (um modelo para cada zona), como variáveis explicativas.

Para investigar a distribuição espacial dos ninhos das duas espécies, utilizamos análises de padrões de pontos espaciais (BADDELEY, RUBAK & TURNER, 2015). A segregação espacial entre as espécies foi testada de forma não paramétrica, utilizando um teste Monte Carlo para a segregação espacial de tipos de pontos (DIGGLE *et al.*, 2005), com 100 simulações.

Considerando a forte correlação entre a distância entre ninhos e o grau de parentesco entre os indivíduos destes ninhos (BEYE *et al.*, 1998), também utilizamos análises espaciais de pontos para investigar as relações entre ninhos dentro de cada espécie. Para tanto, foram calculadas para cada uma das nove localidades as funções: **L** (K de Ripley modificado) que fornece a distribuição dos pontos (nínhos) em diferentes distâncias de outros ninhos de forma cumulativa e a função **g** (correlação de pares) que fornece a densidade de pares de pontos em uma determinada distância, i.e. não é cumulativa (BADDELEY, RUBAK & TURNER, 2015). Para comparar, as duas funções, em diferentes locais utilizamos o teste “studentizado” de permutação de HAHN (2012). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Development Core Team, VIENNA, 2020) com os pacotes spatstat (BADDELEY, RUBAK & TURNER, 2015) e glmmTMB (MOLLIE *et al.* 2017).

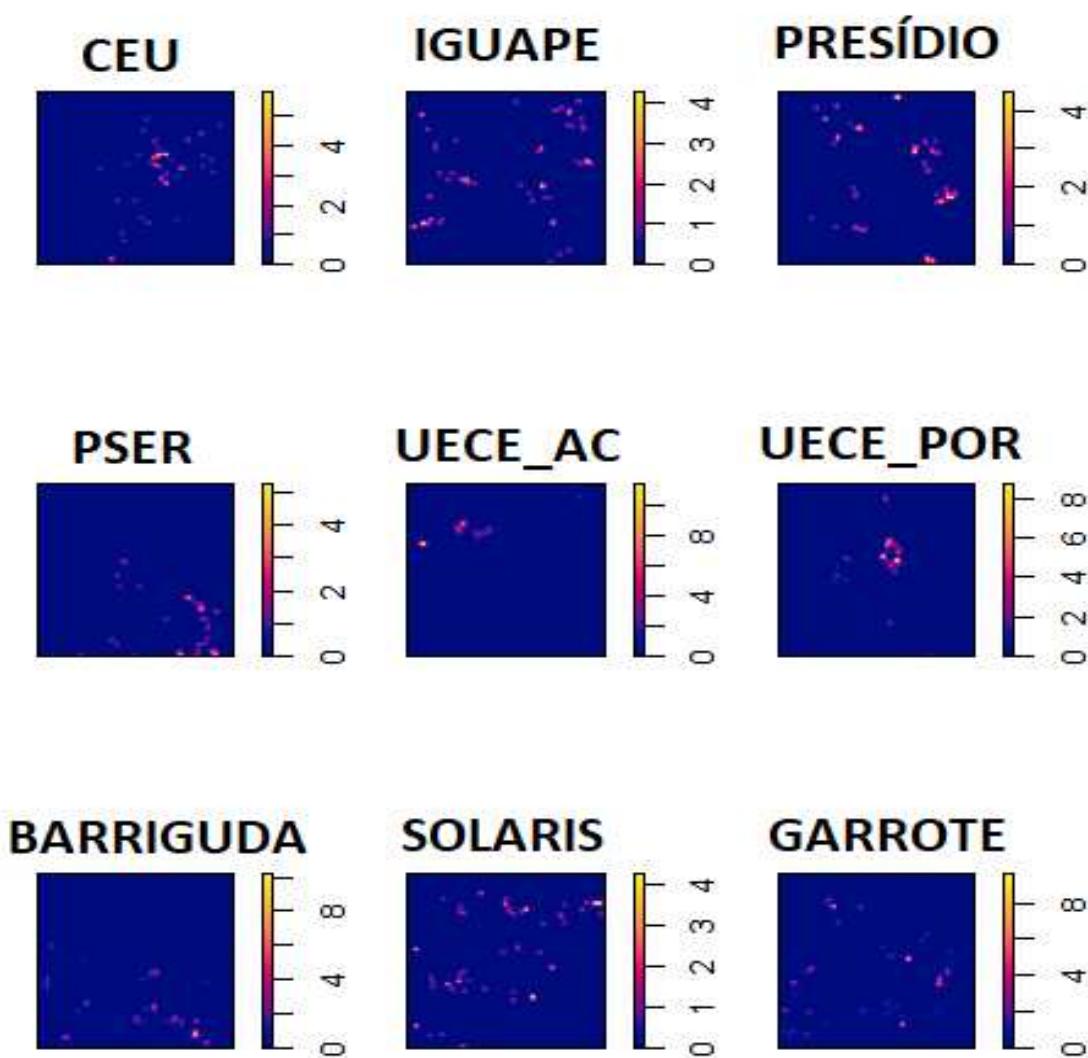
3. RESULTADOS

Nas nove localidades, encontramos um total de 1006 ninhos (589 *C. pygmaea* e 417 *C. abstinens*) e 8714 formigas (5309 *C. pygmaea* e 3405 *C. abstinens*). A ocorrência das espécies nas áreas se deu da seguinte forma: (1) CEU, (2) Iguape, (3) Presídio – apenas *C. pygmaea* / (4) Pser, (5) UECE_ac, (6) UECE_por – apenas *C. abstinens* / (7) Barriguda, (8) Solaris, (9) Garrote – ocorrência das duas espécies. A densidade de ninhos variou em diferentes áreas, CEU, Serrado, Iguape, presídio e Solaris possuem uma densidade menor (escala de densidade 4) e

UECE_ac, UECE_por, Barriguda e Garrote possuem uma alta densidade (escala de densidade 8) (Figura 3).

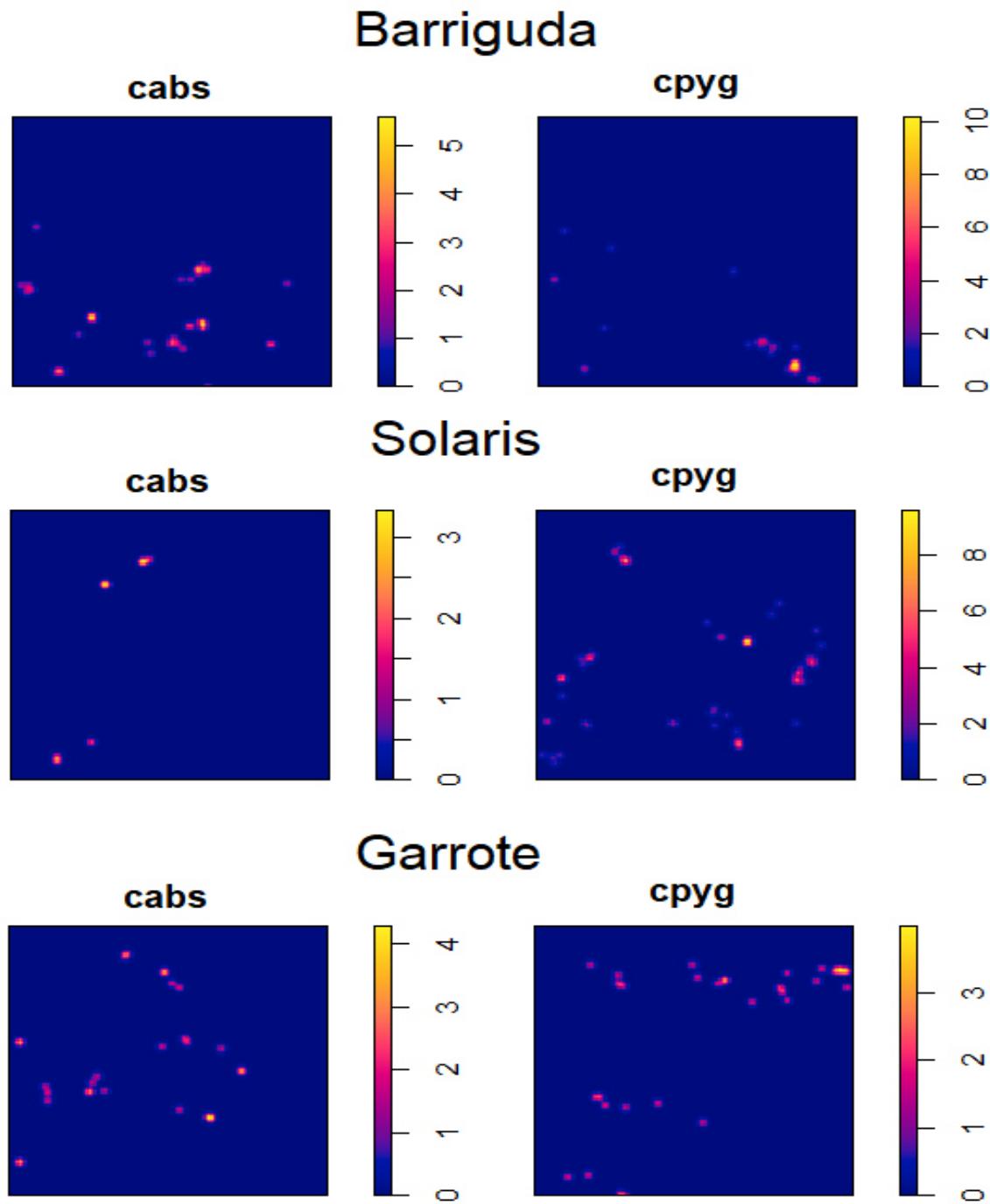
Nas áreas de Barriguda, Solaris e Garrote as espécies se apresentam espacialmente segregadas, indicando uma possível ausência de competição por recursos (Monte Carlo: Barriguda T = 13.874, Solaris T = 11.935, Garrote T = 18.887, $p < 0,05$) (Figura 4). A segregação ainda é significativa mesmo quando a área possui uma densidade maior de uma determinada espécie em relação a outra.

Figura 3 - Mapa de calor da distribuição espacial das espécies. A escala de cores representa a intensidade da densidade de ninhos.



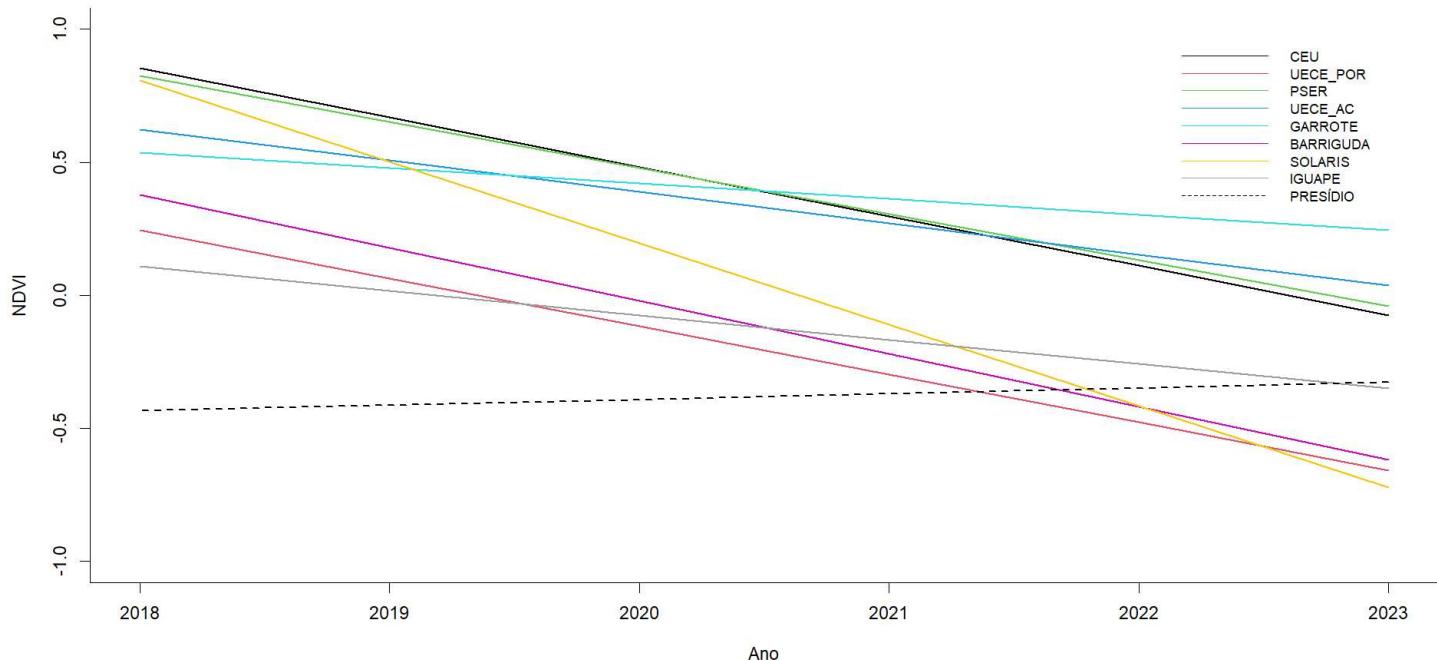
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 4 - Mapa de calor da distribuição espacial de ninhos nas áreas com a presença das duas espécies (*C. abstinens* (cabs) e *C. pygmaea* (cpyg)). A escala de cores representa a intensidade da densidade de ninhos.



Fonte: elaborado pelo autor.

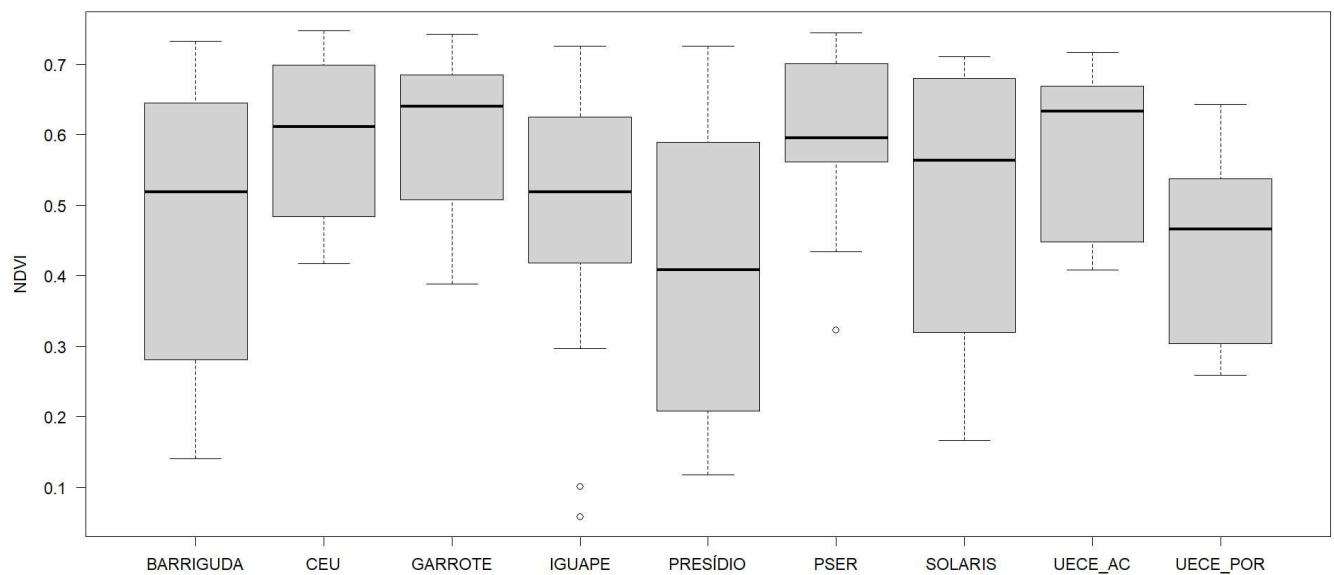
Figura 5 - Tendências no índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) em diferentes áreas e anos. Modelo de cada local (i): NDVI (i) ~ ano + (1|zona), family = beta_family. Valores de β : CEU (-0.185), UECE_POR (-0.180), PSER (-0.173), UECE_AC (-0.117), GARROTE (-0.058), BARRIGUDA (-0.199), SOLARIS (-0.306), IGUAPE (-0.091), PRESÍDIO (0.021), P < 0,05.



Fonte: elaborado pelo autor.

O modelo estimou uma queda do NDVI dos locais em 0.144 por ano ($P < 0,05$), quase todos os locais apresentaram uma tendência decrescente ao longo dos últimos seis anos. Solaris apresentou a maior queda ($\beta = -0.306$) nos valores de NDVI, indicando uma possível degradação ao longo dos anos, seguido de barriguda ($\beta = -0.199$) e garrote que apresentou a menor queda ao longo de todo o período ($\beta = -0.058$). O presídio apesar de possuir um NDVI mais baixo teve pouca variação ao longo do tempo, indicando que possivelmente não teve grandes alterações na vegetação ($\beta = 0.021$) ($P < 0,05$) (Figura 5). Além disso, a variação do NDVI entre os anos foi significativa, mostrando que existe diferença entre locais e que eles influenciam os valores do NDVI (Kruskal-Wallis: chi-squared = 1350.2, df = 8, $P < 0,05$) (Figura 6). Locais como Barriguda, presídio e Solaris com as maiores variações de NDVI (quartis 1 e 3), indicando diferentes níveis de cobertura vegetal e possíveis perturbações.

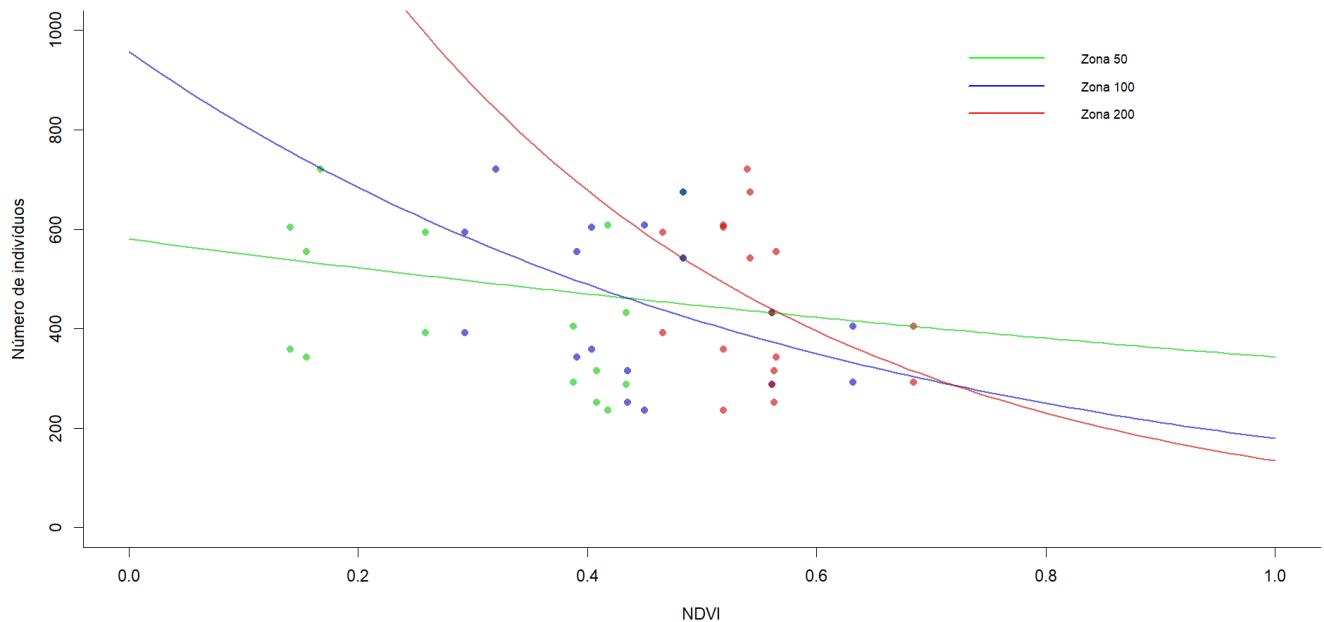
Figura 6 – Boxplot dos valores de NDVI dos anos (2018-2023) em diferentes locais. A linha preta dentro da caixa é a mediana. ($P < 0,05$; teste de Kruskal-Wallis com teste de Dunn).



Fonte: elaborado pelo autor.

O modelo mostra que o número de indivíduos é afetado pelo NDVI, na zona de 50 m essa relação é fraca ($\beta = -0.526$), pois ao longo do tempo a tendência tem se mantido com pouca variação. Enquanto nas zonas de 100 m e 200 m possuem maiores inclinações ($\beta = -1.677$ e $\beta = -2.699$, respectivamente), indicando que o número de indivíduos tende a cair com o aumento do NDVI independente da zona utilizada como modelo (Ffigura 7).

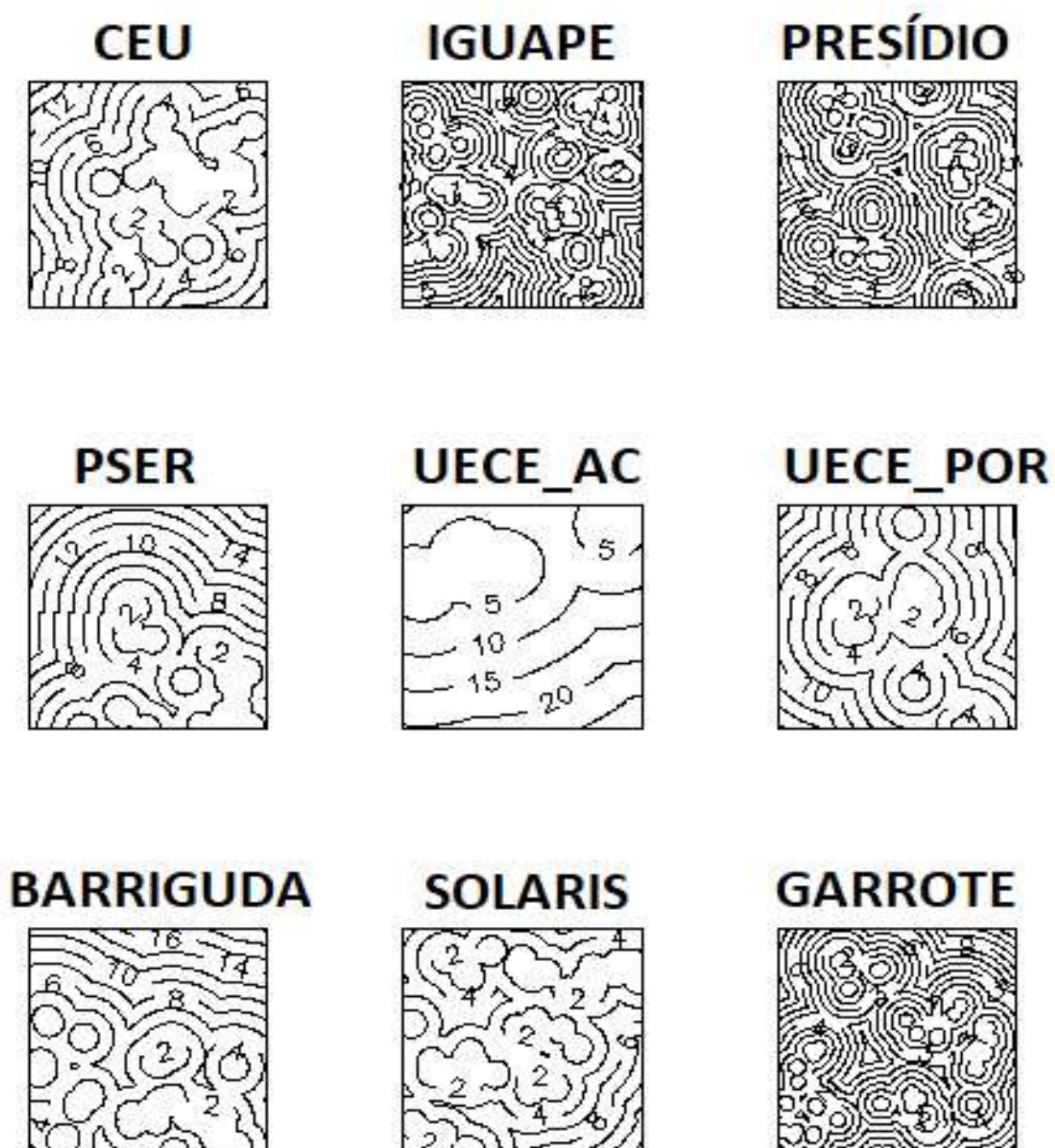
Figura 7 - Relação entre o NDVI e o número de indivíduos em diferentes zonas (50 m, 100 m, 200 m).



Fonte: elaborado pelo autor.

As áreas do Iguape, presídio, UECE_por e Garrote apresentam uma distribuição com distâncias de contornos bem próximas entre si, indicando agregações de ninhos. Em contrapartida, as áreas do CEU, Pser, UECE_ac, Barriguda e Solaris possuem contornos com espaçamentos maiores, indicando ninhos mais centrais e com uma menor agregação (Figura 8). Não houve uma correlação significativa na quantidade de pares de ninhos nas diferentes áreas para as duas espécies ($g(r)$: $T_{bar} = 65.85$, $p = 0.07046$) (figura 9). Os ninhos de *C. abstinentes* e *C. pygmaea* apresentam uma alta agregação em faixas de até seis metros de distância, sendo a primeira mais intenso ($L(r)$: $T_{bar} = 241.36$, $p = 0.02849$) (Figura 10), mas na presença da *C. pygmaea* os ninhos de *C. abstinentes* apresentam uma distribuição aleatória a partir de uma pequena distância ($L(r)$: $T_{bar} = 132.55$, $p = 0.001$) (Figura 11).

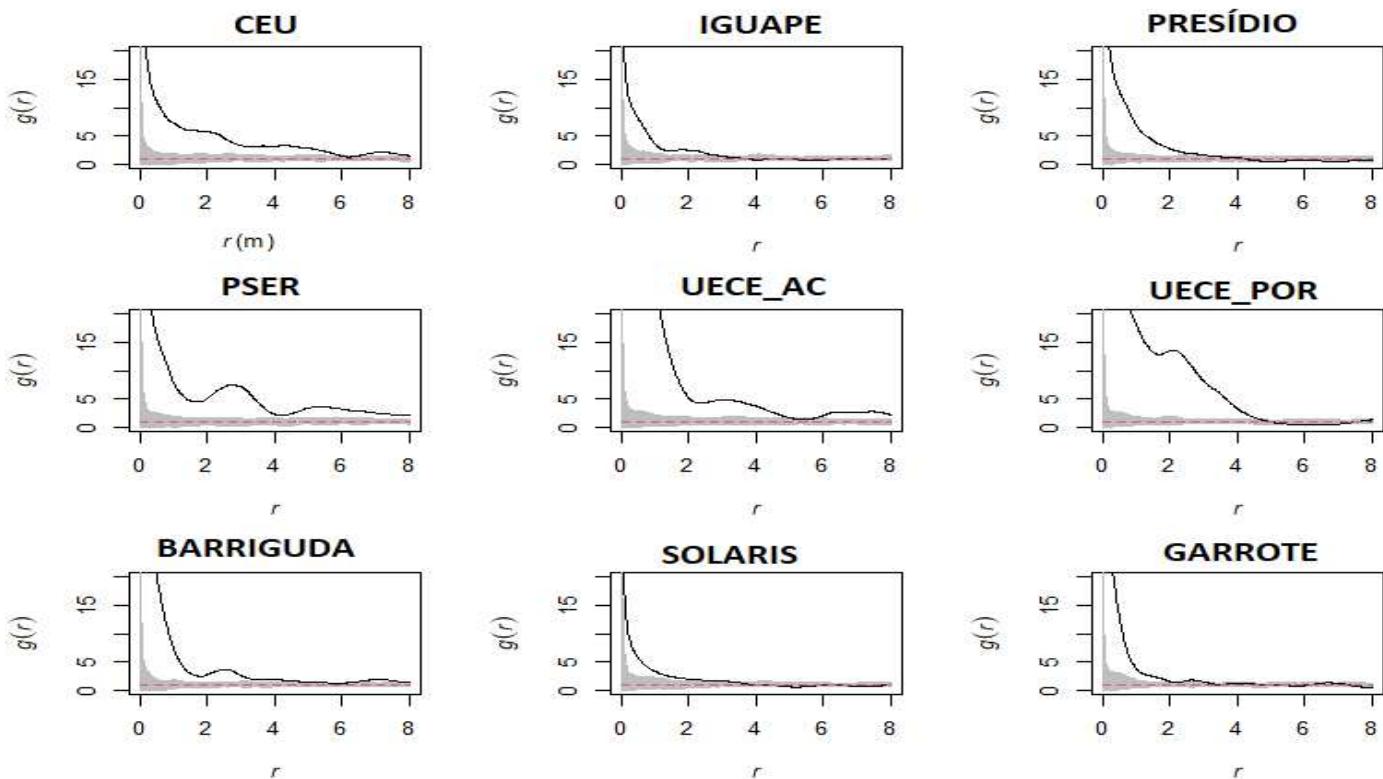
Figura 8 - Padrões de distribuições de ninhos para as duas espécies. Linhas de contorno são diferentes distâncias. CEU, Iguape, Presídio – apenas *C. pygmaea* / Pser, UECE_ac, UECE_por – apenas *C. abstinens* / Barriguda, Solaris, Garrote – ocorrência das duas espécies.



Fonte: elaborado pelo autor.

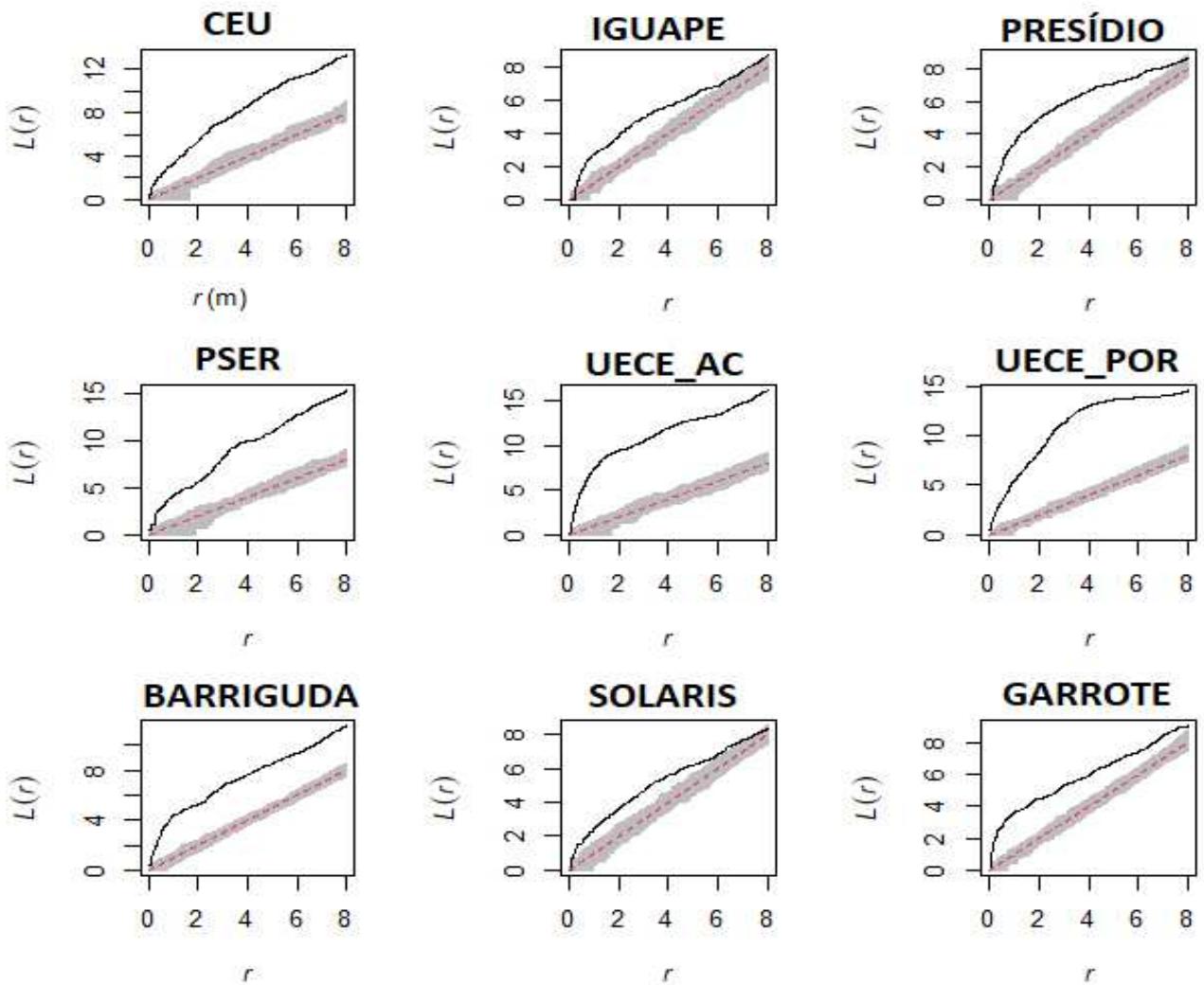
Para áreas de ocorrência de *C.pygmaea* em zonas de 50 m com NDVI baixo (baixo <0.30), foi observado um maior nível de agregação de ninhos em curtas distâncias, enquanto que com valores de NDVI maiores uma menor agregação ($g(r)$): Tbar = 16.779, $p = 0.001$) (Figura 12). Essas áreas com os menores valores de NDVI são presídio (0.154), Barriguda (0.140) e Solaris (0.166), que tendem a se estabilizar junto com as outras áreas ao longo de maiores distâncias. Isso também foi observado para zona de 100 m, pois as categorias de alto e baixo entre as duas zonas se separam da mesma maneira, a zona de 200 m não apresentou nenhuma significância.

Figura 9 – Densidade de pares de ninhos em diferentes locais em relação a distância ($g(r)$). $g(r) > 1$, tendência de agregação e $g(r) < 1$, tendência de dispersão. CEU, Iguape, Presídio – apenas *C. pygmaea* / Pser, UECE_ac, UECE_por – apenas *C. abstinens* / Barriguda, Solaris, Garrote – ocorrência das duas espécies. Valores próximos da linha tracejada vermelha indicam distribuição aleatória.



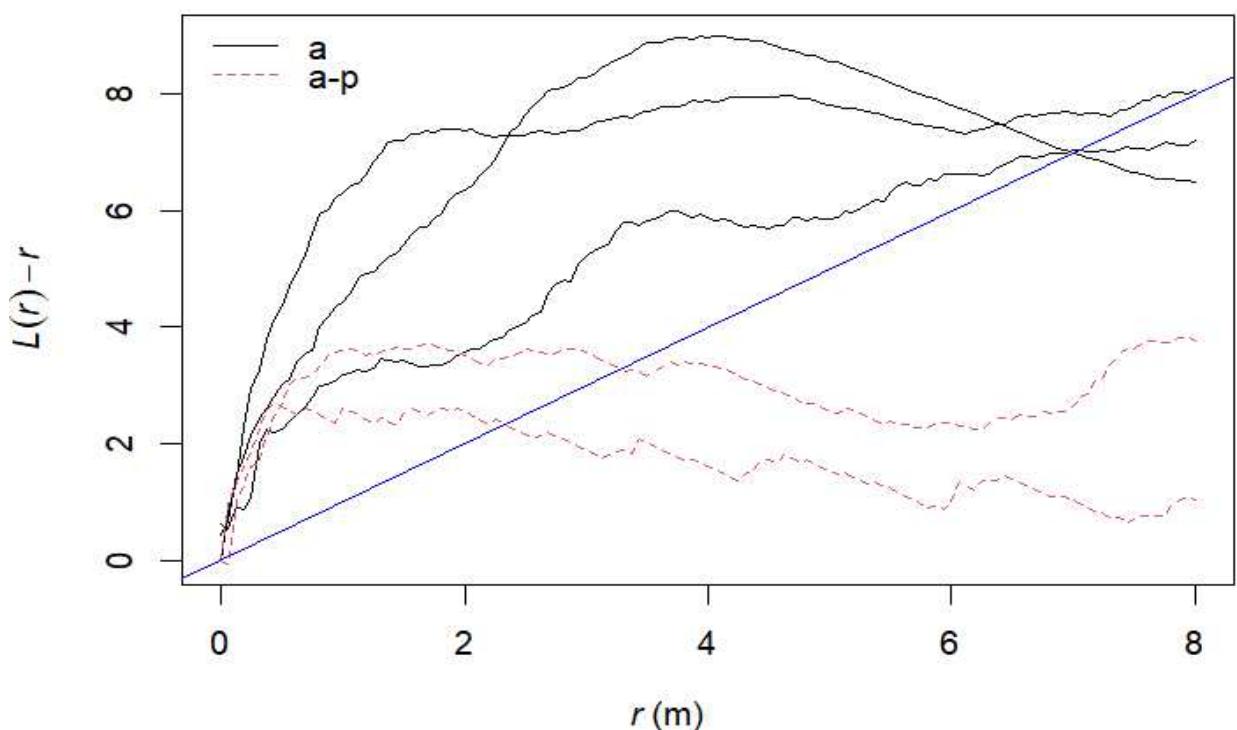
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 10 – Distribuição espacial de ninhos em diferentes áreas para as duas espécies L®. L® > r, agregação e se L® < r, dispersão. CEU, Iguape, Presídio – apenas *C. pygmaea* / Pser, UECE_ac, UECE_por – apenas *C. abstinentes* / Barriguda, Solaris, Garrote – ocorrência das duas espécies. Valores próximos da linha tracejada vermelha indicam distribuição aleatória.



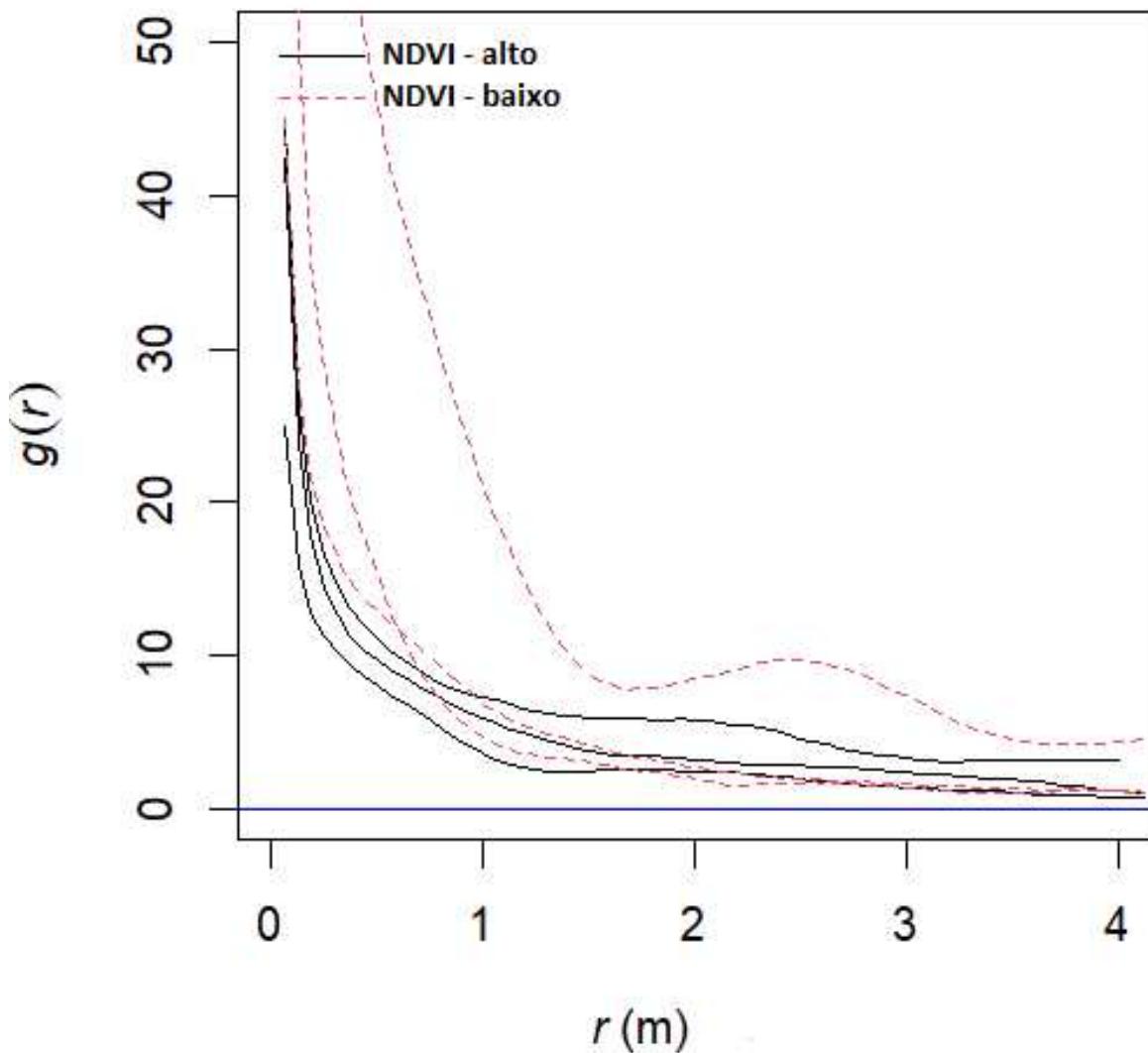
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 11 – Distribuição espacial dos ninhos para áreas com apenas *C. abstinentes* (a) (Pser, UECE_ac, UECE_por), e com a influência da outra espécie (*C. pygmaea*) (a-p) (Barriguda, Garrote). Por conta da baixa quantidade de ninhos não foi possível incluir Solaris na função. $L^R - r > r$, agregação e se $L^R - r < r$, dispersão. Valores que se sobreponem a diagonal indicam uma distribuição aleatória (linha azul).



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 12 – Densidade de pares de ninhos em locais com *C.pygmaea* em relação a distância ($g(r)$), com adição da categoria do NDVI de 50 m (alto >0.30 e baixo <0.30). $g(r) > 1$, tendência de agregação e $g(r) < 1$, tendência de dispersão. NDVI alto (linha preta), CEU (0.483), Iguape (0.418) e Garrote (0.388). NDVI baixo (linha tracejada vermelha), presídio (0.154), Barriguda (0.140) e Solaris (0.166), sendo essa mais destacada barriguda. Linha azul indica distribuição aleatória.



Fonte: elaborado pelo autor.

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que, embora *C. abstinens* seja descrita como monodômica (MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017), ela apresentou uma alta densidade e agregação ninhos (possível polidomia). Não podemos determinar com certeza quais fatores podem estar interferindo na distribuição dos ninhos, mas

podemos inferir possíveis determinantes. O tipo de interação que as espécies têm com outras e com o ambiente pode afetar como elas se distribuem (BECKERS, 1990; BUCZKOWSKI & BENNETT, 2008), isso indica que a espécie tem a sua distribuição afetada por fatores como, por exemplo, a competição (intra e interespecífica) (LEVINGS & TRANIELLO, 1981) e as estratégias de dispersão (HÖLLODOBLER & WILSON, 1990). Outro fator é a disponibilidade de recursos, que possibilita a formação de agregações em locais onde há manchas adequadas (HERBERS, 1989). O uso de duas espécies com diferentes estruturas sociais nos mostrou aspectos importantes acerca de como elas respondem de maneiras distintas em ambientes urbanizados. Tanto *C. pygmaea* como *C. abstinens* diferem em densidade de ninhos, nível de agregação e compactação (distância entre ninhos).

Existe a possibilidade de *C. abstinens* ser uma caso de polidomia facultativa, que é demonstrada apenas em certas condições ou épocas do ano. Isso é observado na formiga argentina (*Linepithema humile*), onde em épocas quentes do ano as formigas apresentam uma distribuição de ninhos mais dispersos e no inverno ninhos mais agregados (GORDON & HELLER, 2014). Entre outras características compartilhadas, o hábito de nidificação de *C. abstinens* é similar ao de *C. pygmaea* (MARTINS SEGUNDO *et al.*, 2017) e como observado por QUINET *et al.*, (2009), a uma forte proximidade dos ninhos as fontes de recursos em *C. pygmaea*. Talvez *C. abstinens* além de compartilhar o hábito de nidificação também compartilha a polidomia. A polidomia possibilita que a colônia coloque novos ninhos próximo das fontes de recursos, favorecendo e otimizando o tempo de forrageamento das operárias. Nesse cenário, a distribuição dos ninhos dependerá da localização dos recursos, isso é observado em *Iridomyrmex purpureus*, que além dessa melhor eficiência, a proximidade dos recursos favorece a sua defesa (VAN WILGENBURG & ELGAR, 2007).

Um outra possibilidade está associado ao defensivo, vários ninhos podem promover uma proteção contra possíveis predadores, na formiga *Leptothorax albipennis* a rainha é carregada durante a mudança de ninho da colônia (FRANKS & SENDOVA-FRANKS, 2000). E em último caso, está envolvido um custo genético, se as colônias estiverem se dispersando para curtas distâncias, isso desencadeará um aumento da endogamia e redução da diversidade genética (SUNDSTRÖM *et al.*, 2005). A confirmação dessas informações só será possível com a adição dos dados

genéticos. Assim, será possível calcular o parentesco entre ninhos e entre colônias e confirmar se todo aquele agregado se trata de apenas uma colônia ou várias.

C. pygmaea também demonstrou uma alta densidade e distribuição agregada de ninhos, mas diferente de *C. abstinens*, o nível de agregação se dá em uma faixa de distância muito menor e mais compactado, ou seja, os ninhos estão bem próximos uns dos outros. E um dos fatores para essa ocorrência está relacionada a eventos de brotamentos da colônia de origem, uma estratégia mais segura e bastante usada por formigas poligínicas, onde aumentam a densidade e, como consequência, podem aumentar a exploração local da oferta de recursos (HELLER, 2006; HAMIDI et al., 2017). Essa estratégia é observada em *Tapinoma sessile*, uma espécies altamente poligínica e polidômica, onde a sua polidomia sazonal possui um pico de densidade de ninhos no verão (BUCZKOWSKI & BENNETT, 2008). Esse caráter sazonal também é observado em *C. pygmaea*, só que diferente de *Tapinoma sessile*, essa rápida expansão se dá na estação chuvosa (QUINET et al., 2009).

Os padrões de distribuição de *C. pygmaea* indicam que indivíduos mais aparentados estão mais próximos espacialmente, indicando que a estratégia de dispersão a curta distância (brotamento) está prevalecendo naqueles lugares (HAMIDI et.al, 2012). O padrão de correlação entre parentesco e distância entre ninhos foi observado em *Formica pratensis*, os ninhos mais próximos eram fortemente relacionados, enquanto os distantes eram menos relacionados e ainda possuíam uma caráter adicional, a alta agressividade (BEYE et al., 1998; PIRK et al., 2001). Para *C. pygmaea*, essa agressividade entre operárias de diferentes colônias foi observada em campo por HAMIDI et.al. (2012), mostrando que as diferenças genéticas estão influenciando o comportamento agressivo (STUART & HERBERS, 2000).

A simpatria das duas espécies e o fato de estarem espacialmente segregadas, pode indicar uma ausência de competição direta, podendo estar relacionado com interações fracas entre as espécies por conta da abundância de recursos (SOARES & SCHOEREDER, 2001). Em áreas estudadas por QUINET et al., (2009), foi observado uma grande riqueza e abundância de plantas com nectários florais, extraflorais e com a presença de pulgões. Isso pode ser um indicativo de que ambas as espécies possuem recursos suficientes, tendo como consequência, uma fraca interação competitiva entre elas. Essa alta agregação, juntamente com um

ambiente impactado com os efeitos da urbanização, tende a gerar uma pressão competitiva dependente da densidade entre ninhos próximos (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990), que por sua vez, pode leva-los a uma distribuição mais dispersa. Esse tipo de distribuição não foi encontrado para essas duas espécies, mas foi observado uma certa influência de *C. pygmaea* na disposição espacial dos ninhos de *C. abstinentes*, isso explicado pela sua alta densidade de ninhos.

Uma estratégia utilizada por algumas espécies é marcação das áreas de forrageamento com cheiros. Em *Lasius niger*, essa marcação da área é feita por hidrocarbonetos presentes nas suas pegadas (YAMAOKA & AKINO, 1994) durante o forrageamento, isso possibilita uma vantagem para encontrar de maneira mais rápida as fontes de recursos, pois a área já foi mapeada pelas operárias (DEVIGNE *et al.*, 2004). Outra função dessa marcação é a ação repelente contra espécies (CAMMAERTS & CAMMAERTS, 1996). Foi observado uma alta agressividade quando operárias estrangeiras acessavam a rede de trilhas de *C. pygmaea*, mas não foi observado nenhuma agressividade em experimentos no laboratório (HAMIDI *et.al*, 2012). Isso pode indicar que sinais químicos presentes nas redes de trilhas contribuem para o reconhecimento de indivíduos da colônia. Tanto a agressividade como os sinais químicos contidos na redes de trilhas, podem servir de barreira contra outras espécies, em especial *C. abstinentes*.

A queda do NDVI em 89,1% das áreas sugere que o avanço da urbanização das cidades tem afetado significativamente a vegetação dessas áreas. Isso é ainda mais intenso para a cidade de Itaitinga, onde se encontra a área com maior inclinação do NDVI (Solaris), sugerindo uma maior degradação da vegetação. E a degradação é um dos fatores que tem afetado significativamente a biodiversidade (SALA, 2000; REYNOLDS *et al.*, 2007). Por serem locais de loteamentos, essas áreas de vegetação sofrem por conta dos impactos gerados pelas construções em sua volta, afetando consideravelmente a sua cobertura e por consequência, afetando o NDVI. A área do presídio (Aquiraz) teve pouca variação ao longo do tempo, indicando poucas modificações na cobertura vegetal. Isso é esperado, pois em áreas em expansão urbana tende a afetar diretamente a vegetação, em contraste, áreas com menos ação antrópica tendem ao longo do tempo ter uma vegetação melhor (YANG *et al.*, 2021). Por ser uma área de dunas, presídio se mostra um local com pouca influência antrópica.

O impacto da urbanização sobre a vegetação depende de vários fatores como a intensidade do desenvolvimento urbano, a densidade populacional e o clima (ZHANG *et al.*, 2022). Levando em consideração a métrica de densidade populacional, que afeta diretamente o desenvolvimento urbano, a cidade de Itaitinga (Solaris) que teve inclinação de queda mais acentuada quase que dobrou o número de habitantes, de 38.661 (2010) para 60.706 (2022) segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Em contrapartida, Aquiraz (presídio) que mostrou inclinação quase que constante teve um aumento no número de habitantes de 72.228 para 92.281 (IBGE). Apesar das diferenças serem próximas, precisamos levar em consideração a área geográfica das cidades, Aquiraz possui 480.236 km² e Itaitinga 153.686 km² (IBGE), ou seja, o aumento foi bastante significativo para Itaitinga, mostrando que essa área foi bastante impactada pelo desenvolvimento urbano. YANG *et al.* (2021) observou que a intensidade das expansões urbanas são distintas entre as cidades, tendo como consequência a mudança do NDVI de acordo com a intensidade da urbanização. Mas essas relações nem sempre são negativas, pode ocorrer de uma cidade apresentar uma intensa urbanização e um aumento do valor de NDVI, nesses casos, certos fatores podem estar interferindo no efeito da urbanização, por exemplo, arborização artificial e plantações (DU *et al.*, 2019).

A urbanização tem contribuído de modo significativo para a redução da cobertura vegetal, com o crescimento das cidades e a rápida expansão populacional de modo desproporcional, tem gerado cada vez mais resquícios de vegetação (CRANE & KINZIG, 2005). Isso é refletido nos valores do NDVI ao longo dos últimos anos, como também tem afetado toda a dinâmica de espécies dessas áreas, onde pode ocorrer uma redução de indivíduos por conta de variações no NDVI. No caso dessas duas espécies, a faixa de ocorrência ficou em valores medianos de NDVI (0.4 -0.6). Essas variações no formato das funções L e g entre lugares com NDVI diferentes, indicam que o ambiente está afetando as estratégias de nidificação. A redução do NDVI gera mudanças na riqueza e densidade de plantas, isso pode gerar o estabelecimento e favorecimento de certas espécies de formigas, alterando, por exemplo, o tamanho da colônia (GOMES *et al.*, 2010; POL *et al.*, 2022).

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, o foco principal do estudo foi investigar como duas espécies intimamente relacionadas, mas com estratégias de fundação tão distintas respondem à qualidade do ambiente. Os resultados nos permitem inferir que: (i) a qualidade da vegetação afeta a dinâmica de distribuição dos ninhos. Pois, apesar de ambas as espécies apresentaram um padrão agregado, este é significativamente distinto entre locais com diferentes níveis de urbanização (ii) *C. abstinentes*, mesmo sendo descrita como uma espécie monodômica com fundação independente, nidifica frequentemente formado pequenas agregações, indicando que em parte do ciclo de vida dessa espécie ocorre polidomia; (iii) Quando as duas espécies co-ocorrem, elas se segregam espacialmente, sugerindo que não há interferência competitiva direta entre elas.

Dessa forma, abrimos possibilidades para futuras investigações da dinâmica espacial dos ninhos ao longo de várias flutuações ambientais devido a mudanças sazonais. Como também, verificar se as espécies são flexíveis ao ponto de migrarem para áreas mais favoráveis, alterando toda a sua distribuição espacial.

REFERÊNCIAS

- BADDELEY, A., RUBAK, E., & TURNER, R., 2015. Spatial point patterns: methodology and applications with R. **CRC press**.
- BECKERS, R., DENEUBOURG, J. L., GOSS, S., & PASTEELS, J. M., 1990. Collective decision making through food recruitment.
- BEYE, M., NEUMANN, P., CHAPUISAT, M., PAMILO, P., & MORITZ, R. F. A. (1998). Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant *Formica pratensis*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 43, 67-72.
- BEYE, M., NEUMANN, P., CHAPUISAT, M., PAMILO, P., & MORITZ, R. F. A., 1998. Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant *Formica pratensis*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 43, 67-72.
- BLUMENFELD, A. J., EYER, P. A., HELMS, A. M., BUCZKOWSKI, G., & VARGO, E. L., 2022. Consistent signatures of urban adaptation in a native, urban invader ant *Tapinoma sessile*. **Molecular Ecology**, 31(18), 4832-4850.
- BOOMSMA, J.J.; HUSZÁR, D.B.; PEDERSEN, J.S., 2014. The evolution of multiqueen breeding in eusocial lineages with permanent physically differentiated castes. **Animal Behaviour**, 92:241-252.
- BOULAY, R.; ARNAN, X.; CERDÁ, X.; RETANA, J., 2014. The ecological benefits of larger colony size may promote polygyny in ants. **Journal of Evolutionary Biology**, 27: 2856-2863.
- BOURKE, A. F., 2011. Principles of Social Evolution. **Oxford University Press**, Oxford.
- BROOKS, M. E., KRISTENSEN, K., VAN BENTHEM, K. J., MAGNUSSON, A., BERG, C. W., NIELSEN, A., ... & BOLKER, B. M., 2017. Modeling zero-inflated count data with glmmTMB. **BioRxiv**, 132753.
- BUCZKOWSKI, G., & BENNETT, G., 2008. Seasonal polydomy in a polygynous supercolony of the odorous house ant, *Tapinoma sessile*. **Ecological Entomology**, 33(6), 780-788.
- BUCZKOWSKI, G., & BENNETT, G., 2008. Seasonal polydomy in a polygynous supercolony of the odorous house ant, *Tapinoma sessile*. **Ecological Entomology**, 33(6), 780-788.
- BUCZKOWSKI, G., 2010. Extreme life history plasticity and the evolution of invasive characteristics in a native ant. **Biological Invasions**, 12, 3343-3349.
- BUSO, G. S. C., CIAMPI, A. Y., MORETZSOHN, M. D. C., AMARAL, Z. D. S., & BRONDANI, R. V., 2003. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia. Ciência. Desenvolvimento**, 6, 46-50.

- BUTLER, I. A.; SILETTI, K.; OXLEY, P.R.; KRONAUER, D.J.C., 2014. Conserved Microsatellites in Ants Enable Population Genetic and Colony Pedigree Studies across a Wide Range of Species. **PLoS ONE**, 9: e107334.
- CALDATO, N., DA SILVA CAMARGO, R., FORTI, L. C., DE ANDRADE, A. P. P., & LOPES, J. F. S., 2016. Nest architecture in polydomous grass-cutting ants (*Acromyrmex balzani*). **Journal of Natural History**, 50(25-26), 1561-1581.
- CAMMAERTS, M. C., & CAMMAERTS, R., 1996. Area marking in the ant *Pheidole pallidula* (Myrmicinae). **Behavioural processes**, 37(1), 21-30.
- COLAUTTI, R. I., & MACISAAC, H. J., 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. **Diversity and distributions**, 10(2), 135-141.
- CRANE, P., & KINZIG, A., 2005. Nature in the metropolis. **Science**, 308(5726), 1225-1225.
- CRONIN, A. L., 2016. Group size advantages to decision making are environmentally contingent in house-hunting Myrmecina ants. **Animal Behaviour**, 118, 171-179.
- CRONIN, A.L.; MOLET, M.; DOUMS, C.; MONNIN, T.; PEETERS, C., 2013. Recurrent evolution of dependent colony foundation across social insects. **Annual Review of Entomology**, 58: 37-55.
- CROZIER, R. H., & PAMILO, P., 1996. Evolution of social insect colonies. **Oxford University**.
- DEBOUT, G.; SCHATZ, B.; ELIAS, M.; MCKEY, D., 2007. Polydomy in ants: what we know, what we think we know, and what remains to be done. **Biological Journal of the Linnean Society**, 90: 319-348.
- DEVIGNE, C., RENON, A. J., & DETRAIN, C., 2004. Out of sight but not out of mind: modulation of recruitment according to home range marking in ants. **Animal Behaviour**, 67(6), 1023-1029.
- DIGGLE, P., ZHENG, P., & DURR, P., 2005. Nonparametric estimation of spatial segregation in a multivariate point process: bovine tuberculosis in Cornwall, UK. **Journal of the Royal Statistical Society Series C: Applied Statistics**, 54(3), 645-658.
- DROUAL, R., 1984. Anti-predator behaviour in the ant *Pheidole desertorum*: the importance of multiple nests. **Animal Behaviour**, 32(4), 1054-1058.
- DU, J., FU, Q., FANG, S., WU, J., HE, P., & QUAN, Z., 2019. Effects of rapid urbanization on vegetation cover in the metropolises of China over the last four decades. **Ecological Indicators**, 107, 105458.
- ERIKSSON, T. H., HÖLLDOBLER, B., TAYLOR, J. E., & GADAU, J., 2019. Intraspecific variation in colony founding behavior and social organization in the honey ant *Myrmecocystus mendax*. **Insectes Sociaux**, 66, 283-297.

- FRANKS, N. R., & SENDOVA-FRANKS, A. B. (2000). Queen transport during ant colony emigration: a group-level adaptive behavior. **Behavioral Ecology**, 11(3), 315-318.
- GOMES, J. P., IANNUZZI, L., & LEAL, I. R., 2010. Resposta da comunidade de formigas aos atributos dos fragmentos e da vegetação 35mu ma paisagem da Floresta Atlântica nordestina. **Neotropical Entomology**, 39, 898-905.
- GORDON, D. M., & HELLER, N. E., 2014. The invasive Argentine ant *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae) in Northern California reserves: from foraging behavior to local spread. **Myrmecol News**, 19, 103-110.
- HAHN, U., 2012. A studentized permutation test for the comparison of spatial point patterns. **Journal of the American Statistical Association**, 107(498), 754-764.
- HAMIDI, R., DEBOUT, G., HEREDIA, A., FOURNIER, D., QUINET, Y., & BISEAU, J. C. D., 2012. Multicoloniality in the highly polygynous ant *Crematogaster pygmaea* (Formicidae: Myrmicinae). **European Journal of Entomology**, 109(1).
- HAMIDI, R.; DE BISEAU, J.C.; BOURGUIGNON, T.; MARTINS SEGUNDO, G.B.; FONTENELLE, M.T.M.B. & QUINET, Y., 2017. Dispersal strategies in the highly polygynous ant *Crematogaster* (*Orthocrema*) *pygmaea* Forel (Formicidae: Myrmicinae). **Public Library of Science One**, 12: art. E0178813.
- HEINZE, J.; FOITZIK; S., 2009. The evolution of queen numbers in ants: from one to many and back. In: Gadeau, J.; Fewell, J. (eds.), Organization of insect societies: from genome to sociocomplexity, **Cambridge: Harvard University Press**, p. 26-50.
- HELANTERÄ, H., STRASSMANN, J. E., CARRILLO, J., & QUELLER, D. C., 2009. Unicolonial ants: where do they come from, what are they and where are they going?. **Trends in Ecology & Evolution**, 24(6), 341-349.
- HELLER, N. E., & GORDON, D. M., 2006. Seasonal spatial dynamics and causes of nest movement in colonies of the invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). **Ecological Entomology**, 31(5), 499-510.
- HERBERS, J. M., 1989. Community structure in north temperate ants: temporal and spatial variation. **Oecologia**, 81, 201-211.
- HÖLLOBLER, B., & WILSON, E. O., 1990. The ants. **Harvard University Press**.
- HONKANEN, M., SORJANEN, A.-M., MÖNKKÖNEN, M., 2011. Deconstructing responses of dragonfly species richness to area, nutrients, water plant diversity and forestry. **Oecologia** 166, 457–67.
- HUGHES, W.O.H., OLDROYD, B.P., BEEKMAN, M. & RATNIEKS, F.L.W. 2008. Ancestral monogamy shows kin selection is key to the evolution of Eusociality. **Science** 320: 1213–1216.

- HULME, P. E., 2009. Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. **Journal of applied ecology**, 46(1), 10-18.
- ICHINOSE, K., FORTI, L. C., PRETTO, D. R., NACHMAN, G., & BOOMSMA, J. J., 2007. Sex allocation in the polydomous leaf-cutting ant *Acromyrmex balzani*. **Ecological research**, 22, 288-295.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). «Área territorial 36fficial». Resolução da Presidência do IBGE). Acesso em: 25 de maio 2024.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Demográfico 2022. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: https://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Demografico_2022/Previa_da_Populacao/POP_2022_Municipios_20230622.pdf. Acesso em: 25 de maio 2024.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Demográfico 2010. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/trabalho/9662-censo-demografico-2010.html?=&t=resultados/>. Acesso em: 25 de maio 2024.
- JOMBART, T., 2008. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11), 1403-1405.
- KING, J. R., & TSCHINKEL, W. R., 2006. Experimental evidence that the introduced fire ant, *Solenopsis invicta*, does not competitively suppress co-occurring ants in a disturbed habitat. **Journal of Animal Ecology**, 1370-1378.
- KOTRESH, H., FAKRUDIN, B., PUNNURI, S. M., RAJKUMAR, B. K., THUDI, M., PARAMESH, H., ... & KURUVINASHETTI, M. S., 2006. Identification of two RAPD markers genetically linked to a recessive allele of a *Fusarium* wilt resistance gene in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.). **Euphytica**, 149, 113-120.
- LEAL, I. R., 2003. Diversidade de formigas em diferentes unidades de paisagem da Caatinga. **Ecologia e conservação da caatinga**, 1, 435-461.
- LEVINGS, S. C., & TRANIELLO, J. F., 1981. Territoriality, nest dispersion, and community structure in ants. *Psyche: A Journal of Entomology*, 88(3-4), 265-319.
- LILLESAND, T. M., KIEFER, R. W., & CHIPMAN, J. W., 2004. Remote sensing and image interpretation.
- LIU, Z., YAMANE, S., WANG, Q., & YAMAMOTO, H., 1998. Nestmate recognition and temporal modulation in the patterns of cuticular hydrocarbons in natural colonies of Japanese carpenter ant *Camponotus japonicus* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Ethology**, 16(2), 57-65.
- MALLMANN, C. L., PRADO, D. A., FILHO, W.P., 2015. Índice de vegetação por diferença normalizada para caracterização da dinâmica florestal no parque estadual

Quarta Colônia, estado do Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física** 8, 1454-1469.

MARTINS SEGUNDO, G.B.; DE BISEAU, J.C.; FEITOSA, R.M.; CARLOS, J.E.V.; SÁ, L.R.; FONTENELLE, M.T.M.B.; QUINET, Y., 2017. Crematogaster abstinentes and Crematogaster pygmaea (Hymenoptera: Formicidae): from monogyny and monodomy to polygyny and polydomy. **Myrmecological News**, 25: 67-81.

MCIVER, J. D., TORGERSSEN, T. R., & CIMON, N. J., 1997. A supercolony of the thatch ant *Formica obscuripes* Forel (Hymenoptera: Formicidae) from the Blue Mountains of Oregon. **Northwest science**., 71(1), 18-29.

MCKINNEY, M. L., 2006. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. **Biological conservation**, 127(3), 247-260.

MEHMOOD, A.; LUO, S.; AHMAD, N.M.; DONG, C.; MAHMOOD, T.; SAJJAD, Y.; JASKANI, M.J.; SHARP, P., 2016. Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 63, p. 1345-1361.

MOTRO, M., MOTRO, U., & COHEN, D., 2016. Decision making by young queens of the harvester ant *Messor semirufus* while searching for a suitable nesting site. **Insectes sociaux**, 63, 615-622.

NAUGHTON, I., BOSER, C., TSUTSUI, N. D., & HOLWAY, D. A., 2020. Direct evidence of native ant displacement by the Argentine ant in island ecosystems. **Biological Invasions**, 22, 681-691.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. 1, VENCOVSKY, R; VIEIRA, M. L. C., 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**. |29 (2): 294 — 307.

PASSERA, L. E ARON, S., 2005. Les fourmis: comportamento, organização social e evolução . **Imprensa de Pesquisa NRC**.

PEDERSEN, J. S., & BOOMSMA, J. J., 1999. Genetic analysis of colony structure in polydomous and polygynous ant populations. **Biological Journal of the Linnean Society**, 66(1), 115-144.

PEETERS, C., & ITO, F., 2001. Colony dispersal and the evolution of queen morphology in social Hymenoptera. **Annual review of entomology**, 46(1), 601-630.

PEETERS, C., & MOLET, M, 2010. Colonial reproduction and life histories. **Ant ecology**, 159-176.

PEETERS, C., 2012. Convergent evolution of wingless reproductives across all subfamilies of ants, and sporadic loss of winged queens (Hymenoptera: Formicidae). **Myrmecological News**, 16, 75-91.

- PEW, J., MUIR, P. H., WANG, J., & FRASIER, T. R., 2015. related: an R package for analysing pairwise relatedness from codominant molecular markers. **Molecular ecology resources**, 15(3), 557-561.
- PFEIFFER, M., & LINSENMAIR, K. E., 1998. Polydomy and the organization of foraging in a colony of the Malaysian giant ant *Camponotus gigas* (Hym./Form.). **Oecologia**, 579-590.
- PIRK, C. W. W., NEUMANN, P., MORITZ, R. F. A., & PAMILO, P., 2001. Intranest relatedness and nestmate recognition in the meadow ant *Formica pratensis* (R.). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 49, 366-374.
- POL, R. G., MIRETTI, F., & MARONE, L., 2022. Lower food intake due to domestic grazing reduces colony size and worsens the body condition of reproductive females of harvester ants. **Journal of Insect Conservation**, 26(4), 583-592.
- PURCELL, J., PELLISSIER, L., & CHAPUISAT, M., 2015. Social structure varies with elevation in an Alpine ant. **Molecular Ecology**, 24(2), 498-507.
- QUELLER, D. C., & GOODNIGHT, K. F., 1989. Estimating relatedness using genetic markers. **Evolution**, 43(2), 258-275.
- QUINET, Y.; HAMIDI, R.; RUIZ-GONZALES, M.X.; BISEAU, J.C.; LONGINO, J.T., 2009. *Crematogaster pygmaea* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae), a highly polygynous and polydomous *Crematogaster* from northeastern Brazil. **Zootaxa**, 2075: 45-54.
- R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available in: <<https://www.R-project.org>>.
- REID, C. E., KUBZANSKY, L. D., LI, J., SHMOOL, J. L., & CLOUGHERTY, J. E., 2018. It's not easy assessing greenness: a comparison of NDVI datasets and neighborhood types and their associations with self-rated health in New York City. **Health & place**, 54, 92-101.
- REYNOLDS, J. F., SMITH, D. M. S., LAMBIN, E. F., TURNER, B. L., MORTIMORE, M., BATTERBURY, S. P., ... & WALKER, B., 2007. Global desertification: building a science for dryland development. **science**, 316(5826), 847-851.
- RIVKIN, L. R., SANTANGELO, J. S., ALBERTI, M., ARONSON, M. F., DE KEYZER, C. W., DIAMOND, S. E., ... & JOHNSON, M. T., 2019. A roadmap for urban evolutionary ecology. **Evolutionary applications**, 12(3), 384-398.
- ROBINSON, E.J.H., 2014. Polydomy: the organisation and adaptive function of complex nest system in ants. **Current Opinion in Insect Science**, 5: 37-43.
- ROUSSET, F., 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular ecology resources**, 8: 103–106.

- SALA, O. E., STUART CHAPIN, F. I. I. I., ARMESTO, J. J., BERLOW, E., BLOOMFIELD, J., DIRZO, R., ... & WALL, D. H., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. **science**, 287(5459), 1770-1774.
- SANDERS, N. J., GOTELLI, N. J., HELLER, N. E., & GORDON, D. M., 2003. Community disassembly by an invasive species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 100(5), 2474-2477.
- SANETRA, M., & CROZIER, R. H., 2002. Daughters inherit colonies from mothers in the living-fossil ant *Nothomyrmecia macrops*. **Naturwissenschaften**, 89, 71-74.
- SCHINDLER, M., FESL, C., CHOVANEC, A., 2003. Dragonfly associations (Insecta : Odonata) in relation to habitat variables: a multivariate approach. **Hydrobiologia** 497, 169–180.
- SEGUNDO, G. B. M., DE BISEAU, J. C., & QUINET, Y., 2012. Queens defense by workers in the highly polygynous ant *Crematogaster pygmaea* (Hymenoptera: Myrmicinae). **Behavioural processes**, 91(3), 282-290.
- SETO, K. C., FRAGKIAS, M., GÜNERALP, B., & REILLY, M. K., 2011. A meta-analysis of global urban land expansion. **PloS one**, 6(8), e23777.
- SOARES, S. M., & SCHOEREDER, J. H., 2001. Ant-nest distribution in a remnant of tropical rainforest in southeastern Brazil. **Insectes Sociaux**, 48, 280-286.
- STARKS, P.T.; PETERS, J.M., 2002. Semi-nondestructive genetic sampling from live eusocial wasps, *Polistes dominulus* and *Polistes fuscatus*. **Insectes Sociaux**, 49: 20–22.
- STEINER, F.M.; CROZIER, R.H.; SCHLICK-STEINER, B.C., 2010. Colony structure. In: Lach L.; Parr, C. L.; Abbot, K.L. (eds.), **Ant Ecology**, Oxford: Oxford University Press, p. 177-193.
- STUART, R. J., & HERBERS, J. M., 2000. Nest mate recognition in ants with complex colonies: within-and between-population variation. **Behavioral Ecology**, 11(6), 676-685.
- STUKALYUK, S., RADCHENKO, A., AKHMEDOV, A., RESHETOV, A., & NETSVETOV, M., 2021. Acquisition of invasive traits in ant, *Crematogaster subdentata* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) in urban environments. **Serangga**, 26(4), 1-29.
- SUNDSTRÖM, L., SEPPÄ, P., & PAMILO, P., 2005. Genetic population structure and dispersal patterns in *Formica* ants—a review. **In Annales Zoologici Fennici** (pp. 163-177). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- TAUTZ, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, 17: 6463-6471.

- TOBIN, J.E., 1991. A Neotropical rainforest canopy, ant Community: some ecological considerations. Pp. 536-538. In: C.R. Huxley & D.F. Cutler (eds.). *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford. 301p.
- TRUETT, G.E.; HEEGER, P.; MYNATT, R.L.; TRUETT, A.A.; WALKER, J.A.; WARMAN, M.L., 2000. Preparation of PCR-Quality Mouse Genomic DNA with Hot Sodium Hydroxide and Tris (HotSHOT). *BioTechniques*, 29: 52–54.
- TSUJI, K., & TSUJI, N., 1996. Evolution of life history strategies in ants: variation in queen number and mode of colony founding. *Oikos*, 83-92.
- VAN WILGENBURG, E., & ELGAR, M. A., 2007. Colony structure and spatial distribution of food resources in the polydomous meat ant *Iridomyrmex purpureus*. *Insectes sociaux*, 54, 5-10.
- WANG, F., LIU, X., LIU, X., LI, Y., & WANG, T., 2020, May. Spatial and Temporal changes in the Normalized Difference Vegetation Index and its Response to Climate Change in Shaanxi Province, China. In **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science** (Vol. 508, No. 1, p. 012121). IOP Publishing.
- WHITE, G., & POWELL, W., 1997. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Swietenia humilis* (Meliaceae): an endangered tropical hardwood species. *Molecular Ecology*, 6(9), 851-860.
- XUE, J., & SU, B., 2017. Significant remote sensing vegetation indices: A review of developments and applications. *Journal of sensors*, 2017.
- YAMAOKA, R., & AKINO, T., 1994. Ecological importance of cuticular hydrocarbons secreted from the tarsus of ants. *Les Insectes Sociaux*, 222.
- YANG, K., SUN, W., LUO, Y., & ZHAO, L., 2021. Impact of urban expansion on vegetation: The case of China (2000–2018). *Journal of environmental management*, 291, 112598.
- ZANETTE, L.R.; FIELD, J., 2008. Genetic relatedness in early associations of *Polistes dominulus*: from related to unrelated helpers. *Molecular Ecology*, 17: 2590–2597.
- ZHANG, L., YANG, L., ZOHNER, C. M., CROWTHER, T. W., LI, M., SHEN, F., ... & ZHOU, C., 2022. Direct and indirect impacts of urbanization on vegetation growth across the world's cities. *Science advances*, 8(27), eab0095.
- ZHOU, D., TIAN, Y., & JIANG, G., 2018. Spatio-temporal investigation of the interactive relationship between urbanization and ecosystem services: Case study of the Jingjinji urban agglomeration, China. *Ecological indicators*, 95, 152-164.