

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Estructuración genética de *Partamona bilineata* (Hymenoptera: Apoidea) en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

INFORME DE TESIS

María de los Angeles Ariza Salazar

Bióloga

Guatemala, Marzo 2015.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Estructuración genética de *Partamona bilineata* (Hymenoptera: Apoidea) en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

INFORME DE TESIS

Presentado por

María de los Angeles Ariza Salazar

Para optar al título de

Bióloga

Guatemala, Marzo 2015.

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rúben Dariel Velázquez Miranda	DECANO
Lic. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A	SECRETARIO
Lic. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Lic. Sergio Alejandro Melgar Valladares	VOCAL II
Br. Michael Javier Mo Leal	VOCAL IV
Br. Blanqui Eunice Flores de León	VOCAL V

Al pueblo de Guatemala por becarme mi educación.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedicada a Clara Haydee Quevedo Salazar....pudieron frenar tus sueños y profesión pero jamás tu espíritu. Este logro es para ti y para todos los jóvenes que han sido perseguidos, violentados y asesinados.

Infinitas gracias a mi madre, Elsa Julieta Salazar de Ariza, por su apoyo incondicional durante toda la carrera de Biología y en especial para la tesis. Además por ser mi ejemplo de mujer, madre, hija, hermana, profesional, emprendedora y amor por la vida.

A mi padre, Luis Ariza, por impregnar de amor y magia mi vida. A mis hermanos Luisar y Raúl, por su amor incondicional. A Delfi por su cariño inmenso y todo lo que ha dado por mi. Todos ustedes son los pilares de mi vida.

A mis asesoras Patricia Landaverde y Eunice Enriquez, por enseñarme tanto sobre genética de poblaciones y apidología respectivamente, además por darme la gran oportunidad de trabajar con ustedes para esta tesis y sus aportes para el desarrollo de la misma.

A mi revisor, Sergio Melgar por sus valiosos aportes a la investigación.

A mi querido Profesor Robert Paxton, por su gran apoyo académico e insumos para el desarrollo del análisis de laboratorio. Además por darme la oportunidad de realizar una pasantía con grupo de laboratorio –Allgemeine Zoologie, Universitat Martin-Luther Halle Wittenberg-. Así mismo, a todo el equipo académico del Profesor Paxton por su apoyo incondicional y constante motivación, en especial a Antonella Soro por su aporte y asesoría durante los análisis genético-poblacionales y Panagiotis Theodoros y Bertrand Fouks por sus aportes en los análisis estadísticos.

Al Profesor Robin Moritz del Laboratorio de Ecología Molecular de la Universitat Martin-Luther Halle Wittenberg por sus valiosos aportes para el análisis genético-poblacional de la presente tesis.

A mis amigos Roberto Garnica, María José Hernández y Jorge Mérida por su apoyo en la colecta de abejas. A Mabel Vásquez por su ayuda en la determinación taxonómica de las abejas coletadas.

A los guardarecursos del Biotopo para la Conservación del Quetzal –CECON- y su coordinadora Mayra Rivera por el apoyo brindado para la fase de campo.

A los pueblos del Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.... que permanecen en las nubes labrando la tierra.

INDICE

	<i>Página</i>
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	
3.1. Pérdida del hábitat por deforestación en Mesoamérica.	4
3.1.1 Destrucción del hábitat y su efecto en abejas.	5
3.1.2 Respuestas de meliponinos a la destrucción del hábitat.	6
3.2 Polinización: Polinizadores y su importancia.	7
3.3 Meliponini: las abejas sin aguijón.	8
3.4 Biología de Meliponinos.	8
3.4.1 Sociabilidad.	8
3.4.2 Especialización.	9
3.4.3 Reproducción: Haplodiploidia.	9
3.4.3.1 Reproducción de colonias en meliponinos.	10
3.5 Taxonomía del género Partamona.	12
3.5.1 Partamona bilineata (Say, 1987).	13
3.5.2 Estudios en Partamona.	17
3.6 Marcadores moleculares: una herramienta en estudios poblacionales de abejas.	17
3.6.1 Microsatélites.	18
3.7 Implicaciones de la variación genética en las poblaciones: flujo génico y conectividad genética.	19
3.8 Los bosques nubosos de Guatemala.	20
3.8.1 El corredor del bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.	22

4.	JUSTIFICACIÓN.	23
5.	OBJETIVOS	24
6.	HIPOTESIS	24
7.	MATERIALES Y METODOS	24
7.1	Universo	24
7.2	Materiales	25
7.3	Métodos	28
7.3.1	Sitios de muestreo.	28
7.3.2	Identificación taxonómica.	28
7.3.3	Extracción	28
7.3.4	Genotipificación	30
7.3.5	Análisis de Datos.	30
7.3.6.	Análisis genético-poblacional.	33
7.3.6.1	Análisis de diversidad genética	33
7.3.6.2	Estructuración genética	33
8.	RESULTADOS	35
8.1	Análisis de diversidad genética	35
8.2	Estructuración y Conectividad genética	37
9.	DISCUSIÓN	41
9.1	Densidad de Colonias	41
9.2	Diversidad genética de <i>Partamona bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.	43
9.3	Estructuración génica de <i>Partamona bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.	44

	9.4 Diversidad y Conectividad genética de <i>Partamona bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz y las implicaciones para la conservación del bosque nuboso.	47
10.	CONCLUSIONES	48
11.	RECOMENDACIONES	49
12.	REFERENCIAS	50
13.	ANEXOS	62

INDICE DE FIGURAS

	<i>página</i>
<u>Figura no. 1</u> Cruces en una familia donde los machos son haploides.	10
<u>Figura no. 2</u> Tibia y corbícula del género <i>Partamona</i> .	12
<u>Figura no.3</u> Distribución del grupo <i>bilineata/epiphytiphila</i> según Pedro & Camargo	13
<u>Figura no. 4</u> <i>Partamona bilineata</i> .	14
<u>Figura no. 5</u> Distribución geográfica de <i>Partamona bilineata</i> .	15
<u>Figura no. 6</u> Nidificación de <i>Partamona</i> .	16
<u>Figura no. 7</u> Corte longitudinal de un nido de <i>Partamona cupira</i> sobre un termitero epígeo.	16
<u>Figura no. 8</u> Región Microsatélite en ADN nuclear.	18
<u>Figura no. 9</u> Distribución de los bosques nubosos, laurisilvas y enclaves de hábitat de nieblas.	21
<u>Figura no. 10</u> Bosques nubosos de Guatemala.	21
<u>Figura no.11</u> Ubicación del Corredor del Bosque Nuboso en Guatemala.	22
<u>Figura no. 12</u> Mapa de Distribución de sitios con muestras Genotipificadas en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.	32
<u>Figura no. 13</u> Número de colonias observadas y esperadas en cada población genotipificada de <i>P. bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.	35
<u>Figura no. 14</u> Patrones alélicos poblacionales de <i>P. bilineata</i> en el corredor del Bosque Nuboso, BV.	36
<u>Figura no.15</u> Prueba de Mantel para datos genotípicos poblacionales de <i>P. bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala, BV.	38
<u>Figura no. 16</u> Determinación de grupos genéticamente homogéneos (k) según	

genotipos de <i>P. bilineata</i> en el corredor del Bosque Nuboso, BV.	39
<u>Figura no. 17</u> Análisis de asignación de genotipos de <i>P. bilineata</i> por sitio a dos grupos genéticamente homogéneos (k).	40
<u>Figura no. 18</u> Distribución de puntos de Muestreo en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.	64
<u>Figura no. 19</u> Distancias geográficas (km) entre poblaciones genotipificadas.	66
<u>Figura no. 20</u> Varianza de la Riqueza Alélica por Población.	68
<u>Figura no. 21</u> Varianza de la Riqueza Alélica por Loci.	68
<u>Figura no. 22</u> Varianza de la heterocigocidad observada poblacional.	69
<u>Figura no. 23</u> Varianza de la heterocigocidad observada por loci.	69

INDICE DE TABLAS

	<i>página</i>
<u>Tabla no. 1</u> Cebadores de Microsatélite utilizados para genotipificación de <i>Partamona bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.	1
<u>Tabla no. 2</u> Multiplex de Microsatélites utilizados para la genotipificación de <i>Partamona bilineata</i> .	29
<u>Tabla no. 3</u> Matriz de parámetros de estructuración poblacional: Índice de Fijación Estructural F_{st} y Proporción de Alelos Compartidos –POSA-.	37
<u>Tabla no. 4</u> Análisis de Varianza Molecular de <i>P. bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.	38
<u>Tabla no. 5</u> Cebadores de Microsatélite probados para genotipificación de <i>Partamona bilineata</i> en el corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.	62
<u>Tabla no. 6</u> Sitios de muestreo para <i>Partamona bilineata</i> en el Corredor del Bosque Nuboso Baja Verapaz.	65
<u>Tabla no. 7</u> Prueba de χ^2 para Equilibrio de Hardy-Weinberg.	67

1. RESUMEN

Debido a su papel en la polinización, las abejas desempeñan un servicio ecosistémico vital. *Partamona bilineata* (Apidae: Meliponini), por su comportamiento de forrajeo generalista, es un importante polinizador de flora silvestre y cultivos de curcubitáceas en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala. Al igual que cualquier ecosistema con recursos con alta demanda de explotación, el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz ha recibido altas presiones durante los últimos 50 años principalmente por el cambio del uso del suelo. Este cambio tiene un impacto en la dinámica del ecosistema y la biodiversidad ya que puede limitar el flujo génico entre poblaciones.

Por esta razón, el estudio tiene como objetivo determinar la diversidad y estructuración genética poblacional de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV. Para esto se colectaron 60 individuos forrajeros en los sitios: Bosque de la aldea Chipacay; Pueblo de Purulhá; Pueblo de Chilascó; Bosque de Chilascó; Bosque de Montaña de Purulhá; Finca La Cabaña, Purulhá. Se obtuvieron los genotipos de los individuos con 8 loci de microsatélites diseñados para abejas sin aguijón.

Con base en el muestreo de individuos, se estimó el número de colonias de *P. bilineata* esperadas en cada sitio, encontrándose mayor cantidad de colonias en los sitios situados en pueblos o lejos del bosque. Las poblaciones se encuentran en equilibrio H-W, con más del 50% de heterocigocidad por sitio, a excepción de la Aldea Chipacay. El análisis de covarianza determinó que no hay diferencias entre los sitios en cuanto a heterocigocidad y riqueza alélica. El índice de Fijación F_{st} mostró una diferenciación genética moderada en el sitio Pueblo Chilascó (0.23), mientras que las demás poblaciones sugieren la existencia de una población panmítica. Así mismo, se comprobó que no existe correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre poblaciones. En congruencia, se encontró que la variación genética (AMOVA) está distribuida mayormente entre los individuos, ya que las poblaciones comparten 55% de sus alelos (POSA). El análisis de asignación mostró dos grupos genéticamente homogéneos, el primero conformado por los genotipos del sitio Pueblo Chilascó y el segundo por el resto de sitios.

En conclusión, se evidencia que *Partamona bilineata* mantiene una alta diversidad genética y baja estructuración genética a través de todo el paisaje fragmentado del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, indicando movimiento y conectividad genética en toda esta área. Este hallazgo resalta la importancia de abejas nativas como *Partamona bilineata*, que por ser ecológicamente generalistas y encontrarse en altas abundancias visitando flores, tienen un alto potencial como polinizadoras de plantas silvestres y cultivadas, aún en sitios fragmentados.

2. INTRODUCCIÓN

Las abejas desempeñan un servicio ecosistémico vital ya que actúan como polinizadores de flora silvestre y de numerosos cultivos que tienen un valor comercial. En las regiones tropicales las abejas son responsables de la polinización de más del 85% de plantas silvestres. El valor económico de la polinización mundial es de 153 billones de euros, lo cual representa el 9.5% del valor total de la producción agrícola mundial para consumo humano (Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaissière, B.E. 2009, p. 811). En las últimas dos décadas, se ha observado un decaimiento de las poblaciones de abejas a nivel mundial, lo cual pone en peligro la polinización de muchos cultivos de importancia económica y el mantenimiento de la reproducción sexual de plantas silvestres (Winfree, 2010). Se ha propuesto que existen diversos factores que determinan el declive de las poblaciones de abejas, sin embargo alguno de los más importantes son el uso de pesticidas y la fragmentación; resultado de la intensificación de la agricultura y otras formas del uso de la tierra (Biesmeijer, M., Roberts, M., Reemer, R., Ohlemüller, M., Edwards, T., Peeters, A. P., Schaffers, S. G. Potts, R., Kleukers, C. D., Thomas, J., Settele, W. E., Kunin, 2006; National Research Council. 2007 p303; Olroyd, 2007p168; Stokstad 2007). Los bosques nubosos tropicales de Guatemala son un ecosistema primordial por sus recursos biológicos, forestales e hídricos (Schuster J, Cano, E y Cardona, C. 2000), que reciben una demanda de explotación, altas presiones de cambio que pueden alterar el paisaje y consecuentemente la dinámica biológica de los organismos, entre ellas las abejas polinizadoras.

Existe una gran diversidad de abejas polinizadoras, por ejemplo las abejas pequeñas generalistas (subfamilias Halictinae, Megachilinae, Meliponinae) polinizan un gran número de plantas de la familia *Solanaceae*. Por su parte, las abejas medianas a grandes y solitarias (subfamilias Anthophoridae, Xilcopinae), actúan como polinizadores específicos de importantes grupos de plantas tropicales (Bawa 1990, p. 403-404). En los trópicos, particularmente Mesoamérica y en específico Guatemala, la diversidad de abejas polinizadoras es mayor a consecuencia de la gran diversificación de plantas que ocurrió millones de años atrás en el terciario tardío (Bawa, 1990, p402; Richardson, J., Pennington, R., Pennington, R., Hollingsworth, P. 2001, p. 2242).

Partamona bilineata (Apidae: Meliponini) es un importante visitador de flora silvestre y cultivos de curcurbitáceas en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz (Com. Pers. Eunice Enriquez). El estudio de esta especie nativa, social y generalista cuyas colonias se dispersan a distancias cercanas unas de otras y dependen de árboles con un diámetro característico de bosques maduros para sitios de anidamiento, ofrece una perspectiva y enfoque de estudio de flujo génico (Steffan-Dewenter, I., Munzenber, M., Burguer, C., Thies, C., Tschardtke, T. ,2002; Brown, J.C., Albrecht, C., 2001) en el paisaje fragmentado del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.

El conocimiento de cómo la variación genética está dividida en un espacio y las causas de esta variación, tiene fuertes implicaciones no solo en la biología evolutiva y la ecología, sino también en la biología de la conservación. Así, este conocimiento se torna en una herramienta importante

para el desarrollo de estrategias de conservación y en especial para el entendimiento de la dinámica poblacional.

Por lo anterior, el presente estudio tiene como objetivo determinar la estructuración genética poblacional de *Partamona bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso, Baja Verapaz, Guatemala. Para esto, se colectó en 10 sitios a lo largo del corredor del Bosque Nuboso de Guatemala y se analizó la estructuración genética poblacional utilizando 8 microsatélites. Se espera encontrar poblaciones genéticamente diferentes de otras y baja diversidad genética, sugiriendo la posible existencia de un flujo génico limitado y falta de conectividad genética a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

3. ANTECEDENTES

3.1. Pérdida del hábitat por deforestación en Mesoamérica.

La pérdida del hábitat es considerada una de las fuerzas principales que conducen a la extinción de las especies. Alrededor del mundo, el 40% de la superficie terrestre libre de hielo se ha convertido en agricultura o asentamientos humanos; y 37% de los hábitats semi-naturales remanentes están embebidos en una matriz antropogénica (Ellis, E.C., Klein Goldewijk, K., Siebert, S., Lightman, D. y Ramankutty, N., 2010, p589).

Desde el arribo de los primeros grupos humanos en Mesoamérica, los paisajes han cambiado de forma radical. Estos cambios, incluyen la deforestación, la creación de tierras de pastura y cultivo y la urbanización, acelerándose en las últimas décadas. Algunos de los cambios más rápidos se han dado en Yucatán y en las fronteras norte y sur de Nicaragua (Lambin, E.F.; H.J. Geist y E. Lepers, 2003 p205; Lepers, E., Lambin, F., Janetos, A., DeFries, R., Achard, F., Ramankutty, N. y Scholes, R.J., 2005 p155). Como consecuencia estos factores han dejado un paisaje mesoamericano fragmentado donde el hábitat nativo existe fundamentalmente en parches dispersos a través de un área rural intervenida por el ser humano (Brosi, B., Sihnh, T., Biladello, L. 2007).

La región mesoamericana es un punto conflictivo en el planeta en cuanto a la biodiversidad: por un lado tiene altos niveles de biodiversidad, pero por otro presenta altas tasas de deforestación. Se estima que para el Corredor Biológico Mesoamericano la pérdida forestal fue de un 1,106 ha en 22 años, con una tasa de deforestación de 0,7%, donde los pastizales representaron el 70% de los cambios. Debido a la tendencia actual de deforestación, es uno de los cinco *hot spots* más vulnerables del mundo (Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier, G., da Fonseca, G., Kent, J.2000, p853).

De la región mesoamericana, Guatemala es el país más poblado y soporta la segunda mayor densidad de poblacional (131 individuos/km²), donde alrededor del 60% de la población reside en comunidades rurales, de las cuales el 74% se encuentra en pobreza. Desde 1990 hasta el 2010, Guatemala ha perdido más del 30% de la cobertura boscosa debido a la expansión de la frontera agrícola y rural por la ganadería y agricultura de subsistencia (FAO, 2010; López-Carr, D., Davis, J., Jankowska, M., Grant, L, López-Carr, A y Clark, M. 2012, p64). La FAO en el 2001 estimó que la tasa anual de tala de bosques es 1.7%, superior a la observada en Brasil o Indonesia. Por otro lado, en 1950 aproximadamente el 65% del área guatemalteca estaba cubierta por bosque, en el año 2000 este porcentaje desciende a 26%. Así mismo, se registra que hubo una pérdida de bosque de aproximadamente 60% durante el mismo lapso de tiempo (Loening, L., Markussen, M. 2003, p 10).

Markussen (2003) investigó cambios pedológicos ocasionados por la deforestación en los bosques nubosos de Guatemala. Las investigaciones del paisaje en el bosque nuboso por medio de análisis del suelo físicos, químicos y biológicos muestran que ha ocurrido una degradación del suelo debido a la utilización agrícola tradicional por parte de la población Q'eqchi'. Dado que el suelo

determina en gran medida la composición florística del ecosistema, tiene un fuerte impacto sobre el ecosistema del bosque nuboso. Sin embargo, recientes estudios muestran como el Sistema tradicional de agricultura maya de quema y roza, utilizado en la península de Yucatán, favorece la diversidad. Esto debido a los métodos específicos de regeneración y recuperación que le proven al suelo luego de quemar, limpiar y sembrar (Diemont, S., Bohn, J., Rayome, D., Kelsen, S., Cheng, K. 2011).

3.1.1 Destrucción del hábitat y su efecto en abejas.

Desde hace varios años ya, se ha reportado un declive en la riqueza y abundancia de especies de abejas (Steffan-Dewenter, y otros. 2005, p653), siendo una de las principales causas la pérdida del hábitat. La mayoría de abejas depende en una variedad de hábitats a lo largo de múltiples lugares, que proveen recursos florales y de anidamiento para completar su ciclo de vida (Westrich 1996; Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O'Toole, C., Dafni, A., Ne'eman, G. y Willmer, P. 2005, p78). Se ha encontrado que la distancia del cultivo hacia los hábitats naturales y seminaturales tiene un efecto negativo en la riqueza de especies y abundancia de abejas en América (Kremen, C. Williams, N., Bugg, R., Fay, J. y Thorp, R. 2004, p1109). Williams y otros, en el 2010, demostraron los rasgos de la historia de vida que se ven afectados por los disturbios en el ambiente. Sus resultados sostienen que las abejas sociales son afectadas fuertemente por el aislamiento de los hábitats naturales y pesticidas en comparación a las abejas solitarias, y que el tamaño corporal no tiene ninguna relación a pesar de determinar muchos aspectos de la interacción del individuo con el ambiente (Williams y otros, 2010).

Así mismo, varios estudios describen los efectos de la fragmentación en abejas polinizadoras en comparación a hábitats continuos. Aizen y Feinsinger (1994) encontraron menos especies de abejas en fragmentos en comparación con el bosque continuo subtropical seco en Argentina. La diversidad y abundancia de euglosinos (Apidae: Euglossini) en el amazonas brasileño, fue mayor en el bosque continuo en comparación a los fragmentos, incluso después de una deforestación experimental (Powell, A.H., Powel, G. 1987, p176). Al contrario de este resultado, dos estudios con abejas euglosinas, en Brasil, no encontraron diferencias en cuanto a la riqueza o la abundancia de especies en los fragmentos, en comparación con la vegetación continua en el Amazonas (Becker, P., Moure, J., Peralta, F. 1991, p399) y en la región del bosque atlántico (Tonhasca, A., Blackmer, K., Albuquerque, G. 2002, p18).

Tonhasca y otros en el 2002, no encontraron variación significativa en el número total de machos de abejas euglosinas, como tampoco una diferencia clara en cuanto a la diversidad de especies en el bosque maduro de crecimiento secundario en los hábitats de bosque alterado y en fragmentos de bosque de 14, 156 y 200 hectáreas del atlántico brasileño.

Cabe mencionar que Andren (1994), menciona que la creación de nuevos tipos de hábitats, como resultado de la fragmentación puede permitir un incremento en el total de diversidad de especies, por lo que se puede esperar que algunas especies se vean favorecidas con la fragmentación.

El aislamiento ha sido de poco interés en la mayoría de los estudios sobre polinización y fragmentación. Es probable que el aislamiento de los fragmentos sea más dañino para los organismos muy dependientes del hábitat nativo y que no se movilizan bien en la matriz. Powell y Powell (1987) encontraron que los machos de cuatro abejas euglosinas (*Eulema meriana*, *E. bombiformis*, *E. mocsayri*, *E. chalybeata* y *Eufreisea Laniventris*) no cruzaron el área deforestada de 100 metros de ancho entre fragmentos en Manaus, Amazonia Brasil debido a la incapacidad para afrontar los cambios microclimáticos del área.

Ciertas características antropogénicas pueden actuar como barreras para el movimiento de los polinizadores, aún cuando las distancias sean cortas entre hábitats. Bhattacharya, M., Primack, R. Gerwein, J. (2003) encontraron en Boston que los abejorros prefieren no cruzar caminos a menos que los recursos florales fueran muy escasos en su lado del camino, en Boston. Los caminos y poblados entre hábitats nativos y parches florales pueden, por lo tanto, inhibir la transferencia del polen, incluso en distancias relativamente cortas. Sin embargo, ciertas estructuras lineales de vegetación hechas por el ser humano, como las cercas vivas, no siempre actúan como barreras e incluso pueden proporcionar valor alimenticio al hábitat (Croxtton, P., Carvell, C., Mountford., J., Sparks, T. 2002, p365)

3.1.2 Respuestas de meliponinos a la destrucción del hábitat.

En general, se ha evidenciado que los meliponinos tienen una respuesta negativa ante la deforestación. Brosi, B. y otros (2007) compararon las comunidades de abejas según el paisaje en un ecosistema tropical de Costa Rica y encontraron que en el bosque el 50% de las abejas eran meliponinos y lejos del bosque únicamente 20%. La diversidad de meliponinos aumento en los sitios con bosque y su abundancia disminuyó al alejarse del bosque, la riqueza de especies estaba correlacionada con la proporción de la cobertura forestal que rodeaba a los sitios de colecta en escalas de 200m hasta 1200m. Brosi propone que los meliponinos dependen del bosque.

Finalmente, en el 2009 Brosi evidenció que la riqueza de especies de meliponinos y su abundancia están fuertemente relacionadas con la cobertura forestal y no con las variables de los recursos florales. Estos resultados concuerdan con otros investigadores en diferentes lugares del mundo: Brazil- Brown, J.C., Albrecht, C., 2001; Indonesia- Klein, A., Steffan-Dewenter, I., Tscharrntke, T. 2003; Costa Rica- Ricketts, T.H., 2004, Brosi y otros 2007/2008. Este patrón probablemente está impulsado por dos requerimientos en la historia de vida de los meliponinos: sitios de anidamiento y necesidades de alimento. Muchas especies de meliponinos prefieren anidar en cavidades de árboles, al ser una adaptación en su evolución en los hábitats de bosque tropical. Sumado a esto, algunos de los recursos florales en el bosque (como árboles tropicales de floración masiva) pueden soportar mayor riqueza y abundancia de especies de meliponinos (Brosi, 2009).

Por otro lado, en un estudio de nidificación según el paisaje en Colombia (bosque, agroecosistema y urbano) se encontró más nidos de abejas sin aguijón en sitios urbanos (Palacios, E. 2004). Esto

sugiere una gran adaptabilidad a sitios urbanos, donde algunas especies de meliponinos aprovechan cavidades abandonadas para nidificar.

3.2 Polinización: Polinizadores y su importancia.

En la polinización un animal, ya sea un insecto, ave o mamífero, lleva polen de una flor a otra haciendo posible la fecundación de la planta; al mismo tiempo, el polinizador obtiene alimento de recompensa en forma de polen, de aceites o de néctar de las flores (Meeuse, B. y Morris, S. 1984).

Las interacciones de mutualismo planta-animal como la polinización constituyen la base para el funcionamiento de muchos ecosistemas, dado que de ellas depende gran parte de la reproducción y reclutamiento exitoso de muchas especies de plantas. Los bosques tropicales perderían sus características como ecosistemas si carecieran de las interacciones mutualistas de las que depende la polinización y dispersión de semillas. En diferentes ecosistemas, más de un 60% y hasta un 95% de plantas leñosas dependen de los animales para su reproducción exitosa (Jordano, 2000, p8). Estas interacciones sustentan la biodiversidad y funcionalidad de las comunidades naturales y han tenido un papel central en la evolución de la biodiversidad terrestre. Además, sustentan nuestras sociedades, ya que estas dependen de las complejas interacciones planta-animal. Con la interrupción de la polinización se espera la reducción de la reproducción de las plantas, y en casos extremos, podría llevar a la extinción de plantas y animales, llevando a cambios en el paisaje y en el funcionamiento de los ecosistemas (Kevan, P. G. y Viana, B. F., 2003, p3) causando graves pérdidas económicas.

Los insectos son el tipo de animal polinizador más común; sin embargo, según los tipos de insectos podemos esperar diferentes adaptaciones. En la actualidad el 65% de las angiospermás son polinizadas por insectos, y el 20% de los insectos dependen de las flores para sobrevivir en algún momento de su vida (Bawa 1992, p403-404).

Las abejas necesitan el polen y el néctar de las flores para alimentarse ellas y a sus crías. Esto las ha llevado a modificar algunas partes de su cuerpo para la colecta de recursos florales, como escopas y corbículas. Estas características hacen que sean polinizadores eficientes, por lo que son reconocidas como los polinizadores más importantes (Bawa 1990, p403-404).

Se ha considerado que las abejas sin aguijón (Meliponini) serían buenos polinizadores, en especial de cultivos de origen neotropical como tomates, chiles, pimientos, aguacates y cucurbitáceas, entre otros, ya que estas plantas y abejas han compartido una historia evolutiva en los trópicos del nuevo mundo (Free, 1993; Cauich, O., Quezada-Euán, Macías-Macías Jo, Reyes-Oregel V, Medina-Peralta S, Parra-Tabla V., 2004; Can-Alonzo C, Quezada-Euán, Xiu-ancona P, Moo-valle H, Valdovinos-Nuñez Gr., Medina-Peralta. 2005; González-Acereto,J., Quezada-Euán,J., Medina I.,2006). Enriquez, E. y otros (2012), encontraron que *Apis mellífera* (Apini), *Bombus epiphatus* (Bombini) y *Partamona bilineata* (Meliponini) son los principales polinizadores de *Cucúrbita pepo* en el bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

3.3 Meliponini: las abejas sin aguijón.

Meliponini, es una tribu del grupo de abejas corbiculadas de la subfamilia Apinae, comúnmente llamadas abejas sin aguijón. Se distribuyen en las áreas tropicales y subtropicales del mundo. (Roubik, D. 1989). Presentan tamaños desde 2 mm hasta 1.5 cm y junto con las abejas melíferas son las únicas con comportamientos altamente sociales (eusocialidad). Probablemente sean el clado más abundante de abejas en la tierra (Roubik, D. 1992). Las abejas sin aguijón se caracterizan por: un aguijón reducido, alas con venación débil o reducida y ojos desnudos (a excepción del género *Trigona*) (Camargo, JMF. 1994). Los meliponinos también se caracterizan por la construcción de nidos muy elaborados para el crecimiento de sus crías, sus entradas son conspicuas, las cuales en general sirven para la identificación de especies. Al igual que todas las especies de la subfamilia Apinae, los meliponinos poseen una corbícula, la cual es una adaptación de la tibia posterior diseñada para el almacenamiento y transporte de polen, ausente sólo en los machos y las reinas de algunas especies. Así mismo poseen un rastellum, una hilera de cerdas rígidas ubicada junto al ápice de la tibia con la que recolectan el polen en la corbícula. Los meliponinos son verdaderos generalistas, colectan néctar y polen de una amplia variedad de plantas (Biesmeijer J.C., Slaa E.J., Siqueira de Castro M., Viana B.F., Kleinert A., Imperatriz-Fonseca V.L. 2005), pueden colectar polen floral de hasta 100 especies de plantas en un año (Cortopassi-Laurino, M. 1982). Por esta razón, son considerados uno de los taxones más importantes en la polinización de flora nativa en las partes tropicales y subtropicales del mundo. Así mismo se ha encontrado que contribuyen a la polinización de más del 60% de los cultivos tropicales y plantas silvestres (Heard T.A. 1999).

3.4 Biología de Meliponinos.

3.4.1 Sociabilidad.

Existen muchos aspectos conductuales que han sido estudiados en la diversidad de abejas, entre ellos la sociabilidad es uno de los temas con más auge entre la ecología conductual. Un aspecto importante de la conducta de cualquier organismo son las relaciones intraespecíficas, en un sentido más amplio es una conducta social. Existe toda una gama de comportamiento social, algunas abejas son solitarias, otras viven en colonias y otras combinan ambas conductas en diferentes momentos de su ciclo de vida (Wilson, O. 1971).

Una abeja hembra solitaria construye su propio nido y provee de alimento a su descendencia; ella no tiene ayuda de otras abejas y usualmente muere o deja el nido antes del desarrollo de su descendencia. A veces, la hembra tiene un cuidado hacia la descendencia (provee alimento pero no almacena comida para la descendencia), dicha relación se denomina subsocial (Michener, C.D. 2000, 9). Los abejorros (Tribu Bombini) y algunas especies de la Tribu Halictini (sweat bees) presentan la conducta solitaria.

En abejas sociales, las colonias consisten de dos o más hembras adultas viviendo en un mismo nido, independientemente de sus relaciones sociales. Las hembras que constituyen una colonia pueden dividirse en: (a) obreras, quienes forrajea, cuidan a las crías, son guardianas y a menudo no se aparean; (b) una reina, quien deposita los huevos y se aparea. En el caso de género *Apis* y meliponinos, las reinas y obreras son morfológicamente diferentes, y la reina no puede vivir sola ya que nunca forrajea; tampoco las obreras quienes dependen de una colonia viable ya que no se reproducen. Estas son las abejas verdaderamente sociales. Solo las tribus *Apini* y *Meliponini* presentan este tipo de comportamiento (Michener, C.D. 2000, 9).

En términos generales, el criterio para la Eusocialidad es la presencia de castas, que son grupos de individuos que se tornan a un comportamiento irreversible en algún punto antes de su madurez reproductiva. Las sociedades eusociales se caracterizan por: (1) superposición de generaciones adultas; (2) cooperación para el cuidado de la cría y (3) división del trabajo para la reproducción (Wilson, O. 1971).

3.4.2 Especialización.

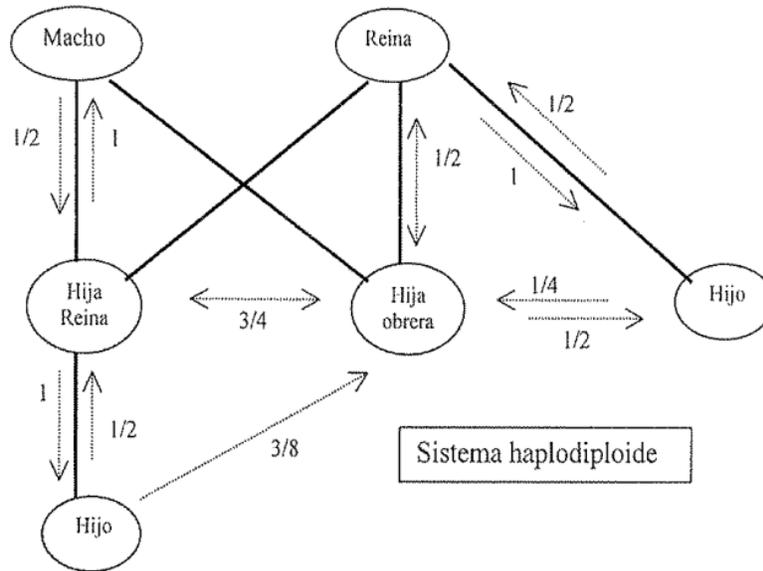
Dependiendo de su ecología de forrajeo, las abejas se pueden clasificar en dos grupos funcionales: (1) oligoléticas, cuyas especies colectan polen de una especie de planta o de varias especies cercanamente emparentadas (Zayed, A., Packer, L., Gixti, J. C., Ruz, L., Owen, R. E., & Toro, H. 2006, p1018). Comúnmente se les llama a estas abejas especialistas y representan 15-30% de especies en regiones subtropicales y 43-60% en ambientes xéricos (Minkley, R. Roulston, T. 2006). (2) Poliléticas, cuyas especies colectan polen de muchas especies de plantas, por lo que se les considera generalistas. Se ha considerado a las abejas generalistas como especies clave en la polinización del futuro, debido a la susceptibilidad de abejas especialistas a la pérdida del hábitat (Michener, 2000. 144).

3.4.3 Reproducción: Haplodiploidia.

La determinación del sexo en abejas ocurre mediante un mecanismo haplodiploide. Al igual que en muchos Hymenoptera, los huevos de abejas que han sido fertilizados se desarrollan en hembras; aquellos que no se fertilizan se desarrollan en machos. El sexo está controlado por alelos en uno o pocos loci; la heterocigocidad en el locus que determina el sexo (o loci) produce hembras. El desarrollo sin ninguna previa fertilización, por ejemplo un número haploide de cromosomas produce machos, debido a que la heterocigocidad en machos es imposible (Michener, C. 2000). Sin embargo, existen "machos diploides" quienes son hembras que poseen alelos específicos para el gen de determinación del sexo. En ese caso son infértiles ya que su esperma no sufre meiosis y los huevos fecundados son triploides y no viables.

El sistema haplodiploide hace que el parentesco genético entre parientes cercanos derive en una vía diferente al sistema diploide. En un sistema diploide normal una hembra estará relacionada genéticamente de igual manera con su hermana que con su hija, ya que con ellas comparte el 50%

de sus genes. Pero en el caso de la haplodiploidía (Ver Figura no.1), una hembra estará más relacionada con su hermana (75%) que con su hija (50%) (Michener, C. 2000, 44).



Basado en Oster, G.F, Wilson 1978. Tomado de Escudero, I.F., 1998.

Figura no. 1 Cruces en una familia donde los machos son haploides. Se indican los grados de parentesco entre los miembros de la familia (flechas discontinuas) y los cruces entre ellos (líneas continuas).

Por razones genéticas únicamente, las abejas están más propensas a la extinción en comparación a otros taxa, ya que la determinación del sexo por un solo locus, hace que sean particularmente sensitivas a los efectos de el tamaño pequeño de la población a través de la producción de machos diploides estériles (Zayed, A. y Packer, L. 2005).

3.4.3.1 Reproducción de colonias en meliponinos.

En las abejas verdaderamente sociales (Meliponini), como *Partamona bilineata* y abejas melíferas (Apini), las colonias se forman por enjambamiento (van Veen, J.W., Sommeijer, M.J. 1999). Aunque estas dos difieren en la secuencia del proceso de enjambamiento. En las abejas melíferas el enjambamiento es abrupto, ya que miles de obreras dejan la colonia original con la reina antigua, se selecciona un nuevo sitio de anidamiento mediante las abejas exploradoras, que son parte del enjambre que sale de la vieja colonia y se rompe la relación con la colonia madre. (Michener, 1974) En cambio, para las abejas sin aguijón es un proceso largo. Los siguientes pasos se describen para las abejas sin aguijón (Meliponini):

Las hembras obreras “exploradoras” buscan un sitio de anidamiento que se encuentre en el rango de vuelo de la colonia, limpian el sitio y construyen la entrada tubular. De la colonia madre se transfieren al nuevo sitio resinas, cerumen y polen, esta última puede ser parcialmente colectada en el campo. La hembra virgen llega al nido formada acompañada de una muchas obreras (esto puede variar), donde toma su vuelo nupcial junto con el macho elegido. La relación con el nido/colonia madre continúa por varios días hasta medio año dependiendo de las especies. (Da Silva et al., 1972; Engels and Imperatriz-Fonseca, 1990; Michener, 1974; Nogueira-Neto, 1954; Sakagami, 1982; Terada, 1972; Willie and Orozco, 1975).

Los machos forman congregaciones alrededor de la nueva colonia, donde la hembra virgen vuela y escoge únicamente a un macho para copular. La procedencia de estos machos no es clara aún, aunque estudios de reproducción de colonias de *Tetragonisca angustula* (Meliponini) revelaron que después que la hembra virgen sale hacia el nuevo nido, ningún macho de la misma colonia deja la colonia (van Veen, J.W. , Sommeijer, M.J 1994). Para promover la exogamia, las abejas melíferas y abejas sin aguijón han desarrollado un sistema de apareamiento en el cual la inseminación de la reina virgen usualmente toma lugar a una larga distancia de la colonia, en lugares específicos donde los machos de muchas colonias se congregan (Fletcher, J.C. and K.G. Ross. 1985; Sommeijer, M.J. and L.L.M. de Bruijn. 1995). No se ha determinado si existe un rango de vuelo diferencial entre machos y obreras, pero debido a este sistema de apareamiento se hipotetiza que los machos vuelan largas distancias para congregarse. La hembra virgen solo se aparee una vez (apareamiento único es una regla general en meliponinos y también se encuentra presente en muchos Himenópteros). Cuando la hembra se aparee, almacena el esperma en una cavidad llamada espermateca; normalmente recibe una carga espermática que le dura toda la vida. De esta forma, la reina puede controlar el sexo de cada huevo al liberar o no células espermáticas desde la espermateca al momento de que el huevo pasa a través del oviducto (Michener, C. D. 2000) En general en los meliponinos, menos del 10% de los miembros de la colonia consiste machos (Roubick, D. 1983; Van Veen y otros., 1990a, 1992), aunque se ha observado en *Scaptotrigona postica* hasta el 25% de la progenie son machos.

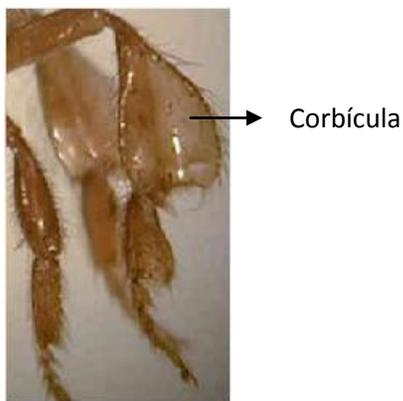
Para los meliponinos el esfuerzo reproductivo se indica básicamente por tres parámetros: (i) la inversión de la colonia madre en las obreras que forman el enjambrado que se convertirá en la colonia hija (ii) la cantidad de recursos transportados de la colonia madre hacia la colonia hijas y (iii) la duración de la dependencia de la colonia hija hacia el nido parental (Inoue, T. Sakagami, S.F., Salmah, S. y S. Yamane. 1984). Cabe mencionar, que durante el período de dependencia, la colonia madre no puede producir otro enjambamiento. Debido a esto, la reproducción de la colonia es anual (univoltina) en meliponinos.

Después que se fundó la colonia, no se transportan materiales de construcción lo cual concluye la relación con la colonia madre, aunque Wille, A. y E. Orozco. (1975) encontró que para *Partamona bilineata* (antes llamada *Trigona cupira*) colectaba polen de las flores durante los primeros tres meses de fundación. El criterio por el cual las abejas “exploradoras” escogen el sitio de

anidamiento no se ha clarificado, aunque van Veen y Sommeijer 1993 proponen que dependen de la disponibilidad de recursos a su alrededor y de la distancia a la colonia madre. Las distancias entre el nido madre y nido hijo pueden variar, para *T. angustula* se han encontrado distancias entre 15 m y 300 m en un experimento controlado (Nogueira-Neto, 1954). En concordancia, Engels y Emperatriz Fonseca (1990) proponen que las habilidades de dispersión de las abejas sin aguijón son limitadas, en base a las observaciones de las actividades de provisión de la colonia.

3.5 Taxonomía del género *Partamona*.

El género *Partamona*, descrito por Schwarz en 1939, comprende 33 especies exclusivamente del neotrópico, se distribuye desde el sur de México hacia el sur de Brasil (Pedro y Camargo, 2003). Es un género de abejas sociales, sin aguijón, productoras de miel. Ocurre en bosques, regiones montañosas (cordilleras andinas y centro-americanas), llegando a más de 2000 metros de altitud; algunas especies toleran el ambiente antrópico. Son abejas agresivas que nidifican en una amplia variedad de sustratos: troncos de árboles, árboles muertos, paredes, termiteros etc.; siendo muchas especies termófilas obligatorias. El número de individuos por nido varía desde los 1000 hasta los 3000 (Michener, 1946). Los caracteres antropomórficos principales del género son: la tibia posterior de las obreras es casi la mitad de ancho que de largo; la corbícula es hueca desde el ápice hasta la base, con dos o tres pelos largos excediendo hacia el ápice, contorno anterior casi tan convexo como el posterior (Schwarz 1938) (Ver Figura no. 2).



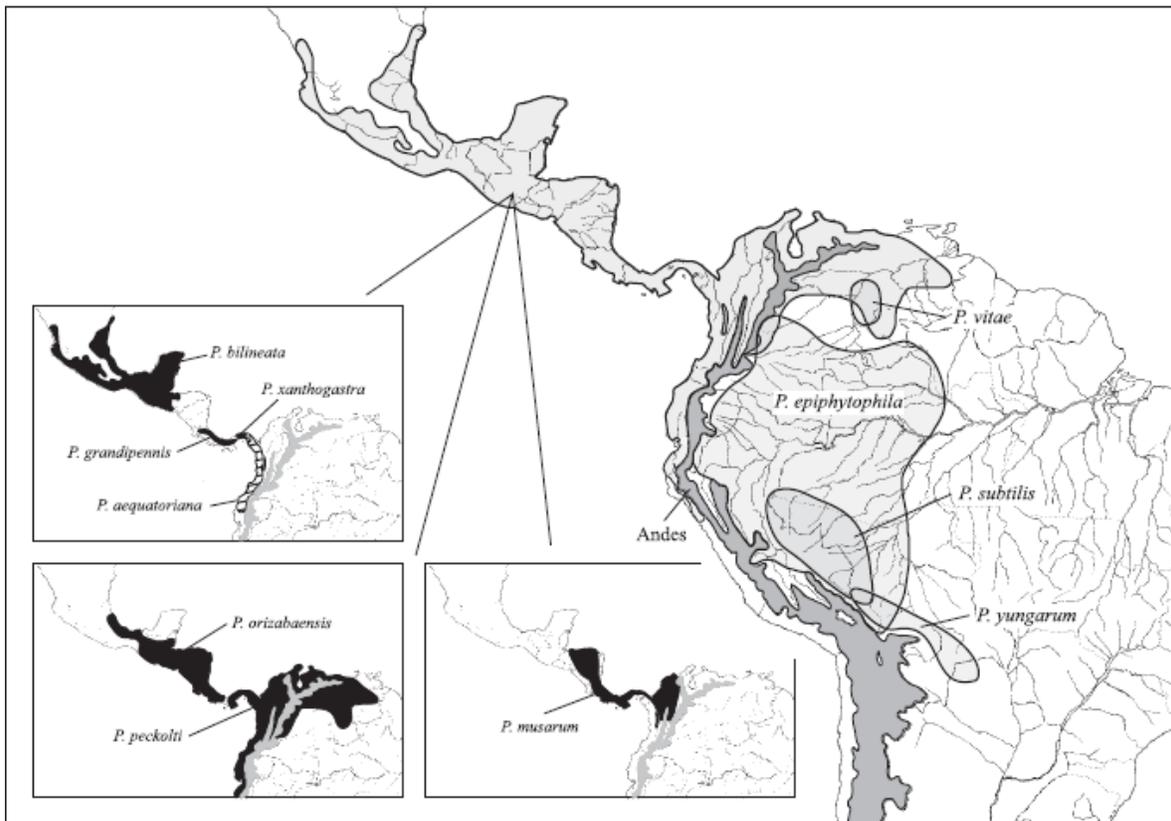
Tomado de: Bee Lab. Clasificación de abejas brasileñas. Recuperado de: <http://www.webbee.org.br/beetaxon/>

Figura no. 2 Tibia y corbícula del género *Partamona*.

El género fue revisado por Pedro & Camargo en el 2003, quien separa a *Partamona* de *Parapartamona* y *Nogueirapis*. Así mismo, presentan una clave para la identificación de especies con sus caracteres morfológicos y una hipótesis filogenética basada en caracteres morfológicos. A partir de esta hipótesis se definen 4 grupos: bilineata/epiphytiphila (desde el oeste amazónico hasta México) (Ver Figura no.3); musarum (centro de Brasil, norte de sur América hasta Centro

América); nigrior (Centro de Brasil hasta el noreste de Suramérica); cupira (sureste y centro de Brasil).

En la revisión de Pedro & Camargo (2003) también se encuentra un análisis biogeográfico del género *Partamona*, en el cual discuten acerca de la concordancia con los patrones biogeográficos de otros meliponinos. Presentan una descripción detallada de la nidificación de cada una de las especies del género, siendo uno de los caracteres principales para su identificación. Las especies de *Partamona* son las constructoras de nidos más elaborados que se conoce, presentan una diversidad de diseños y ornamentos en las entradas de los nidos, las cuales sirven como puntos de orientación para el vuelo.



Tomado de: Pedro & Camargo (2003). P 368.

Figura no.3 Distribución del grupo *bilineata/epiphytophila* según Pedro & Camargo 2003.

3.5.1 *Partamona bilineata* (Say, 1987).

En un inicio, Say describió esta especie como *Trigona bilineata*, posteriormente Silvestri en 1910 la describió como *Trigona cupira* a partir de material colectado en Guatemala. Desde ese entonces, la especie ha sido descrita con diversos nombres (Pedro & Camargo, 2013).

Diagnosis: abejas de tamaño medio, largo máximo de cabeza 2.3-2.5 mm; longitud de el asa anterior 5.3-6.1 mm. Integumento negro. Mandíbula con la mitad de la porción basal amarilla o descolorida y la porción distal castaño-oxidado o predominantemente amarillenta; ápice rojo oxidado oscuro, cóndilos negros. Flagelo castaño oscuro o amarillento. Estrías paraoculares estrechas (ca. 6,6x de diámetro de 2º flageromero), levemente alargadas abajo (ca. 1,0-1,2x diámetro 2º flageromero) por encima nítidas hasta una altura interorbital superior o desapareciendo en la interorbital máxima. Máculas del tórax poco conspicuas. Pilosidad predominantemente negras, en los esternos y región ventral, coxas y trocantes blancas. Membranas de las alas levemente rojizas; microtriquias negras; venas meleas, oscurecidas por las microtriquias. Cerdas del escapo más cortas o a penas 1 o 2 cercas en la base un poco más largas que las demás (0,8-1). Cerdas erectas en las áreas paraoculares, al lados dos alveolos, delgados, más cortas o tan largas como el diámetro del escapo. Cerdas del escutelo 0,9-1,0x. Área basal del propodeo uniformemente pilosa (Pedro & Camargo, 2013).

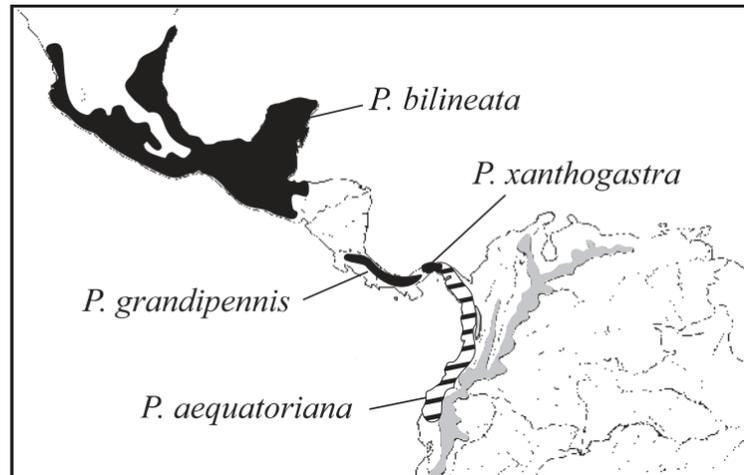
Variación: Ejemplares procedentes de la península de Yucatán son considerablemente menores que de otras regiones de México, con alas más cortas. En El Salvador y Guatemala ocurren individuos con abdomen amarillo o rojizo, alas hialinas con microtriquias amarilla en la base o en la parte mayor de las asas, con estrías paraoculares un poco más largas, que llegan nítidas hasta el tope. Sin embargo, estos caracteres no son estables, variando bastante en diferentes combinaciones, en individuos de la misma localidad. Camargo propone estudiar la biología de las poblaciones de Guatemala para esclarecer la variación (Pedro & Camargo, 2013).



Tomado de: Ricardo Ayala. IBUNAM.

Figura no. 4 *Partamona bilineata*.

Distribución geográfica y hábitat: Tierras bajas y calientes de México hasta el norte de Honduras y El Salvador. Dentro de las especies de *Partamona* es la que llega a mayores latitudes al norte (Ver Figura no. 5). En Guatemala, Dardon y Enriquez (2007) reportaron la presencia de *Partamona bilineata* en Petén, Chiquimula, Eco-Región Lachuá y El Trifinio.



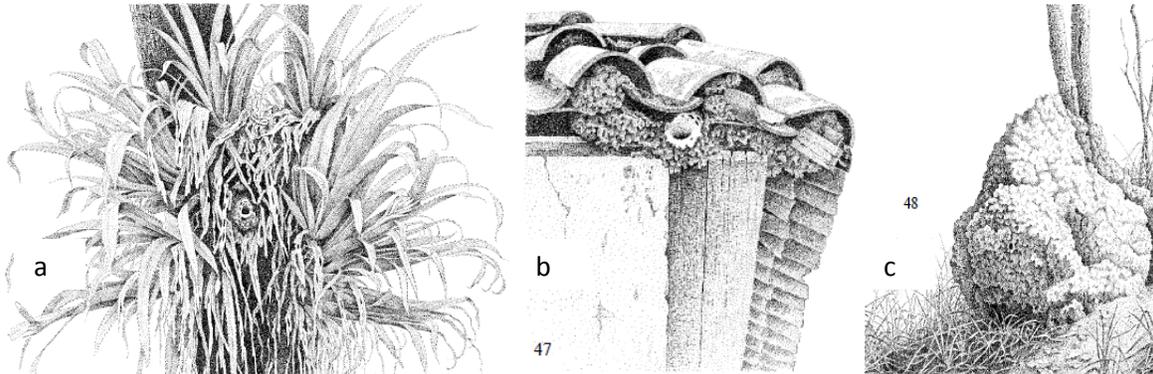
Modificado de Pedro & Camargo 2003. P 368

Figura no. 5 Distribución geográfica de *Partamona bilineata*.

Según Pedro & Camargo (2003), *Partamona bilineata* pertenece al grupo bilineata/epiphytophila que incluye: *P. grandipennis*, *P. xanthogastra*, *P. orizabaensis*, *P. peckolti*, *P. epiphytophila*, *P. subtilis*, *P. nhambiquara*, *P. batesi*, *P. yungarum* y *P. vitae*. La distribución del grupo incluye el centro de Brasil, norte de Suramérica hasta Centro América.

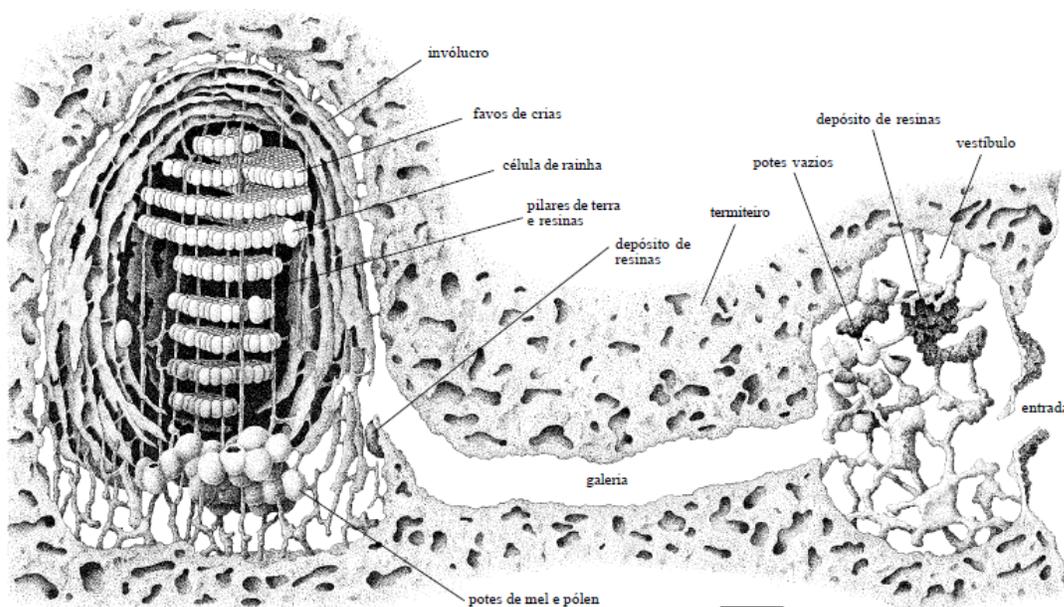
Por el tamaño corporal de *Partamona bilineata* se estima que la distancia de vuelo no es mayor de 800 metros (Greenleaf, S. Williams, N. Winfree, R. Claire Kremen. 2007); además *Partamona bilineata* es una abeja eusocial y generalista, por lo que la distancia de forrajeo se ve disminuida por estas condiciones.

Nidificación: Ocupa diversos tipos de cavidades y lugares protegidos, bajo puentes, galerías, agujeros y grietas en paredes, árboles vivos y árboles muertos (Rau, 1943).



Tomado de: Pedro & Camargo (2003) p367.

Figura no. 6 Nidificación de *Partamona*. a) Nidificación sobre epifitas. b) Nidificación sobre teja. c) Nidificación sobre termitero.



Tomado de: Pedro & Camargo (2003) p366.

Figura no. 7 Corte longitudinal de un nido de *Partamona cupira* sobre un termitero epígeo. Escala 2.0 cm.

3.5.2 Estudios en *Partamona*.

El género *Partamona* ha sido ampliamente estudiado a nivel morfológico, su taxonomía fue revisada por Pedro y Camargo en el 2003. A nivel etológico, Azevedo (2003) realizó estudios de actividades de vuelo en *Partamona helleri*; también fueron observados patrones de comportamiento de postura, ovoposición y aprovisionamiento para *P. helleri*, *P. nigrior*, *P. mulata*, *P. aiylae* y *P. vicina*. A nivel citogenético, fueron estudiadas muchas especies, todas presentando $2n=34$ cromosomas: *P. pearsoni*, *P. seridoensis* (Britto, 1998), *P. mulata*, *P. aiylae*, *P. vicina* y *P. nhambiquara* (Brito-Ribon 1999) y *P. peckolti* (Brito, 2003). Para *P. helleri* fue observado un sistema de cromosomas supernumerarios (Costa, MA., Pompolo, SG y Campos, Lao, 1992).

Las grandes abundancias de individuos y colonias de meliponinos en muchas regiones han facilitado los estudios de variabilidad genética en poblaciones. Además, existen variabilidad de marcadores moleculares, en especial microsatélites, para meliponinos. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad de marcadores, son pocos los estudios de *Partamona* a nivel genético-poblacional.

Brito, M. en el 2005 realizó un análisis molecular poblacional de *Partamona mulata* y *Partamona helleri* en Brasil, utilizando marcadores mitocondriales y nucleares (microsatélites), donde encontró bajos niveles de variabilidad genética y una estructuración poblacional discreta en ambas especies.

Posteriormente, en 2010 se estudió la variabilidad genética en cinco poblaciones de *Partamona helleri* en el Estado de Minas Gerais por Andreia Borges y colaboradores, donde observaron bajos niveles de heterocigocidad y estructuración poblacional discreta. Riviero, C., Moura, Feitosa M., Ferreira, K (2011) publicaron un estudio sobre la variación genética, diferenciación poblacional y estructura socio genética de los nidos de *Partamona seridoensis*, utilizando aloenzimas y microsatélites. Encontraron bajos niveles de variación genética y flujo génico interpoblacional.

En específico, estudios moleculares en *Partamona bilineata* no se han desarrollado. Únicamente, Ranger, S. y Odonel, S. (1999) encontró diferencias genéticas entre obreras que tenían diferencias en comportamiento, en especial el comportamiento de forrajeo. Para esto uso RAPD-PCR (Random Amplification of Polimorfic DNA- Polimerase Chain Reaction), y sus especímenes fueron colectados en Costa Rica, donde esta especie no se distribuye, por lo que posiblemente exista un error en la sinonimia utilizada.

3.6 Marcadores moleculares: una herramienta en estudios poblacionales de abejas.

La genética de poblaciones comenzó con trabajos basados en polimorfismos de caracteres morfológicos, con observaciones en la segregación de fenotipos. Posteriormente, los marcadores moleculares de ADN fueron los más utilizados para las subsiguientes investigaciones sobre genética poblacional debido a que el ADN puede ser extraído de cualquier organismo (Dowling T.E., Moritz, C., Palmer J.D., Rieseberg L.H, 1996). Desde entonces, los marcadores moleculares

Los loci de microsatélites son considerados codominantes, selectivamente neutrales, altamente polimórficos y con herencia mendeliana (Moritz C., y Hillis D.M., 1996). Debido a estas características han sido extremadamente útiles en estudios de análisis de parentesco, linaje, variación intraespecífica, hibridación de especies, dinámica poblacional, mapeo genético y fitogeografía (Moritz y otros, 1996; Chakraborty R., Kimmel M, 1999). Los microsatélites han sido utilizados también para evaluar el impacto del comportamiento reproductivo, la estructura social y la dispersión en poblaciones en peligro (Beaumont M.A., y Bruford, M.W. 1999). A nivel poblacional, el alto polimorfismo de los microsatélites es considerado consecuencia de nuevas mutaciones, deriva genética y selección de genes cercanamente ligados a sus repetitivas secuencias (Schlötterer C., Wiehe T., 1999). Los microsatélites han tomado la directriz en muchos estudios de genética poblacional debido a que (1) se han desarrollado cebadores de microsatélites para muchas especies y que son compatibles para especies emparentadas, (2) se conoce el mecanismo de recombinación de los microsatélites en el ADN nuclear, (3) en la última década se ha aumentado el estudio de microsatélites en múltiples especies con fines de conservación (4) los microsatélites son marcadores moleculares codominantes.

Los estudios de genética poblacional en meliponinos comenzaron con marcadores moleculares dominantes (RAPD y AFLP). Sin embargo, en la última década los estudios han avanzado con el desarrollo de los microsatélites. Hasta el 2010, se han desarrollado cebadores de microsatélites para ocho especies de abejas sin aguijón: *Melipona bicolor* (Peters JM, Queller DC, Imperatriz-Fonseca VL y Strassmann JE.1998), *Scaptotrigona postica* (Paxton RJ, Weisschuh N, Engels W y Quezada-Euán JG, 1999), *Trigona carbonaria* (Green CL, Franck P y Oldroyd P., 2001), *M. rufiventris* (Lopes DM, Silva FO, Salomao TMF, Campos LAO y Tavares MG, 2009), *M. seminigra merrillae* (Francini IB, Sforca DA, Sousa ACB, Campos T, Cidade FW, Zucchi MI, Souza AP, Nunes-Silva CG y Carvalho-Zilse GA, 2009), *Tetragonisca angustula* (Brito RM, Francisco FO, Domingues-Yamada AMT, Goncalves PHP, Pioker FC, Soares AEE y Arias MC. 2009), *Nannotrigona testaceicornis* (Oliveira EJF, Freitas GS, Fonseca AS, Sousa ACB, Campos T, Assis AF, Souza AP, Contel, EPB y Soares, AEE., 2009) y *M. mondury* (Lopes y otros, 2010).

3.7 Implicaciones de la variación genética en las poblaciones: flujo génico y conectividad genética.

Un aspecto fundamental de la biodiversidad es la variación genética de las poblaciones y especies. Así mismo, un aspecto fundamental en la conservación de la biodiversidad es conocer el estado de “salud genética” de las poblaciones, es decir si la variación genética esta distribuida en todas las poblaciones o si las poblaciones presentan un grado de endogamia. La endogamia es resultado de la ausencia de movimiento de genes entre poblaciones, por lo que la población experimenta un apareamiento selectivo no al azar. La tasa de movimiento de genes de una población a otra afecta de manera importante a las especies en términos evolutivos (Slatkin, M. 1994).

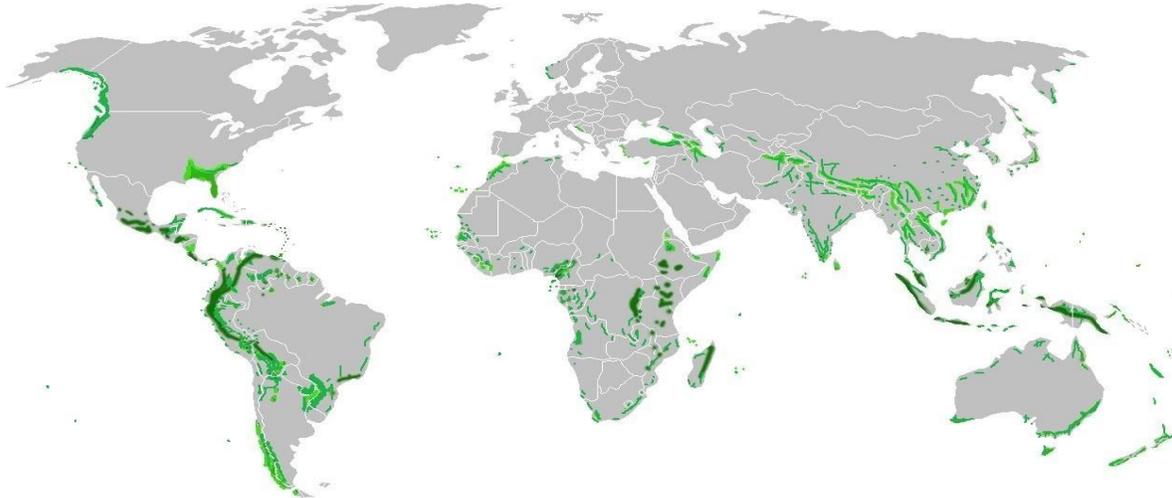
El flujo génico o migración se refiere a todos los mecanismos que resultan en el movimiento de genes de una población a otra y depende del número total de migrantes N_m (Slatkin, M. 1994). No obstante, el flujo génico no implica directamente una conectividad genética entre las poblaciones. La conectividad entre poblaciones es un concepto que se basa en la dispersión de los individuos en poblaciones discretas. Por lo tanto, esta conectividad está mermada por la capacidad de dispersión del organismo de estudio, y depende principalmente del número absoluto de dispersores entre las poblaciones (Lowe, W. H., & Allendorf, F. W. 2010). En el presente estudio la conectividad genética depende de las reinas de cada colonia. Por otro lado, la conectividad demográfica definida como el grado en que la dispersión está afectada por las tasas vitales y el crecimiento poblacional depende de las contribuciones relativas a las tasas de crecimiento poblacional de los dispersores vs. el reclutamiento local (supervivencia y reproducción de los residentes) (Lowe, W. H., & Allendorf, F. W. 2010). La conectividad demográfica es importante para el entendimiento de la biología poblacional básica (Gotelli 1991; Nichols y otros. 2000; Runge y otros. 2006) y para la sobrevivencia de las especies en sistemas con impactos antropogénicos (Kauffman y otros. 2004; Griffin & Mills 2009; Peery y otros. 2010).

3.8 Los bosques nubosos de Guatemala.

Los bosques nubosos neotropicales se caracterizan por la presencia persistente de nubes o niebla en movimiento, que aumenta la cantidad de humedad en la atmósfera y el volumen de agua depositada sobre la vegetación y el suelo. Típicamente, hay una banda de altitud relativamente pequeña en donde el ambiente atmosférico es más apto para el desarrollo de los bosques nubosos (Ver Mapa no.9). Éste se caracteriza por un rocío persistente o nubes a nivel de la vegetación, lo que resulta en una reducción de la luz solar directa y por consiguiente de la evapotranspiración (Foster, P. 2001).

Los bosques húmedos de montaña de Guatemala, mejor conocidos localmente como “bosque nuboso” han sido poco estudiados, a pesar de que representan los tipos de vegetación más afectados por el impacto humano durante los últimos 50 años (Islebe, G., y Véliz, M. 2001). Su origen y valor biológico hacen de estos bosques un sistema único dentro del estudio de biodiversidad de Guatemala, ya que en gran parte han dominado el paisaje de los sistemas montañosos de la Sierra de los Cuchumatanes y Sierra Madre. (Islebe, G. 1996). El bosque húmedo montano es un sistema frágil y la tala inmoderada ocasiona que estos bosques sean reemplazados por bosques de pino o fases sucesionales arbustivas (Islebe, G.A. 1993).

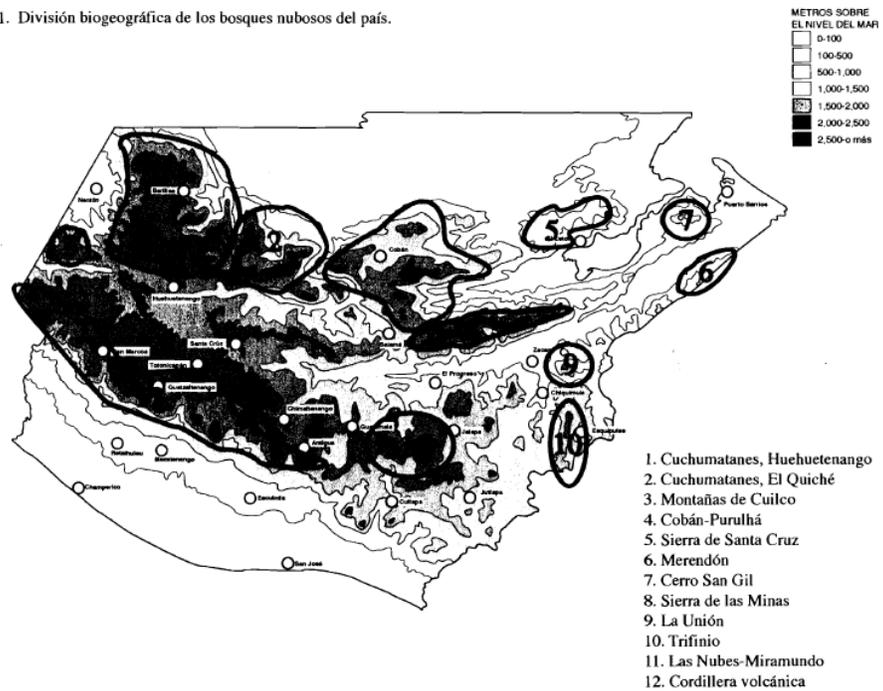
Un fenómeno frecuentemente encontrado en bosques nubosos es el endemismo, sea de flora o de fauna. El endemismo se puede observar de forma más pronunciada en los bosques nubosos que limitan inmediatamente con zonas relativamente secas. Por esta razón, este ecosistema ofrece una perspectiva diferente para su estudio, ya que funciona como una isla, donde sus organismos tienen relaciones intra e interpoblacionales producto de un pasado que originó la dinámica que observamos (Ver mapa no. 10) (Schuster, J. y otros. 2000).



Tomado de: Thyssen, M. (2010). Disponible en: <http://commons.wikimedia.org/wiki/User:Malene>

Figura no. 9 Distribución de los bosques nubosos, laurisilvas y enclaves de hábitat de nieblas.

Mapa 1. División biogeográfica de los bosques nubosos del país.



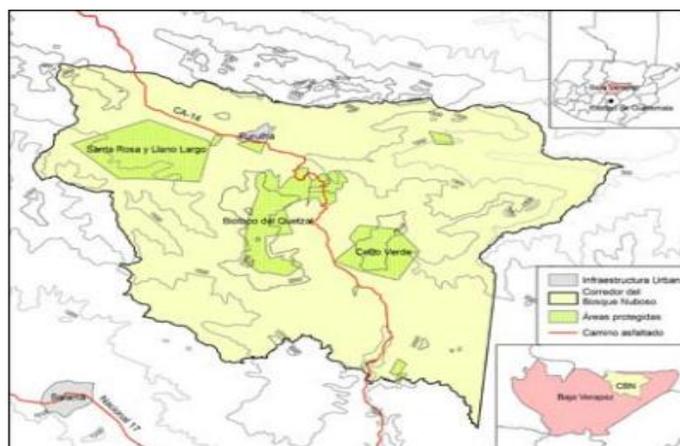
Tomado de: Schuster J, y otros. (2000).

Figura no. 10 Bosques nubosos de Guatemala.

3.8.1 El corredor del bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

El Corredor del Bosque Nuboso (CBN) se localiza en los municipios de Purulhá, Salamá y San Jerónimo, del departamento de Baja Verapaz (Mapa no. 11), entre 15.087° y 15.273° de latitud norte y entre 90.078° y 90.331° de longitud oeste (Jiménez, J. 2009). El CBN pertenece a la Región de las tierras Altas Cristalinas, que se extiende desde el norte de la depresión del Río Motagua hasta la depresión del Río Polochic, y se divide en la Sierra de Chuacús al oeste y norte y la Sierra de las Minas al sureste. La altitud varía desde los 450 msnm en la parte baja del río Panimá hasta los 2.340 msnm en el Cerro Quisís. Se encuentran dos montañas importantes: la Montaña de Santa Rosa dividida en los cerros Quisís y Carpintero; y el Cerro Verde. (Jiménez, J. 2009). En el CBN se encuentran parches grandes de bosque en la parte media y alta de las montañas, zonas por lo general cubiertas la mayoría del tiempo por nubes producto de la humedad proveniente del Caribe. El clima es muy húmedo, de tipo subtropical, con temperatura promedio de 18.1 °C, humedad relativa de 93.9% y precipitación anual promedio de 2.092 mm. Se encuentran cuatro zonas de vida según Holdridge: bosque subtropical muy húmedo, bosque muy húmedo montano bajo, bosque húmedo montano bajo y bosque subtropical seco (Jiménez, J. 2009).

De su total extensión (292.91 km²), únicamente el 12.4% se encuentra como área protegida. (Jiménez, J. 2009). Actualmente el CBN tiene una cobertura boscosa del 50%, teniendo diferentes usos del suelo como: cultivos, poblados, carreteras, ganadería, bosque secundario y bosque (Com. Pers. Eunice Enriquez.). Entre las principales amenazas a los bosques del CBN y los organismos que los habitan se encuentran: la extracción de madera y leña, los incendios producto de rozas mal ejecutadas, la extracción de plantas y animales y la expansión de la frontera agrícola, ya que esta es la principal actividad económica. Como producto de estos factores, se forman parches de bosques aislados uno de otros. Esto puede provocar en las especies endogamia y pérdida de la diversidad genética, consecuencia del aislamiento de poblaciones (Plan Maestro 1999).



Tomado de: Jiménez, J. 2009 INBIO.

Figura no.11 Ubicación del Corredor del Bosque Nuboso en Guatemala.

4. JUSTIFICACIÓN.

Se estima que en los últimos 20 años (de 1990-2010) Guatemala ha perdido más del 30% de la cobertura boscosa debido a la expansión de la frontera agrícola por la ganadería y agricultura de subsistencia (FAO, 2010; López-Carr y otros 2012). Así mismo, en las dos últimas décadas, la evidencia del declive mundial de abejas polinizadoras se ha acumulado dramáticamente (Winfree, 2010). Este declive es motivo de gran preocupación para la humanidad, ya que las abejas polinizadoras son responsables de la estabilidad y producción de más de 60% de los cultivos mundiales, valuados en 200 billones de dólares por año (Gallai y otros, 2009). Así mismo, aportan el beneficio de mantener la reproducción sexual de más del 85% de plantas con flores silvestres (Ollerton, J. 2011).

Los ecosistemas dependen de sus polinizadores nativos, y la fragmentación tiene un impacto negativo en las poblaciones de polinizadores; sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cual las características del paisaje afectan la demografía y diversidad genética de los polinizadores nativos y la conectividad de sus poblaciones (Jha y Kremen 2013). La deforestación y empobrecimiento en la calidad del hábitat podrían ocasionar el aislamiento de poblaciones resultando en cambio significativo de la riqueza y abundancia de especies de polinizadores, particularmente abejas solitarias y especialistas, que anidan por encima del suelo (Winfree, R. 2011). La falta de información sobre este tema es más evidente en los trópicos, donde la mayor parte de la flora es polinizada por animales (Bawa, 1990), de los cuales el 80% son insectos y 60% de estos son himenópteros (Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R. y otros, 2000).

La fragmentación, considerada una de las principales fuerzas que atentan contra la biodiversidad, implica para las abejas la reducción de sitios de anidamiento, especialmente para los meliponinos que anidan en cavidades de árboles con un diámetro característico de una sucesión vegetal madura o bosque (Brown, J.C., Albrecht, C., 2001). Por otro lado, si la fragmentación aumenta el recurso floral (ej. cultivos) puede tener un efecto positivo o negativo según el comportamiento de forrajeo del taxón, ya sea generalista o específico.

Partamona bilineata es una importante abeja nativa ya que es uno de los principales visitantes de flora silvestre y de cultivos de cucurbitáceas (güicoy, calabaza y melón) en la región del corredor del bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala. Al igual que la mayoría de Meliponinos, anidan en cavidades de árboles (Camargo, 1994; Kerr, W., Carvalho, G.A. & Nascimento, V.A. 1999). Por esta razón, aunque *Partamona bilineata* sea un polinizador generalista, podría verse afectado por la pérdida de sitios de anidamiento causado por la deforestación (Brown, J.C. y otros 2001). Al reducir la cobertura boscosa para agricultura se cortan árboles que contienen nidos, se destruyen las colmenas para extracción de miel o se quema el área y así disminuyen las posibilidades de sobrevivencia de la colonia de estas abejas (Kerr y otros, 1999).

Por estas razones, el desarrollo de el presente trabajo fue necesario para entender la distribución de la diversidad genética en el paisaje y la estructuración genética de la población de *P. bilineata* en un ecosistema importante por sus recursos naturales como lo es el Bosque Nuboso de Baja Verapaz. De esta manera, se espera contribuir a dar respuestas o llenar los vacíos en el conocimiento sobre la evolución, ecología, ecología del paisaje y la dinámica de *Partamona bilineata*.

5. OBJETIVOS

GENERAL

Determinar la diversidad genética y estructuración genética poblacional de *Partamona bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso, Baja Verapaz, Guatemala.

ESPECIFICO

Caracterizar la diversidad genética *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.

Determinar la estructuración genética y conectividad genética de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.

Discutir la relación entre la estructuración genética de las poblaciones de *Partamona bilineata* con la fragmentación del paisaje en el Corredor del Bosque Nuboso, Baja Verapaz, Guatemala.

6. HIPOTESIS

Existe una baja diversidad genética y una estructuración genética poblacional de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO

Población: Colonias de *Partamona bilineata* del corredor del bosque nuboso de Baja Verapaz.

Muestra: Obreras de *Partamona bilineata* colectadas sobre flores pertenecientes a diversas colonias en 6 sitios del corredor del bosque nuboso de Baja Verapaz.

7.2 MATERIALES

- **Colecta de especímenes**
 - Redes entomológicas.
 - Alcohol al 70%.
 - Frascos de almacenamiento.
 - Tubos de centrifuga con cianuro.
 - Tubos eppendorf.
 - Marcadores.
 - Pinzas.
 - Agujas de disección.
 - GPS.
 - Etiquetas.

- **Análisis genético en Laboratorio**

- **Reactivos**
 - Marcadores tipo microsatélites para abejas sin aguijón (Tabla no.1).
 - Taq polimerasa. Promega. 500u.
 - Cloruro de Magnesio. Promega. 7.5mM
 - dNTPS. Promega. 10mM
 - Buffer 10x. Promega.
 - Agua ultrapura grado molecular. BioLabs.
 - Escalera molecular ET-Rox 20-500 bp. GeneScan.
 - Chelex[®] 100. Promega.
 - Proteinasa K. Promega. 50ug/ml.

Tabla no. 1 Cebadores de Microsatélite utilizados para genotipificación de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.

Autores	Locus	Motivo	Secuencia 5'-3'	T_m (°C)	Tamaño del producto (bp)
Peters,J.M., Strassmann,J.E. , Queller,D.C. and Imperatriz- Fonseca,V.	Mbi254	(AAG) ₁₁	F: CAATCGTTGGAAGGGAAC R:GGACCTATACCCAAGTCCAT	55	184
Oliveira,E.J.F., Freitas,G.S., Fonseca,A.S., Sousa,A.C.B., Campos,T., Assis,A.F., Souza,A.P., Contel,E.P.B. and Soares,A.E.E.	Ntes70	(GT) ₁₃	F: CCATTGTAAGGAGCAATATC R: ATGTTATTACGTTTCGAGAG	55	220-280
Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada- Euán. 1999a.	T8-40	(CT) ₁₈	F: TCTCCGCTGCTTCCCAT R: CCCGGGATCCATTATATCGC	56	210- 290
Oliveira,E.J.F., Freitas,G.S., Fonseca,A.S., Sousa,A.C.B., Campos,T., Assis,A.F., Souza,A.P., Contel,E.P.B. and Soares,A.E.E.	Ntes-59	(AG) ₁₇	F: ATTCGTCAAAGTGAAAGCAC R:GAACTTGTTCCGTCATCTCTT	55	180-220
Peters,J.M., Strassmann,J.E. , Queller,D.C. and Imperatriz- Fonseca,V.	Mbi233	(GAA) ₁₅	F: ACGAGCACGGGCCATAA R: GATCCATCGACCGCTTCTT	56	270-310
Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada- Euán. 1999a.	T3-32	(CT) ₂₁	F: GCGGGAGGGAAAGTCCTCTCG R: CGTCTTCGTCAGGCGTGC	60	65-130
Paxton, R.J., N. Weißschuh &	T7-5	(CT) ₂₀	F: GAGAGAGTCGGAGAAGAGGGC	60	81-119

J.J.G. Quezada- Euán. 1999a.			R:TGGCGGAACCACTGGTCCG		
Green,C.L., Franck,P. and Oldroyd,B.P.	Tc4-287	(GAA) ₉	F: TCCACCGCGATACGATGGTAC R: GTAATACAACGCGGCTTCCTC	58	174

- **Equipo.**

- Centrifugadora refrigerada FastTempo® Eppendorf 5430R.
- Qiaxcel Advanced System de Qiagen QuiaGen- Electroforesis por capilares.
- Termociclador TT Profesional basic 96 gradient. Biometra.
- MegaBace 500-Genotipificador. Amersham biosciences.
- Pipetas eppendorf para Volumen: 2.5 uL, 20 uL, 100 uL, 200 uL, 1000 uL.
- Tubos eppendorf de 0.5ml, 1.5ml y 2.0 ml.
- Tubos para PCR de 0.5 ml.
- Placa para genotipificación PCR 96 pozos. AB-0800 bordeadas. Thermoscientific.
- Congelador -20º National Lab. MedLab.
- Vortex IKA. MS 3 basic.
- Balanza analítica Denver instrument. S1 2344. 0.01g – 230g.
- Epoch. Nanodrop- cuantificación ADN. Biotek instruments.
- Software Gen5. V1.10.8 Copyright © 2006-2010 Bio/Tek instruments Inc.
- Software QIAxcel® ScreenGel 1.10. 2010 QiaGen 2.0.
- Software MegaBace-Fragment Profiler v1.2. Copyright © Amersham biosciences 2003.
- Termo sellador de placas. Alps 50V.
- Hojas térmicas selladoras de placas.

- **Análisis de genética poblacional.**

- Software MSA version 1.2 (Dieringer,D. y Schlötterer, C. 2003)
- Software MicroCheker version 1 (Oosterhout, C., Hutchinson, W. Wills, D., Shipley, P. 2004)
- Software Paquete Estadístico R version 2.14.2 (Stevan Z. Knezevic, Jens C. Streibig, and Christian Ritz 2007).
- Software Colony version 2 (Jones, O., Wang, J. 2010).
- Software Structure version 2.3.4 (Pritchard, J. Stephens, M., Donnelly, P. 2000).
- Software Arlequin version 3.5 (Excoffier, L. and H.E. L. Lischer. 2010)

7.3 METODOS

7.3.1 Sitios de muestreo.

A partir de información geográfica satelital SIG, se determinaron 13 puntos de muestreo a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso, Baja Verapaz, Guatemala (Anexos: Figura no. 17; Tabla no. 6). Para este estudio se infirió que las colonias encontradas estaban distribuidas en un radio de 800m alrededor de cada sitio de muestreo, ya que Greenleaf y otros (2007) estimaron un radio de 800m (+/-200m) para el rango de vuelo del género *Partamona*. Esta estimación puede incurrir en algún error, por lo que la localización espacial de cada una de las colonias con su respectiva genotipificación puede resolver este problema.

En cada sitio, se colectaron 60 hembras obreras de *Partamona bilineata*, durante una caminata de aproximadamente 30 minutos en áreas con recurso floral, mediante una red entomológica de mano. Las colectas en cada sitio se realizaron en diferentes días para evitar la colecta de especímenes provenientes de una misma colmena. Los especímenes colectados se almacenaron y preservaron en alcohol al 70% para su transporte y manejo.

7.3.2 Identificación taxonómica.

En la Unidad de Uso y Valoración de la Biodiversidad se realizó la primera revisión de los especímenes colectados con la ayuda de la Lic. Mabel Vasquez, Lic. Jorge Merida y Lic. Eunice Enríquez. Posteriormente, en el Laboratorio de Zoología de la Universidad Martin Luther Halle-Weintenberg se realizó la identificación taxonómica de los especímenes colectados, utilizando un estereoscopio se identificaron los siguientes caracteres: corbícula en forma de cuchara, ausencia de pelos frontales interoculares y color café claro en el vientre. Los especímenes que presentaron las características anteriores se identificaron como *Partamona bilineata* y se almacenaron en viales de 3ml en un congelador a -20°.

7.3.3 Extracción

Se extrajo el ADN nuclear de las patas de los especímenes de *P. bilineata* en cada uno de los 6 sitios (Ver Tabla no. 2) utilizando el protocolo de Chelex[®] 100. Se elaboró una solución de Chelex a una concentración 5% con proteinasa K 50ug/ml y se incubó con el siguiente ciclo: 60 minutos a 55°C, 15 minutos a 99°C, 1 minuto a 37°, 15 minutos a 99° y pausa a 4°; utilizando un Termociclador[®] TT Profesional basic 96 gradient Biometra.

Posteriormente con un individuo de cada población se realizaron pruebas de amplificación y estandarización. Se determinó el porcentaje de polimorfismo para cada uno de los microsatélites (Anexos Tabla no.5). A los microsatélites se les añadió al extremo 5' un marcaje fluorescente. Se estandarizaron 3 multiplex para 9 loci (amplificación de varios microsatélites en una reacción de PCR). Los microsatélites utilizados y los volúmenes de los reactivos para la Reacción en Cadena de

la Polimerasa -PCR- se muestran en la Tabla no. 2. Una vez estandarizados, se amplificaron 8 microsatélites en cada uno de los individuos de las seis poblaciones.

Tabla no. 2 Multiplex de Microsatélites utilizados para la genotipificación de *Partamona bilineata*.

	Locus	Marcaje	Ta	Reactivo	Concentración	Volumen (uL)
Multiplex 1	Mbi 254	TET	53	H ₂ O ultrapura		3
				MgCl ₂	7.5 mM	0.2
	Buffer	5x		2		
	Cebador Mbi 254 F	10uM		0.27		
	Cebador Mbi 254 R	10uM		0.27		
	Ntes 34	FAM		Cebador Ntes 34 F	10uM	0.23
				Cebador Ntes 34 R	10uM	0.23
	Ntes 70*			Cebador Ntes 70 F	10uM	0.25
				Cebador Ntes 70 R	10uM	0.25
				dNTP's	100mM	0.2
Taq			5U/uL	0.1		
Multiplex 2	T8-40	TET	60	H ₂ O ultrapura		3.3
				MgCl ₂	7.5 mM	0.2
	Buffer	5x		2		
	Cebador T8-40 F	10uM		0.18		
	Cebador T8-40 R	10uM		0.18		
	Ntes-59	FAM		Cebador Ntes-59 F	10uM	0.2
				Cebador Ntes-59 R	10uM	0.2
	Mbi233	HEX		Cebador Mbi233 F	10uM	0.23
				Cebador Mbi233 R	10uM	0.23
				dNTP's	100mM	0.2
Taq			5U/uL	0.1		
Multiplex 3	T3-32	TET	62	H ₂ O ultrapura		2.88
				MgCl ₂		0.2
	Buffer			2		
	Cebador T7-5 F	10uM		0.27		
	Cebador T7-5 R	10uM		0.27		
	T7-5	FAM		Cebador Tc4-287 F	10uM	0.27
				Cebador Tc4-287 R	10uM	0.27
	Tc4-287	HEX		Cebador T3-32 F	10uM	0.27
				Cebador T3-32 R	10uM	0.27
				dNTP's	100mM	0.2
Taq			5U/uL	0.1		

El volumen total por Reacción fue de 10 uL, el ADN apporto 3 uL al volumen total. Ta: Temperatura de alineamiento en grados centígrados. dNTP's: nucleótidos fosfatados. Taq: polimerasa *Thermus aquaticus*.

*Cebador amplificado pero eliminado de los análisis debido al ligamiento con loci Mbi34.

7.3.4 Genotipificación

Con el objetivo de minimizar costos y recursos, además de comprobar si existe estructuración genética en las poblaciones dentro del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, primero se realizó la metodología de genotipificación y análisis de datos, que se describe a continuación. Con las poblaciones de los sitios de muestreo que se encontraban más lejanos -poblaciones 4A y 14 separadas por 23 km-. Se encontró un F_{st} de 0.035 entre dichas poblaciones, considerándose una diferenciación insignificante. Posteriormente, se genotipificaron las poblaciones más cercanas - 12A y 12B con 540 metros de separación- donde se encontró un F_{st} de 0.061, lo cual sugirió una baja estructuración genética a una escala espacial menor. Se genotipificaron dos poblaciones más a 6 km de distancia para tener una mejor visión de la estructuración (Figura no. 12) y no se prosiguió con la genotipificación de las demás poblaciones ya que carecía de sentido hacerlo al evidenciarse la ausencia de estructuración.

Para obtener el genotipo de cada individuo se realizó un análisis de tamaño de amplicón utilizando el equipo MEGABACE DNA Analysis System Copyright © Amersham Biosciences 2003. Para ello, en una placa de 96 pozos, se mezcló 2 uL del amplicón resultante del PCR con 0.1 uL de escalera molecular ET-ROX 500 en cada pozo, se aforo con agua de grado molecular hasta un volumen de 10uL. La placa se selló con una hoja térmica, en donde se anotó el nombre del sitio de colecta y el multiplex amplificado. El equipo MEGABACE DNA dió como resultado el tamaño de cada amplicón en pares de bases (bp) para cada longitud de onda de fluorescencia con el Software MEGABACE Fragment Profiler v2.2. Copyright © Amersham Biosciences 2003. A partir de los resultados, se realizó una base de datos en Excel 2007 con los genotipos (tamaño del fragmento en pares de bases) para los 8 microsatélites de cada uno de los individuos en las 6 poblaciones.

Con la base de datos de los genotipos se realizó un análisis a posteriori de desequilibrio de ligamiento con el Software Genepop on the web (Raymond M. & Rousset F, 1995). Con el software MICRO-CHECK (Oosterhout, C. 2004) se realizó un análisis para identificar los errores de genotipificación debidos a alelos no amplificados (alelos nulos), dominancia de alelos cortos (gran pérdida del alelo) y la cantidad de stutters (errores de polimerasa). También se estimó la frecuencia de alelos nulos y se ajustó las frecuencias alélicas y genotípicas de los loci amplificados, depurando así la base de datos genotípica para los análisis poblacionales posteriores. Se encontró que el microsatelite Tc-184 estaba ligado al microsatelite T8-40, por lo que se eliminaron los datos del primero del resto de análisis, quedando únicamente 8 loci (Tabla no.2).

7.3.5 Análisis de Datos.

Las colonias de los meliponinos eusociales, se comportan como un super-organismo, ya que las obreras comparten un mismo reservorio genético -alrededor de más de $\frac{3}{4}$ partes de material

genético- (Michener, C. 2000). Esta característica hace que las colonias sean identificables por los genotipos de las hembras forrajeras y por lo tanto son la unidad de estudio en un análisis de genética de poblaciones cuando tratamos con insectos sociales. Los individuos de *Partamona bilineata* que se colectaron en este estudio son hembras forrajeras, por lo que se determinó si provienen de una misma colonia con el software COLONY version 2 (Jones, O., Wang, J. 2010). Como resultado se obtuvieron los genotipos independientes en cada uno de los 6 sitios de muestreo (Figura no. 12), es decir el número de colonias presentes en cada sitio. Para cada una de las colonias, se eligió el genotipo de la reina, generado también por el software COLONY versión 2, y se eliminaron los genotipos de los individuos pertenecientes a la misma colonia. Los individuos pertenecientes a la misma colonia compartían al menos 6 genotipos ($\frac{3}{4}$) a lo largo de los 8 loci. Los genotipos de las reinas fueron los únicos que se utilizaron para los análisis genético- poblacional posteriores. Posteriormente, se estimó el número de colonias esperadas en cada sitio de colecta (Figura no. 12) por el método liberal de Cournet & Aries (1980) que se basa en la probabilidad de distribución del número de alelos sexuales en una muestra n con k alelos, asumiendo igualdad en las frecuencias de cada alelo; y por el método conservativo de Goulson (2005) "Trunc Poisson" que toma en cuenta la frecuencia de individuos por colonia para realizar una distribución de frecuencias de Poisson y así estimar el número total de colonias. Se graficó el número de colonias observadas y el número de colonias esperadas por los dos métodos utilizando el software R (Figura no. 1).

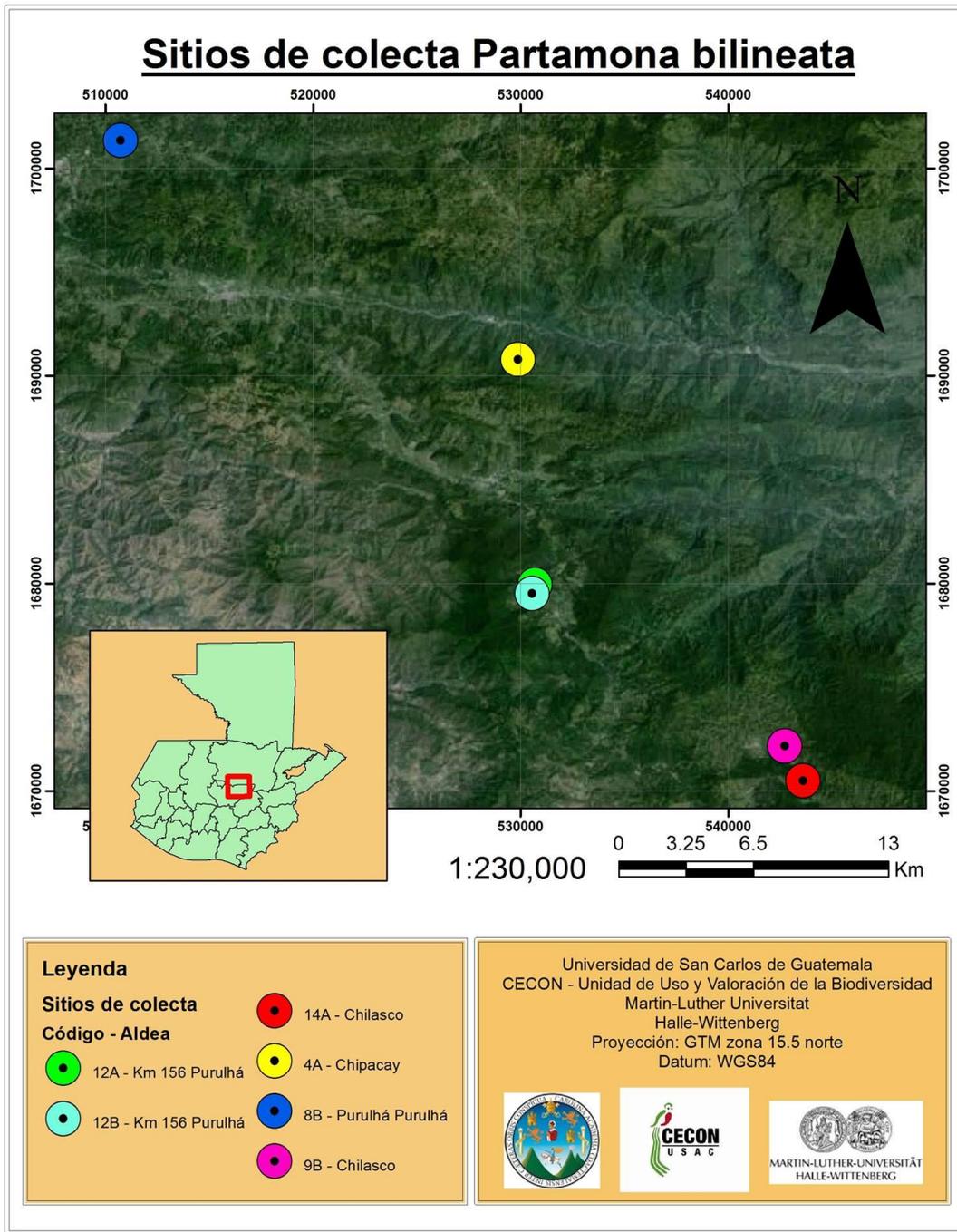


Figura no. 12 Mapa de Distribución de sitios con muestras Genotipificadas en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.

7.3.4. Análisis genético-poblacional.

7.3.4.1 Análisis de diversidad genética

Con los genotipos de cada reina en cada sitio se calcularon los descriptivos de la diversidad genética para los datos en general y para cada uno de los sitios de: riqueza alélica, heterocigocidad observada y esperada, número de alelos efectivos, el índice de información de Shannon, número de alelos privados en una sola población, número de alelos comunes locales por población. Así mismo, se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus por población (χ^2 para evaluar si la heterocigocidad observada es diferente de la heterocigocidad esperada según el modelo de equilibrio frecuencias alélicas $p^2+2pq+q^2$).

7.3.4.2 Estructuración genética

Posteriormente, se realizó un Análisis de CoVarianza (ANCOVA) con el objetivo de comprobar la diferenciación intrínseca entre los sitios, tomando en cuenta la covariabilidad de los loci y de las diferentes poblaciones entre sí por regresión lineal múltiple (modelo lineal de efectos mixtos). Se utilizaron como variables dependientes la heterocigocidad observada y riqueza alélica y como variables al azar los loci y las poblaciones. Posteriormente se realizó un ANOVA con los dos modelos de regresión y se escogió el de mayor ajuste. Este análisis se realizó con el software R 2.14.2 paquete NLME (Stevan Z. Knezevic, Jens C. Streibig, and Christian Ritz 2007) y se graficó la media y desviación estándar de la heterocigocidad observada y riqueza alélica en cada sitio con el paquete Lattice en R (Stevan Z. Knezevic, Jens C. Streibig, and Christian Ritz 2007).

Para analizar la estructuración genética y dilucidar si la variación es interpoblacional o intrapoblacional, se calcularon los índices de fijación F_{st} entre poblaciones utilizando el Software MSA 1.2 (Dieringer, D. y Schlötterer, C. 2003). Por otro lado, con los genotipos se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con el Software Arlequin 3.5 (Excoffier, L. and H.E. L. Lischer 2010), utilizando como parámetro R_{st} (índice de fijación para microsatélites). Con este mismo Software, se calculó el índice de fijación individual por subpoblación F_{IS} e índice de Fijación Total F_{IT} .

Con el software Structure (Pritchard, J. Stephens, M., Donnelly, P. 2000) se puso a prueba la hipótesis de la existencia de seis grupos (K) genéticamente diferenciados entre sí pero homogéneos dentro, $k=6$. Para ello, primero se calculó el número de estos (K) según los genotipos obtenidos. Para esto se utilizó un logaritmo bayesiano ΔK , basado en la tasa de cambio de la probabilidad de alcanzar la K real de forma sucesiva en las cadenas de simulación de un modelo bayesiano. Cuando se está cerca a la real K, el incremento de probabilidad se estanca produciendo un pico que facilita el reconocimiento del más probable K (Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. 2005). Posteriormente, el programa realiza un análisis de asignación de genotipos y su probabilidad de pertenencia según el número de grupos (K) encontrados con el software

Structure. Se representaron los resultados utilizando un gráfico de barras que muestra la probabilidad por individuos.

Con el programa estadístico R 2.14.2 paquete Vegan (Stevan Z. y otros 2007) se realizó una prueba de mantel, para analizar la relación entre las distancias genéticas (F_{ST}) versus las distancias geográficas entre los sitios. Las distancias geográficas entre pares de poblaciones se calcularon con la herramienta Distance en Quantum GIS 2.4, la cual arroja distancias elipsoidales en grados con el logaritmo $K \cdot N \times 3$.

8. RESULTADOS

Se encontraron un total de 128 colonias distribuidas en los 6 sitios genotipificados (Fig. 13). El sitio 4A presentó la menor cantidad de colonias y también el menor de individuos procesados (Anexos: Tabla no.6). Se encontró una mezcla de genotipos pertenecientes a 12A y 12B en una misma colonia, lo cual indica que el sitio 12 se comporta como una misma población/grupo de colonias. El sitio 8B, que se encuentra en Purulhá, presentó el mayor número de colonias. En general, el esfuerzo de muestreo casi logró la captura del número de colonias esperadas (Fig. 13); la mayor diferencia entre las colonias observadas-esperadas se obtuvo en el sitio 12B con un valor de 4.

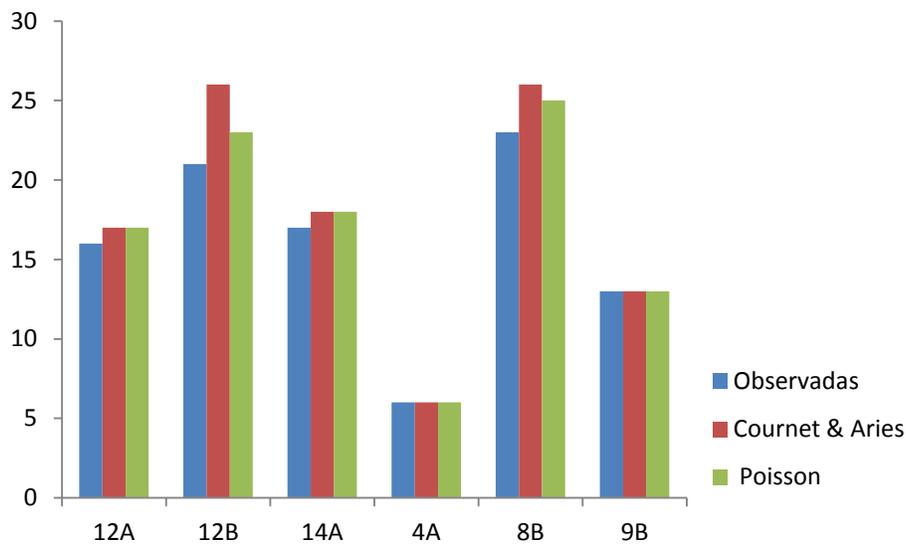


Figura no. 13 Número de colonias observadas y esperadas en cada población genotipificada de *P. bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV. Las barras representan el número de colonias observadas y esperadas según dos métodos de estimación.

8.1 Análisis de diversidad genética

En este estudio para *P. bilineata* se encontró que la riqueza alélica promedio (AR) (número de alelos promedio para todos los loci por población) para todos los sitios es de 8 alelos (Figura no.13). En todos los sitios, al menos 3 alelos mostraron frecuencias mayores a 5%. La diversidad genotípica (Índice de Shannon Figura no.13) osciló entre 1 y 2 a lo largo de todos los sitios. La heterocigicidad promedio observada fue de 0.45, indicando que casi la mitad de los genotipos en un sitio son heterocigotos. El análisis de equilibrio Hardy-Weinberg (χ^2 heterocigicidad observada vs. heterocigicidad esperada) mostró valores de similitud estadísticamente significativos para todos los sitios y loci sugiriendo la existencia de un equilibrio; con excepción de

la población 4A y loci Mbi 233 en sitios 12B, 14A, 8B; Ntes 59 en sitio 12A; T7-5 en sitio 14A y T8-40 en sitio 9B (Anexos: Figura no.7).

Los datos de Riqueza alélica (AR) y heterocigicidad observada (Ho) no están correlacionados (R^2 0.0333). La población 9B presentó la menor riqueza alélica y menor heterocigicidad, mientras que las poblaciones 12A y 8B presentó la mayor riqueza alélica y heterocigicidad observada (Figura no.3).

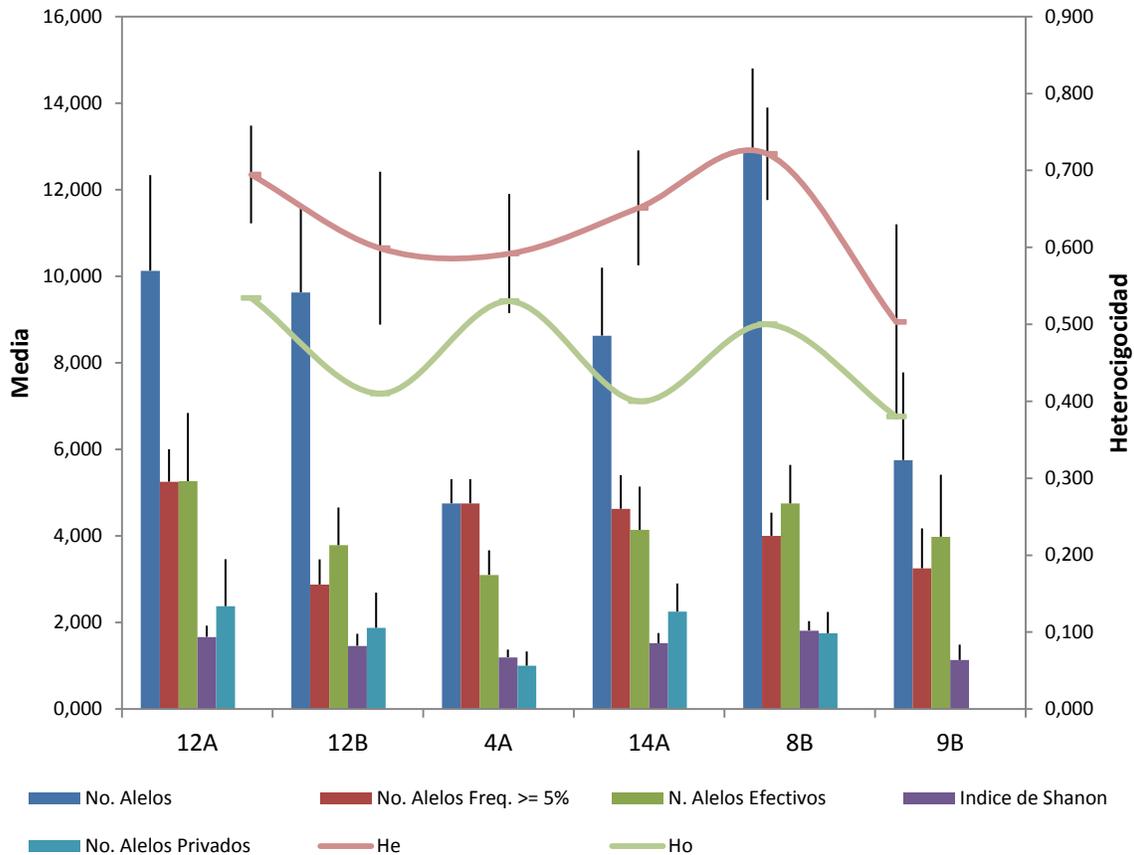


Figura no. 14 Patrones alélicos poblacionales de *P. bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso, BV. La riqueza alélica (AR) está representada por el número de alelos en promedio para todos los loci (barra azul). Únicamente el número de alelos con frecuencia mayor o igual al 5% se representan (barra roja). El número de alelos efectivos representa el número de alelos iguales en frecuencia que se requieren para mostrar la heterocigicidad como se muestra en el arreglo de alelos con representación desigual (barra verde). La diversidad de Shannon representa la diversidad genotípica encontrada (barra morada). El número de alelos privados muestra el número de alelos únicos a una población (barra turquesa). La heterocigicidad esperada se calculó a partir del cálculo $2pq$ para el modelo Hardy-Weinberg (Línea rosada en la parte superior). La heterocigicidad observada se muestra en una línea verde. Las líneas verticales muestran la varianza intrapoblacional.

Los análisis de covarianza mostraron que no hay diferencias entre las poblaciones aún eliminando la varianza de las covariables loci y población para las variables dependientes riqueza alélica y heterocigocidad (riqueza alélica-población p 0.6818; riqueza alélica-loci p 0.622; heterocigocidad observada-población p 0.06; heterocigocidad observada-loci p 0.232) (Anexos: Figuras 19-22). Por lo tanto, este análisis indica que las poblaciones no difieren en cuanto a la riqueza alelica y heterocigocidad.

8.2 Estructuración y Conectividad genética

El índice de Fijación poblacional F_{st} no evidenció una diferenciación genética poblacional marcada entre sitios. El sitio 9B (situado en Chilascó) mostró una diferenciación moderada al compararla con las demás y tiene los valores más altos de F_{st} , el resto de poblaciones mostraron una diferenciación genética muy baja (Tabla no.3).

Aportando más evidencia a este hecho, la proporción de alelos compartidos muestra que en promedio se comparte el 50% de los alelos en todas las poblaciones (Tabla no.3), lo cual sugiere que hay flujo génico entre las poblaciones y una baja estructuración poblacional. Sin embargo, la población 8B y 12A comparten únicamente el 20% de sus alelos. Debe mencionarse que estas últimas dos poblaciones soportan la mayor riqueza alélica (Figura no.13).

Tabla no. 3 Matriz de parámetros de estructuración poblacional: Índice de Fijación Estructural F_{st} y Proporción de Alelos Compartidos –POSA-

$F_{st} \setminus$ POSA	12A	12B	4A	14A	8B	9B
12A	-	0.457	0.519	0.508	0.475	0.608
12B	0.050	-	0.543	0.420	0.289	0.675
4A	0.061	0.089	-	0.641	0.597	0.757
14A	0.043	0.034	0.092	-	0.483	0.636
8B	0.046	0.044	0.108	0.043	-	0.68
9B	0.184	0.208	0.263	0.180	0.122	-

Wright (1978) propuso que los valores $F_{st} \geq 0.25$ indican una fuerte diferenciación entre poblaciones; F_{st} 0.15-0.25 indican una diferenciación moderada mientras que la diferenciación es insignificante si es menor a 0.05.

El Análisis de Varianza Molecular –AMOVA- también evidenció que no hay estructuración genética entre las poblaciones, ya que únicamente el 18.20% de la varianza se encuentra distribuida entre las poblaciones, mientras que el 81.8% de la variación está distribuida entre los individuos dentro de las poblaciones y entre los individuos con respecto al total de la población (Ver Tabla no. 4). El índice de Fijación de los individuos entre las subpoblaciones $F_{IS} = 0.599$, p 0.001 (después de 108 permutaciones) al ser positivo muestra una deficiencia de heterocigocidad en los individuos. El índice de fijación global $F_{IT} = 0.673$, p 0.002, nos informa acerca endogamia de un individuo en relación a la población total, ya que al desviarse de 0 (panmixia) representa que los individuos mantienen una homocigocidad en relación al resto de la población.

Tabla no. 4 Análisis de Varianza Molecular de *P. bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.

El método de distancia es la suma de la diferencia cuadrada en el tamaño de R_{st} (análogo de F_{st} exclusivo para microsátelites).

Fuente de Variación	d.f.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	% de variación
<i>Entre las poblaciones</i>	5	71847.33	311.49 Va	18.20
<i>Entre individuos dentro de las poblaciones</i>	115	257530.09	839.481 Vb	49.05
<i>Entre individuos</i>	121	67812.00	560.43 Vc	32.75
Total	241	397189.41	1711.40	

Se corroboró la correlación entre la diferenciación genética (F_{st}) y la distancia geográfica entre poblaciones mediante un test de mantel (Figura no. 15), mostrando un R^2 0.207 sin significancia ($p=0.206$), lo que significa que la diferenciación genética entre las poblaciones no está influenciada por la distancia geográfica que existe entre las mismas.

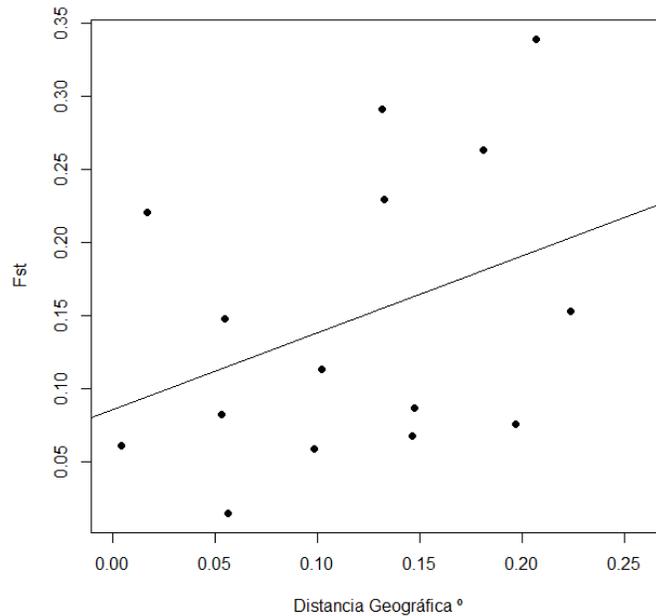


Figura no.15 Prueba de Mantel para datos genotípicos poblacionales de *P. bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala, BV. La distancia geográfica (eje x) se muestra en una distancia elipsoidal en grados. La distancia genética (eje y) se muestra con valores de 0-1 correspondientes al índice de Fijación F_{st} . La línea muestra la correlación hipotética entre las dos variables, como se observa los puntos se dispersan lejos de la línea lo que indica que los datos no se adaptan al modelo de correlación lineal.

El análisis de agrupación de individuos en la población (Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J. 2005) mostró dos grupos $k=2$ (Figura no. 16) al contrario de los seis grupos propuestos en la hipótesis de 6 sitios representando 6 grupos diferentes. Por lo tanto, el análisis de asignación de genotipos se realizó para los dos grupos detectados. Se evidencia claramente que el primer grupo (k_1) contiene con mayor probabilidad los genotipos de los sitios 12A, 12B, 4A, 14A y 8B (Figura no. 17). Los genotipos de todos estos sitios tienen un 85% de similitud. Por otro lado, el sitio 9B presenta mayormente genotipos del otro grupo (k_2), con solo 23% de sus genotipos perteneciendo al primer grupo (k_1). Esto demuestra una leve diferenciación genética en el sitio 9B y sugiere cierto grado de conectividad genética con el resto de sitios, ya que aunque la mayoría de los genotipos que se encontraron en el sitio 9B pertenecen al segundo grupo (k_2) también se encuentran genotipos pertenecientes al primer grupo (k_1) (Figura no. 17).

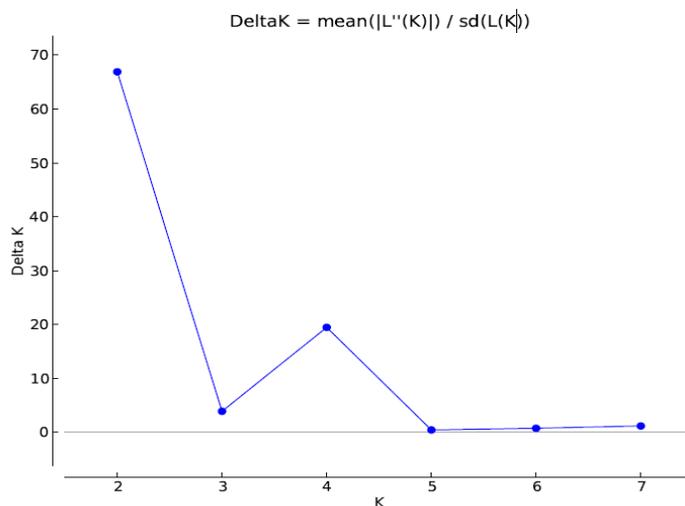


Figura no. 16 Determinación de grupos genéticamente homogéneos (k) según genotipos de *P. bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso, BV. Se observa que un $K=2$ tiene una mayor tasa de cambio (Delta K) en la probabilidad logarítmica de los datos genotípicos.

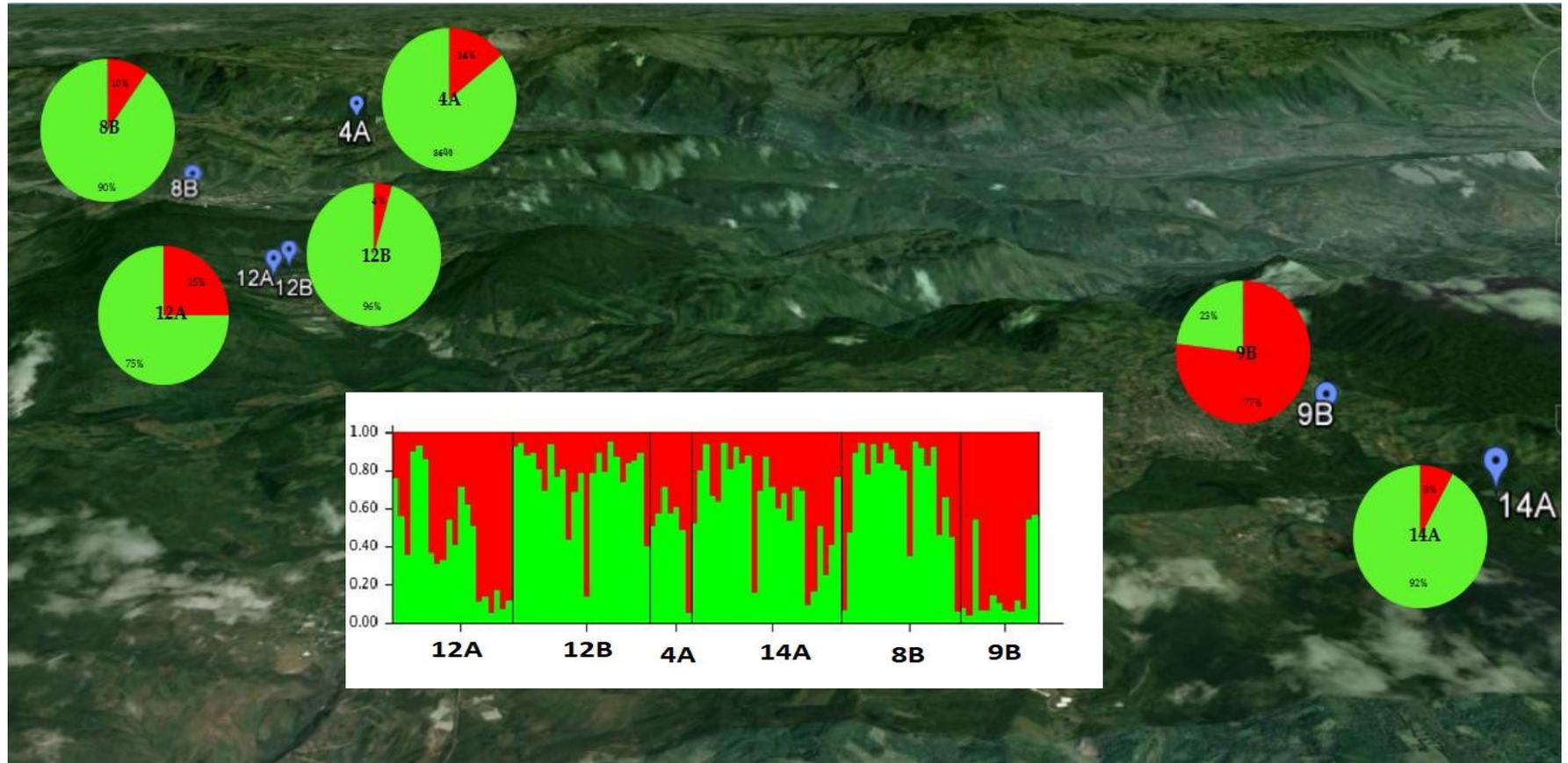


Figura no. 17 Análisis de asignación de genotipos de *P. bilineata* por sitio a dos grupos genéticamente homogéneos (k).

Los grupos genéticamente homogéneos (k) se diferencian por el color: grupo verde (k_1) y grupo rojo (k_2). Para cada sitio se estimó el porcentaje de genotipos que pertenece a cada grupo (k), expresándose en un gráfico de pie. Por ejemplo, en el sitio 12B 96% de los genotipos encontrados mantienen un 85% de similitud agrupándose con el (k_1) verde, mientras que 4% de sus genotipos mantienen un 85% de similitud y se agrupan en el (k_2) rojo. El gráfico de barras (abajo centro) muestra la probabilidad (eje y) de cada individuo con su respectivo genotipo (eje x) de pertenecer al grupo verde (k_1) o al grupo rojo (k_2). La probabilidad de cada individuo observada en el gráfico de barras fue utilizada para calcular el porcentaje de pertenencia a cada grupo (k).

9. DISCUSIÓN

La alta diversidad genética de *Partamona bilineata* junto con la baja estructuración genética entre los sitios muestreados en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz sugiere que existe conectividad genética, lo cual podría deberse a la posible existencia de flujo génico entre los mismos. Esto es apoyado por el parentesco entre colonias y la existencia de grupos genéticamente homogéneos observados a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.

9.1 Densidad de Colonias

El esfuerzo de muestreo que se realizó en los 6 sitios del Corredor del Bosque Nuboso de BV (60 abejas forrajeras) recuperó en promedio el 94% de las colonias esperadas en cada sitio (Fig.13), aún con estimaciones de las colonias esperadas por métodos conservativos como Poisson. La determinación de número de colonias a *posteriori* utilizando los genotipos de las abejas capturadas, ofrece una alternativa para estudios en lugares donde es muy difícil la localización de las colonias. No obstante, es importante la localización de las colonias para evaluar el sustrato de nidificación y el tipo de hábitat donde ocurre *P. bilineata*, para conocer las diferencias entre las entradas nidos y número de obreras por colonia. Se ha reportado que estas características cambian según la diversidad de otras abejas en el sitio y la amenaza que esta diversidad representa para la colonia (Couvillon, M., Wenseleers, T., Imperatriz-Fonseca, T.L., Nogueira-Neto, P y Ratnieks, F. 2008).

El sitio 12B- Finca La Cabaña Purulhá junto con el sitio 8B-Purulhá presentan la mayor cantidad de colonias en comparación al resto de sitios (Fig. 13). Estos sitios, se encuentran en poblados (8B) o muy cercanos a estos (12B) que tienen fragmentos de bosque cercano como es el Cerro de la Cruz y Cerro Verde respectivamente (Figura no. 12). Eltz, T., Brühl, K., van der Kaars, S. y Linsenmair, K. (2002) encontraron que el factor que determina la densidad de colonias en diversas especies de meliponinos es principalmente la disponibilidad local de recursos florales, al haber una correlación positiva entre las diferencias entre recursos polínicos y densidad de nidos. Además encontraron que los meliponinos se benefician del efecto de borde ya que incrementa la diversidad de hábitat para forrajeo. Las prácticas comunitarias observadas a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz ofrecen un recurso floral para el forrajeo de abejas (Com. Pers. Enriquez, E. 2013). Los huertos familiares, jardines de patio y vegetación secundaria para delimitación de terrenos (cercos vivos) poseen flores con néctar rico en azúcares, que ofrece una recompensa para el servicio de polinización de *Partamona bilineata* y otras abejas (Armas, G. 2014). En la última década, se ha acumulado evidencia de la importancia de las prácticas comunitarias nativas en el manejo de los ecosistemas, ya que además de incluir a los habitantes de la región como actores de la conservación y permitir la regeneración del suelo con especies nativas, se ofrece un recurso para especies claves como los polinizadores y dispersores (Toledo, M. 2004; Fabricius, C., C. Folke, G. Cundill, y L. Schultz. 2007; Diemont y otros, 2013) inclusive en temporadas donde la floración en el bosque es baja (Enriquez, E. 2013).

Varios estudios resaltan la importancia de las prácticas nativas para el mantenimiento de la biodiversidad. Por ejemplo, estudios en la península de Yucatan también evidencian la importancia de las prácticas mayas para el mantenimiento y sucesión del bosque (Diemont y otros, 2013).

En los sitios estudiados, no se encontraron diferencias en cuanto al número de colonias. Eltz y otros (2002), encontraron que la densidad de colonias de Meliponinos es mayor (8 colonias/ha) en fragmentos de bosque aledaños a cultivos o vegetación secundaria en comparación a bosque continuo. Batista, M., Ramalho, M. y Soares, A. (2003) compararon las distribuciones de las colonias de Meliponini (n=137) en 3 hábitats heterogéneos: Bosque maduro, Bosque en recuperación y Bosque empobrecido; en 11.5 ha del Bosque Lluvioso del Atlántico, Bahía, Brasil. El género *Partamona* representó el 9% del total de colonias de meliponinos, encontrándose en los 3 hábitats. Por esta razón se puede explicar las cantidades similares de colonias en sitios con cobertura boscosa y en sitios con algún grado de impacto antropogénico encontrados en este estudio. Por lo tanto, los datos encontrados sugieren que *Partamona bilineata* no depende totalmente del bosque para sitios de anidamiento, ya que la cobertura boscosa en el corredor del Bosque Nuboso de BV aún ofrece árboles para anidamiento y recurso polínico en sitios con algún grado de perturbación (pueblos, cultivos, granjas etc).

El análisis de agrupación de genotipos pertenecientes a una misma colonia (Software Colony versión 2) agrupo genotipos pertenecientes a colectas en los sitios 12B Finca Santa Teresa-Purulhá y 12A Finca La Cabaña-Purulhá, lo cual sugiere que estas dos poblaciones se comportan genéticamente como una, debido a la cercanía de los sitios (540m). La agrupación de genotipos de diferentes sitios de colecta en una misma colonia también se observó con sitios que estaban lejanos: los sitios 4A-Chipacay y 8B-Pueblo de Purulhá con una distancia euclidiana 5.8 km. Este hallazgo evidencia que hay genotipos similares encontrados a distancias más grandes que el rango de vuelo reportado para el género *Partamona*.

Este hallazgo se atribuye principalmente al movimiento de los machos en la Tribu Meliponini, que tienen distancias de vuelo más largas en comparación a las hembras. Por lo tanto, se cree que representa un mecanismo para evitar la endogamia (Cameron, E.C., Franck, P y Oldroyd, B.P. 2004). Cameron, E.C y otros (2004) realizaron un análisis genético con 8 microsatélites a 3 machos tomados al azar en una congregación de *Trigona collina* (Apidae: Meliponini) y demostraron que los machos no tenían relación de parentesco con colonias cercanas al lugar de agregación. Además, los genotipos de los machos se encontraban en 132 colonias distribuidas a lo largo del sitio de estudio (Chanthaburi, Thailandia). Powel y otros (1984) sugieren que esto es debido a que los machos forman agregaciones al momento de la reproducción con la reina y dichos machos provienen de diferentes colonias con genotipos diferentes a la reina de la colonia con la que se aparean.

En el presente estudio para *Partamona bilineata*, se observa un patrón similar donde algunos genotipos son similares y provienen de sitios diferentes y distantes, por lo que el análisis de

maternidad y hermandad de hembras agrupa a dichos genotipos similares en una colonia. Este fenómeno conforma la primera evidencia de la alta conectividad genética, sugiriendo un posible flujo génico entre las poblaciones de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de BV, lo cual puede ser atribuido al movimiento de los machos en la reproducción de las colonias como un mecanismo para evitar la homocigocidad. Sin embargo, estudios más específicos en el cual se analice la dispersión del cromosoma Y y la información maternal son necesarios.

9.2 Diversidad genética de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.

El primer descriptivo de la diversidad genética es el número de alelos y su respectiva frecuencia. Como se mencionó en promedio se encontraron 8 alelos en promedio y 9 alelos por cada loci (Fig. 14). Francisco, F. Brito, R. y Arias, C. (2006) encontraron en promedio 3 diferentes alelos en *Partamona mulata* y *Partamona helleri* utilizando microsatélites específicos de *Melipona bicolor*; y 5 alelos en promedio utilizando microsatélites específicos de *Scaptotrigona postica* donde varios de ellos fueron monomórficos. Estos microsatélites también fueron utilizados para *Partamona bilineata* en el presente estudio (Tabla no. 2 y 5) y en comparación se encontraron en promedio mayor número de alelos en los diferentes sitios de muestreo y loci.

Nei (1987), en un estudio realizado con chimpanzes demostró que hay una correlación entre el número de alelos detectados y el número de individuos analizados al aumentarse la probabilidad de detección. Esta relación podría explicar el número menor de alelos encontrados en el Sitio 4A-Aldea Chipacay- ya que se trabajó con un menor número de abejas obreras (Fig.14). Así mismo, el sitio 9B-Pueblo Chilascó- también mostró heterocigocidad y riqueza alélica baja en comparación al resto (Fig. 14) indicando cierto grado de endogamia en el sitio. Sin embargo, el análisis de covarianza para la heterocigocidad observada y la riqueza alélica indica que no hay diferencias significativas entre los sitios de muestreo (Anexos Figura 19-22), lo cual sugiere que la diferenciación del sitio 9B es leve.

Alrededor del 50% de los genotipos de cada sitio son heterocigotos para todos los loci analizados (H_o promedio: 0.46) (Fig.14). *Partamona bilineata* muestra alta heterocigocidad en comparación a otros estudios: *Partamona helleri* ($H_o=0.122$) por Borges, A. y otros 2010 en Minas Gerais State, Brasil; *Partamona mulata* ($H_o= 0.16$) y *Partamona helleri* (0.17) por Brito y otros (2006) quien utilizó 5 de los loci utilizados para este estudio; *Partamona seridonensis* ($H_o=0.259$) por Fernandes, C. (2012); *Melipona bicolor* ($H_o=0.40$) por Peters y otros., 1998); *Plebeia remota* ($H_o = 0.24$) por Francisco y otros., 2006; *Melipona rufiventris* ($H_o = 0.07$) y *Melipona mondury* ($H_o = 0.12$) por Tavares y otros., 2007.

Se encontraron alrededor de 2 alelos privados en cada sitio de muestreo, es decir alelos exclusivos del sitio. Esto demuestra que al menos el 75% de alelos se comparten entre sitios, lo cual indica un movimiento de alelos entre poblaciones. En concordancia, el índice de diversidad de Shannon (Fig. 14) es similar a lo largo de los diferentes sitios de colecta, lo cual sugiere un pool genético en común entre las poblaciones (Sherwin y otros 2006; Rossetto y otros, 2008).

En general, se encontró que no hay diferencia significativa (equilibrio Hardy-Weinberg) entre la heterocigocidad observada (H_o) y la esperada (H_e) a lo largo de los 8 loci utilizados (Anexo Tabla no.7) para la mayoría de los sitios estudiados en *Partamona bilineata* (Fig.14). En concordancia, Fernandez, C. y otros (2012) encontraron poblaciones de *Partamona seridonensis* en equilibrio Hardy-Weinberg que se encontraban a 64 km de separación, más del doble de distancia para el presente estudio (Anexos Fig.18). No obstante, con el análisis de χ^2 se observó que en el sitio 4A -Aldea Chipacay- hay diferencias entre H_o y H_e para los 8 loci utilizados (Tabla no.7), posiblemente el bajo número de individuos genotificados modelen esta observación.

El equilibrio entre H_o y H_e sugiere que hay un apareamiento al azar entre las abejas reinas y los machos de diferentes colonias a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de BV; por lo tanto no se esperaría que el apareamiento selectivo, mutación, deriva génica estén afectando las frecuencias alélicas de las colonias. Este hallazgo es de suma importancia para *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de BV, ya que indica que las poblaciones mantienen un grado de "salud genética" y son capaces de contrarrestar los efectos negativos a los cuales pueden estar sujetos y les provee de resistencia a los posibles cambios drámaticos que puedan ocurrir en su ambiente, como por ejemplo la pérdida de hábitat por deforestación.

Por todo lo anterior, se resalta que *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de BV presenta una alta variabilidad genética. Esto puede ser posible gracias a los mecanismos que tienen las abejas sin aguijón para evitar la endogamia (e.j. mayor movilidad de los machos, reconocimiento de parientes por hidrocarburos cuticulares similares (Smith, BH y Ayasse, M. 1987)), ya que son particularmente susceptibles a la pérdida de variabilidad genética debido al sistema haplodiploide para la determinación del sexo (Pamilo y Crozier 1997; Chapman y Bourke 2001).

9.3 Estructuración génica de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso, BV.

Partamona bilineata en el Corredor del Bosque Nuboso de BV muestra variabilidad genética y heterocigocidad en equilibrio (Fig.14), por tanto no se observa una estructuración genética marcada entre los sitios de estudio (Tabla no.3). En cambio se observa conexión genética entre poblaciones. Los índices de F_{st} entre pares de sitios oscilaron desde 0.043-0.263, indicando una diferenciación genética de suave a moderada, siendo esta última únicamente en el sitio 9B-Pueblo de Chilascó (Tabla no.3).

Los índices F_{st} pueden estar modelados por los detalles de la biología e historia de cada especie. En estudios que contemplan una menor área geográfica se puede esperar menor diferenciación medida como F_{st} que en estudios que abarcan un área muy grande (Roseberg, L.H 2001). La falta de correlación entre las distancias geográficas y las distancias genéticas (F_{st}) de *P. bilineata* mostró que la estructuración genética no está modelada por la distancia entre los sitios de muestreo en el Corredor del Bosque Nuboso de BV (Fig.15). Este hallazgo pone de manifiesto que *Partamona bilineata* puede mantener una variabilidad genética homogénea en escalas geográficas de al

menos 23 km, lo cual es asombroso para una abeja de tan pequeño tamaño. Valores similares de F_{st} se han encontrado aún en escalas geográficas más grandes para el género *Partamona*. Fernandes, C. (2012) para *Partamona seridonensis* encontró un valor insignificante de estructuración genética (F_{st} 0.039) entre sitios distantes (60 km). Brito, R. (2005) encontró valores similares a *P. bilineata* (0.020-0.3496) en poblaciones de *Partamona helleri* con distancias entre sitios desde 15m a 18 km. Valores aún más bajos (F_{st} 0.019-0.085) se encontraron para *Partamona mulata* en nidos localizados a 54 km de distancia, sugiriendo que la distancia genética no presenta relación con la distancia geográfica.

El índice de Fijación total de Individuos en la población (F_{IT} = 0.374) al igual que el índice de Fijación de Individuos en las subpoblaciones (F_{IS} =0.244) representan un valor de endogamia bajo de los individuos en la población total y de los individuos en las subpoblaciones respectivamente por lo que describe la existencia de una gran variabilidad genética y baja estructuración genética de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.

La baja estructuración genética encontrada en *P. bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de BV es apoyada con la proporción de alelos compartidos entre los sitios de colecta (Tabla no.3), ya que se comparten más del 50% de alelos entre los sitios, lo cual sugiere intercambio de alelos entre poblaciones por un apareamiento al azar. En concordancia, el análisis de varianza molecular muestra la baja estructuración poblacional, ya que únicamente el 18% de la varianza esta presente entre las poblaciones (Tabla no.4). Este porcentaje es reflejo de la diferencia entre la heterocigocidad del sitio 9B-Pueblo de Chilascó en comparación al resto de sitios. La variabilidad genética de *Partamona bilineata* está representada entre los individuos, es decir entre todas las colonias y no entre las colonias en cada sitio de muestreo como se observa en el análisis de varianza molecular (Tabla no. 4).

Estos resultados concuerdan con lo encontrado en otros estudios genético-poblacionales para el género *Partamona*, donde la variación mayoritariamente se encuentra entre los individuos (97% para *Partamona seridonensis* a una escala de 60 km en Caatinga, Brasil). Esta variación entre las colonias de *P. bilineata* representa una fuerza de resiliencia ante posibles cambios abruptos que puedan ocasionar un aumento en la homocigocidad de las poblaciones (cuellos de botella). Es decir, cambios abruptos podrían eliminar un gran número de los genotipos. Sin embargo, la presencia de alta variación genética actúa como fuente de genotipos que podrían ser seleccionados y consecuentemente adaptarse favorablemente a los cambios.

Por otro lado, la baja estructuración poblacional se puede deber al nicho ecológico generalista que tiene *Partamona bilineata*. Este carácter generalista promueve la baja diferenciación genética poblacional en muchas especies, ya que no tienen especificidad por un recurso. Zayed, A. y otros (2005) encontraron que las abejas especialistas y solitarias mostraban una mayor diferenciación genética y menor variabilidad genética en comparación a las abejas eusociales y generalistas, haciéndolas más susceptibles a extinción por efectos demográficos y razones genéticas. Cane,

J.H. 2001 resaltó la importancia de las abejas sin aguijón (Meliponini) eusociales y generalistas en la polinización de plantas pioneras y plantas características de una vegetación secundaria. Además, se ha determinado que las especies generalistas que mantienen interacciones mutualistas contribuyen de mejor manera a la regeneración de los bosques por su tolerancia a la fragmentación (Reis, A. y Tres, D. 2004; Reis, A. y Kageyama, P. 2003; Meli, P. 2003). Ante la crisis de polinizadores a nivel mundial, se estima que las especies generalistas salvarán la polinización de aquellas especies que han perdido sus polinizadores especialistas (Kearns CA, Inouye DW and Waser NM 2008).

El análisis de la agrupación de individuos en las poblaciones sugirió que en el Corredor del Bosque Nuboso de BV existen 2 grupos genéticamente homogéneos que podrían considerarse dos poblaciones (Fig. 16). Por lo tanto, el único sitio de colecta que representa una población genéticamente homogénea es el sitio 9B-Pueblo de Chilascó, mientras que el resto de sitios representan una sola población que comparte un pool genético (Fig. 17). Sin embargo, hay colonias en el sitio 9B-Pueblo de Chilascó que comparten genotipos con el resto de colonias, por lo que aunque existe algún grado de diferenciación genética se evidencia conectividad genética con el resto. El método de Evano (2005) para determinación de k , es uno de los métodos más utilizados y eficientes. Sin embargo se ha discutido mucho sobre la incapacidad del método para mostrar cuando solo existe un solo grupo homogéneo. Por lo tanto, mucha precaución debe tenerse en cuanto a las conclusiones que se formulen a partir de la existencia de dos clusters (Gilbert, K y otros 2012).

La leve diferenciación genética del sitio 9B-Pueblo de Chilascó- se observó en varios análisis: Índice de Fijación Poblacional $-F_{st}$ - (Tabla no.3); Proporción de alelos compartidos (0.67% de alelos compartidos en promedio con el resto de poblaciones, Tabla no.3); Análisis de Varianza Molecular (18% de la varianza entre poblaciones, Tabla no.4); Análisis de Asignamiento y Estructuración (9B representa un grupo genéticamente homogéneo, Fig.17).

Chilascó que muestra una leve diferenciación genética se encuentra al inicio del Corredor del Bosque Nubosos de BV y conforma uno de los sitios situados en el extremo sur del diseño experimental final (Fig.19). Esta leve diferenciación quizá ejemplifique un problema de escala. Si el espacio de estudio y muestreo es más grande que la delimitación del Corredor del Bosque Nuboso de BV (23 km) podría encontrarse una diferenciación más marcada. Dicha hipótesis se podría corroborar si se evalúan sitios al sur de Chilascó o el bosque nuboso a lo largo de Sierra de las Minas.

Debido a la variación en el gradiente altitudinal al sur del Corredor del Bosque Nuboso, Chilascó representa la transición de bosques de pino-encino a bosques nubosos hasta bosques de cimás creando una micro-región al sur de la Sierra de las Minas. Esta micro-región favorece el endemismo de muchas especies, como el Liquidámbar (*Liquidambar styraciflua*) por lo que denota una historia evolutiva única (Veliz, M. 2014). De esta manera se observa que Chilascó ofrece

características únicas que podrían influir en la disminución de la conectividad genética de *P. bilineata* con la población del Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala. Los bosques nubosos se pueden interpretar como islas que promueven la especiación por vicarianza, donde sus organismos comparten una historia en común (Schuster J, y otros 2000). Este hecho se ha evidenciado para los bosques nubosos de Guatemala con varios taxones. Schuster J, Cano, E & Cardona, C. en el 2000 evidenciaron diferencias entre especies de Passalidos (Scarabidae) entre el bosque Nuboso de Purulhá y el bosque nuboso de Sierra de las Minas. Vazquez, C. (2011) ha documentado diferencias haplotípicas entre salamandras del Bosque Nuboso de Sierra de las Minas. Es posible que *Partamona bilineata* en el sitio de Chilascó pertenezca a un complejo poblacional que se encuentra en un proceso de diferenciación del Corredor del Bosque Nuboso de BV, por lo que esta diferencia se comienza a manifestar en sus genotipos nucleares. Por lo tanto, es interesante evaluar los complejos poblacionales en los bosques nubosos de Guatemala mediante otros marcadores moleculares como SNPs o mitocondriales, para comprobar si esta diferenciación es apoyada por un muestreo mayor del genoma nuclear o es observada en otra línea evolutiva como lo es el ADN mitocondrial indicando que se debe a una historia evolutiva diferente.

Se necesitan estudios adicionales (e.j. determinar la distancia de dispersión de una colonia madre a una hija; parentesco entre colonias, parentesco entre reinas de una colonia) para mejorar el conocimiento sobre la dinámica poblacional de *Partamona bilineata* y el modo de reproducción e intercambio genético de la colonia y así integrarlo al estudio de la conectividad genética poblacional en el Corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.

9.4 Diversidad y Conectividad genética de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz y las implicaciones para la conservación del bosque nuboso.

Partamona bilineata mantiene una diversidad y conectividad genética a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de BV, pero mostrando una leve diferenciación con el Pueblo de Chilascó. En conjunto, la presente investigación arroja datos que pueden servir para comparar la diversidad genética y estructuración poblacional de *Partamona bilineata* en otros bosques nubosos u otros ecosistemas. El conocimiento sobre abejas generalistas como *P. bilineata*, que sus poblaciones mantienen un contacto con factores antropogénicos y aún así mantienen una conectividad genética da paso al entendimiento de la distribución de la diversidad genética en una matriz compleja. Esto hace más factible el desarrollo de planes de manejo para especies claves en bosques nubosos y da lugar a la utilización de evidencia científica para la conservación.

Partamona bilineata es uno de los principales visitantes y potencial polinizador de cultivos nativos como *Cucurbita Pepo* (Enriquez, E. 2012) y de flora silvestre en el Corredor del Bosque Nuboso de BV. En México, *Partamona bilineata* se maneja para polinizar cucurbitáceas (Aguilar, A. 2011) por sus características de abundancia y generalismo ecológico. Por esto, *Partamona bilineata* es una especie clave para polinizar plantas pioneras en la regeneración natural de los bosques, ya que es

una especie que mantiene una “salud genética” y podría polinizar plantas que han perdido sus polinizadores especialistas. Medidas de manejo para la conservación de los bosques nubosos deben de tomar en cuenta el potencial y las características de especies claves en el ecosistema, como polinizadores y dispersores, ya que sus atributos ecológicos como generalismo ecológico son importantes para la promoción de la regeneración natural del bosque.

10. CONCLUSIONES

- *Partamona bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso muestra alta riqueza alélica y heterocigocidad en comparación a otros estudios a escalas más grandes en el género *Partamona*.
- El equilibrio Hardy-Weinberg entre heterocigocidad observada y esperada sugiere que hay un apareamiento al azar entre las abejas reinas y los machos de diferentes colonias y que no hay un efecto fuerte de deriva génica y mutación. Además la conectividad genética se mantiene por lo que hay un número poblacional suficiente para mantener la diversidad genética a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de BV.
- Los sitios de muestreo comparten alrededor del 50% de sus alelos lo cual sugiere conectividad genética.
- El Índice de Fijación Total de Individuos ($F_{IT}=0.374$) muestra la alta variabilidad genética de *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso de BV.
- No se observa efecto de las distancias geográficas sobre las distancias genéticas entre poblaciones de *Partamona bilineata* a lo largo del Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.
- *Partamona bilineata* no presenta estructuración genética poblacional en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.
- El sitio 9B, localizada en Chilascó, presenta una diferenciación genética leve a diferencia de los demás sitios, donde 23% de los genotipos encontrados son similares a los encontrados al resto de sitios sugiriendo conectividad genética.
- El análisis de agrupaciones de genotipos sugiere la existencia de dos grupos genéticamente homogéneos: 77% de los genotipos del sitio 9B-Pueblo Chilascó- y el resto de sitios. Por lo que estos dos grupos se consideran poblaciones genéticamente diferentes.
- Existe conectividad genética entre las poblaciones de *P. bilineata* en los sitios muestreados.
- Las poblaciones de *Partamona bilineata* mantienen un grado de “salud genética” por lo que pueden ser capaces de resistir los efectos negativos del cambio de hábitat.
- *Partamona bilineata* es un importante visitador generalista y potencial polinizador que puede llevar a cabo sus funciones en paisajes fragmentados y que mantiene una alta diversidad y conectividad genética en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.

11. RECOMENDACIONES

- Localizar las colonias en cada área a muestrear y tomar una abeja obrera de dicho nido para determinar su genotipo. Así, se puede hacer una estimación más precisa de la estructuración genética incluyendo la distancia entre los nidos.
- Desarrollar marcadores moleculares específicos para *Partamona bilineata* para tener una mayor precisión en la medición de la riqueza alélica.
- Realizar este mismo estudio con marcadores mitocondriales y cromosoma Y para comprobar si se observa el mismo patrón de diferenciación genética en el sitio 9B Pueblo de Chilascó.
- Determinar la estructuración genética de *Partamona bilineata* en una escala mayor a 23 km en los bosques nubosos de Guatemala.
- Determinar la estructuración genética de *Partamona bilineata* en otros bosques nubosos de Guatemala y comparar con lo encontrado en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.
- Realizar estudios sobre la dinámica poblacional y reproducción de colonias de *Partamona bilineata*.
- Estudiar la estructura de nidificación y elaboración de nidos en *Partamona bilineata* para entender la etología de la colonia.

12. REFERENCIAS

- Aizen, M.A. Feinsenger, P. (1994) Habitat Fragmentation, Native Insect Pollinators and Feral Honey-Bees in Argentine Chaco Serrano. *Ecological Applications*. 4:378-392.
- Andren, H. (1994). Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat-a review. *Oikos*. 71: 355-366.
- Arias, M.C., Brito, R.M., Francisco, F.O., Moretto, G., De Oliveira, F., Silvestre, D., Sheppard, W.S. (2006). Molecular markers as a tool for population and evolutionary studies of stingless bees. Review article. *Apidologie*. (2006) 259–274.
- Ayala, R. Partamona bilineata photography. IBUNAM. Universidad Autonoma de México. Recuperado de: <http://apoidea.lifedesks.org/node/1508>
- Balloux, F., y Lugon-Moulin, N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 155–165.
- Batista, M., Ramalho, M. y Soares,A. (2003). Nesting sites and abundance of Meliponini (Hymenoptera: Apidae) in heterogeneous habitats of the Atlantic Rain Forest, Bahia, Brazil. *Lundiana* 4(1): 19-23
- Bawa, K., (1990). Plant-pollinator interactions in tropical rain-forests. *Ann. Rev. Ecol. Systemat.* 21, 399–422.
- Beaumont M.A., Bruford, M.W.(1999) Microsatellites in conservation genetics. In: Goldstein D.B., Schlötterer C. (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. New York: Oxford University Press, pp. 165–182.
- Becker, P., Moure, J., Peralta, F. (1991) More about euglossine bees in Amazonian forest fragments. *Biotropica* 23:399-422.
- Bee Lab. Clasificación de abejas brasileñas. Recuperado de: <http://www.webbee.org.br/beetaxon/>. (s.f). Sao Pablo, Brasil.
- Bhattacharya, M., Primack,R. Gerwein, J. (2003). Are roads and railroads barriers to bumblebee movement in a temperate suburban conservation area? *Biological Conservation* 109: 37-45.
- Biesmeijer J. S. P. M. Roberts,M. Reemer,R. Ohlemüller,M. Edwards,T. Peeters,A. P. Schaffers,S. G. Potts,R. Kleukers,C. D. Tomás,J. Settele,W. E. Kunin1. (2006) Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science*. 313: 351-354.

- Biesmeijer J.C., Slaa E.J., Siqueira de Castro M., Viana B.F., Kleinert A., Imperatriz-Fonseca V.L. (2005). Connectance of Brazilian social bee-food plant networks is influenced by hábitat, but not by latitude, altitude or network size. *Biota Neotropical*. 5, 1-9.
- Brito, RM (1998). Caracterização citogenética de duas espécies do gênero *Partamona*, Schwarz 1939 (Hymenoptera, Apidae, Melponinae). MS Dissertation, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Brito-Ribon, RM., Miyazawa, CS., y Pompolo SG. (1999) First Karyotype Characterization of four Species of *Partamona* (Friese, 1980) (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) in Mato Grosso State - Brazil. *Cytobios* 100:19-26.
- Brito, RM. (2005). Análisis molecular y poblacional de *Partamona mulata* y *Partamona Helleri*. (Tesis de Doctorado). Instituto de Biociencias de la Universidad de Sao Paulo. Brasil.
- Brito RM, Francisco FO, Domingues-Yamada AMT, Goncalves PHP, Pioker FC, Soares AEE y Arias MC. (2009) Characterization of microsatellite loci of *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Conservation Genetic Resources*. 1: 183-187.
- Brito, R. M., Arias, M. C. (2010). Genetic structure of *Partamona helleri* (Apidae, Meliponini) from Neotropical Atlantic rainforest. *Insectes Sociaux*, 57(4), 413–419.
- Brosi, B., Sihnh, T., Biladello, L. (2007). Polinización biótica y cambios en el uso de la tierra en paisajes dominados por humanos. En: Harvley, C. y Saenz, J. *Evaluación y Conservación de la Biodiversidad en Paisajes Fragmentados de Mesoamérica*. Costa Rica: INBIO.
- Brosi, B. J. (2009). The effects of forest fragmentation on euglossine bee communities (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). *Biological Conservation*. 142(2),414–423.
- Brown, J.C., Albrecht, C., (2001). The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in central Rondonia, Brazil. *J. Biogeogr.* 28, 623–634.
- Brown, M.J.F., Paxton, R.J. (2009). The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*. 40, 410-416.
- Camargo, J.M.F. (1994) Biogeografía de Meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae): a fauna Amazonica. II encontro sobre abelhas. Editora LegisSummaltda, Ribeiraa o Preto, Sao Paulo, Brasil.
- Cameron, E.C., Franck, P y Oldroyd, B.P. (2004). Genetic structure of nest aggregations and drone congregations of the southeast Asian stingless bee *Trigona collina*. *Molecular Ecology* (8) 13: 2357-2364

- Can-Alonzo C, Quezada-Euán, Xiu-ancona P, Moo-valle H, Valdovinos-Nuñez Gr., Medina-Peralta. (2005) Pollination of “criollo” avocados (*Persea americana*) and the behavior of associated bees in subtropical México. *J Apic Res.* 44:3-8
- Cane, JH. (2001) Habitat fragmentation and native bees: A premature verdict? *Conserv Ecol* 5:1-9.
- Cauich, O., Quezada-Euán, Macías-Macías Jo, Reyes-Oregel V, Medina-Peralta S, Parra-Tabla V. (2004). The behavior and pollination efficiency of *Nannotrigona perilampoides* (Hymenoptera: Meliponini) on greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) in subtropical México. *J Econ Entom.* 97:475-481.
- Chakraborty R., Kimmel M. (1999). Statistics of microsatellite loci: estimation of mutation rate and pattern of population expansion. In: Goldstein D.B., Schlötterer C. (Eds.), *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press, New York, pp. 139–150.
- Chapman RE, Bourke AFG (2001) The influence of sociality on the conservation biology of social insects. *Ecol Lett* 4:650–662
- Chung, M., L.P.W. Ranum, L.A. Duwick, A. Servadio, H.Y. Zoghbi & H.T. Orr. (1993). Evidence for a mechanism predisposing to intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type I. *Nat. Genet.* 5: 254-258
- Cortopassi-Laurino M. (1982). Divisao de recursos tróficos entre abelhas sociais, principalmente em *Apis mellifera* Linné e *Trigona* (*Trigona*) *spinipes* Fabricius (Apidae, Hymenoptera). M.Sc. dissertation, Instituto de Biociencias, Universidade de Sao Paulo, Brazil.
- Cornuet, J.M. y Aries, F. (1980). Number of sex alleles in a sample of honey bee colonies. *Apidologie.* 11(1), 87-93
- Costa, MA., Pompolo, SG y Campos, Lao. (1992) Supernumerary chromosomes in *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Rev Brasil Genet* 15:801-806.
- Couvillon, M., Wenseleers, T., Imperatriz-Fonseca, T.L., Nogueira-Neto, P y Ratnieks, F. (2008). Comparative study in stingless bees (Meliponini) demonstrates that nest entrance size predicts traffic and defensivity. *J. Evol. Biol.* 2:194–201
- Croxton, P., Carvell, C., Mountford., J., Sparks, T. (2002) A comparison of green lines and field margins as bumblebee habitat in an arable landscape. *Biological Conservation.* 107: 365-374.
- Darvill B, Knight ME, Goulson D.(2005) Use of genetic markers to quantify bumblebee foraging range and nest density. *Oikos*, 107, 471-478.
- Diemont, S., Bohn, J., Rayome, D., Kelsen, S., Cheng, K. 2011 Comparisons of Mayan forest management, restoration, and conservation. *Forest Ecology and Management.* 26: 1696-1705

Dieringer, D. y Schlötterer, C. (2003) Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*. 3:1: 167-169.

Donaldson, J., Nanni, I., Zachariades, C., Kemper, J., Thompson, J. (2002) Effects of hábitat fragmentation on pollinator diversity and plant reproductive success in renosterveld shrublands of South Africa. *Conservation Biology*. 16:1267-1276.

Dowling T.E., Moritz, C., Palmer J.D., Rieseberg L.H. (1996). Nucleic acids III: analysis of fragments and restriction sites. In: Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. *Molecular Systematics*. 2nd edition 249-320. Sinauer Associates, Mássachusetts.

Ellis, E.C., Klein Goldewijk, K., Siebert, S., Lightman, D. & Ramankutty, N. (2010) Anthropogenic transformation of the biomes, 1700 to 2000. *Global Ecology and Biogeography*, 19, 589–606.

Eltz, T., Brühl, K., van der Kaars, S. y Linsenmair, K. (2002). Determinants of stingless bee nest density in lowland dipterocarp forests of Sabah, Malaysia. *Oecologia* (1) 131: 27-34

Engels, W. y V.L., Imperatriz-Fonseca. (1990). Cast development, reproductive strategies and control of fertility in honey bees and stingless bees. In: W.Engels. *Social Insects, An Evolutionary approach on cast and Reproduction*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. pp 167-230.

Enriquez, E. (2012) En prensa. Nombre: Efectos de la fragmentación del bosque en la riqueza y abundancia de los visitantes de flores de *Cucurbita pepo* en el bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala.

Enriquez, E. 12 de febrero 2014. Comunicación Personal.

Escudero, I.F. (1999). Evolución de la Eusociabilidad en los Insectos. Evolución y Filogenia de Arthropoda. Sección V: Ecología Evolutiva. Boletín S.E.A., no. 26, 1999:713-726.

Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14(8), 2611–20.

Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.

FAO (2010). State of the World's Forests. Roma. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/003/y0900e/y0900e00.htm>

Fabricius, C., C. Folke, G. Cundill, and L. Schultz. (2007). Powerless spectators, coping actors, and adaptive co-managers: a synthesis of the role of communities in ecosystem management. *Ecology and Society* 12(1): 29.

Fletcher, J.C. and K.G. Ross. (1985) Regulation of reproduction in eusocial Hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.* 30 :319-343.

Foster, P. (2001). The potential negative impacts of global climate change on tropical montane cloud forests. Recuperado de: http://www.unep.wcmc.org/resouces/publicashions/UNEP_WCMC_bio_series/20.htm. Cambridge, UK.

Francini IB, Sforca DA, Sousa ACB, Campos T, Cidade FW, Zucchi MI, Souza AP, Nunes-Silva CG y Carvalho-Zilse GA (2009) Microsatellite loci for an endemic stingless bee *Melipona seminigra merrillae* (Apidae, Meliponini) from Amazon. *Conservation Genetic Resources.* 1: 487-490.

Francisco F.O. (2002) Diversidade genética de populações da abelha sem ferrão *Plebeia remota*: análise do DNA mitocondrial e microssatélites. (Tesis de Maestría). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP .

Francisco, F. Brito, R. y Arias, C. (2006). Allele number and heterozygosity for microsatellite loci in different stingless bee species (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). *Neotropical Entomology.* 5 (35).

Franck, P., L. Garnery, A. Loiseau, B.P. Oldroyd, H.R. Hepburn, M. Solignac & J.-M. Cornuet. (2001). Genetic diversity of the honeybee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data. *Heredity* 86: 420-430.

Free JB. *Insect pollination of crops.* 2 ed. San Diego: Academic Press; 1993.

Gallai N., Salles J. M., Settele J., Vaissiere B. E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecology Economics.* 68, 810–821.

González-Acereto, J., Quezada-Euán, J., Medina I. (2006) New perspectives for stingless beekeeping in the Yucatan: results of an integral program to rescue and promote the activity. *Apic Res.* 45(3):234-239.

Gotelli NJ (1991). Metapopulation models: the rescue effect, the propagule rain, and the core-satellite hypothesis. *American Naturalist.* 138, 768–776.

Green CL, Franck P y Oldroyd P. (2001) Characterization of microsatellite loci for *Trigona carbonaria*, a stingless bee endemic to Australia. *Molecular Ecology.* 1:89-92

Greenleaf, S. Williams, N. Winfree, R & Claire Kremen. (2007). Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Ecologia.* 153: 589-596

Griffin PC, Mills LS. (2009). Sinks without borders: snowshoe hare dynamics in a complex landscape. *Oikos.* 118, 1487–1498.

- Hancock J.M. (1999) Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. In: Goldstein D.B., Schlötterer C. (Eds.), *Microsatellites: Evolution and applications*. New York: Oxford University Press. pp. 1–9.
- Heard T.A. (1999) The role of stingless bees in crop pollination. *Annu. Rev. Entomol.* 44, 183–206.
- Inoue, T. Sakagami, S.F., Salmah, S. y S. Yamane. (1984). The process of colony multiplication in the Sumatran stingless bee *Trigona (Tetragonula) laeviceps*. *Biotropica*. 16:100-111.
- Islebe, G., Véliz, M. (2000). Guatemala. En: Kappelle, M. y Brown, A. (2001). *Bosques Nublados del Neotrópico*. 1ª Edición, Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio).
- Islebe, G.A. (1993). Will Guatemala's *Juniperus-Pinus* forest survive? *Environmental Conservation*. 20:167-168.
- Islebe, G.A. (1996). Vegetation, phytogeography and paleoecology of the last 20 000 years of montane Central America. (Tesis doctoral). Universidad de Amsterdam. 179p.
- IUCN. (2010). Bosques y cambio climático. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Recuperado de: http://www.iucn.org/es/sobre/union/secretaria/oficinas/sudamerica/sur_trabajo/sur_bosquesam/sur_bosques_cambio_climatico
- Jhas y Kremen, C. (2013). Resource diversity and landscape-level homogeneity drive native bee foraging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110: 555-558.
- Jiménez, J. (2009). *Los Helechos del corredor del Bosque nuboso de Baja Verapaz, Guatemala*. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad -INBio-.
- Jones, O., Wang, J. (2010). COLONY: a program for parentage and sibship inference from multilocus genotype data. *Molecular Ecology Resources*. 10:3 551-555
- Jordano, P. (2000). Fruits and frugivory. En: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in natural plant communities*. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureau International.
- Kauffman MJ, Pollock JF, Walton B. (2004). Spatial structure, dispersal, and management of a recovering raptor population. *American Naturalist*. 164, 582–597.
- Kearns CA, Inouye DW and Waser NM (1998). Endangered mutualism: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annu Rev Ecol Syst* 29:83-112.
- Kerr, W., Carvalho, G.A. & Nascimento, V.A. (1999) The probable consequences of the destruction of Brazilian sting- less bees. En: C. Padoch, J.M. Ayres and A. Henderson. *Varzea: diversity,*

*development, and conservation of amazonia's whitewater woodplains*The New York Botanical Garden Press, New York. . pp. 395- 403.

Kevan, P. G. y Viana, B. F. (2003). The global decline of pollination services. *Biodiversity*. 4:3-8.

Klein, A., Steffan-Dewenter, I., Tscharrntke, T. (2003). Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* 270, 955–961.

Kremen, C. Williams,N., Bugg,R., Fay, J. y Thorp, R. (2004). The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*. 7, 1109–1119

Lambin, E.F.; H.J. Geist y E. Lepers. (2003). Dynamics of land use and land-cover change in tropical regions. *Annual Review of Environment and Resources*. 28: 205-241

Laurance, W. y Cochrane, F. (2001). Synergistic effects in fragmented landscapes. *Conservation Biology*. 15: 1488-1489.

Lepers, E., Lambian, F., Janetos, A., DeFries, R., Achard, F., Ramankutty, N. y Scholes, R.J. (2005). A synthesis of information on rapid land-cover change for the period 1981-2000. *Bioscience* 55: 115-124

Loening, L., & Markussen, M. (2003). Pobreza, deforestación y sus eventuales implicaciones para la biodiversidad en Guatemala. *Economía, Sociedad Y Territorio*, IV, 279–315. Recuperado de http://cmq.mx/documentos/Revista/revista14/Loening_est_voliv_num14_2003.pdf

Lopes DM, Silva FO, Salomao TMF, Campos LAO y Tavares MG (2009) Microsatellite loci for stingless bee *Melipona rufiventris* (Hymenoptera, Apidae). *Molecular Ecology Resources*. 9:923-925.

Lopes DM, Silva FO, Salomao TMF, Campos LAO y Tavares MG (2010). A scientific note on the characterization of microsatellite loci for *Melipona mondury* (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie* 41: 138-140.

López-Carr, D., Davis, J., Jankowska, M., Grant,L-, López-Carr, A y Clark,M. (2012) Space versus place in complex human-natural systems: Spatial and multi-level models of tropical land use and cover change in Guatemala. *Ecol. Model.* 229: 64-75.

Lowe, W. H., & Allendorf, F. W. (2010). What can genetics tell us about population connectivity?. *Molecular Ecology*, 19(15), 3038–51.

Markussen, M. (2003). GIS-gestützte Bewertung des Landnutzungspotenzials zur Schutzgebietsausweisung in Bergnebelwäldern Guatemalas. In: *Bundesamt für Naturschutz* (in press).Bonn.

- Meeuse, B., Morris, S. (1984) *The Sex Life of Flowers*. London: The Rainbird Publishing Group Ltd.
- Meli, P. (2003). *Restauración ecológica de bosques tropicales. Veinte años de investigación académica*. Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.24pp.
- Michener, C.D., (1974) *The social behavior of the Bees*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 404 pp
- Michener, C.D. (1979) Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*.
- Michener, C.D. (2000). *Bees of the World*. University of Kansas Natural History Museum and Department of Entomology. Baltimore, London: The Johns Hopkins University Press.
- Moretto G., Arias M.C. (2005) Detection of mitochondrial DNA restriction site differences between the subspecies of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae: Meliponini), *Neotrop. Entomol.* 34, 381–385.
- Moritz C., Hillis D.M. (1996) Molecular systematics: context and controversies. In: Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. (Eds.). *Molecular Systematic*. 2nd ed., Sinauer Associates, Massachusetts, pp. 1–13.
- Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier, G., da Fonseca, G., Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- National Research Council of the National Academies. (2007). Status of Pollinators in North America. Washington, D.C.: National Academy of Science. 303 pp.
- Nichols JD, Hines JE, Lebreton JD, Pradel R. (2000). Estimation of contributions to population growth: a reverse-time capture-recapture approach. *Ecology*. 81, 3362–3376.
- Nogueira-Neto, P. (1954) Notas bionómicas sobre Meliponinos III. Sobre an exameagem (Hym.Apoidea). *Arq. Mus. Nac.* (Rio) 42:419-452.
- Oliveira EJJ, Freitas GS, Fonseca AS, Sousa ACB, Campos T, Assis AF, Souza AP, Contel, EPB y Soares, AEE. (2009) Isolation and characterization of microsatellite markers from the stingless bee *Nannotrigona testaceicornis*. *Conservation Genetic Resources*. 1: 97-99.
- Ollerton J. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals?. *Oikos* 120: 321-326.
- Ooster Hout, C., Hutchingson, W. Wills, D., Shipley, P. (2004) Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. 4:3: 535-538.
- Oster, G.F, Wilson, E.O. (1978). *Caste and ecology in the social insects*. Princenton, NJ: Princenton University Press, 352 pp.

Palacios, E. (2004). Estructura de la comunidad de abejas sin aguijón en tres unidades del paisaje del piedemonte llanero Colombiano (Meta, Colombia). (Tesis de Biología). Colombia. Universidad de Colombia.

Pamilo P, Crozier RH (1997) Population biology of social insect conservation. *Mem Mus Vic* 56:411–419

Paxton RJ, Weisschuh N, Engels W y Quezada-Euán JG (1999). Characterization of dinucleotide microsatellite locus for stingless bees. *Mol Ecol* 8:685-702

Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.

Pedro S.R.M. and Camargo J.M.F. (2003). Meliponini neotropicales: o genero Partamona Schwarz, 1939 (Hymenoptera, Apidae). *Rev. Brasil. Ent.* 47: 1-11.

Peery MZ, Hall LA, Sellas A. (2010). Genetic analyses of historic and modern marbled murrelets suggest decoupling of migration and gene flow after habitat fragmentation. *Proceedings of the Royal Society Series B: Biological Sciences.* 277, 697–706.

Pépin, L., Y. Amigues, A. Lépingle, J.-L. Berthier, A. Bensaid & D. Vaiman. (1995). Sequence conservation of microsatellites between *Bos taurus* (cattle), *Capra hircus* (goat) and related species. Examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. *Heredity* 74: 53-61.

Peters JM, Queller DC, Imperatriz-Fonseca VL y Strassmann JE. (1998). Microsatellite loci for stingless bees. *Mol Ecol.* 7:783-792

Plan Maestro del Biotopo para la Conservación del Quetzal. (1999). Centro de Estudios Conservacionistas. CECON. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O'Toole, C., Dafni, A., Ne'eman, G. & Willmer, P. (2005) Role of nesting resources in organising diverse bee communities in a Mediterranean landscape. *Ecological Entomology.* 30, 78–85.

Powell, A.H., Powel, G. (1987). Population-Dynamics of Male Euglossine Bees in Amazonian Forest Fragments. *Biotropica* 19: 176-179.

Pritchard, J. Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetic Society of America.* 946-959.

Ranger, S., Odonnel, S. (1999) Genotypic Effect on Forager Behavior in the Neotropical Stingless Bee *Partamona bilineata* (Hymenoptera, Meliponidae). *Short Communications, Naturwissenschaften.* 86, 187-190.

- Rasnitsyn A.P. (1988) An outline of evolution of the hymenopterous insects (Order Vespida), Orient. *Insects* 22, 115–145.
- Rau, P. 1943. Notes on the nesting habits of certain social and solitary bees of Mexico. *Annals of the Entomological Society of America*. 36: 641-646.
- Raymond M. & Rousset F, 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity*, 86:248-249
- Reis, A. y Kageyama, P. (2003). *Restauración de áreas degradadas utilizando interacciones interespecíficas*. En: Kageyama, P., Oliveira, E., Morales, L., Engel, V. y Gándara, F. Restauración ecológica de ecosistemas naturales. Botucatu.
- Reis, A. y Tres, D. (2004). *Recuperación de áreas degradadas: La función de la nucleación*. Centro de Ciencias Biológicas. Florianópolis, Brasil.
- Richardson, J., Pennington, R., Pennington, R., Hollingsworth, P. (2001). Rapid Diversification of a Species-Rich Genus of Neotropical Rain Forest Trees. *Science* 293:5538 pp. 2242-2245
- Ricketts, T.H., 2004. Tropical forest fragments enhance pollinator activity in nearby coffee crops. *Conserv. Biol.* 18, 1262–1271.
- Rieseberg, L.H., y J.M. Burke. (2001). The biological reality of species: Gene flow, selection and collective evolution. *Taxon* 50: 235-255.
- Riviero, C., Moura, Feitosa M., Ferreira, K. (2011) Gene Variation, Population Differentiation, and Sociogenetic Structure of Nests of *Partamona seridoensis* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). *Biochemical genetics*. 50(5-6):325-35.
- Rossetto M, Kooyman R, Sherwin WB, Jones R. (2008) Dispersal limitations, rather than bottlenecks or habitat specificity, can restrict the distribution of rare and endemic rainforest trees. *Amer. J. Bot.* 95: 321-329.
- Roubik, D. (1989) *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Runge JP, Runge MC, Nichols JD (2006). The role of local populations within a landscape context: defining and classifying sources and sinks. *American Naturalist*. 167, 925–938.
- Sakagami, S.F., (1982) Stingless bees. In: H.R. Hermann. *Social insects*. Academic Press, New York, Vol 3, pp: 361-423.
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber- Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M.,

Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H., (2000). Biodiversity—global biodiversity scenarios for the year 2010. *Science*. 287, 1770–1774.

Schlötterer C., Wiehe T. (1999) Microsatellites, a neutral marker to infer selective sweeps. In: Goldstein D.B., Schlötterer C. (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press, New York, pp. 238–248.

Schuster J, Cano, E & Cardona, C. (2000). Un metodo sencillo para priorizar la conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando *Passalidae* (coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 80: 197-209

Sherwin WB, Jabot F, Rush R y Rossetto, M. (2006). Measurement of biological information with applications from genes to landscapes. *Molecular Ecology*. 15: 2857-2869.

Slatkin, M. (1994). *Gene flow and population structure*, en L.A. Real (ed.), *Ecological genetics*, Princeton University Press, Princeton, pp. 3-18.

Smith, BH y Ayasse, M. (1987). Kin-based male mating preferences in two species of halictine bee. *Behavioural ecology sociobiology*. 20: 313-318.

Sommeijer, M.J. and L.L.M. de Bruijn. (1995). Drone congregations apart from the nest in *Melipona favosa*. *Insectes Sociaux*. 42:123-127

Stallings, R.L. (1994). Distribution of Trinucleotide microsatellites in different categories of mamalian genomic sequence: Implications for human genetic diseases. *Genomics*, 21, 116-121.

Steffan-Dewenter, I., Munzenber, U., Burger, C., Thies, C. and Tschardt, T. (2002). Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology* 83: 1421-1432.

Steffan-Dewenter, I., Potts, S. G., & Packer, L. (2005). Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends in Ecology & Evolution*. 20(12), 651–2

Stevan Z. Knezevic, Jens C. Streibig, and Christian Ritz (2007) Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. *Weed Technology*. 21: 3 840-848.

Stokstad, E., (2007). The case of the empty hives. *Science*. 316, 970–972.

Thyssen, M. (2010). Distribución de los bosques nubosos, laurisilvas y enclaves de hábitat de nieblas. F UNEP and WCMC: Cloud Forest Agenda poster. Recuperado de: <http://commons.wikimedia.org/wiki/User:Malene>

Toledo, M. (2004). Hacia un modelo de conservación bio-regional en las regiones tropicales de Mexico: biodiversidad, sustentabilidad y pueblos indígenas. Memorias de la conferencia: “Hacia

una Evaluación de las Áreas Naturales Protegidas del Trópico”, Xalapa, Veracruz, México. Universidad Veracruzana.

Tonhasca, A., Blackmer, K., Albuquerque, G. (2002). Abundance and diversity of euglossine bees in the fragmented landscape of the Brazilian Atlantic forest. *Biotropica* 34: 16-422.

Vamosi, J.C., Knight, T.M., Steets, J.A., Mazer, S.J., Burd, M., Ashman, T.L., (2006). Pollination decays in biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences. U.S.A.* 103, 956–961.

Van Veen, J.W. , M.J Sommeijer (1999). Colony reproduction in *Tetragonisca angustula*. *Insects Socioux*. 2000:70-75

Veen Van, J.W. Sommeijer MJ. (1994). Acceptance of virgin Queens and nuptial flight in *Melipona bechii* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Proc. Fifth. Intern. Conf. Apic. Tropic. Climates*. IBRA, Cardif. Pp 249-253

Veliz, M. (2014) *Plantas Endemicas de Guatemala*. Editorial Universitaria USAC.

Walsh, P.S., D.A. Metzger & R. Higuchi. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 10: 506-513.

Westrich, P. (1996) Habitat requirements of central European bees and the problems of partial habitats. In: A. Matheson, S.L. Buchmann, C. O’Toole, P. Westrich & I.H. Williams. *The Conservation of Bees*. (pp. 1–16)., London, UK: Academic Press.

Wille, A. y E. Orozco. (1975). Observation on the founding of a new colony *Trigona cupira* (Hymenoptera, Apidae) in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop* 22: 253-287.

Wilson, E.O. (1971). *The Insects Societies*. Belknap Press of Harvard University Press. 548p.

Winfree R. (2009) Complementary habitat use by wild bees in agro-natural landscapes. *Ecology*. 90: 2068-2076.

Winfree R. (2010) The conservation and restoration of wild bees. *Annual New York Academic Science*. 1195: 169-197.

Winfree, R. (2011). Native pollinators in anthropogenic habitats. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42, 1-22.

Zayed, A. y Packer, L. (2005) Complementary sex determination substantially increases extinction proneness of haplodiploid populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 10742–10746

13. ANEXOS

Tabla no. 5 Cebadores de Microsatélite probados para genotipificación de *Partamona bilineata* en el corredor del Bosque Nuboso de Guatemala.

Autores	Locus	Motivo	Secuencia 5'-3'	T_m (°C)	Tamaño del producto (bp)
Peters,J.M., Strassmann,J.E. , Queller,D.C. and Imperatriz- Fonseca,V.	Mbi254	(AAG) ₁₁	F: CAATCGTTGGAAGGGAAC R:GGACCTATACCCAAGTCCAT	55	184
Oliveira,E.J.F., Freitas,G.S., Fonseca,A.S., Sousa,A.C.B., Campos,T., Assis,A.F., Souza,A.P., Contel,E.P.B. and Soares,A.E.E.	Ntes70	(GT) ₁₃	F: CCATTGTAAGGAGCAATATC R: ATGTTATTACGTTTCGCAGAG	55	220-280
Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada- Euán. 1999a.	T8-40	(CT) ₁₈	F: TCTCCCGCTGCTTCCCAT R: CCCGGGGATCCATTATATCGC	56	210- 290
Oliveira,E.J.F., Freitas,G.S., Fonseca,A.S., Sousa,A.C.B., Campos,T., Assis,A.F., Souza,A.P., Contel,E.P.B. and Soares,A.E.E.	Ntes-59	(AG) ₁₇	F: ATTCGTCAAAGTGAAAGCAC R:GAACTTGTTCCGTCATCTCTT	55	180-220
Peters,J.M., Strassmann,J.E. , Queller,D.C. and Imperatriz- Fonseca,V.	Mbi233	(GAA) ₁₅	F: ACGAGCACGGGCCATAA R: GATCCATCGACCGCTTCTT	56	270-310
Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada- Euán. 1999a.	T3-32	(CT) ₂₁	F: GCGGGAGGGAAAGTCCTCTCG R: CGTCTTCGTCAGGCGTGC	60	65-130

Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada-Euán. 1999a.	T7-5	(CT) ₂₀	F: GAGAGAGTCGGAGAAGAGGGC R: TGGCGGAACCACTGGTCG	60	81-119
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc4-287	(GAA) ₉	F: TCCACCGCGATACGATGGTAC R: GTAATACAACGCGGCTTCCTC	58	174
Paxton, R.J., N. Weißschuh & J.J.G. Quezada-Euán. 1999a.	T4-171	(CT) ₁₉	F: GGTGCCGTCCGAGTCATTAGC R: TGAATCAGTGAAAAATGGGACGC	55	129-148
Oliveira, E.J.F., Freitas, G.S., Fonseca, A.S., Sousa, A.C.B., Campos, T., Assis, A.F., Souza, A.P., Contel, E.P.B. and Soares, A.E.E.	Ntes 34	(GA) ₁₇	F: TGCCCCGGCAGTAAGTATAA R: TGCCCTCTAACTATCGGTCTT T	56	63-167
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc1-20	(CTT) ₁₀	F: CGCGAGTCCGAGAGTGG R: CTTGTCATGCTCAGCGACG	55	226-309
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc4-349	(TAA) ₅ (ATT) ₇ ACT(ATT) ₂	F: CCAATAATTATAGTACATTCGC R: ATAATCTATAGTGAATCTGACC	55	166
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc3-56	(TC) ₈	F: ACACGTTAGAGACGGGCGAAC R: CCACTTTCGCGTGCGGATACA		114-116
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc4-63	(GT) ₁₇	F: GAGATGGTGTGGGACAACGTG R: TGACGAGACGCCTGACAGAAC	58	134-183
Green, C.L., Franck, P. and Oldroyd, B.P.	Tc7-13	(CAA) ₁₂	F: GTAACGTGCCACCAGCTTTCG R: GAGCGATCAAAGTGACCAGTC	58	139-154
Peters, J.M., Strassmann, J.E., Queller, D.C. and Imperatriz-Fonseca, V.	Mbi13	(GTC) ₁₀	F: CCCCTAACAGCCAAAGCTAT R: CGATGCCCACTTCGAC	57,5	129

Peters, J.M., Strassmann, J.E., Queller, D.C. and Imperatriz- Fonseca, V.	Mbi32	(GGA) ₄ (G GAGAA) ₅	F: CTTTATCCGGTGCGTGCGAA R: GAAGGCATTCCGGGTTGTT	65	154
Peters, J.M., Strassmann, J.E., Queller, D.C. and Imperatriz- Fonseca, V.	Mbi36	(CTC) ₁₀ TT TCTCC(TT CCT) ₂ TTC	F: GCATCGGCGTCAGCCAG R: GCGTGTGAGGCGGTGAAG	60	125

T_m: Temperatura de alineamiento.

Figura no. 18 Distribución de puntos de Muestreo en el Corredor del Bosque Nuboso de Baja Verapaz.

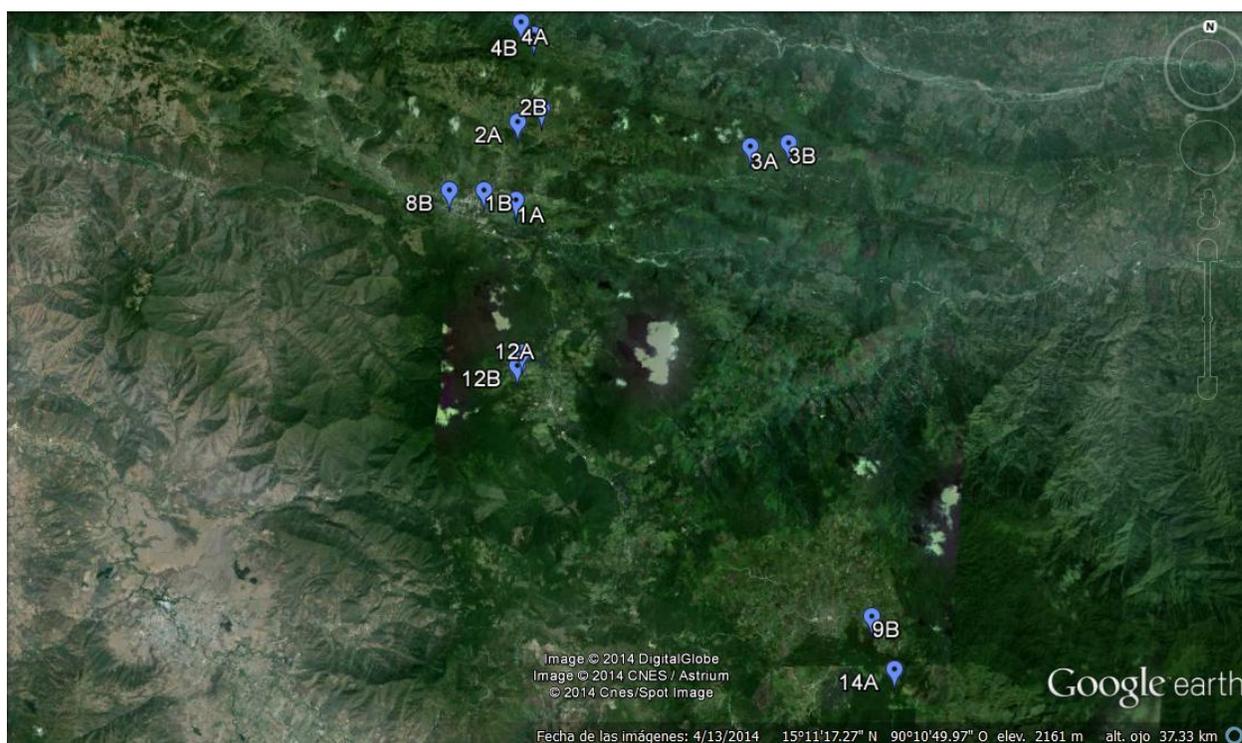


Tabla no. 6 Sitios de muestreo para *Partamona bilineata* en el Corredor del Bosque Nuboso Baja Verapaz.

	Sitio	Aldea	N	O	Capturas
1 A	Castillo, Don Alfredo.	Purulhá, Purulhá	15°14'21.0"	90°13'11.0"	60
1 B	Tienda, Centro Purulhá	Purulhá, Purulhá	15°14'22.39"	90°13'46.47"	60
		El Repollal,			60
2 A	Gancho, El Repollal	Purulhá.	15°15'35.40"	90°13'13.10"	
	Arriba (iglesia y casa Juan	El Repollal,			60
2 B	Shol)	Purulhá.	15°15'35.40"	90°13'13.10"	
3 A	Bosque Panzal	Camelia, Panzal	15°15'40.6"	90° 08'37.6"	60
3 B	Camelia Panzal	Camelia, Panzal	15°15'36.63"	90° 8'12.44"	60
4 A	Antena, Bosque	Chipacay	15°17'24.65"	90°13'18.36"	32
4 B	Escuela/ Don Ermelindo	Chipacay	15°17'09.5"	90°13'02.3"	60
	Don Eugenio & Flory				58
8 B	Guzman	Purulhá, Purulhá	15°23'879"	90° 24'012"	
9 B	Edin Piedra Blanca	Chilascó	15° 7'18.16"	90° 6'8.78"	60
12 A	Finca Santa Teresa	Km 156, Purulhá.	15°11'31.88"	90°12'51.88"	59
	Don Margarito, Finca La				48
12 B	Cabaña		15°11'17.80"	90°12'55.94"	
14 A	Don Chilo	Chilascó	15°06'23.9"	090°05'40.0"	63

Figura no. 19 Distancias geográficas (km) entre poblaciones genotipificadas.

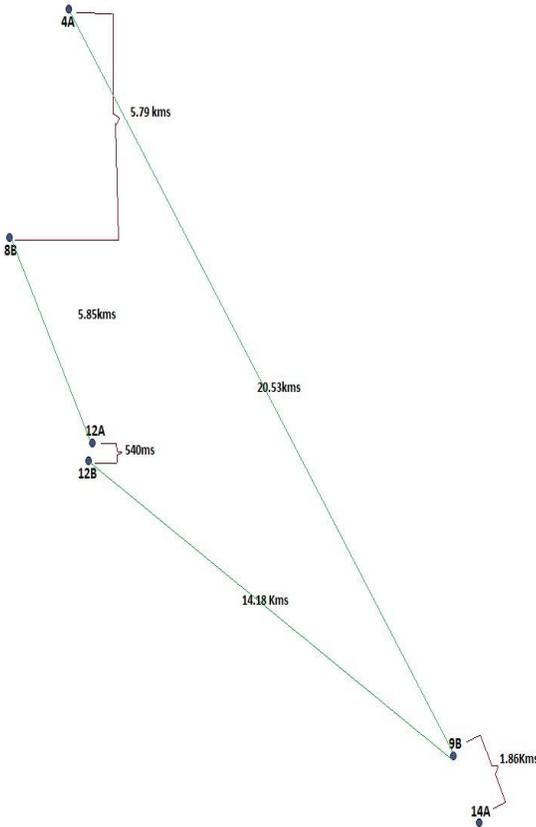


Tabla no. 7 Prueba de χ^2 para Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Población	Locus	DF	Chi²	Probabilidad	Significancia
12A	T8-40	36	80.640	0.000	***
12A	Ntes-59	3	0.875	0.832	ns
12A	Mbi233	28	65.000	0.000	***
12A	T3-32	253	362.222	0.000	***
12A	T7-5	105	130.917	0.044	*
12A	Tc4-287	45	102.006	0.000	***
12A	Mbi254	21	100.983	0.000	***
12A	Ntes 70	15	65.027	0.000	***
12B	T8-40	120	169.976	0.002	**
12B	Ntes-59	3	23.012	0.000	***
12B	Mbi233	190	199.578	0.302	ns
12B	T3-32	36	81.572	0.000	***
12B	T7-5	36	74.231	0.000	***
12B	Tc4-287	36	128.826	0.000	***
12B	Mbi254	15	51.169	0.000	***
12B	Ntes 70	10	45.483	0.000	***
4A	T8-40	10	21.086	0.020	*
4A	Ntes-59	6	7.778	0.255	ns
4A	Mbi233	1	0.041	0.839	ns
4A	T3-32	21	28.778	0.119	ns
4A	T7-5	6	7.000	0.321	ns
4A	Tc4-287	15	17.570	0.286	ns
4A	Mbi254	15	14.778	0.468	ns
4A	Ntes 70	6	14.086	0.029	*
14A	T8-40	105	138.449	0.016	*
14A	Ntes-59	21	52.865	0.000	***
14A	Mbi233	55	64.248	0.184	ns
14A	T3-32	91	126.379	0.008	**
14A	T7-5	15	14.617	0.479	ns
14A	Tc4-287	36	95.338	0.000	***
14A	Mbi254	3	27.375	0.000	***
14A	Ntes 70	6	50.014	0.000	***
8B	T8-40	91	236.488	0.000	***
8B	Ntes-59	10	60.992	0.000	***
8B	Mbi233	105	74.125	0.990	ns
8B	T3-32	136	266.396	0.000	***
8B	T7-5	153	343.313	0.000	***
8B	Tc4-287	171	499.864	0.000	***
8B	Mbi254	21	130.953	0.000	***
8B	Ntes 70	28	198.049	0.000	***
9B	T8-40	1	0.021	0.885	ns
9B	Ntes-59	1	13.000	0.000	***
9B	Mbi233	Monomorphic			
9B	T3-32	36	53.444	0.031	*
9B	T7-5	91	108.694	0.100	ns

9B	Tc4-287	91	157.444	0.000	***
9B	Mbi254	3	13.047	0.005	**
9B	Ntes 70	1	13.000	0.000	***

ns=no significativa, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

Figura no. 20 Varianza de la Riqueza Alélica por Población.

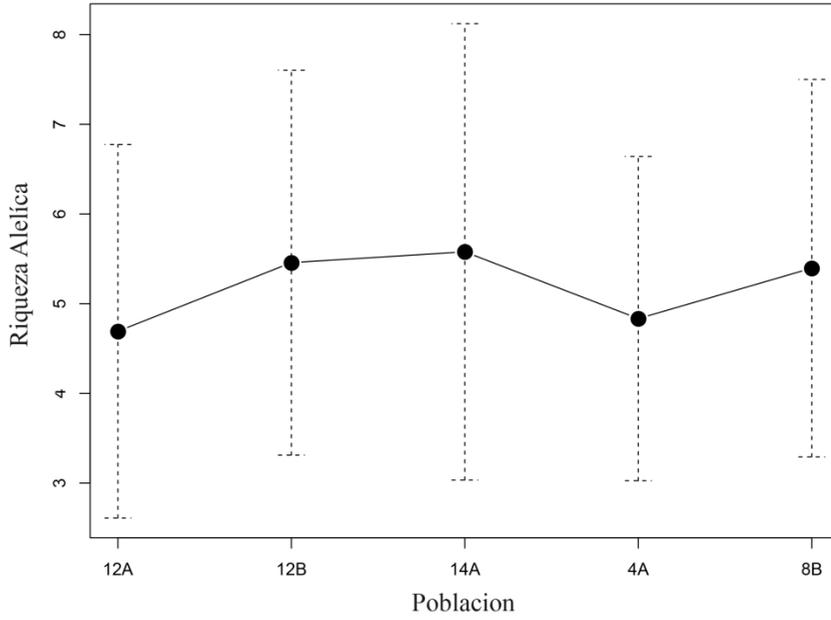


Figura no. 21 Varianza de la Riqueza Alélica por Loci.

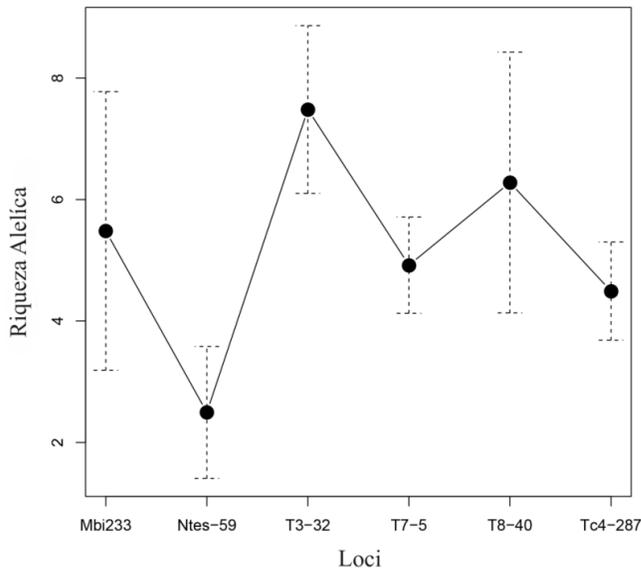


Figura no. 22 Varianza de la heterocigidad observada poblacional.

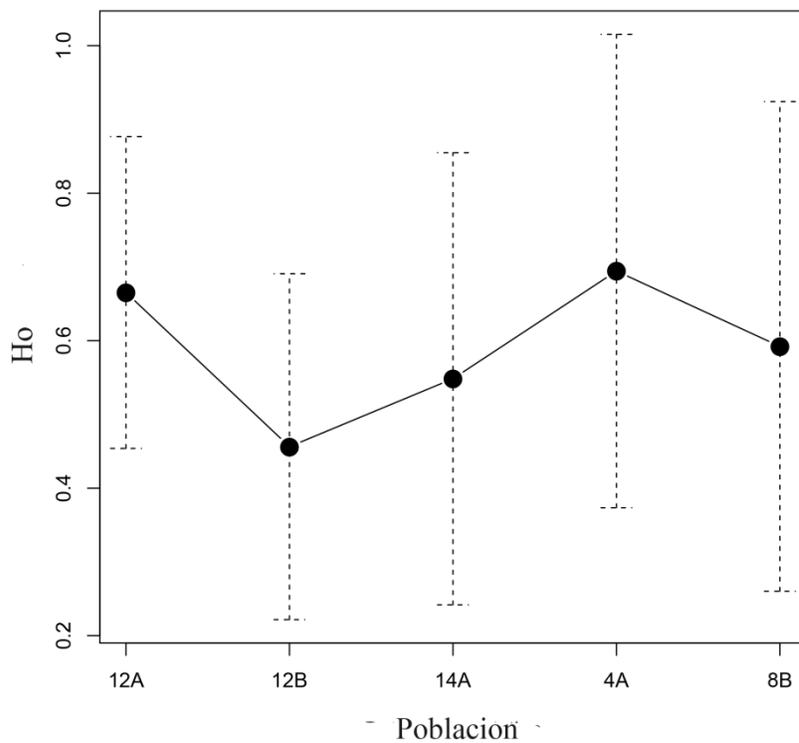


Figura no. 23 Varianza de la heterocigidad observada por loci.

