

1. RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar, a nivel interespecífico e intraespecífico, la variación de caracteres métricos de poblaciones de abejas sin aguijón de Guatemala. El análisis se realizó mediante técnicas morfométricas, basadas en estadística multivariada, aplicadas a distancias medidas sobre las cabezas y las alas anteriores derechas de especímenes de *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*. Esto con el fin de determinar si existe variación morfométrica que permita diferenciar las especies y las poblaciones de las mismas, y poder ampliar así los conocimientos sobre la biología y la dinámica poblacional de estas especies, y también aportar datos que contribuyan a la correcta identificación taxonómica de las especies mencionadas.

Un total de 305 abejas sin aguijón fueron utilizadas para el estudio. Se trabajó con hembras adultas obreras. Los especímenes forman parte de la colección entomológica del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP-, y fueron colectados en meliponarios de distintas localidades de doce departamentos del país. Cada localidad representa una población de estudio. La técnica utilizada fue la Morfometría Tradicional, aplicándose análisis libres de isometría a nivel inter e intraespecífico y libres de alometría a nivel intraespecífico.

A nivel interespecífico los resultados libres de isometría muestran que existen diferencias significativas entre los tres grupos de meliponas, tanto en las alas como en las cabezas [Wilks lambda=0.131 y $p < 0.05$], lo cual respalda la previa clasificación de los grupos en las especies *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*.

A nivel intraespecífico, los resultados del análisis libre de isometría mostraron que las poblaciones de *M. solani* de Nuevo Progreso, San Marcos, y las poblaciones de *M. yucatanica* de Jutiapa, La Pajarita y Moyuta, muestran una tendencia a diferenciarse del resto de localidades. No se encontró variación métrica alguna con las poblaciones de *M. beecheii*. Con respecto al análisis libre de alometría, los resultados obtenidos muestran un menor grado de diferenciación con respecto al libre de isometría. Sin embargo se volvieron a diferenciar las poblaciones de Nuevo Progreso, San Marcos, y La Pajarita y Moyuta, Jutiapa, para *M. solani* y *M. yucatanica*, respectivamente.

En términos generales, los análisis libres de isometría y libres de alometría para cada especie mostraron un alto porcentaje de semejanza entre las poblaciones estudiadas, indicio de la existencia de flujo génico entre colmenas cercanas y de movimiento de colonias, por parte de meliponicultores, entre localidades alejadas. Pero las diferencias encontradas en algunas poblaciones sugieren que éstas pueden haber adquirido adaptaciones particulares al ambiente local.

2. INTRODUCCIÓN

Las abejas están catalogadas entre los insectos polinizadores más importantes a nivel mundial (Michener, 2000). Se ha calculado que más del 50% de las especies de plantas para cultivo son mejoradas por polinización natural, por lo que la contribución de este proceso a la economía mundial es trascendental (Cunningham, 2000; Delaplane y Mayer, 2000; Kremen *et al.*, 2002). En las regiones tropicales, las abejas sin aguijón, llamadas meliponinos, son agentes polinizadores que juegan un papel clave en la polinización de muchas especies silvestres de plantas y cultivos (Heard, 1999; Quezada-Euán *et al.*, 2007)

En Guatemala coexisten 33 especies de meliponinos (Enríquez y Maldonado, 2008), muchas de las cuales están catalogadas en peligro, ya que sus poblaciones silvestres así como la de meliponarios han venido decayendo (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Quezada-Euán *et al.*, 2007). Este tipo de abejas construyen sus colmenas, sobre y dentro de árboles, en termiteros o en el suelo. Sus recursos alimenticios abarcan mayoritariamente polen, para el desarrollo de las larvas, y néctar de las flores, como fuente de energía (Biesmeijer *et al.*, 1999). Tres especies de meliponinos del género *Melipona* se distribuyen en nuestro país, *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*, conocidas en varios lugares con los nombres comunes de criolla, chac chow y tinzuca, respectivamente (Enríquez y Maldonado-Aguilar, 2008). En el interior del país *M. beecheii* es comúnmente criada, por lo que es considerada una especie importante en nuestro medio.

En la actualidad la conservación de las abejas sin aguijón ha venido emergiendo como un tema importante, ya que las poblaciones de plantas nativas y exóticas se

mantienen gracias a la función ecológica de estas abejas, por lo que se hace imperativo estudiar y analizar sus poblaciones para poder definir en el futuro estrategias de conservación y manejo específicas, acordes a su biología y comportamiento (Ayala *et al.*, 1992; Delaplane y Mayer, 2000; Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006; Quezada-Euán *et al.*, 2007).

En Guatemala, han sido poco estudiados los aspectos básicos de la biología y genética de las especies mencionadas. Se sabe que la morfología particular de cada especie limita las propiedades fisiológicas y el comportamiento de las distintas especies. Por ejemplo, las diferencias en el forrajeo de néctar entre especies, se debe a diferencias en importantes características morfológicas, tales como el largo y forma de las estructuras para alimentación, así como el tamaño y color del cuerpo (Biesmeijer *et al.*, 1999). Estas características de la morfología no han sido analizadas a nivel poblacional en nuestro país.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la variación métrica de las especies *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica* a nivel inter e intrapoblacional. Se trabajó con un total de 305 meliponas colectadas en meliponarios ubicados en varios departamentos de Guatemala. Las poblaciones se analizaron mediante técnicas de Morfometría Tradicional (análisis libre de isometría y libre de alometría) que se aplicaron sobre caracteres métricos medidos sobre las cabezas y alas de abejas obreras. Las técnicas del análisis morfométrico tradicional han sido utilizadas exitosamente en varios estudios con otros grupos de abejas, ya que son relativamente asequibles en términos económicos y de fácil aplicación, por lo que han sido una herramienta muy útil para estudiar la variabilidad morfológica y evaluar la diferenciación interespecífica entre especies (Biesmeijer *et al.*,

1999; Carrillo *et al.*, 2001; Koedam *et al.*, 2001; Sung *et al.*, 2004; Quezada-Euán *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; May-Itzá *et al.*, 2009; Viana *et al.*, 2009].

3. ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES DE ABEJAS

Las abejas son artrópodos de la clase insecta, clasificadas dentro del Orden Hymenoptera, Superfamilia Apoidea. Existen alrededor de 20,000 especies de abejas, pero se ha sugerido que en realidad pueden ser el doble de este número a nivel mundial (Roubik, 1989; Ayala *et al.*, 1992). Las regiones extratropicales, cálidas y semidesérticas del planeta cargan con la mayor parte de la diversidad de estos insectos (Ayala *et al.*, 1992). En Guatemala se han reportado 354 especies, distribuidas en 97 géneros pertenecientes a cinco familias (Yurrita *et al.*, 2009).

Las abejas evolucionaron a partir de avispas depredadoras de artrópodos, que con sus numerosas adaptaciones morfológicas y de comportamiento para la colecta y transporte de polen, contribuyeron a la rápida diversificación de las angiospermas a principios del Cretácico (Ayala *et al.*, 1992; Poinar Jr. y Danforth, 2006). Son insectos de tamaño pequeño, miden entre 2 y 39 mm de longitud, y se caracterizan por tener el cuerpo cubierto de pelos plumosos y la presencia de una estructura especializada para la colecta de polen, las escopas o corbículas (Michener, 2000). El alimento de las larvas de las abejas se compone principalmente de polen y néctar o aceites de angiospermas (Ayala *et al.*, 1992).

La mayoría de abejas son solitarias, algunas otras presentan comportamiento subsocial, parasocial (cuasisocial) y eusocial primitivo, mientras que el comportamiento eusocial avanzado es característica peculiar de algunas especies de la familia Apidae (Michener, 1974; Ayala *et al.*, 1992). Construyen sus nidos en diversidad de hábitats

tales como suelo, tallos huecos, termiteros, madera, nidos abandonados de avispas, nidos expuestos sobre tallos o rocas [Ayala *et al.*, 1992].

3.2 ABEJAS SIN AGUIJÓN

3.2.1 Biología

Dentro de la familia Apidae, existe una subdivisión de abejas, que se caracterizan por no tener aguijón, denominadas meliponinos, agrupadas en la subfamilia Meliponinae [Wille, 1983; Ruttner, 1988; Ayala *et al.*, 1992; Biesmeijer, 1997; Velthuis, 1997; Michener, 2000]. En total existen más de 600 especies de abejas sin aguijón, agrupadas en 56 géneros, distribuidas exclusivamente en los trópicos [Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006]. En Guatemala se ha reportado que existen 33 especies de meliponinos, agrupadas en 10 géneros [Enríquez y Maldonado, 2008].

Las meliponinos son abejas que miden entre 2 y 18 mm de largo. Son bastante similares a las abejas melíferas (género *Apis*), pero se caracterizan por una reducción del aguijón y de la venación alar. Como grupo presentan gran variabilidad morfológica en cuanto a conformación, tamaño y color, ya que mientras las especies del género *Melipona* son robustas y peludas, las *Trigonas* son delgadas, más pequeñas y lisas [Wille, 1983; Espina y Ordetx, 1984; Ruttner, 1988; Biesmeijer, 1997]. Otra característica que distingue a estas abejas de otras es la presencia de un “penicillum”, una fila de largos pelillos localizados en el ápice de la tibia [Wille, 1983; Ruttner, 1988].

Las abejas sin aguijón exhiben un comportamiento eusocial avanzado, viviendo generalmente en colmenas y divididas en obreras, zánganos (machos) y, normalmente, una

reina. Las colonias pueden albergar desde cientos hasta varios miles de individuos, dependiendo de la especie (Espina y Ordetx, 1984; Biesmeijer, 1997); utilizan materiales como barro, fibras y hojas vegetales, heces de vertebrados, resinas y cera para construir sus colmenas, generalmente dentro de cavidades en troncos de árboles, aunque en ocasiones también en hoyos en el suelo, madrigueras, grietas en rocas, edificios, e inclusive llegan a utilizar termiteros (Wille, 1983; Roubik, 1989; Velthuis, 1997).

Las colmenas de abejas sin aguijón se multiplican ya sea produciendo enjambres o produciendo zánganos. La reproducción mediante la producción de machos (huevecillos no fecundados) consiste en que éstos salen de la colmena y se agrupan en la entrada de ésta o en el campo, esperando la llegada de una reina virgen. Sin embargo, la competencia entre los machos es fuerte, ya que en algunas especies, una agrupación puede constar de más de mil machos, por lo que la oportunidad para un macho de fertilizar una hembra virgen se reduce bastante (Biesmeijer, 1997). La otra forma de reproducción, la producción de enjambres, inicia cuando algunas abejas salen de la colmena en busca de un sitio de anidación para una colmena hija. Localizado el sitio, las obreras empiezan a transportar materiales al nuevo lugar para su preparación, proceso que puede durar varios días, inclusive semanas. Al final llegan al nuevo nido una reina virgen junto con un grupo de obreras; luego, la reina realiza el vuelo nupcial y retorna fertilizada, iniciando la oviposición (Roubik, 1989; Biesmeijer, 1997; Velthuis, 1997).

3.2.2 Importancia Ecológica y Cultural

Otra característica importante de las meliponinos, por la que han sido objeto de explotación, es la producción de miel y cera. La miel de estas abejas es producida a partir del néctar de las flores, y ha sido utilizada desde tiempos antiguos por los humanos para tratar afecciones respiratorias, sobre heridas, disenterías y otras dolencias, para preparación de bebidas, ceremonias religiosas, etc. [Espina y Ordetx, 1984, Biesmeijer, 1997]. Por otro lado, la cera que secretan las meliponas la mezclan con propóleos [resina vegetal], y ha sido aprovechada también para varios propósitos: litografía, tinta, confección de velas, orfebrería, etc. [Espina y Ordetx, 1984; Biesmeijer, 1997]. En nuestro país la crianza de abejas nativas sin aguijón o meliponicultura ha sido practicada desde hace muchos siglos y jugó un papel importante en las tradiciones de la cultura maya [Enríquez *et al.*, 2005]. Actualmente en varias regiones de Guatemala existen meliponicultores que tienen conocimientos técnicos sobre el manejo de las colmenas de abejas sin aguijón, y muchas familias de escasos recursos utilizan los recursos de las meliponas como una fuente alternativa de ingresos [Enríquez y Maldonado, 2008].

Por el efecto polinizador de la recolección y transporte de polen y néctar por parte de las meliponinos, éstas han venido utilizándose para polinizar cultivos de frutales, hortalizas y maderas [Biesmeijer, 1997]. Además de optimizar los cultivos, el proceso también se lleva a cabo en los bosques tropicales; estudios llevados a cabo en Costa Rica afirman que el porcentaje total de plantas en el bosque tropical seco que son polinizadas por abejas supera el 55% de todas las plantas [Biesmeijer, 1997]. Y si le agregamos a todo eso el hecho de que las meliponas también sirven como transportadoras de esporas y semillas de algunos hongos y árboles [Biesmeijer, 1997], podemos inferir la

importancia de estas abejas por el papel que juegan en el medio ambiente y en la cultura humana.

3.2.3 El Género *Melipona* Illiger, 1806

Las abejas del género *Melipona* se caracterizan por tener un cuerpo robusto, con abundante pubescencia, y una longitud corporal entre 8 y 18 mm (las obreras) (figura 1) (Biesmeijer, 1997; Ayala, 1999). Las alas son cortas o sobrepasan escasamente el ápice del metasoma. El pterostigma es pequeño y estrecho; sobre el margen distal de los tergos metasomales generalmente presentan líneas amarillas fuertes o tenues (Ayala, 1999).

Existen alrededor de 50 especies catalogadas dentro de este género, todas distribuidas en el Neotrópico (Biesmeijer, 1997).

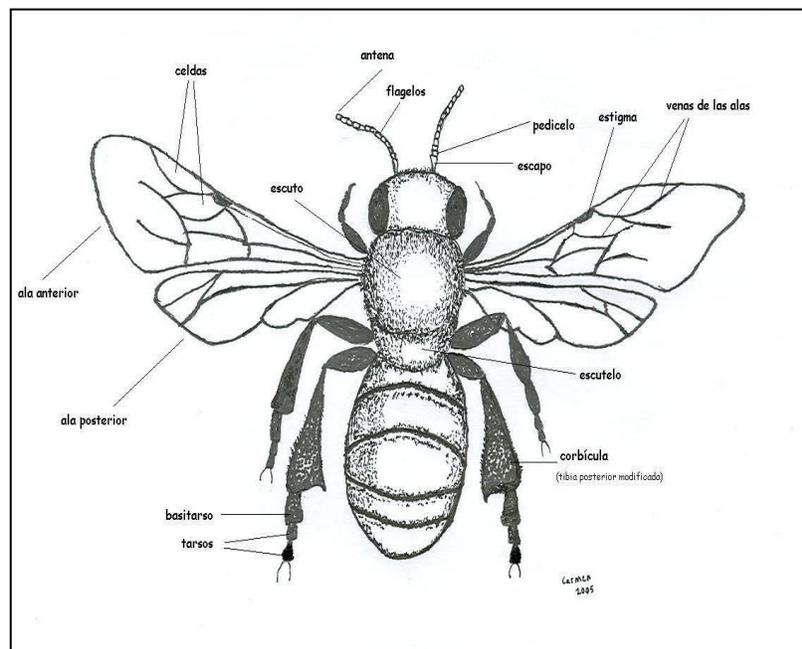


Figura 1. Una melipona y sus partes corporales.

3.2.4 *Melipona beecheii* Bennett, 1831

Esta especie de abeja sin aguijón nativa de la región se caracteriza porque su integumento es en su mayor parte de color negro, hablando de las obreras, mientras que el tórax presenta pubescencia blanquecina a los lados del mesosoma, siendo el resto del cuerpo de color ocre o anaranjado (figura 2). Las patas presentan dibujos amarillos, pardos y negros, y el tamaño del insecto varía entre 9.7 y 10.7 mm, mientras que el ancho del ala anterior va de 7.7 a 7.9 mm (Ayala, 1999). Es la más grande de las tres especies analizadas en este estudio.

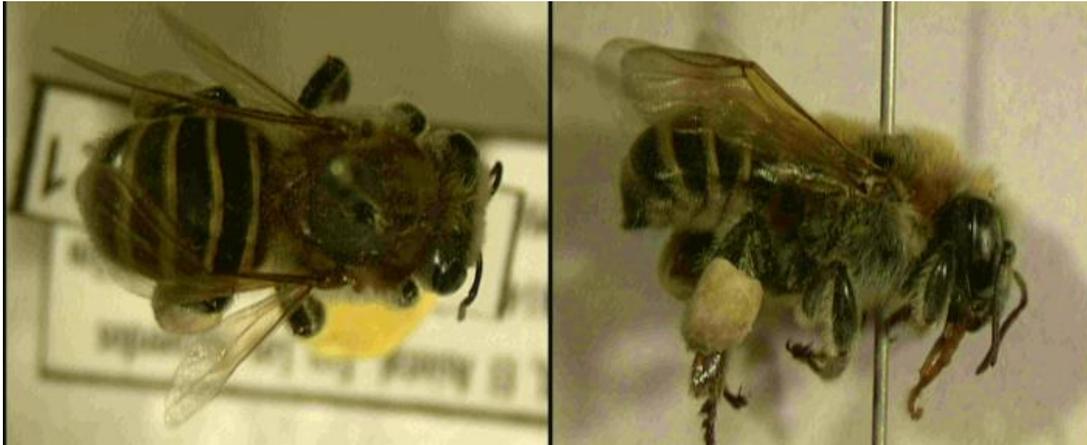


Figura 2. *Melipona beecheii*

El escudo presenta pubescencia anaranjada (o amarilla), que se vuelven mechones muy densos de pelos de color anaranjado-rojizos en sus ángulos antero-laterales. Los escapos son de color amarillo en la superficie anterior, y los tergos metasomales negros con bandas apicales amarillas bien definidas. Los tergos también presentan pubescencia abundante de color anaranjado u ocre. Su distribución abarca México, Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica, incluyendo Cuba, ocupando zonas tropicales de golfos y costas del Pacífico (Ayala, 1999; de la Rúa, 2007).

3.2.5 *Melipona solani* Cockerell, 1912

Esta melipona se caracteriza porque las obreras tienen el integumento de color negro y anaranjado, pubescencia anaranjada y el tórax presenta pelos anaranjado-oscuro o pardo-rojizo en sus costados. La longitud del cuerpo de esta especie es de 8 mm en promedio y del ala anterior 7.6 mm [Ayala, 1999][figura 3].

El área paraocular es negra sin dibujos amarillos, mientras que los pelos a nivel de los ocelos son pardos-anaranjados, con pelos negros intercalados. El escuto presenta pelos anaranjados-rojizo con abundantes pelos negros intercalados, y los pelos a los lados del tórax son anaranjados-oscuro o pardo-rojizo, más oscuros que los del escuto. Los tergos metasomales son oscuros o negros, generalmente sin líneas amarillas apicales [Ayala, 1999].

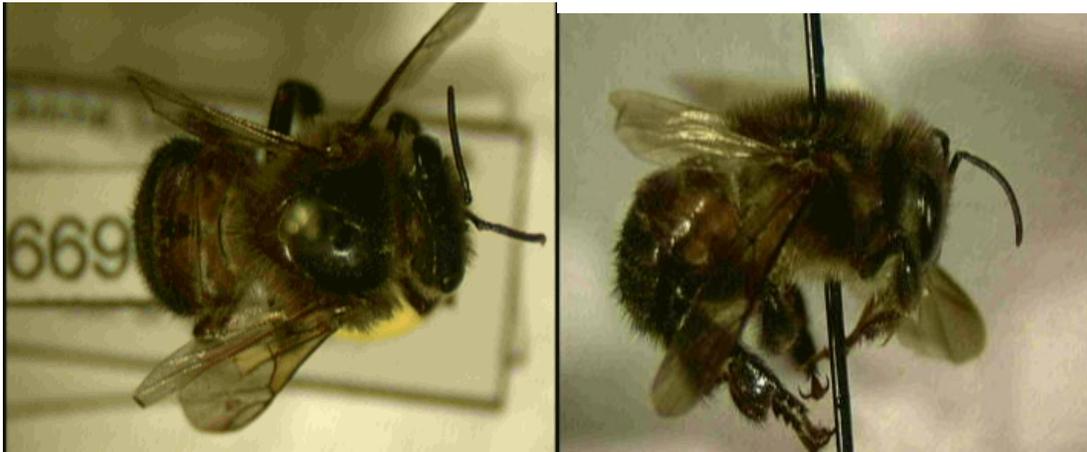


Figura 3. *Melipona solani*

Esta especie se asocia al bosque tropical húmedo, siendo más común y ocupando un área mucho más grande en Centroamérica que *M. beecheii*. Se le encuentra en

México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá (Ayala, 1999). Esta especie presenta una variación en coloración a lo largo de su distribución. En México y Guatemala las abejas son más claras con integumento más oscuro, mientras que en Costa Rica y Panamá, el integumento es frecuentemente más claro pero la abeja es más oscura (Ayala, 1999).

3.2.6 *Melipona yucatanica* Camargo, Moure, Roubik, 1988

El integumento de esta melipona es negro con manchas amarillas, y presenta pubescencia blanquecina y anaranjada. La longitud de su cuerpo puede variar de 8.2 mm a 8.5 mm, mientras que el ala anterior mide entre 6.5-6.6 mm (Ayala, 1999) (figura 4).

El escudo posee pelos anaranjados y puede presentar o no, algunos pelos negros intercalados. El vértex con pelos amarillos y algunos negros. El escutelo es generalmente pardo oscuro o pardo-rojizo, y posee una línea amarilla en sus márgenes laterales. Las tibias presentan pelos amarillos, y la tibia posterior es de color pardo-rojizo, con un dibujo negro. Los tergos presentan escasa pubescencia, generalmente de color amarilla (Ayala, 1999).

La distribución de esta especie es más restringida que las dos anteriores, encontrándose solamente en la Península de Yucatán, en el Istmo de Tehuantepec, y en Guatemala, se ha reportado en los departamentos de Jutiapa y Santa Rosa (Ayala, 1999; De la Rúa *et al.*, 2007).



Figura 4. *Melipona yucatanica*

3.3 MORFOMETRÍA

La morfometría es considerada una herramienta importante de exploración en biología evolutiva. Es definida como un conjunto de métodos útil para la medición y el análisis de la forma de organismos biológicos y estructuras particulares, describiendo cuantitativamente la forma e interpretando la variación de la misma (Rohlf, 1990). Abarca métodos para la descripción y análisis estadístico de la variación de la forma entre y dentro de grupos de organismos y del análisis del cambio de la forma como resultado del crecimiento, tratamiento experimental o evolución. Puede usarse como una valiosa herramienta en estudios taxonómicos, genéticos y ecológicos, y ha sido utilizada en muchos campos tales como citología, antropología, geología, paleobiología, y entomología (Rohlf, 1990; Rohlf y Marcus, 1993; Dujardin, 2000).

La morfometría trata con caracteres cuantitativos, como el tamaño y la forma, caracteres que son heredables y que su variación puede ser explicada por dos fuentes: variación genética y variación ambiental (Daly, 1985). Según Dujardin *et al.* (1999), se

pueden separar las causas genéticas de las ambientales, mediante la “remoción estadística de las variaciones del tamaño de las comparaciones métricas” (comúnmente llamada corrección del tamaño), revelando patrones de variación relacionados con diferencias evolutivas (es decir, minimizando la influencia de los factores ambientales)[Dujardin *et al.*, 1999].

Para comparar entre diferentes organismos la idea es contrastar desde el mismo punto de vista la misma estructura de dos o más individuos (Rohlf, 1990). La morfometría trata de representar la forma de la estructura de interés del organismo por medio de representaciones matemáticas, lo cual se puede hacer de dos maneras: 1) mediante conjuntos de distancias entre puntos sobre el organismo; 2) mediante las coordenadas cartesianas de esos puntos (Bookstein, 1982). Una manera de analizar estos conjuntos de datos morfométricos es el uso de métodos estadísticos multivariados. Estos métodos representan el medio más común de análisis de los conjuntos de variables representando formas biológicas, y uno de sus principales objetivos es reducir la cantidad de datos tanto como sea posible, pero sin perder la habilidad de representar adecuadamente la forma de las estructuras (Bookstein, 1982).

Éstos métodos han sido ampliamente utilizados en estudios entomológicos. Las formas y dimensiones del exoesqueleto de los insectos son susceptibles de medir, y se ha reconocido que son reflejo de la forma de vida de estos artrópodos (Daly, 1985). De acuerdo con Daly (1985), la morfometría puede ser aplicada en entomología para: a) identificar y determinar el número de estados inmaduros; b) investigar la

correspondencia entre variación morfométrica y genética; c) investigar la influencia de la variación ambiental en la forma y el tamaño; d) sistemática y clasificación.

Se puede encontrar dos tipos de morfometría, la geométrica y la tradicional. La morfometría geométrica es una técnica que toma en cuenta las relaciones geométricas de las variables, es decir preserva la información de la geometría del organismo o de la estructura estudiada. La parte multivariada de la morfometría geométrica además de considerar las correlaciones entre las variables, toma en cuenta los patrones espaciales de dichas variables en el organismo (Rohlf, 1990). La morfometría tradicional, también denominada multivariada, se define como la aplicación de estadística multivariada a conjuntos de distancias medidas en un organismo. Dentro de los métodos multivariados utilizados se encuentran aquellos de clasificación y los de ordenación (Dujardín, 2000).

3.3.1 Morfometría Tradicional

La morfometría tradicional es definida como la aplicación de métodos estadísticos multivariados a conjuntos de distancias entre puntos medidos sobre un organismo. Esta técnica le permite al investigador cuantificar la variación morfométrica y tentativamente separar los componentes genético y ambiental de las longitudes o mediciones examinadas (Jaramillo y Dujardin, 2002).

El primer paso en morfometría tradicional es medir distancias entre puntos de referencia medidos sobre la estructura de interés. Luego, a partir de estas distancias, las cuales deben convertirse previamente a logaritmos naturales pues así lo requieren la

generalización multivariada de la alometría o la remoción del tamaño isométrico, se construyen matrices de varianza-covarianza. Utiliza los análisis multivariados para hacer combinaciones lineales de todas las variables originales en unas pocas no relacionadas entre sí, cada una de las cuales da cuenta de una porción de la variación original. Generalmente se acepta que los dos primeros factores contienen la mayor parte de la información (Dujardin, 2000).

Los análisis convencionales se dividen en (Dujardin, 2000):

- 1) Los utilizados para el análisis de muestras únicas, sin una asignación “a priori” de los individuos en grupos previamente definidos. Entre los más utilizados está el Análisis de Componentes Principales (ACP)
- 2) Los utilizados para el análisis de dos o más muestras, como por ejemplo el Análisis de Componentes Principales Comunes (ACPC), el Análisis de Componentes Principales Multigrupo (ACPmg) o el Análisis Discriminante (AD)

Las nuevas variables derivadas de la morfometría tradicional corresponden a componentes principales o a factores, con una serie de propiedades útiles (Dujardin, 2000):

- 1) Son ortogonales; es decir, que los valores de cada componente no se correlacionan con los valores de los otros componentes.
- 2) Los componentes se organizan en orden decreciente de acuerdo al porcentaje de varianza original por el que cada uno responde, es decir que el primer componente será el que dará cuenta del mayor porcentaje de variación original.
- 3) La suma de las varianzas explicadas por cada componente igualará la suma de las varianzas originales (Dujardin, 2000).

Estas propiedades significan que al resumir los datos iniciales en unas pocas dimensiones, pero sin perder la información original, se puede representar de la mejor manera los objetos de estudio y sus relaciones, en función de los caracteres estudiados (Pimentel, 1992).

3.3.1.1 Tamaño en morfometría tradicional

El objetivo de los análisis de morfometría tradicional es estudiar por separado la conformación y el tamaño del grupo de organismos bajo estudio (poblaciones), ambos, componentes morfométricos de las poblaciones, modificados cada uno por razones biológicas diferentes (Jaramillo y Dujardin, 2002). Esta remoción del tamaño [o corrección del tamaño] es importante en estudios de variación cuantitativa intraespecífica, ya que en teoría permiten reducir la influencia que la variación por crecimiento [o tamaño] tiene sobre la conformación. Para esto existen ciertas interpretaciones matemáticas de los conceptos de tamaño y crecimiento, en base a las cuales se puede llegar a separar cuantitativamente, el tamaño y la conformación. De acuerdo a Dujardin (2000) se pueden definir matemáticamente dos tipos de crecimiento:

3.3.1.1.1 Crecimiento Alométrico

La alometría se refiere al cambio en función del tamaño que sufre la forma. Es el tipo de crecimiento más común en la naturaleza, y ocurre cuando una parte del organismo crece a una velocidad diferente a la de otra parte del cuerpo como un todo (Jaramillo y Dujardin, 2002). El cambio alométrico resulta de la multiplicación de cada carácter por un coeficiente diferente cuando crece el conjunto, lo que produce un

individuo más grande pero de aspecto diferente, es decir, con una silueta diferente (figura 5).

3.3.1.1.2 Crecimiento Isométrico

El crecimiento isométrico es un caso particular de la alometría. Este tipo de crecimiento resulta de la multiplicación de todas las dimensiones por un mismo coeficiente (figura 5). Es el tipo de crecimiento que rara vez se da en la naturaleza (Dujardin, 2000). En morfometría tradicional es el cambio de tamaño global que se puede estimar con un vector que tiene todos sus coeficientes idénticos (Jaramillo y Dujardin, 2002).

3.3.1.2 Cuantificación y corrección del tamaño: análisis morfométrico tradicional

La causa más frecuente de diferencias de tamaño entre individuos de la misma especie es fisiológica: el crecimiento desigual. Pero las diferencias de tamaño no

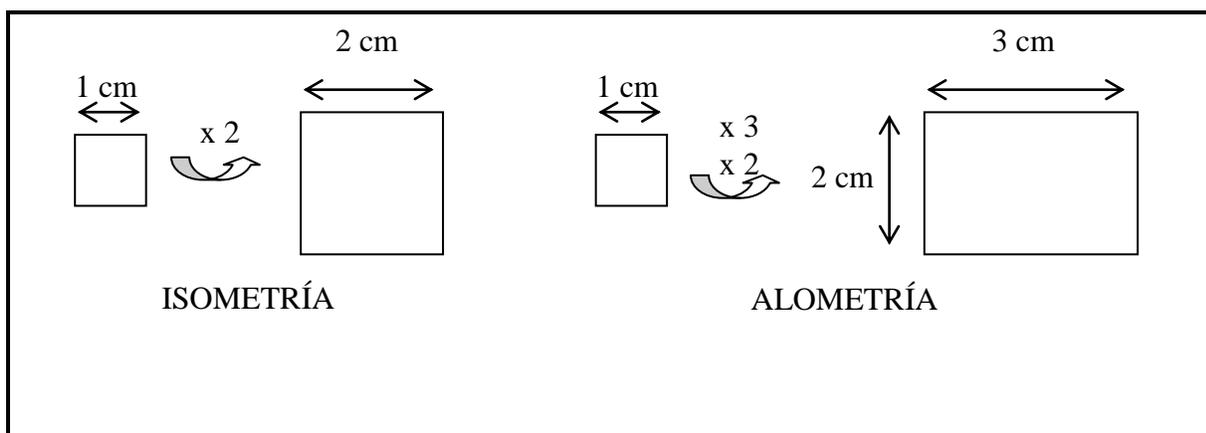


Figura 5. Representaciones matemáticas del crecimiento según Jaramillo y Dujardin (2002)

siempre se explican por diferencias de crecimiento. La variación de tamaño resulta de causas ambientales y genéticas (Jaramillo y Dujardin 2002). El crecimiento es la principal causa fisiológica que afecta el tamaño, pero también influye la divergencia genética causada por el aislamiento geográfico (diferenciación geográfica) y la selección natural de genotipos que expresan un fenotipo de tamaño ligado a caracteres con mayor eficacia biológica ("fitness") (por pleiotropía o ligamiento genético) (Jaramillo y Dujardin 2002). El tamaño no es una variable monofactorial. Responde a causas fisiológicas cuando consideramos el crecimiento, pero también responde a procesos de diferenciación geográfica y de divergencia evolutiva con bases genéticas (Jaramillo y Dujardin 2002).

Darroch y Mosimann (1985), proponen para la representación del tamaño isométrico, llamado TAISO, utilizar el promedio de todas las distancias medidas para un individuo. Para el caso del tamaño alométrico, la variable de tamaño global (o vector de crecimiento) se representa por el Primer Componente Principal Común (CPC 1), obtenido de un Análisis de Componentes Principales Comunes (ACPC) (Klingenberg, 1996). Esta variable de tamaño global no hace distinción entre diferencias de tamaño debidas a diferencias de crecimiento o genéticas (Dujardin, 2000).

3.3.1.2.1 Corrección del tamaño isométrico

Para lograr eliminar el cambio isométrico de tamaño se sustrae la variable de tamaño isométrico o TAISO, a las variables que definen los organismos, previamente transformadas a sus logaritmos naturales. Con este tratamiento obtenemos variables libres de tamaño isométrico o variables de conformación (Darroch y Mosimann, 1985).

La conformación es la geometría, configuración o apariencia del individuo o de una estructura anatómica. Es un concepto opuesto al de "forma". Según Jaramillo y Dujardin (2002), la conformación tiene una serie de propiedades:

- 1) Cambios alométricos debidos al crecimiento modifican la conformación;
- 2) La conformación es libre de diferencias de tamaño isométrico y, por ende, los cambios isométricos no la modifican;
- 3) Cambios evolutivos y/o adaptativos pueden modificar la conformación (y/o la manera de crecer).

A partir de la remoción del TAISO, se procede a realizar los análisis multivariados a la variación métrica residual, llamados análisis libres de isometría (Jaramillo y Dujardin, 2002).

3.3.1.2.2 Corrección del tamaño alométrico

Este tipo de corrección se puede lograr mediante el método propuesto por Klingenberg (1996). Según este autor, la corrección se logra removiendo o excluyendo el primer componente principal común, $cpc1$, de los subsiguientes análisis. El conjunto de variables remanentes después de extraer el $cpc1$, se definen como "forma" o variables libres de alometría.

La forma entonces se define como la variación métrica residual después de remover la alometría de crecimiento. Las variables de forma necesitan aplicarse en un contexto claro: misma especie, mismo lugar (Dujardín, 2000). Este análisis de la forma, también llamado análisis libre de alometría, significa remover tentativamente los cambios

alométricos debidos a crecimiento. La condición de este análisis es que no haya diferencia significativa en la manera de crecer de diferentes individuos. Si existen varios grupos con diferentes alometrías de crecimiento es lógicamente, poco probable encontrar un eje común de crecimiento entre todos (Dujardin, 2000).

Algunas propiedades de la forma son (Jaramillo y Dujardin, 2002):

- 1) la forma es libre de los cambios de conformación inducidos por el crecimiento (alometría).
- 2) cambios alométricos inducidos por el crecimiento no modifican la forma.
- 3) cambios isométricos pueden modificar la forma, así como cambios alométricos de origen genético.

Encontrar diferencias de forma, significa que el crecimiento no es capaz de explicar por sí solo toda la variación métrica observada. Entonces, se deben considerar otras causas, probablemente de origen genético (Dujardin, 2000).

En caso de encontrar que dos estructuras no comparten la misma manera de crecer podemos suponer cambios evolutivos o adaptativos, responsables de la divergencia observada. El concepto forma se aplica entonces a estructuras biológicas que crecen de manera alométrica. Un estudio de la conformación libre de alometría es válido al nivel intraespecífico, porque esperamos una manera similar de crecer (igual alometría) dentro de una especie (Dujardin, 2000).

3.3.2 Morfometría aplicada al estudio de abejas

El análisis morfométrico puede ser utilizado como una herramienta para evaluar la variación geográfica y la diferenciación interespecífica de poblaciones de abejas (Ruttner, 1988). Según algunos autores, los caracteres morfológicos han demostrado ser buenos indicadores de procesos evolutivos que actúan sobre las poblaciones de abejas, ya que tales caracteres muestran en general, una heredabilidad alta (con un alto componente genético) en abejas, especialmente los relacionados con el tamaño (Diniz-Filho y Bini, 1994, citado en Nunes *et al.*, 2008).

Los primeros trabajos en aplicar técnicas morfométricas al estudio de la diversidad de abejas trataron acerca de la variación dentro de poblaciones geográficas de la misma especie y patrones clinales de algunos caracteres en *Apis cerana indica* (Mattu y Verma, 1983, citado en Rattanawanee *et al.*, 2007), y en *A. mellifera* (Ruttner, 1988). Siguiendo la misma línea de trabajo, Verma y colaboradores (1994) lograron la diferenciación geográfica de poblaciones de *A. cerana* del noroeste de Los Himalayas, considerando 55 variables morfométricas de las alas delanteras y traseras de las abejas. Otros estudios con la misma especie, *A. cerana*, provenientes tanto de Los Himalayas como de Las Filipinas, también lograron diferenciar las poblaciones de esta abeja utilizando caracteres morfométricos de las antenas, y otros relacionados con el tamaño y con la venación de las alas (Tilde *et al.*, 2000; Hepburn *et al.*, 2001a). Un análisis completo acerca de las categorías infraespecíficas de esta especie, utilizando morfometría, aloenzimas y ADN mitocondrial es presentado por Hepburn y colaboradores (2001b). Estudios similares de diferenciación poblacional utilizando morfometría multivariada se han llevado a cabo con otras especies de *Apis* (Chaiyawong *et al.*, 2004; Hepburn *et al.*, 2005; Rattanawanee *et al.*, 2007).

También se han realizado estudios morfométricos con abejas meliponinos, no solamente aplicados a diferenciar poblaciones geográficas, sino en otras áreas en donde ha sido útil el análisis morfológico de estas abejas. Por ejemplo, Koedam y colaboradores (2001), analizaron la relación entre diferentes tipos morfológicos de huevecillos y el comportamiento de las abejas obreras que los oviponen, en la especie *Melipona bicolor bicolor*. Comparando diferentes tamaños de huevecillos y otros atributos morfológicos, lograron demostrar que la oviposición se acompaña de una secuencia única de comportamientos. Otro estudio analizó el rol que juega la morfología de las abejas *Melipona beecheii* y *M. fasciata*, en la diferenciación del nicho para la colecta de néctar entre las dos especies, midiendo caracteres en la cabeza y el ala (Biesmeijer *et al.*, 1999).

Un estudio con *Trigona ventralis hoozana* analizó las diferencias morfológicas entre las reinas, obreras y machos de dos colonias en Taiwan (Sung *et al.*, 2004). Para ello los autores examinaron 14 caracteres en total medidos sobre la cabeza, tórax, abdomen, patas y alas de las abejas, encontrando que esta especie presenta un completo dimorfismo de castas.

Recientemente, Nunes y colaboradores (2008) llevaron a cabo un estudio morfométrico para estudiar la divergencia genética entre poblaciones de *Melipona quadrifasciata* en una región semiárida en Brasil. El análisis se basó en 16 variables medidas sobre las alas delanteras y traseras de las abejas, las cuales diferenciaron tres grupos que concordaban con la ubicación geográfica de las colonias analizadas, y que la mayor parte de la variación en el tamaño de los insectos era influenciada por la elevación

geográfica. Con los resultados obtenidos, los autores concluyeron que existe una divergencia genética significativa entre las poblaciones de *M. quadrifasciata* de las diferentes regiones semiáridas, y que esta diferencia se debe probablemente a barreras geográficas que reducen el flujo génico entre dichas poblaciones (Nunes *et al.*, 2008).

Otros estudios que envuelven variabilidad morfológica con poblaciones de meliponas se han centrado en la especie *M. beecheii*, analizada a lo largo de todo su rango de distribución, incluyendo Centroamérica (Carrillo *et al.*, 2001), y entre poblaciones de Yucatán, México, y Guanacaste, Costa Rica (Quezada-Euán *et al.*, 2007). Este último trabajo combinó herramientas moleculares y morfométricas con el fin de analizar las diferencias entre las poblaciones antes mencionadas. Utilizaron microsatélites como marcadores moleculares, y para la parte morfológica, once caracteres medidos sobre la cabeza, alas y patas. Ambas técnicas mostraron diferenciación entre las poblaciones de México y costa rica, tanto a nivel molecular como fenotípico. Las meliponas de Yucatán son más pequeñas y pálidas que las del país centroamericano, y ambas poblaciones muestran una falta de heterocigotos, lo que estaría indicando que sufren de endogamia, por lo que los autores sugieren hacer esfuerzos en reproducir varias colonias como sean posibles para mantener variabilidad genética (Quezada-Euán *et al.*, 2007).

4. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial las abejas son los polinizadores más importantes. La polinización debida a estos insectos contribuye enormemente a la economía humana, ya que gran parte de los cultivos, aproximadamente más del 66% de las 1500 especies de plantas para cultivo, son optimizados por este proceso natural [Cunningham, 2000; Delaplane y Mayer, 2000; Kremen *et al.*, 2002]. El valor anual de la polinización por abejas es del orden de billones de dólares, solamente en Estados Unidos [Delaplane y Mayer, 2000].

Las abejas sin aguijón o meliponinos son importantes polinizadoras de la vegetación en la región neotropical. Casi la mitad de las especies de plantas cultivadas que son significativas para la economía de la región son polinizadas por éstas [Heard, 1999]. Las poblaciones de plantas nativas y exóticas se mantienen gracias a la función ecológica de las abejas, manteniendo a comunidades animales, controlando la erosión de los suelos, aumentando los valores de propiedad y, embelleciendo los ambientes humanos [Delaplane y Mayer, 2000; Ricketts *et al.*, 2004; Hoffman, 2005].

Las meliponas son conocidas en el área rural de Guatemala y otros lugares de mesoamérica, como productoras de miel, la cual ha sido utilizada desde la época precolombina como medicina y alimento por habitantes de la región [Quezada-Euán *et al.*, 2007]. Se sabe que a la miel de *Melipona beecheii*, se le atribuyen una gran variedad de usos terapéuticos [Enríquez y Maldonado-Aguilera, 2008]. La meliponicultura o el arte de cultivar colmenas de abejas meliponas se ha venido desarrollando en Guatemala desde hace algún tiempo. Esta práctica tradicional se puede considerar como una alternativa económica para muchas familias de escasos recursos del área rural, y muchas son las

ventajas que presenta, como es el hecho de ser una actividad amigable con el ambiente [Enríquez y Maldonado-Aguilera, 2008].

Sin embargo en los últimos años el deterioro ambiental ha venido incrementándose en la región neotropical, provocando la disminución de la diversidad floral y faunística de la región, incluyendo a las abejas sin aguijón, las cuales son muy sensibles a los disturbios ambientales provocados por el hombre [Brown y Albrecht, 2001]. Es claro que las abejas meliponinas son valiosas, pero es un recurso natural **limitado**. Es por ello que expertos afirman que su conservación cobra una enorme importancia a nivel mundial, y que los esfuerzos deben enfocarse en el manejo y cultivo de las abejas polinizadoras [Delaplane y Mayer, 2000]. Se necesita más información biológica y estudios en condiciones naturales de las meliponinas para poder manejar y conservar a las distintas especies [Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006]. Los estudios a nivel poblacional aportan información valiosa para determinar si se realiza el movimiento de colonias entre regiones debido a sus similitudes morfológicas o genéticas [Ayala *et al.*, 1992; Quezada-Euán *et al.*, 2007].

En Guatemala se han llevado a cabo algunos estudios con meliponas, enfocados principalmente en analizar la diversidad biológica de estos insectos y las propiedades de su miel y propóleo, así como estudios acerca de los recursos polínicos utilizados por estas abejas [Marroquín, 2000; Dardón, 2005; Vásquez, 2007; Enríquez y Maldonado-Aguilera, 2008; Rodríguez, 2008]. Se han reportado tres posibles especies de meliponas para el país, *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*, según la clasificación de Ayala [1999]. Éstas presentan una amplia distribución en el país, y algunos estudios realizados en el LENAP, han revelado la existencia de variación morfológica en cada una de las especies,

lo que sumado al escaso trabajo de colecta y determinación de las mismas, han hecho su clasificación bastante complicada (Licda. Gabriela Armas, comunicación personal). Es por ello que el objetivo de este trabajo fue el de aplicar técnicas de morfometría tradicional al estudio poblacional de esas meliponas provenientes de diferentes regiones del país, para determinar el grado de variación morfológica y geográfica en dichas poblaciones. Los datos morfométricos son muy utilizados en estudios con abejas, y han demostrado ser un buen marcador para la diferenciación de poblaciones y para la descripción biológica de especies (Verma *et al.*, 1994; Biesmeijer *et al.*, 1999; Tilde *et al.*, 2000; Hepburn *et al.*, 2001, a y b; Quezada-Euán *et al.*, 2007; Rattanawanee *et al.*, 2007). Con la información obtenida, se pretendía contribuir a la clasificación de las especies y se esperaba aportar información sobre la dinámica poblacional de las mismas, apoyando de esa manera al desarrollo de una adecuada meliponicultura en nuestra región.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Analizar la variación métrica inter e intraespecífica de *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica* en Guatemala

5.2 Específicos

5.2.1 Determinar si existe variación fenotípica significativa en caracteres métricos del ala y la cabeza, en poblaciones de *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica* procedentes de diferentes regiones del país

5.2.2 Validar la morfometría como herramienta fenética para el estudio de la variación métrica de meliponas en Guatemala

5.2.3 Proveer información morfométrica que contribuya a la correcta determinación taxonómica de las meliponas de Guatemala

6. HIPÓTESIS

Los conjuntos de caracteres métricos medidos sobre la cabeza y el ala de las meliponas estudiadas detectaron diferencias en tamaño y forma de las estructuras analizadas, revelando tres grupos claramente separados, que apoyan la clasificación de las poblaciones como *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*, según Ayala (1999).

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

7.1.1 Universo de estudio

Especímenes de *M. beecheeii*, *M. solani* y *M. yucatanica* provenientes de meliponarios de varios departamentos del país (Cuadro 1). Las localidades que se incluyeron en el estudio se seleccionaron a conveniencia por disponibilidad del material.

7.1.2 Número de especímenes

Los especímenes que se utilizaron en la investigación forman parte de la colección de referencia del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología. Están conservados montados con alfileres entomológicos dentro de cajas de madera especiales para preservar artrópodos. Para este estudio solamente se utilizaron individuos adultos hembras, las obreras. Esto debido a que los machos solamente aparecen en la época de reproducción y es difícil de contar con un buen número de éstos, además de que se tiene que trabajar en base a un mismo grupo etéreo por el dimorfismo sexual. Cada localidad estuvo representada por 10 individuos, número seleccionado a conveniencia de acuerdo a los individuos disponibles en la colección de referencia. Éstos fueron colectados por investigadores del área de abejas, del LENAP, entre el 2008 y 2009, en 13 departamentos a lo largo de Guatemala. Los sitios de colecta y el tamaño de muestra se presentan en el cuadro 1.

7.2 TÉCNICAS UTILIZADAS EN EL PROCESO DE INVESTIGACIÓN

7.2.1 Preparación de las meliponas

Un total de 305 abejas sin aguijón de las especies *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica* fueron utilizadas en el estudio. Cada espécimen fue revisado para comprobar el estado en el que se encontraba y si contaba con todas sus estructuras. Luego se procedió a revisar qué localidades contaban con el tamaño de muestra requerido para los análisis morfométricos. Para tales análisis se utilizaron caracteres métricos de la cabeza y el ala, usando en promedio 10 obreras por sitio de colecta.

Las cabezas y alas de los insectos fueron removidas con ayuda de pinzas de disección; las cabezas se montaron con alfileres, fijándolas sobre triángulos de acetato, con goma blanca. Las alas de las abejas se montaron entre portaobjetos y cubreobjetos.

7.2.2 Captación de datos y medida de distancias morfométricas

Las imágenes de la cabeza y del ala de cada individuo fueron captadas mediante una Cámara Olympus OLY-750, la cual estaba conectada a un estereoscopio Olympus SZ-STS, con magnificación 15X; las imágenes tomadas se transfirieron a una computadora por medio del Software FlyVIDEO2000 (Animation Technologies, Inc. 2001). Con ayuda del software Tpsdig® ver. 2.12 (Rohlf, 2008) se midieron 14 puntos homólogos sobre la cabeza del insecto, y en el caso de las alas, 12 puntos homólogos (Sung *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2008). Los puntos seleccionados se muestran en la figura 6. A partir de dichos puntos se obtuvieron todas las distancias posibles y se convirtieron a logaritmos naturales, con ayuda del paquete estadístico Tet_14 (Dujardin, 2002).



Figura 6. Puntos tomados sobre la cabeza y el ala anterior derecha de las *Meliponas spp.*

7.2.3 Análisis de los Datos

Se usaron técnicas de morfometría tradicional, aplicando dos diferentes técnicas para la corrección de tamaño (Rohlf, 1990). El análisis libre de alometría fue utilizado para comparar a nivel intraespecífico las poblaciones de las meliponas, mientras que el análisis libre de isometría se utilizó tanto para las comparaciones interespecíficas como también intraespecíficas (Darroch & Mosimann, 1985; Klingenberg, 1996). Todos los análisis se aplicaron al conjunto de variables de la cabeza y del ala por separado.

Cuadro 1. Número de especímenes por localidad utilizadas en las comparaciones morfométricas

Especie	Localidad	Departamento	No. de especímenes
<i>Melipona beecheii</i>	Asunción Mita	Jutiapa	7
	La Pajarita		10
	Cotzal	Quiché	10
	Uspantán		10
	Carchá	Alta Verapaz	10
	Cobán		10
	Lachúa		11
	Coatepeque	Quetzaltenango	8
	El Asintal	Retalhuleu	9
	Samalá		10
	Esquipulas	Chiquimula	10
	Ipala		10
	Pueblo Nuevo	Santa Rosa	11
	Viñas		
	San Antonio Ch.	Sololá	9
	San Lucas Tolimán		
	San Benito		9
		Petén	10
<i>Melipona solani</i>	Uspantán		
	Lachúa		
	Livingston	Quiché	15
	Río Dulce	Alta Verapaz	10
	Nvo. Progreso	Izabal	10
	Poptún		13
	San Benito	San Marcos	10
	Samalá	Petén	11
		8	
<i>Melipona yucatanica</i>		Retalhuleu	11
	Camojalito		
	La Pajarita		
	Moyuta	Huehuetenango	10
	Samalá	Jutiapa	10
	Chiquimula		12
		Retalhuleu	10
	Chiquimula	8	

7.2.3.1 Análisis Libre de Alometría. Este análisis es el que provee mayor información.

Aplica el método de Klingenberg (1996) para la corrección de tamaño e indica que la eliminación del efecto del crecimiento implícito en los datos multivariados [tamaño] se

logra proyectando los puntos de datos sobre un espacio que es ortogonal al vector de crecimiento (Dujardin, 2000).

Este tipo de análisis es muy riguroso en cuanto al número de variables que pueden ser utilizadas; se debe usar la mitad del número de individuos del grupo más pequeño que va a ser analizado. Antes de llevar a cabo el análisis se tuvo que probar que las matrices de varianzas siguieran el modelo común de crecimiento alométrico, para luego llevar a cabo un análisis de componentes principales comunes (ACPC). Para comprobar dicho modelo se seleccionaron cinco variables que representaran la configuración general (largo y ancho) tanto de la cabeza como del ala, utilizando el mismo juego para las tres especies. Cabe mencionar que este análisis se realizó para cada especie y para cada estructura por separado.

Si el grupo de 5 variables no seguía el modelo, se probaron todas las combinaciones posibles de 4 variables a partir del set original. Si ninguna combinación de 4 variables seguía el modelo, no se siguió con el análisis libre de alometría para esa población en particular. Si una o más combinaciones seguían el modelo, se procedió a realizar el ACPC; en el caso de que dos o más combinaciones seguían el modelo, se escogió la que mejor se ajustaba a los componentes principales comunes -CPC-, es decir, aquella con el valor de p más alto. Los CPC resultantes se utilizaron en un análisis discriminante (AD), descartando el primer componente (el cual representa el crecimiento alométrico común de la especie) (Dujardin & Le Pont, 2000). Los resultados del AD se proyectaron en diagramas de dispersión sobre los dos primeros factores discriminantes.

Las 5 variables utilizadas que representaban la configuración general de la cabeza se obtuvieron de la matriz de distancias ya convertidas a logaritmos. Éstas corresponden al largo total de la cabeza, distancia entre los puntos 1-6; largo del ojo, distancia entre puntos 2-4; el ancho total de la cabeza, distancia entre 3-10; largo del clípeo, puntos 6-14; y ancho entre ojo y ojo, distancia entre puntos 12-13. En cuanto a las alas, las variables escogidas fueron, ancho del ala, distancia entre puntos 1-7; largo de la vena radial, puntos 2-3; largo total del ala, entre los puntos 4-8; largo de la vena cubital, distancia entre puntos 4-11; y largo de la vena anal, distancia entre los puntos 5-6.

7.2.3.2 Análisis Libre de Isometría. También se denomina *Análisis de la Conformación* (propuesto por Mossiman en 1970, citado en Dujardin, 2000). Indica que la conformación [C] puede ser definida de la siguiente manera:

$$C = X / T$$

donde X es un conjunto de distancias entre puntos, y T es una variable de tamaño global. Si esta ecuación se transforma en logaritmos obtenemos:

$$\log C = \log (X / T) = \log X - \log T$$

Se obtuvieron variables libres de isometría removiendo a cada variable el promedio de todas las medidas tomadas para cada individuo. Posteriormente se les aplicó a estas variables un análisis de componentes principales (ACP) (Darroch & Mossiman, 1985). Para esta técnica se usaron como variables todas las posibles distancias medidas entre los puntos homólogos (14 puntos para cabezas, y 12 para alas) y transformadas luego a logaritmos. A estas distancias se les restó el promedio individual (TAISO) para obtener las variables libres de tamaño isométrico (Darroch &

Mossiman, 1985), a las cuales se aplicó un análisis de componentes principales (ACP). Los componentes principales resultantes se utilizaron como matriz en un AD. De nuevo, los resultados se proyectaron en diagramas de dispersión.

Se llevó a cabo un test de significancia para determinar qué tan separadas estaban las medias (centroides) de los grupos después del análisis discriminante. Para ello se utilizó el estadístico *Wilks' Lambda*, el cual pone a prueba la hipótesis de que los centroides de los grupos son iguales. Éste presenta valores entre 0 y 1, valores cercanos a cero indican fuertes diferencias entre grupos, mientras que valores grandes, que no hay diferencias. (SPSS, 2006). Otro estadístico que se utilizó fue el índice Kappa, el cual midió la concordancia entre la clasificación original de los insectos propuesta por el investigador, y la reclasificación producida por el ACD (SPSS, 2006). La escala va de 0 a 1, en la cual valores entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 0.41 y 0.60, moderada; entre 0.61 y 0.80, sustancial, y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado en Pinto Soares *et al.*, 1999).

Todos los análisis multivariados se llevaron a cabo con los siguientes paquetes estadísticos:

- NTSYS pc 2.02 (Rohlf, 1998), para ACPC.
- SPSS for Windows 15.0 (SPSS Inc. 2006) para ACP y AD.

8. RESULTADOS

8.1 Análisis Interespecífico

El análisis entre especies se realizó mediante un análisis libre de isometría aplicado a variables tomadas sobre la cabeza y las alas de las meliponas. Los resultados del análisis mostraron la formación de tres grupos distintos; los gráficos obtenidos para las cabezas y las alas se muestran en la figura 7 y 8 respectivamente. En el cuadro 2 se muestran los valores de los estadísticos Wilk's Lambda y Kappa, y el porcentaje de variación de los 2 primeros factores discriminantes, con los que están contruidos los gráficos de dispersión.

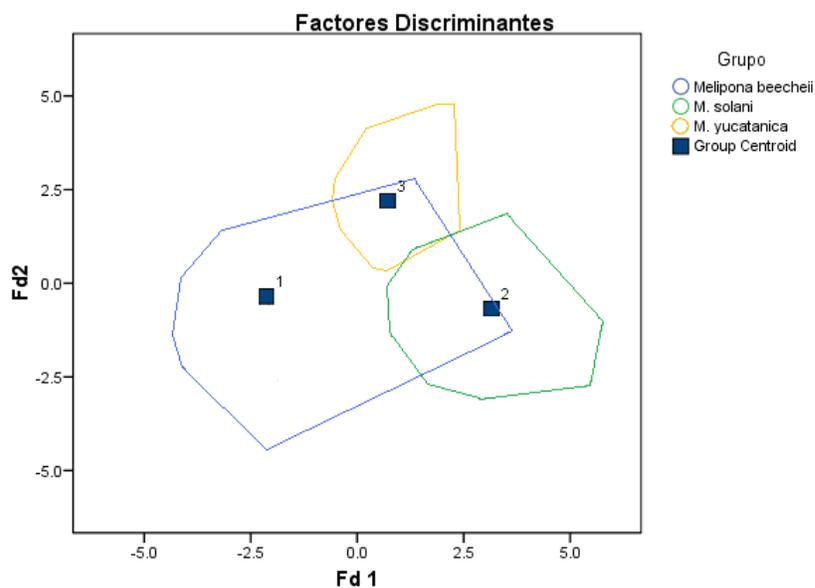


Figura 7. Gráfico de dispersión construido en base a los dos primeros factores discriminantes producidos por un AD sobre 91 distancias medidas sobre las cabezas de las mismas especies *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*.

En los gráficos de dispersión se observa la formación de tres grupos, que representan las tres especies clasificadas como *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*, según la clasificación de Ayala (1999). El estadístico de prueba Wilk's lambda presentó valores cercanos a 0 (0.131, $p < 0.05$, en ambas estructuras), lo cual nos indica que existen diferencias significativas entre dos de los grupos estudiados. Estas diferencias fueron muy notorias a lo largo del primer eje o factor discriminante, el cual explicó el 87.6% de la variación total, en el caso de las alas por ejemplo. El estadístico Kappa presentó valores entre 0.888 (cabeza) y 0.902 (ala) con valores de $p < 0.05$, indicando que la reclasificación generada por el análisis coincide casi perfectamente con la clasificación original.

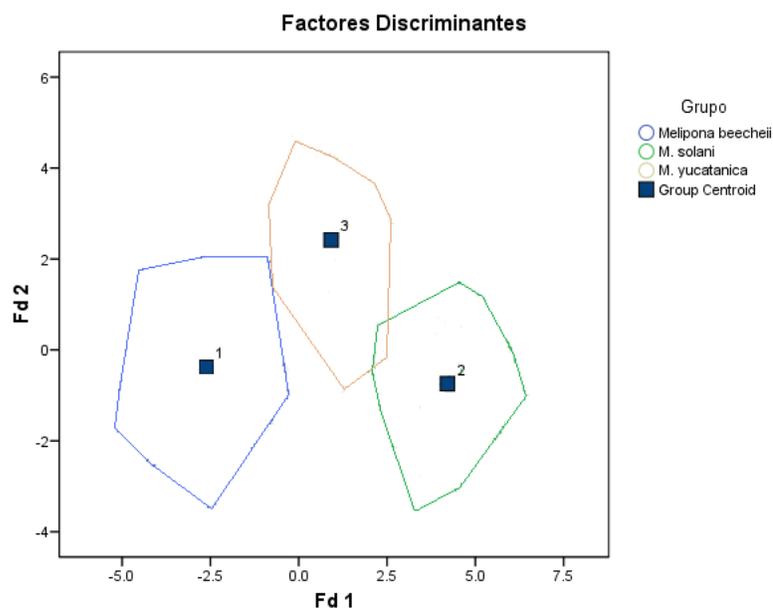


Figura 8. Gráfico de dispersión construido en base a los dos primeros factores discriminantes producidos por un AD sobre 66 distancias medidas sobre las alas de *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*.

Cuadro 2. Análisis Libre de Isometría de cabezas y alas. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante aplicados a nivel interespecífico entre las especies *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*.

	Análisis	% CP	% F1	% F2	Wilk's Lambda	Signif.	Kappa	Signif.
Cabezas	<i>Interespecífico</i>	92.23	89.1	10.9	0.131	0.000	0.888	0.000
Alas	<i>Interespecífico</i>	93.90	87.6	12.4	0.131	0.000	0.902	0.000

Fuente: Datos

Experimentales

8.2 Análisis Intraespecífico

8.2.1 *Melipona beecheii*

8.2.1.1 Análisis Libre de Alometría

Para poder realizar este análisis, se tuvo que probar la compatibilidad de las variables de la cabeza y del ala, con el modelo de componentes principales comunes CPC- ($p \geq 0.05$) [ver apartado de análisis de datos, en métodos]. Este análisis se realizó para cada especie por separado, ya que se utiliza para estudios de variación intraespecífica.

El conjunto de 5 variables seleccionadas que representaban el largo y ancho de la cabeza de los individuos de *M. beecheii*, no siguió el modelo requerido, por lo que se probaron todas las diferentes combinaciones posibles de 4 variables. Sin embargo

ninguno de los sets siguió el modelo de CPC´s. De igual manera, las variables escogidas para el ala de las meliponas, no siguieron el modelo, en ninguno de los casos.

8.2.1.2 Análisis Libre de Isometría

En el análisis libre de isometría se utilizó como grupo externo *M. solani*. Posteriormente este grupo fue excluido para poder visualizar el comportamiento de las poblaciones al interior del grupo. Al igual que en el análisis entre especies, en este caso se utilizaron todas las distancias posibles entre los puntos tomados sobre la cabeza y el ala. La significancia de los análisis se muestra en el cuadro 3, donde se presentan los valores de Wilk´s Lambda, Kappa y porcentajes de variación que representan los factores discriminantes 1 y 2.

Los valores de Wilk´s lambda en este caso son de 0.376 en cabezas, y 0.142 en alas ($p < 0.05$, para ambas estructuras), lo que nos indica que existen diferencias significativas entre dos de las poblaciones. El estadístico Kappa presentó valores entre 0.220 (cabeza) y 0.335 (ala) con valores de $p < 0.05$, indicando que la reclasificación generada por el análisis concuerda de moderada a sustancial con la clasificación original.

Cuadro 3. Análisis Libre de Isometría de poblaciones de *M. beecheii*. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante.

<i>M. beecheii</i>	Análisis	% CP	% F1	% F2	Wilk´s Lambda	Signif.	Kappa	Signif.
Cabezas	<i>Sin grupo externo</i>	77.05	39.3	30.2	0.376	0.000	0.220	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	78.00	63.0	16.2	0.168	0.000	0.264	0.000
Alas	<i>Sin grupo externo</i>	72.03	44.8	28.2	0.142	0.000	0.335	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	73.42	49.5	22.2	0.148	0.000	0.312	0.000

Fuente: Datos Experimentales

8.2.1.2.1 Análisis de Cabezas

En el gráfico de dispersión obtenido para las mediciones de la cabeza no se observa diferenciación entre las poblaciones de *M. beecheii*, formándose un solo grupo de poblaciones. Con el fin de visualizar mejor las relaciones entre los grupos se construyó un dendrograma a partir de los promedios de los factores discriminantes obtenidos en los análisis, utilizando para ello un análisis de agrupamiento jerárquico con base en las distancias euclidianas entre poblaciones (figura 9). En el dendrograma se observa que el grupo externo utilizado se diferencia claramente de las poblaciones de *M. beecheii*.

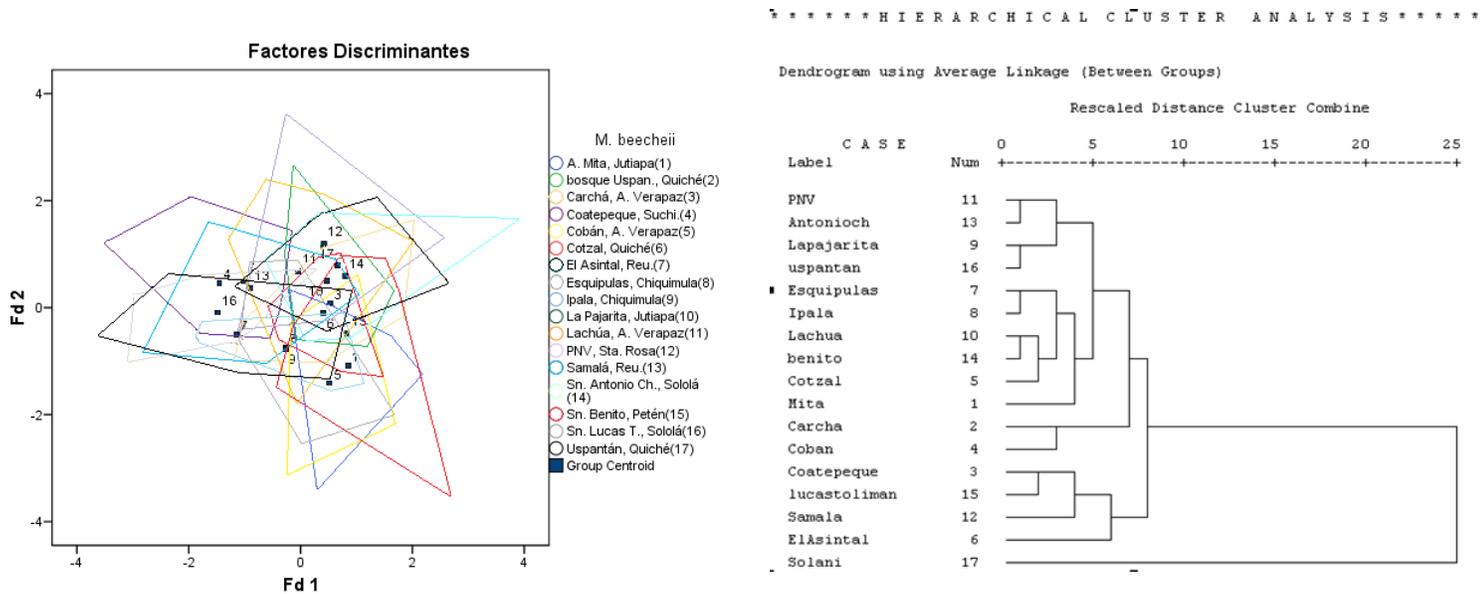
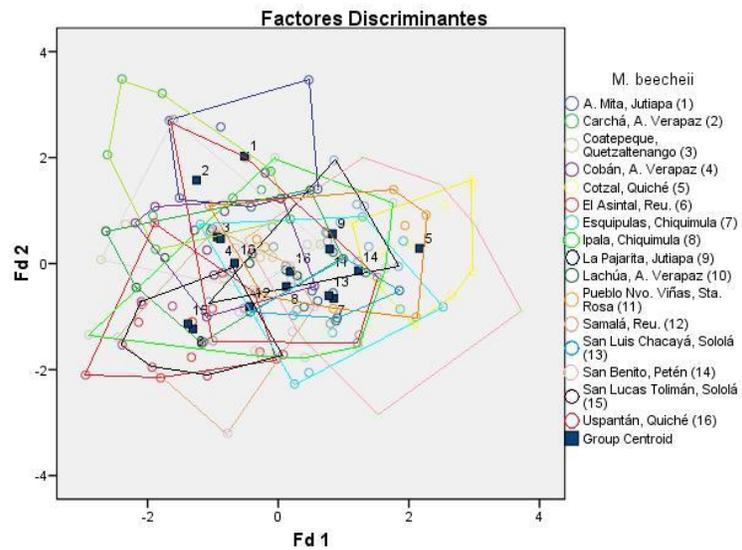


Figura 9. La gráfica es el resultado obtenido al aplicar un AD sobre los 5 componentes principales producidos en un ACP sobre 91 variables medidas sobre la cabeza de especímenes de poblaciones de *M. beecheii*. Dendrograma construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 5 primeros componentes principales en un ACP sobre las mismas variables.

8.2.1.2.2 Análisis de Alas

El análisis libre de isometría de las alas tampoco logró diferenciar las poblaciones de *M. beecheii*, observándose en el gráfico de dispersión la agrupación de todas ellas en un solo grupo, sin la tendencia de alguna a diferenciarse (Figura 10). Como en el caso anterior, se procedió a construir un dendrograma con el fin de visualizar mejor las relaciones entre las poblaciones. Al igual que con las cabezas, *M. solani* claramente se logró diferenciar de *M. beecheii*. Por el contrario, al interior de esta última especie, no se mantiene el mismo patrón de agrupamiento de poblaciones que en el caso del dendrograma de las cabezas.



Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

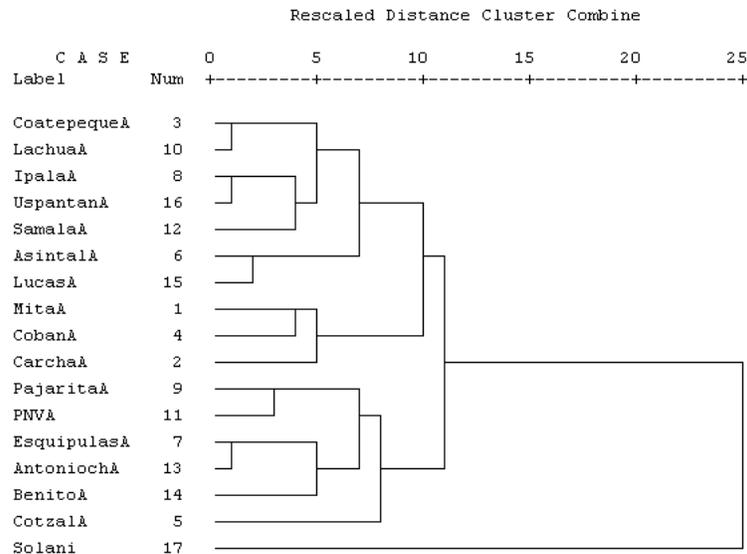


Figura 10. La gráfica muestra el resultado obtenido al aplicar un AD sobre los 5 componentes principales producidos en un ACP sobre 66 mediciones en el ala derecha de especímenes de poblaciones de *M. beecheii*. Dengrograma construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 5 primeros componentes principales en un ACP sobre las mismas mediciones.

8.2.2 *M. solani*

8.2.2.1 Análisis Libre de Alometría

Para esta especie, solamente las medidas de la cabeza y una de las combinaciones de 4 variables siguió el modelo de CPC ($p = 0.171$). El resultado del análisis libre de alometría se muestra en la figura 11. La significancia de los estadísticos se muestra en el cuadro 5, así como los porcentajes de contribución de los factores discriminantes 1 y 2.

Al observar el gráfico de dispersión se observa que no se logra diferenciar claramente ninguna de las poblaciones de la especie. Sin embargo, al considerar el valor de Wilk's lambda, de 0.536, el cual fue significativo ($p < 0.05$), y al construir el dendrograma con los factores discriminantes del AD, se puede ver que la población que sí presenta diferencias es la de Nuevo Progreso, San Marcos. Este resultado apoya las diferencias encontradas en la misma población en el análisis libre de isometría de cabezas y alas [ver apartado siguiente].

Por otro lado, el estadístico Kappa presentó un valor de 0.266, con un $p < 0.05$, indicando una concordancia regular entre la reclasificación generada por el análisis y la clasificación original.

8.2.2.2 Análisis Libre de Isometría

Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 12 y 13. El cuadro 4 muestra para ambas estructuras el valor de los estadísticos Wilk's Lambda y Kappa, así como el porcentaje de variación que representan los 2 primeros factores discriminantes utilizados para los gráficos. Se utilizó como grupo externo una población de *M. beecheii*, aunque este resultado no se muestra ya que solamente se realizó para probar que el análisis sí lograba separar a las dos especies [anexos].

Los valores de Wilk's lambda fueron cercanos a 0, con un $p < 0.05$, lo cual indica que existen diferencias significativas entre dos de los grupos estudiados. Estas diferencias fueron evidentes a lo largo del primer eje o factor discriminante, con valores por encima del 75% cuando se incluyó el grupo externo, sin embargo, al excluir este grupo, los valores siguieron indicando que al menos dos grupos se diferencian. El estadístico Kappa presentó valores entre 0.416 [cabeza] y 0.641 [ala] con valores de $p < 0.05$, indicando que la reclasificación generada por el análisis concuerda de una manera moderada a sustancial con la clasificación original.

Cuadro 4. Análisis Libre de Isometría de poblaciones de *M. solani*. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante.

<i>M. solani</i>	Análisis	% CP	% F1	% F2	Wilk's Lambda	Signif.	Kappa	Signif.
Cabezas	<i>Sin grupo externo</i>	75.51	53.2	23.4	0.192	0.000	0.416	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	81.99	85.9	6.6	0.060	0.000	0.584	0.000
Alas	<i>Sin grupo externo</i>	74.10	57.6	26.6	0.150	0.000	0.469	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	72.72	77.9	10.5	0.054	0.000	0.641	0.000

8.2.2.2.1 Análisis de Cabezas

En el análisis libre de isometría para las cabezas, se observa la tendencia de las poblaciones de Nuevo Progreso, San Marcos, y Poptún, Petén, a diferenciarse de las restantes en el primer componente (figura 12). Un resultado importante es que las poblaciones de Petén, a pesar de estar cerca geográficamente, a nivel morfométrico no están tan relacionadas.

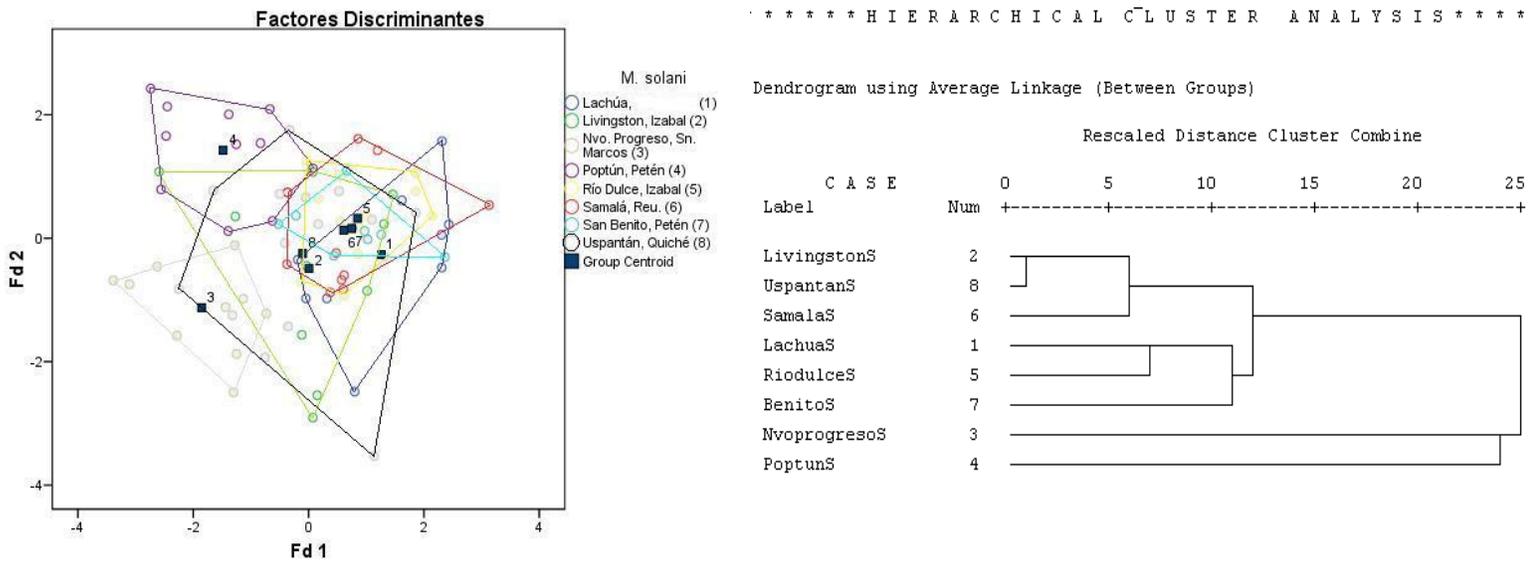


Figura 12. La gráfica es el resultado obtenido al aplicar un AD sobre los 5 componentes principales producidos en un ACP sobre 91 variables medidas sobre la cabeza de especímenes de poblaciones de *M. solani*. Dendrograma construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 5 primeros componentes principales en un ACP sobre las mismas variables.

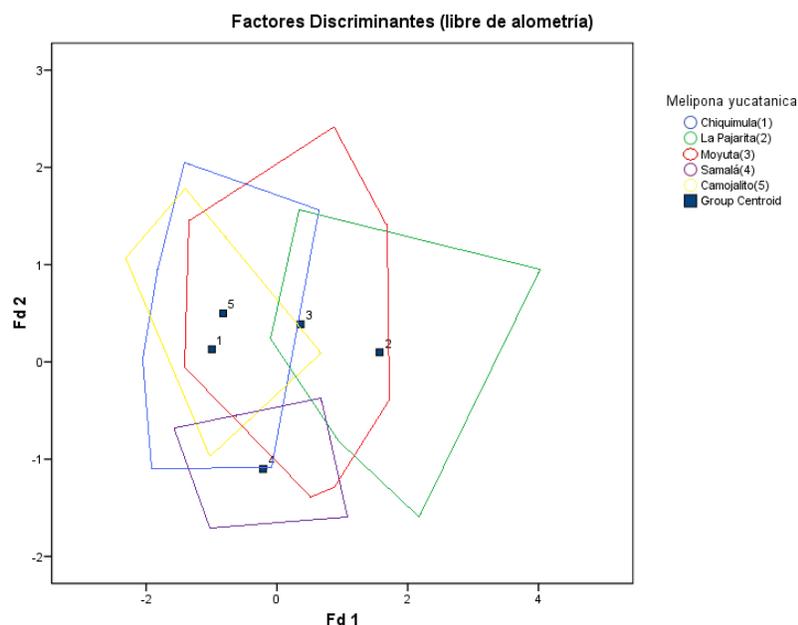
8.2.3 *M. yucatanica*

8.2.3.1 Análisis Libre de Alometría

En este caso para el juego de cinco variables, los caracteres medidos sobre el ala siguieron el modelo ($p=0.307$). Se realizó un AD a los componentes principales comunes descartando el primero. La gráfica de dispersión resultante se muestra en la figura 14, y los valores de los estadísticos, en el cuadro 5.

Aunque en el gráfico de dispersión no se logra observar una diferenciación evidente, existe la tendencia de los centroides de las poblaciones del departamento de Jutiapa (Moyuta y La Pajarita), a separarse del resto. En el dendrograma este resultado se ve más claro, mostrando que las dos poblaciones jutiapanecas son las menos relacionadas tanto entre sí, como con las demás poblaciones.

Además el valor cercano a 0 de Wilk's lambda ($p<0.05$) nos está afirmando que existen diferencias significativas entre dos grupos. Otro resultado interesante es la separación de la población de Samalá, la cual se observa en el dendrograma, y también, aunque más evidente a lo largo del segundo factor discriminante (que representa solamente el 27.3% de la variación), en el gráfico de dispersión. El valor de Kappa en este caso fue de 0.439 ($p<0.05$), indicando una concordancia moderada entre las dos clasificaciones.



* * * * * H I E R A R C H I C A L C L U S T E R A N A L Y S I S * * * * *

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

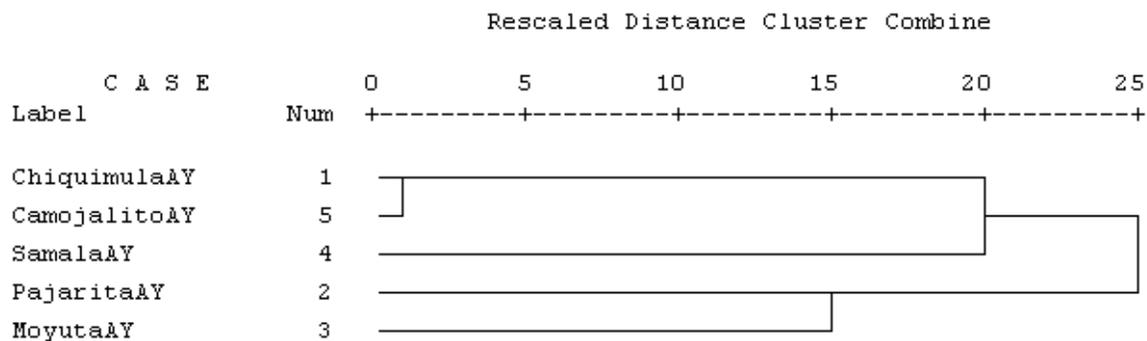


Figura 14. La gráfica muestra el resultado obtenido al aplicar un AD sobre los 4 componentes principales comunes sobre 5 mediciones en las alas de especímenes de poblaciones de *M. yucatanica*. El dendrograma está construido en base a las distancias euclidianas obtenidas en un cluster jerárquico a partir de los factores discriminantes obtenidos en el AD.

Cuadro 5. Análisis Libre de Alometría de poblaciones de *M. solani* y *M. yucatanica*. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales Comunes y Análisis Discriminante

	Análisis	% F1	% F2	Wilk's Lambda	Signif.	Kappa	Signif.
Cabeza	<i>M. solani</i> L1L6, L2L4, L3L10 L12L13	66.3	30.0	0.536	0.000	0.266	0.000
Ala	<i>M. yucatanica</i> L1L7, L2L3, L4L8 L4L11, L5L6	70.3	27.3	0.361	0.000	0.439	0.000

Fuente: Datos

Experimentales

8.2.3.2 Análisis Libre de Isometría

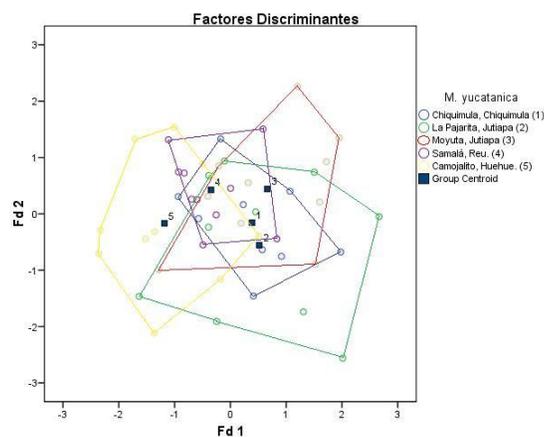
Los resultados obtenidos de los análisis para las cabezas y las alas se muestran en las figuras 15 y 16 respectivamente. La significancia de los análisis se muestra en el cuadro número 6. En este caso se usó como grupo externo una población de *M. beecheii*, el cual sí pudo ser diferenciado por el análisis [anexos]. Este resultado no se muestra.

8.2.3.2.1 Análisis de Cabezas

Los resultados de las cabezas, nos muestran que existe una variabilidad intraespecífica significativa (Wilks lambda 0.375 y $p < 0.05$). En la gráfica de dispersión se observa la separación de la población de La Pajarita, Jutiapa de las demás poblaciones (figura 15). Otro resultado interesante fue la tendencia del centroide de la población de Moyuta, Jutiapa, a separarse del resto.

8.2.3.2.2 Análisis de Alas

Mientras que el análisis efectuado al conjunto de variables del ala mostró la tendencia del centroide de la población de Camojalito, Huehuetenango, a separarse del resto de centroides, como se observa en el gráfico de dispersión (figura 16). El dendrograma muestra de nuevo la diferenciación de La Pajarita y Moyuta. Sin embargo esta diferencia no fue significativa ($p > 0.05$), lo que evidencia que el conjunto de variables del ala no logró diferenciar a las poblaciones de *M. yucatanica*.



* * * * * H I E R A R C H I C A L C L U S T E R A N A L Y S I S * * * * *

Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

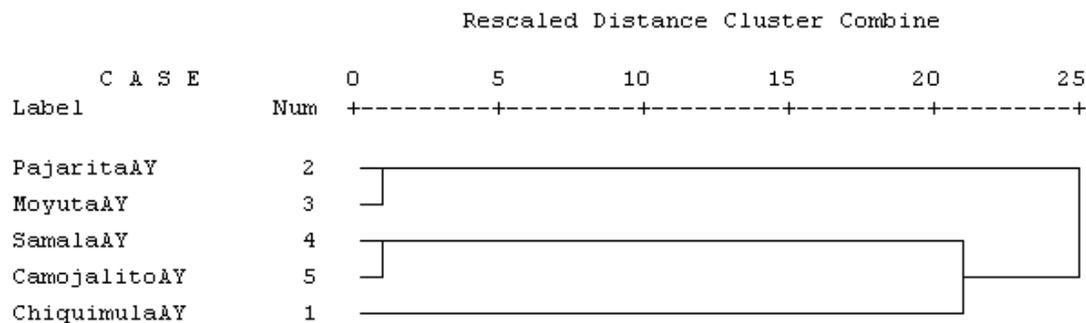


Figura 16. La gráfica es el resultado obtenido al aplicar un AD sobre los 5 componentes principales producidos en un ACP sobre 66 variables medidas sobre el ala derecha de especímenes de poblaciones de *M. yucatanica*. Dendrograma construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 5 primeros componentes principales en un ACP sobre las mismas variables.

Cuadro 6. Análisis Libre de Isometría de poblaciones de *M. yucatanica*. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante.

<i>M. yucatanica</i>	Análisis	% CP	% F1	% F2	Wilk's Lambda	Signif.	Kappa	Signif.
Cabezas	<i>Sin grupo externo</i>	85.06	67.8	23.5	0.375	0.001	0.449	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	82.21	63.2	27.3	0.118	0.000	0.761	0.000
Alas	<i>Sin grupo externo</i>	74.20	64.8	20.2	0.495	0.066	0.362	0.000
	<i>Con grupo externo</i>	72.04	71.7	20.2	0.224	0.000	0.315	0.000

Fuente: Datos Experimentales

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Las Meliponas de Guatemala

Son pocos los trabajos enfocados a la taxonomía del género *Melipona* de nuestro país. Ayala y colaboradores (1999) han analizado algunas muestras de Guatemala para tratar de clasificarlas, pero las muestras no han sido representativas de todo el territorio guatemalteco. Este autor ha reportado tres posibles especies del género *Melipona* para Guatemala, clasificadas como *M. beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica* (Ayala, 1999). Sin embargo, algunos estudios realizados en LENAP, han mostrado la existencia de variación morfológica en cada una de las especies (Licda. Gabriela Armas, comunicación personal). Esta característica más los escasos trabajos de colecta e investigación, ha complicado su determinación. Es necesario estudiar toda la variación morfológica que sufren estas especies a lo largo de toda su distribución para establecer los límites entre una y otra.

Estos análisis contribuirán a establecer si las variaciones morfológicas en el país se deben únicamente a variaciones en el ambiente o si realmente pueden ser otras especies aún no reportadas para el país o incluso no descritas. Estudios como el presente son necesarios para establecer con certeza un manejo adecuado en la meliponicultura con estas especies.

9.2 El Análisis Morfométrico de las Meliponas

Los estudiosos de la biometría han reconocido que los insectos son buenos elementos para el estudio de la variación métrica. El exoesqueleto está libre de distorsiones físicas que sufren los cuerpos blandos de otros animales. Además, la morfometría como técnica ha sido considerada como una herramienta poderosa

cuando es utilizada en el contexto de la exploración del conocimiento biológico (Daly, 1985). Estudios han demostrado que especies de insectos pueden ser discriminadas solamente en base a la morfología de las alas, debido a que ésta está correlacionada a la variabilidad genética (Brückner, 1976; Parchem *et al.*, 2007; Bueno *et al.*, 2009; Gerula *et al.*, 2009). También se han utilizado cabezas y patas para análisis morfométricos, los cuales han sido útiles en estudios con abejas (Crewe *et al.*, 1994; Ftayeh *et al.*, 1994; Meixner *et al.*, 1994; Sheppard *et al.*, 1997; Biesmeijer *et al.*, 1999; Carrillo *et al.*, 2001; Hepburn and Radloff, 2004; Sung *et al.*, 2004; Quezada-Euán *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; Francoy *et al.*, 2009).

De acuerdo con Ruttner (1988), los análisis morfométricos pueden ser utilizados para detectar variación intraespecífica o geográfica en poblaciones de abejas, ya que una característica peculiar en este grupo de insectos es que sus estructuras anatómicas presentan variabilidad en función de la adaptación a las condiciones ambientales locales. Se ha demostrado que los caracteres morfológicos de las abejas poseen una alta heredabilidad, especialmente aquellos caracteres relacionados con el tamaño de los insectos (Ruttner, 1988; Diniz-Filho y Bini, 1994). Esto demuestra que tales caracteres morfológicos poseen un alto componente genético, lo que los hace útiles para evaluar estructuras poblacionales y ser buenos indicadores de los procesos evolutivos que podrían estar actuando sobre las poblaciones de abejas (Crewe *et al.*, 1994; Ftayeh *et al.*, 1994; Meixner *et al.*, 1994; Sheppard *et al.*, 1997; Nunes *et al.*, 2008).

La variabilidad morfológica de los meliponinos ha sido investigada mediante análisis morfométrico tradicional, herramienta que ha sido muy útil para estudiar la

variación geográfica y la diferenciación interespecífica entre el género *Melipona* y especies cercanas (Biesmeijer *et al.*, 1999; Carrillo *et al.*, 2001; Koedam *et al.*, 2001; Sung *et al.*, 2004; Quezada-Euán *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; May-Itzá *et al.*, 2009; Viana *et al.*, 2009). Generalmente se han utilizado caracteres de la cabeza y del ala, así como del cuerpo, para analizar las poblaciones y para estudiar la estructuración genética de estas abejas (Biesmeijer *et al.*, 1999; Carrillo *et al.*, 2001; Sung *et al.*, 2004; Quezada-Euán *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2008; Viana *et al.*, 2009).

9.3 Análisis Interespecífico

Los resultados de morfometría tradicional obtenidos en el presente estudio, respaldan el potencial de esta técnica para diferenciar a nivel interespecífico a las especies del género *Melipona* de Guatemala. Al aplicar los procedimientos para la corrección de tamaño se logró separar cada una de las especies catalogadas según la clasificación taxonómica de Ayala (1999) (Licda. Gabriela Armas, comunicación personal). Los resultados muestran que se está tratando con tres grupos con variación significativa en caracteres métricos del ala y de la cabeza, apoyando la clasificación original de los grupos como *Melipona beechei*, *M. solani* y *M. yucatanica*. Estos resultados revelarían una buena correlación entre las relaciones morfométricas y filogenéticas dentro del género *Melipona* (Brückner, 1976), así como también indicarían que las variables utilizadas en este estudio tienen potencial para analizar su variación intraespecífica.

Los caracteres del ala mostraron ser los mejores para diferenciar las tres especies estudiadas (figura 8), resultado que concuerda con otros trabajos de investigación en los cuales han logrado separar géneros de meliponinos y de otros

grupos de abejas utilizando esta estructura (Da Silva *et al.*, 2007; Francoy *et al.*, 2009). Se sabe que la capacidad de vuelo de una especie en particular está directamente relacionada al tamaño corporal de la abeja, especialmente al tamaño de las alas, las cuales a su vez pueden sufrir adaptaciones de acuerdo a la geografía o condiciones ambientales locales, en función de la distancia recorrida en búsqueda de alimento (Ruttner, 1988; Araújo *et al.*, 2004). Los datos obtenidos del análisis interespecífico demostraron que especies del mismo género pudieron ser diferenciadas morfométricamente, diferencias que podrían deberse a la habilidad de vuelo o bien al tamaño intrínseco de cada especie (Da Silva *et al.*, 2007).

9.4 Análisis Intraespecífico

En cuanto a los resultados intraespecíficos obtenidos en este trabajo, se logró evidenciar la separación de algunas poblaciones provenientes de algunos departamentos, dependiendo de la especie en cuestión.

En términos generales, en el análisis de cada especie, las poblaciones estudiadas muestran un gran porcentaje de semejanza morfológica, indicio de la existencia de cierto flujo génico entre colmenas cercanas y movimiento de colonias. Sin embargo, las diferencias encontradas en algunas poblaciones sugieren que han adquirido adaptaciones particulares al ambiente, es decir, existen cierta variación geográfica de las poblaciones, tal como sucede con las poblaciones de Jutiapa y San Marcos, pero que aún no han creado barreras biológicas y ecológicas suficientemente importantes para separar unas de otras. Se necesitan más evidencias de tipo genético, conductuales, taxonómicas y ecológicas para determinar si estamos hablando de poblaciones de una

sola especie, o de distintas especies. Estas diferencias métricas poblacionales dentro de cada especie se describen a continuación.

9.4.1 Análisis Libre de Isometría

Este análisis se llevó a cabo con y sin grupos externos. Se utilizan grupos externos con la finalidad de reducir el espacio morfométrico, con el propósito de que la variación intraespecie disminuyera en comparación con la variación entre especies. Con ello solamente se desea probar que el análisis es capaz de separar el grupo analizado de un grupo externo (Dujardin, 2000). Se trabajó con grupos que fueran diferentes de la especie analizada, pero que tales diferencias no fueran tan grandes, como es el caso entre especies hermanas.

A nivel intraespecífico, en el caso de *M. beecheii*, no se observó diferenciación en las poblaciones, tanto con los caracteres de la cabeza como del ala, observándose un solo grupo homogéneo. Es evidente en los resultados que las poblaciones de esta especie no se agrupan de acuerdo a algún patrón altitudinal o de la procedencia geográfica, es decir, no se observó un patrón consistente en el que las poblaciones se parecían más por estar ubicadas en una misma región geográfica. Esta característica también se obtuvo en las otras dos especies. La falta de estructuración poblacional en *M. beecheii* puede ser explicada por el hecho de que esta es la melipona que más ampliamente ha sido criada, manipulada y trasladada de un departamento a otro por parte de meliponicultores, desde la época de los mayas hasta nuestros días (Enríquez *et al.*, 2005; Enríquez y Maldonado, 2008).

Este resultado no apoya lo obtenido con marcadores moleculares por De La Rúa *et al.* (2007) y May-Itzá *et al.* (2009), quienes lograron diferenciar tres grupos genéticos de *M. beecheii* en Guatemala, basados en patrones de restricción (RFLP's) de los marcadores ribosomales llamados espaciadores transcritos internos 1 y 2 (ITS-1 y 2, por sus siglas en inglés): un grupo A proveniente de Petén, un grupo B de San Marcos y, un grupo C, correspondiente al resto de poblaciones del país. Sin embargo, la utilización de otra estructura, como por ejemplo el tórax o patas, podría evidenciar este u otros patrones de divergencia morfológica en algunas poblaciones de esta especie que no pudieron observarse con caracteres de la cabeza y del ala. Otra técnica que podría ser útil es la Morfometría Geométrica, ya que se ha reportado que dicha técnica puede discriminar mejor subpoblaciones de una especie (Tofilski, 2008). El llevar a cabo otros análisis utilizando un rango geográfico menor que el del presente estudio, también podrían ayudar a encontrar diferencias entre poblaciones geográficas o provenientes de distintos hábitats.

Los análisis morfométricos demostraron la existencia de cierto grado de diferenciación métrica dentro de *M. solani*, mostrando la tendencia de dos poblaciones a separarse del resto; sin embargo, no se mantuvo el mismo patrón de resultados al analizar la cabeza y el ala, ya que diferentes poblaciones se separan para cada estructura; solamente la población de Nuevo Progreso, San Marcos, se logra diferenciar con ambas estructuras. Esta situación podría deberse a que cada estructura está sometida a distintas presiones de selección.

Las comparaciones multivariadas de los caracteres métricos de este estudio revelaron que poblaciones que se encuentran aisladas geográficamente presentan

similitudes en las conformaciones de alas y cabezas, influenciadas por el modo de crecer de los individuos (como es el caso de Samalá, de Retalhuleu, que se agrupa generalmente con las poblaciones de Petén, en el caso de *M. solani*). Este patrón podría ser explicado por el transporte de colonias por parte de los meliponicultores, práctica común en nuestro país relacionada con el fenómeno de la migración humana, y que también fue realizado por la civilización maya (May-Itzá *et al.*, 2009). Por otro lado, no se puede descartar el flujo génico natural entre poblaciones cercanas, lo que explicaría la imposibilidad de diferenciar aquellas poblaciones del mismo departamento, como sucede con las colmenas provenientes de Livingston y Río Dulce, ambas en Izabal (separadas por 10 km).

Es importante mencionar que el rango de vuelo de las meliponas generalmente varía entre los 600 y poco más de 2000 metros (Roubik and Aluja, 1983; Biesmeijer, 1997), un rango de vuelo pobre, si consideramos las distancias recorridas por un individuo de *Apis mellifera*, aproximadamente 13.5 km, o un individuo de una abeja euglosina, *Euplusia surinamensis*, que puede recorrer hasta 23 km (Janzen, 1971; Michener, 1974). Además, una hembra reproductiva no migra muy lejos, dispersándose solamente algunos cientos de metros de la colonia de la madre (Engels e Imperatriz-Fonseca, 1990). Debido a estas características, la dispersión natural de las meliponas a grandes escalas, y por ende el flujo génico natural a ese nivel, deben ser fenómenos muy difíciles de realizarse, por lo que no podría explicar las similitudes encontradas entre poblaciones aisladas por cientos de kilómetros (Samalá-San Benito, aprox. 680 km). La utilización de otros caracteres y de herramientas moleculares ayudaría a esclarecer el panorama de esta variabilidad morfológica dentro de *M. solani*.

Resulta interesante que en *M. solani* se presente el patrón de diferenciación de una población de San Marcos, tal como sucede con *M. beecheii* (aunque hay que aclarar que no son de la misma localidad) en los dos estudios mencionados anteriormente. El primero, en el que se analizaron poblaciones de *M. beecheii* provenientes de México, Guatemala, El Salvador y Costa Rica, mediante análisis PCR-RFLP del marcador ribosomal ITS-2 (De la Rúa *et al.*, 2007); y el segundo realizado por Mayltzá y colaboradores (2009), quienes analizaron las mismas poblaciones de los mismos países, solo que esta vez utilizando el marcador ribosomal ITS-1. En ambos estudios se encontró que una de las poblaciones de Guatemala, proveniente de San Marcos, presentó un patrón de restricción único y distinto al de todas las demás poblaciones, tanto de Guatemala como de México y Centroamérica, variación que según los autores, sugiere la existencia de un fenómeno de especiación parapátrica entre poblaciones de la costa del Pacífico cercanas al departamento de San Marcos, pero sin descartar la posibilidad de que la variación encontrada represente ecotipos adaptados a las condiciones ambientales locales (De la Rúa *et al.*, 2007).

La diferenciación métrica de la población de *M. solani* de San Marcos podría deberse al efecto de la deriva génica. Algunos autores han sugerido que en la tribu Meliponini, este fenómeno natural es un factor extremadamente importante en el aislamiento de pequeñas poblaciones locales, y que especies del género *Melipona* son más susceptibles a los efectos de la deriva génica debido a la homocigocidad del locus Xo relacionado con la determinación del sexo (Araújo *et al.*, 2004). Si tomamos en cuenta que las poblaciones de *M. solani* provenientes de este departamento se caracterizan porque son colmenas que se encuentran bastante aisladas de otras de la misma especie que se encuentran en otros departamentos (Licda. Armas, comunicación

personal)], la deriva génica podría ser la explicación más plausible que explique su diferenciación. Sin embargo es necesario probar esta hipótesis con estudios genéticos con algún marcador molecular neutral, es decir, un marcador que no esté bajo fuerzas de selección.

En este trabajo no se contó con especímenes de *M. beecheii* proveniente de San Marcos, departamento clave en los estudios mencionados arriba. Es necesaria la colecta de especímenes en esa zona, para poder determinar si las técnicas morfométricas apoyan los resultados obtenidos con los análisis efectuados con los marcadores moleculares mencionados, lo cual a su vez apoyaría el resultado obtenido en este estudio con las poblaciones de *M. solani* de San Marcos.

En el caso de *M. yucatanica* se encontró una baja diferenciación métrica entre las poblaciones estudiadas. Las poblaciones del departamento de Jutiapa tendieron a separarse de las demás poblaciones, diferencia más clara en las abejas provenientes de la localidad de La Pajarita. Esta población casi no se traslapa con la otra población de Jutiapa, Moyuta, separadas por aproximadamente 53 kms. Estas diferencias en la conformación de la cabeza de las poblaciones jutiapanecas podrían ser consecuencia de cambios alométricos que han modificado las proporciones de esta estructura entre individuos pequeños y grandes de la misma especie, pero la remoción del tamaño isométrico no nos informa sobre este aspecto [Dujardin, 2000].

9.4.2 Análisis Libre de Alometría

Para poder realizar este tipo de análisis fue necesario probar que el conjunto de variables seleccionadas siguiera un modelo de crecimiento común, ya que se espera que individuos de la misma especie presenten una misma forma de crecer (Dujardin, 2000). En los casos en los que las poblaciones analizadas de la misma especie no siguen el modelo, se puede suponer cambios evolutivos o adaptativos; es decir, si se encontraron diferencias a nivel de forma, entonces toda la variación métrica observada no puede ser explicada solamente por el crecimiento (Dujardin, 2000). Sin embargo, hay que tomar en cuenta que es posible encontrar diferentes maneras de crecer en poblaciones ecológicas y geográficas de la misma especie (llamadas alometrías divergentes), aunque no se sabe con qué frecuencia y hasta qué niveles (Jaramillo y Dujardin, 2002).

En este tipo de análisis se excluyeron los grupos externos, por ser un tipo de exploración de la variación intraespecífica. Para las tres especies analizadas, únicamente las poblaciones de *M. yucatanica* siguieron el modelo de crecimiento común con el conjunto de 5 variables del ala seleccionadas inicialmente. En cuanto a *M. solani*, solamente una de las combinaciones de 4 variables de la cabeza siguió el modelo; y en el caso de *M. beecheii*, ninguno de los juegos de variables siguió el modelo.

Los resultados obtenidos indican un menor grado de diferenciación que el logrado con el análisis libre de isometría, es decir, no se observa una clara diferenciación de alguna población o de un grupo de poblaciones, en *M. solani* y *M. yucatanica*. La primera de ellas mostró formas muy similares de la cabeza, mientras que la segunda especie presentó formas de las alas similares. Sin embargo hay que

mencionar que los estadísticos de las pruebas sí fueron significativos, indicando que dos de las medias poblacionales son diferentes.

En el caso de *M. solani*, los resultados apoyan las hipótesis de que se mantiene un cierto flujo génico entre ellas, en el caso de las poblaciones cercanas geográficamente, o de un movimiento de colonias por parte de los meliponicultores, en el caso de poblaciones muy apartadas. Ambos fenómenos provocarían que las poblaciones permanezcan homogéneas. Sin embargo, los estadísticos indicaron que dos de las poblaciones se diferencian. El dendrograma permitió observar que la población que más se diferenció fue la de Nuevo Progreso, San Marcos, la cual también se diferenció en el análisis libre de isometría. El valor de Wilk's lambda de 0.53 podría estar indicando que esta última población estaría experimentando cambios adaptativos o evolutivos (Jaramillo y Dujardin, 2002). Como ya se mencionó anteriormente, la deriva génica podría estar jugando un papel importante en la diferenciación de dicha población (Araújo *et al.*, 2004). Recordemos que poblaciones de *M. beecheii* provenientes del mismo departamento han presentado haplotipos únicos con los marcadores ribosomales ITS-1 y 2 (De la Rúa *et al.*, 2007; May-Itzá *et al.*, 2009). Otro resultado relevante es el hecho de que en este tipo de análisis, los polígonos de las poblaciones de Poptún y San Benito sí se traslapan (figura 11). Este resultado nos indicaría que existe cierto tipo de flujo génico entre dichas poblaciones, más probablemente del tipo movimiento de colonias por parte de humanos (May-Itzá *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos con las poblaciones de *M. yucatanica* son similares a los de los análisis libres de isometría. Las meliponas de La Pajarita y Moyuta, ambas provenientes de Jutiapa, forman un grupo que se diferencia de las demás poblaciones. El

análisis de agrupamiento realizado muestra de nuevo la tendencia de la población de La Pajarita a separarse del resto, al igual que en el análisis aplicado a las cabezas de los mismos individuos. En este caso, las diferencias en la forma de las alas presentadas por las poblaciones jutiapanecas, más que cambios alométricos en las proporciones entre individuos de distintos tamaños de la misma especie, estarían evidenciando algún cambio adaptativo a su medio ambiente particular. Solo el crecimiento por sí solo no explicaría esta variación, se deben considerar causas genéticas a la misma (Dujardin, 2000). Un estudio molecular podría evidenciar esto último, y de ser así, conjuntamente con el análisis morfométrico podrían considerarse fuertes evidencias de que dichas poblaciones estarían sufriendo un cambio evolutivo importante hasta el punto de reconsiderar su estatus taxonómico a una nueva subespecie o, inclusive, especie.

Los resultados también muestran que la población de Samalá, Retalhuleu, tiende a separarse. Sin embargo, esta diferenciación no se obtuvo con el análisis libre de isometría de *M. yucatanica*. Lo que sí prevalece entre los dos análisis es la semejanza presente en los caracteres métricos entre la población de Samalá y las de Camojalito y Chiquimula. La evidencia sugiere que éste es un caso de diferenciación alométrica entre individuos de la misma especie, pero con distintas dimensiones.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Los resultados de los análisis interespecíficos claramente demuestran que las colmenas analizadas, provenientes de varios departamentos del país, corresponden a tres poblaciones de meliponas con variación significativa en caracteres métricos del ala y de la cabeza.
- 10.2 Las técnicas de morfometría tradicional respaldan la clasificación previa de las poblaciones en tres especies, *Melipona beecheii*, *M. solani* y *M. yucatanica*, según la clasificación taxonómica de Ayala (1999).
- 10.3 Los caracteres métricos del ala resultaron ser mejores para diferenciar los tres grupos, lo que concuerda con la teoría que afirma que el ala es una herramienta muy útil en estudios morfométricos de abejas.
- 10.4 A nivel intraespecífico, el análisis libre de isometría, no logró diferenciar las poblaciones de la especie *M. beecheii*, ni con caracteres de las cabezas ni con los de las alas.
- 10.5 Con respecto a *M. solani*, el análisis libre de isometría de los caracteres tanto de la cabeza como de el ala, mostró la tendencia de la población de Nuevo Progreso, San Marcos, a separarse del resto de poblaciones, lo que demuestra que existen diferencias significativas en las conformaciones de la cabeza y del ala de los meliponinos de dicho departamento.

-
- 10.6 En el caso de las poblaciones de *M. yucatanica*, el análisis libre de isometría evidenció que las poblaciones provenientes de Jutiapa, La Pajarita y Moyuta, presentan una conformación levemente diferente a las abejas de los demás departamentos.
- 10.7 Al interior de cada especie, las poblaciones estudiadas muestran un gran porcentaje de semejanza morfológica, indicio de la existencia de cierto flujo génico entre colmenas cercanas y movimiento de colonias por parte de meliponicultores.
- 10.8 Las diferencias encontradas en algunas poblaciones demuestran que estas han adquirido adaptaciones particulares al ambiente, es decir, existen cierta variación geográfica de las poblaciones, tal como sucede con las poblaciones de Jutiapa y San Marcos, pero que aún no han creado barreras biológicas y ecológicas suficientemente importantes para separar unas de otras.
- 10.9 En cuanto al análisis libre de alometría, para *M. solani*, la población de Nuevo Progreso, San Marcos, sale significativamente diferente al resto de poblaciones. En el caso de *M. yucatanica*, este tipo de análisis arrojó resultados similares a los del libre de isometría: la diferenciación significativa de las poblaciones del departamento de Jutiapa.

10.10 A nivel intraespecífico se necesitan más evidencias de tipo genético, conductuales, taxonómicas y ecológicas para determinar si estamos hablando de poblaciones de una sola especie, o de distintas especies.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Utilizar otras estructuras corporales de las abejas distintas a las utilizadas en este estudio, como por ejemplo el tórax o las patas.
- 11.2 Realizar más colectas para completar los tamaños de muestras de algunos departamentos, para que éstos sean más representativos.
- 11.3 Se recomienda complementar el análisis morfométrico llevado a cabo en este estudio con técnicas moleculares y sistemáticas, las cuales permitirían profundizar sobre el estatus taxonómico y biología de las especies en cuestión.
- 11.4 Se recomienda realizar estudios en los cuales se aplique técnicas de Morfometría Geométrica, para discriminar subpoblaciones de cada especie de abeja sin aguijón. Para lograr esto, se necesitaría un mayor esfuerzo de colecta ya que dicha técnica requiere de un mayor tamaño de muestra para poder aplicar los análisis correspondientes.

12.REFERENCIAS

- Araújo, ED, Costa, M, Chaud-Netto, J and Fowler, HG. 2004. *Body Size and Flight Distance in Stingless Bees (Hymenoptera: Meliponini): Inference of Flight Range and Possible Ecological Implications*. Braz. J. Biol. 64(3B): 563-568.
- Ayala, R, Griswold, TL y Bullock, SH. 1992. *Las abejas nativas de México*. En: Ramamoorthy, TP, Bye, R, Lot, AF, editores. Biological Diversity of Mexican Origin and Distribution. pp: 179-227.
- Ayala, R. 1999. Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera; Apidae; Meliponini). Folia Entomológica. México. 106: 1-123.
- Biesmeijer, JC. 1997. *Abejas sin aguijón: su biología y la organización de la colmena*. Elinkwijk BV, Utrecht. Holanda.
- Biesmeijer, JC, Richter, JAP, Smeets MA y Sommeijer, MJ. 1999. *Niche differentiation in nectar-collecting stingless bees: the influence of morphology, floral choice and interference competition*. Ecological Entomology. 24: 380-388.
- Bookstein, F. 1982. *Foundations of Morphometrics*. Ann.Rev. Ecol. Syst. 13:451-470.
- Brown, JC y Albrecht, C. 2001. *The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus Melipona (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil*. Journal of Biogeography, 28: 623-634.
- Brückner, D. 1976. The Influence of Genetic Variability on Wing Symmetry in Honeybees (*Apis mellifera*). Evolution, v30, n1: 100-108.
- Bueno, JF, Francoy, TM, Imperatriz-Fonseca, VL and Saraiva, AM. 2009. *Modeling and automated system to identify and classify stingless bees using the wing morphometry: a pattern recognition approach*. European Federation for Organised Information Technology in Agriculture –EFITA-, EFITA Conference.
- Carrillo, A, Quezada-Euán, JJG y Moo-Valle, H. 2001. *Estudio preliminar sobre la variabilidad morfológica de Melipona beecheii (Apidae: Meliponini) en su rango de distribución de México, América Central y El Caribe*. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Aguijón. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Chaiyawong, T, Deowanish, S, Wongsiri, S, Sylvester, HA, Rinderer, TE y De Guzman, L. 2004. *Multivariate morphometric study of Apis florae in Thailand*. Journal of Apicultural Research, 43(3): 123-127.

-
- Cortopassi-Laurino, M, Imperatriz-Fonseca, VL, Roubik, DW, Dollin, A, Heard, T, Aguilar, I, Venturieri, GC, Eardley, C y Nogueira-Neto, P. 2006. *Global Meliponiculture: challenges and opportunities*. *Apidologie* 37: 275-292.
 - Crewe, RM, Hepburn, HR y Moritz, RFA. 1994. *Morphometric analysis of 2 southern African races of honeybee*. *Apidologie* 25: 61-70.
 - Cunningham, SA. 2000. *Depressed Pollination in Habitat Fragments Causes Low Fruit Set*. *Proc. R. Soc. Lond.* 267: 1149-1152.
 - Daly, H. 1985. *Insect Morphometrics*. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 415-438.
 - Dardón, MJ. 2005. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antibacteriana de la miel blanca producida por *Melipona beecheii* en Guatemala". Informe de Tesis, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
 - Darroch, JN y Mossiman, JE. 1985. *Canonical and principal components of shape*. *Biometrika*, 72: 241-252.
 - Da Silva, CM, Evangelista-Rodrigues, A, Gois, GC, Souza, DN, Souza, DL y Carrazoni, PS. 2007. Estudo dos padroes morfometricos da espécie de abelha *Melipona scutellaris* (uruçu) situada nos municipios de Areia (PB) e Igarassu (PE). *Anais Congresso Associação brasileira de zootecnistas, Zootec, 2007*.
 - Delaplane, KS. y Mayer, DF. 2000. *Crop Pollination By Bees*. CABI Publishing. USA.
 - De la Rua, P, May-Itzá, WJ, Serrano, J y Quezada-Euán. 2007. *Sequence and RFLP analysis of the ITS2 ribosomal DNA in two neotropical social bees, Melipona beecheii and Melipona yucatanica (Apidae, Meliponini)*. *Insect. Soc.* DOI 10.1007/s00040-007-0962-5
 - Diniz-Filho, J.A.F. & L.M. Bini 1994. *Space-free correlation between morphometric and climatic data: a multivariate analysis of Africanized honey bees (Apis mellifera L.) in Brazil*. *Global Ecology and Biogeography* 4: 195-202.
 - Dujardin, JP, Chávez, T, Machane, M y Solís, S. 1999. *Size, shape and genetics. Sexual dimorphism and environment*. En: Schofield, CJ. y Ponce, C, editores. *Proceedings of the Second International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae*, Tegucigalpa, Honduras. INDRE, Mexico City, Mexico.
 - Dujardin, JP. 2000. *Introducción a la Morfometría (Con énfasis en Phlebotominae y Triatominae)*. No publicado, La Paz, Bolivia.

-
- Dujardin, JP y LePont, F. 2000. *Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, Lutzomia carrerai thula*. C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences. 323: 273-279.
 - Dujardin, JP. 2002. *TET*. Unité de Recherches 062, Institut de Recherches pour le Développement –IRD-, Francia.
 - Engels W. e Imperatriz-Fonseca V.L. 1990. Caste development, reproductive strategies and control of fertility in honeybees and stingless bees. In: *Social Insects: an evolutionary approach to castes and reproduction* [Engels W., Ed.], Springer-Verlag, Berlin, pp166–230.
 - Enríquez, E, Yurrita, C, Aldana, C, Ocheíta, J, Jáuregui, R y Chau, P. 2005. *Conocimiento tradicional acerca de la biología y manejo de abejas nativas sin aguijón en Chiquimula*. Agricultura. Edición No. 69. pp: 27-30.
 - Enríquez, E. y Maldonado-Aguilera, C. 2008. *Miel de abejas nativas de Guatemala*. Primera Edición. Dirección General de Investigación –DIGI–, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
 - Espina, D y Ordetx, GS. 1984. *Apicultura Tropical*. Ed. Tecnología de Costa Rica. 4ª edición. Costa Rica.
 - Francoy, TM, Silva, RAO, Nunes-Silva, P, Menezes, C and Imperatriz-Fonseca, VL. 2009. *Gender identification of five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology*. Genetics and Molecular Research, 8 (1): 207-214.
 - Ftayeh, A, Meixer, M y Fuchs, S. 1994. *Morphometrical investigation in Syrian honeybees*. Apidologie 25: 396-401.
 - Gerula, D, Tofilski, A, Wegrzynowicz, P and Skowronek, W. 2009. *Computer-Assisted Discrimination of Honeybee Subspecies Used for Breeding in Poland*. Journal of Apicultural Science Vol. 53, No. 2: 105-114.
 - Heard, TA. 1999. *The Role of Stingless Bees in Crop Pollination*. Annu. Rev. Entomol. 44:183-206.
 - Hepburn, HR, Radloff, SE, Verma, S y Verma, LR. 2001[a]. *Morphometric analysis of Apis cerana populations in the southern Himalayan region*. Apidologie. 32: 435-447.
 - Hepburn, HR, Smith, DR, Radloff, SE y Otis, GW. 2001[b]. *Infraspecific categories of Apis cerana: morphometric, allozymal and mtDNA diversity*. Apidologie. 32: 3-23.

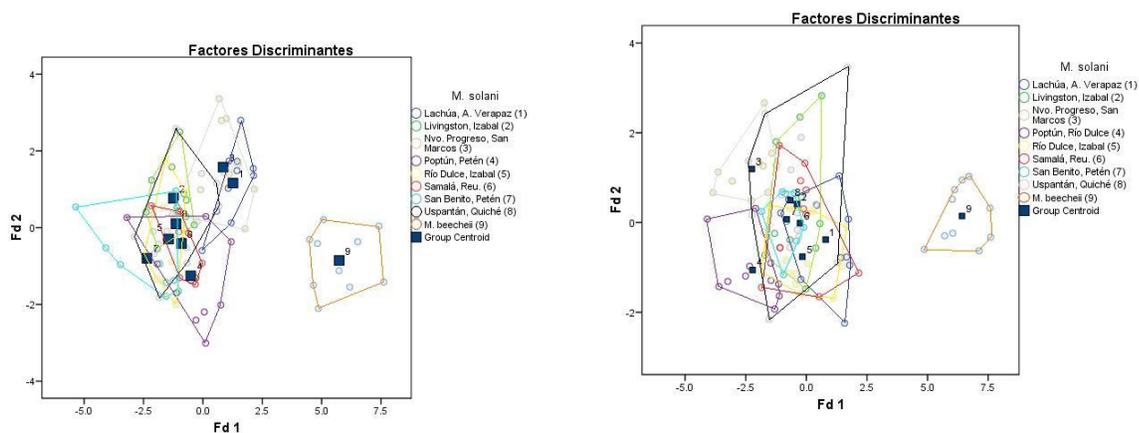
-
- Hepburn, HR and Radloff, SE. 2004. *The wing coupling apparatus and the morphometric analysis of honeybee populations*. South African Journal of Sciences, 100: 565-570.
 - Hepburn, HR, Radloff, SE, Otis, GW, Fuchs, S, Verma, LR, Ken, T, Chaiyawong, T, Tahmasebi, G, Ebadi, R y Wongsiri, S. 2005. *Apis florae: morphometrics, classification and biogeography*. Apidologie 36: 359-376.
 - Hoffman, F. 2005. *Biodiversity and Pollination. Flowering plants and flower-visiting insects in agricultural and seminatural landscapes*. Ph.D. Thesis, University of Groningen, Haren, the Netherlands.
 - Janzen, D. 1971. *Euglossine Bees as Long - Distance Pollinators of Tropical Plants*. Science, 171: 203-205.
 - Jaramillo, N y Dujardin, JP. 2002. *Análisis Morfométrico: significado biológico del tamaño y la conformación*. Colombia. Inédito.
 - Klingenberg, CP. 1996. *Multivariate allometry*. En: LF Marcus, M Conti, A Loy, GJ Naylor, DE Slice. Editores. *Advances in morphometrics*, NATO ASI, Series A: Life Sciences. New York, USA. Volume 284, pp 23-49.
 - Koedam, D, Velthuis, HHW, Dohmen, MR e Imperatriz-Fonseca, VL. 2001. *The behaviour of laying workers and the morphology and viability of their eggs in Melipona bicolor bicolor*. Physiological Entomology 26: 254-259.
 - Kremen, C, Williams, NM. y Thorp, R.W. 2002. *Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification*. PNAS. Vol. 99, no. 26.
 - Marroquín, AE. 2000. *Sistemática e Historia Natural de las Abejas (Hymenoptera: Apoidea) de Guatemala*. Informe de Tesis, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
 - May-Itzá, WJ, Quezada-Euán, JJG, Enriquez, E and De la Rúa, P. 2009. *Intraespecific variation in the stingless bee Melipona beecheii assessed with PCR-RFLP of the ITS1 ribosomal DNA*. Apidologie, 40: 549-555.
 - Meixner, MD, Sheppard, WS, Dietz, A y Krell, R. 1994. *Morphological and allozyme variability in honey bees from Kenya*. Apidologie 25: 188-202.
 - Michener, CD. 1974. *The social behavior of the bees: a comparative study*. Harvard University Press.

-
- Michener, CD. 2000. *The Bees of the World*. Johns Hopkins University Press. Baltimore, MD, USA.
 - Nunes, LA, de Araújo, ED, Lopes de Carvalho, CA y Waldschmidt, AM. 2008. *Population divergence of Melipona quadrifasciata anthidioides (Hymenoptera: Apidae) endemic to the semi-arid region of the State of Bahia, Brazil*. Sociobiology Vol. 52, No. 1: 81-93.
 - Parchem, RJ, Perry, MW y Patel, N. 2007. Patterns on the insect wing. *Current Opinion in Genetics & Development* v.17: 300-308. Elsevier.
 - Pimentel, RA.1992. *An introduction to ordination, principal components analysis and discriminant analysis*. En: RG Footit and JT Sorensen, editors. *Ordination in the study of morphology, evolution and systematic of insects: applications and quantitative genetic rationales*. Elsevier, New York. USA.
 - Pinto Soares, RP, Barbosa, SE, Dujardin, JP, Schofield, CJ, Moura, A, y Diotaiuti, L. 1999. *Characterization of Rhodnius neglectus from two regions of Brazil using isoenzymes, genitalia morphology and morphometry*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(2): 161-166.
 - Poinar Jr., GO y Danforth, BN. 2006. *A Fossil Bee from Early Cretaceous Burmese Amber*. Science. Vol. 314, p. 614.
 - Quezada-Euán, JJ, Paxton, RJ, Palmer, KA, Itzá, WdeJ, Tay, WT y Oldroyd, BP. 2007. *Morphological and molecular characters reveal differentiation in a Neotropical social bee, Melipona beecheii (Apidae: Meliponini)*. Apidologie. 38: 247-258.
 - Rattanawanee, A, Chanchao, C y Wongsiri, S. 2007. *Morphometric and genetic variation of small dwarf honeybees Apis andreniformis Smith, 1858 in Thailand*. Insect Science. 14: 451-460.
 - Ricketts, T, Daily, G., Ehrlich, P y Michener, CD. 2004. *Economic value of tropical forest to coffee production*. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 101, no. 34: 12579-12582.
 - Rodríguez, GA. 2008. *“Patrones temporales de la diversidad y abundancia de abejas nativas (Hymenoptera: Apoidea) en la región semiárida del valle de Motagua”*. Informe de Tesis, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
 - Rohlf, J. 1990. *Morphometrics*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 21:299-316.

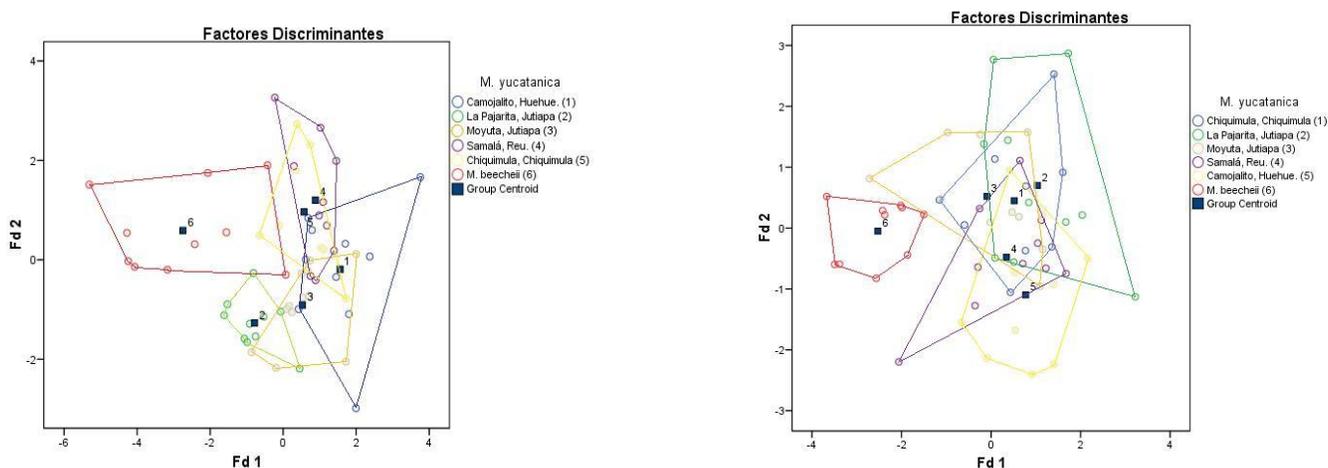
-
- Rohlf, J y Marcus, L. 1993. *A Revolution in Morphometrics*. Trends in Ecology and Evolution, 8(4): 129-132.
 - Rohlf, J. 1998. NTSYS pc [Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System]. Users guide. Exeter Software. New York, USA.
 - Rohlf, J. 2008. *tpsDig Version 2.12*. Ecology & Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York, USA.
 - Roubik, DW and Aluja, M. 1983. *Flight ranges of Melipona and Trigona in Tropical Forest*. Journal of the Kansas Entomological Society, 56(2): 217-222.
 - Roubik, DW. 1989. *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press. USA.
 - Ruttner, F. 1988. *Biogeography and taxonomy of Honeybees*. Springer-Verlag. New York.
 - Sheppard, WS, Arias, MC, Grech, A y Meixner, MD. 1997. *Apis mellifera ruttneri, a new honey bee subspecies from Malta*. Apidologie 28: 287-293.
 - SPSS® 15.0 Family, Manuals. 2006. SPSS Inc. USA.
 - Stuart, LC. 1942. *Una descripción preliminar de las provincias bióticas de Guatemala, fundada sobre la distribución del género salamandrino [sic.]*. Anals. Soc. Geog. Hist. Guatemala, 18(1): 29-38.
 - Sung, I-H., Yamane, S., Ho, K.K., Wu, W.-J. y Chen, Y-W. 2004. *Morphological caste and sex differences in the Taiwanese stingless bee Trigona ventralis hoozana (Hymenoptera: Apidae)*. Entomological Science, 7: 263-269
 - Tilde, AC, Fuchs, S, Koeniger, N y Cervancia, CR. 2000. *Morphometric diversity of Apis cerana Fabr. within the Philippines*. Apidologie. 31: 249-263.
 - Tofilski, A. 2008. *Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies*. Apidologie 39: 558-563.
 - Vásquez, M. 2007. *Recursos polínicos utilizados por la abeja nativa shuruya (Scaptotrigona pectoralis) (Apidae:Meliponini) en un meliponario de la parte baja de los cipresales en Pachalum, Quiché, durante la época seca y lluviosa*. Informe de Tesis, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

-
- Velthuis, HW. 1997. *The biology of Stingless bees*. The Department of Ethology, Utrecht University, The Netherlands, & Department of Ecology, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.
 - Verma, LR, Mattu, VK y Daly, HV. 1994. *Multivariate morphometrics of the Indian honeybee in the northwest Himalayan region*. *Apidologie*. 25: 203-223.
 - Viana, MVC, Nunes, LA, Sampaio, RF, Santana, PS, Vivas, CV, Siqueira, S, y Waldshmidt, AM. 2009. *Variación Populacional em Melipona mondury no estado da Bahia, utilizando caracteres morfométricos*. Resumos do 55° Congresso Brasileiro de Genética. Sao Paulo, Brasil.
 - Wille, A. 1983. *Biology of the Stingless Bees*. *Ann. Rev. Entomol.* 28: 41-64.
 - Yurrita, CL, Enríquez, E, Ayala, R y Griswold, T. 2009. *Las abejas nativas (Hymenoptera: Apoidea) de Guatemala*. Memorias del VI Congreso Mesoamericano sobre Abejas Nativas. La Antigua Guatemala, Guatemala. Pp. 239-244.

13. ANEXOS



***M. solani*.** Representación gráfica del resultado obtenido al aplicar un AD sobre 5 componentes principales producidos en un ACP sobre variables medidas sobre a) las alas, y b) las cabezas, de especímenes de las poblaciones de *M. solani* y un outgroup, *M. beecheyi*, donde claramente se observa la separación de las dos especies.



***M. yucatanica*.** Representación gráfica del resultado obtenido al aplicar un AD sobre 5 componentes principales producidos en un ACP sobre variables medidas sobre a) las cabezas, y b) las alas, de especímenes de las poblaciones de *M. yucatanica* y un outgroup, *M. beecheyi*, donde claramente se observa la separación de las dos especies.