

Caracterización rápida de la biodiversidad usando morfometría geométrica: Caso de estudio con abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) del sur de Ecuador

Víctor García-Olivares^{1*}, Carlos Zaragoza-Trello², José Ramirez³, Anthony Guerrero-Peñaranda² y Carlos Ruiz²

¹Universidad de las Américas, Facultad Ingeniería y Ciencias Agropecuarias (FICA), Centro de Investigación, Estudios y Desarrollo de Ingeniería (CIEDI), Quito, Ecuador.

²Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Ciencias Naturales, Museo de Colecciones Biológicas (MUTPL), San Cayetano Alto s/n C.P. 11 01 608, Loja, Ecuador.

³Universidad Nacional de Loja, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Laboratorio de Entomología, Ciudad Universitaria "Guillermo Falconi Espinosa" s/n C.P. Letra S, Loja, Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, correo electrónico: victor.garcia.olivares@gmail.com

Editado por/Edited by: Diego F. Cisneros-Heredia, PhD.(c)

Recibido/Received: 2015/01/27. Aceptado/Accepted: 2015/04/30.

Publicado en línea/Published online: 2015/05/22. Impreso/Printed: 2015/06/01.

Rapid biodiversity assessment using geometric morphometry: Study case with stingless bees (Apidae: Meliponini) from southern Ecuador

Abstract

Stingless bees (Apidae: Meliponini) are one of the most diverse and abundant group of pollinators in the Neotropics, playing a fundamental role in tropical ecosystems. The biodiversity of the group is high in certain regions, such as the tropical Andes. However, there is still uncertainty about the species richness of these bees in Ecuador. In this study, we analysed 118 specimens with landmark-based geometric morphometric methods, using 12 landmarks on the anterior wing venation. Our results show that landmarks position of the wing venation has a high power of resolution, resulting in a fast and cheap first approach to assess effectively the diversity of stingless bees from southern Ecuador.

Keywords. Meliponini, Apidae, Hymenoptera, biodiversity, geometric morphometrics, landmarks, rapid assessment, stingless bees, wing venation.

Resumen

Las abejas sin aguijón son uno de los grupos de polinizadores más diversos y abundantes del Neotrópico, jugando un papel fundamental en los ecosistemas tropicales. La biodiversidad del grupo se concentra en ciertas zonas como los Andes tropicales. Sin embargo, aún se desconoce la riqueza de especies de estas abejas en Ecuador. En este estudio analizamos 118 especímenes mediante morfometría geométrica de la venación alar anterior, usando 12 puntos anatómicos (*landmarks*). Nuestros resultados muestran que la posición de los puntos anatómicos en la venación alar tiene un alto poder de resolución, constituyendo una rápida y económica primera aproximación para caracterizar de forma efectiva la diversidad de abejas sin aguijón del sur del Ecuador.

Palabras Clave. Meliponini, Apidae, Hymenoptera, abejas sin aguijón, biodiversidad, caracterización rápida, puntos anatómicos, morfometría geométrica, venación alar.

Introducción

Las abejas sin aguijón de la tribu Meliponini comprenden aproximadamente 500 especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales, siendo el grupo de abejas más abundante en los ecosistemas tropicales y jugando un papel fundamental como polinizadores generalistas [1, 2]. Numerosos estudios han demostrado su importancia en ecosistemas tropicales naturales [1, 3–5] y en agroecosistemas tropicales [6–8]. La mayor biodiversidad de las abejas sin aguijón se encuentra princi-

palmente en la región Neotropical, donde existen unas 400 especies y 32 géneros [9]. Esta biodiversidad no parece estar distribuida uniformemente, sino que se concentra en zonas de alta diversidad (*hotspots*) como los Andes tropicales, donde este grupo alcanza un alto número de especies por área: 13 veces más especies por área en Ecuador que en Brasil [9]. Esta alta biodiversidad contrasta con el elevado desconocimiento del grupo en Ecuador, donde se han realizado pocos estudios y se desconoce la biodiversidad real del grupo. En 1986, Coloma [10] reportó 73 especies para el país, y desde

ISSN 1390-5384



entonces sólo se han publicado algunos estudios faunísticos regionales [11, 12]. En el sur de Ecuador se han registrado cerca de 90 especies [12]. A la falta de información acerca de la biodiversidad de este grupo se le suma la elevada convergencia morfológica del grupo y la existencia de numerosas barreras geográficas a lo largo de su distribución, que sugieren la existencia de numerosas especies crípticas [2]. La biodiversidad de las abejas sin aguijón se ve amenazada por impactos humanos como la deforestación, el cambio de uso de suelo, el cambio climático y la introducción de especies exóticas [13–18]. Frente a estas amenazas se debe acelerar la catalogación de la biodiversidad en zonas poco estudiadas para conocer la biodiversidad del grupo y el estado de sus poblaciones y así poder establecer medidas de conservación efectivas. Sin embargo el estudio taxonómico de la biodiversidad supone un cuello de botella o “impedimento taxonómico” [19] para la descripción e identificación de especies, fenómeno que se magnifica en zonas hiperdiversas. Por ello se requiere de nuevas iniciativas que aceleren el trabajo taxonómico bajo un escenario de pérdida rápida de biodiversidad [20], como por ejemplo, la morfometría geométrica [21] o el código de barras de ADN [22].

La morfometría geométrica ha demostrado ser un método sencillo y efectivo para la identificación de especímenes de grupos taxonómicos concretos de abejas sin aguijón a diferentes niveles [23–26]. La sencillez y el reducido costo económico supone una ventaja frente a métodos moleculares de mayor costo y complejidad, y permite que sea una primera aproximación para caracterizar la biodiversidad de un grupo. En este estudio evaluamos la efectividad de la morfometría geométrica como método para caracterizar de forma rápida la fauna de un abejas sin aguijón en un área con alta biodiversidad y limitado conocimiento taxonómico como es el sur de Ecuador.

Materiales y métodos

El muestreo en campo se realizó entre noviembre 2013 a julio 2014 en 24 localidades (Tabla 1) en el sur de Ecuador, en las provincias de Loja, El Oro y Zamora-Chinchi, siendo la provincia de Loja donde se realizó un mayor esfuerzo de muestreo (76 % de las localidades) (Fig. 1). Se hizo captura directa de abejas mediante

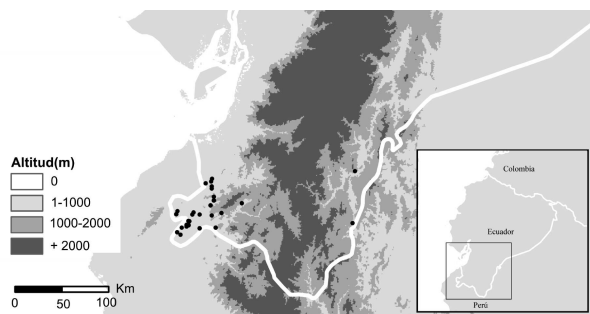


Figura 1: Mapa con los puntos de muestreo de abejas sin aguijón en el sur de Ecuador. Ver Tabla 1 para detalle de localidades.

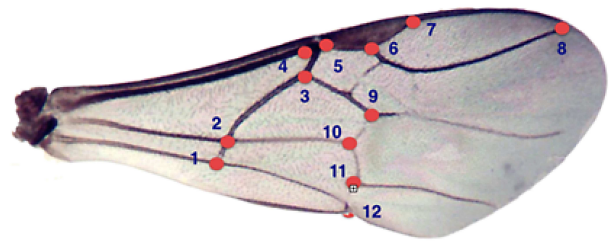


Figura 2: Representación del ala anterior derecha. Los puntos rojos indican la posición relativa de cada uno de los puntos anatómicos de referencia (landmarks) utilizados.

red entomológica. Los individuos se conservaron en etanol al 95 % y están depositados en la Colección de Invertebrados del Sur del Ecuador (CISEC) del Museo de Colecciones Biológicas de la Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador (MUTPL).

Los análisis de morfometría geométrica se realizaron seleccionando el ala anterior derecha de todos los especímenes. Cada ala fue montada en un portaobjeto y fotografiada con una cámara Moticam 2.0 (Motic Co, Xiamen, China) acoplada a un estereoscopio Olympus SZ61. A partir de las imágenes se creó un archivo TPS con el programa tpsUTIL versión 1.56 [27]. Se establecieron 12 puntos de referencia (landmarks) localizados en los puntos de unión de la venación alar que son representativos de la forma del ala mediante el software tpsDIG 2 versión 2.17 [28] (Fig. 2). Los análisis de morfometría geométrica se llevaron a cabo con el programa MorphoJ [29]. Para esto, se alineó los puntos anatómicos de referencia (landmarks) analizados mediante la opción “New Procrustes” tomando como referencia el primero de los especímenes. Este alineamiento separa la forma del tamaño y elimina la variación en tamaño relativa a la posición y orientación de todos los especímenes [30]. Los datos obtenidos se analizaron con 2 enfoques multivariantes en 3 niveles taxonómicos diferentes: i) a nivel de especie considerando todo el muestreo, ii) a nivel de especie considerando sólo el género *Trigona* (único género con suficientes datos de morfometría geométrica para múltiples especies), y iii) a nivel de género. Para estudiar el solapamiento en los morfoespacios de cada uno de los grupos, se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Para analizar la influencia del tamaño de las alas en los análisis de morfometría geométrica se calculó el tamaño del centroide y se realizó una regresión entre el tamaño del centroide y las coordenadas asociadas a los puntos anatómicos. Los valores residuales resultantes de esta regresión se utilizaron para generar la matriz de covarianza con las que se llevaron a cabo los ACP. En un análisis posterior, se eligieron sólo los grupos que presentaban un solapamiento parcial o total. Se realizó un análisis mediante Función Discriminante (FD). Las distancias de Mahalanobis obtenidas relativizaron las distancias respecto a la dispersión de cada una de las variables. Con estas distancias se generó un dendrograma mediante el algoritmo UPMGA con el programa MVSP 3.22 [31].

Localidad	Provincia	Altitud (m)	Latitud	Longitud
12 Diciembre Pindal	Loja	750	-4.07	-80.09
Balsas de Algarrobbillo	Loja	772	-4.17	-80.08
Bellavista	El Oro	720	-3.85	-80.14
Bosque Petrificado Puyango	Loja	305	-3.88	-80.07
Cabeza de toro, La Ceiba. Zapotillo	Loja	500	-4.28	-80.33
Cañas	El Oro	560	-3.83	-80.08
Corral del Señor. 6km SO Celica	Loja	1720	-4.14	-79.98
El Mango. Mangahurquillo	Loja	550	-4.14	-80.26
EL PADMINI	Zamora	1126	-3.72	-78.63
Garza Real	Loja	235	-4.30	-80.20
Higueron	Loja	310	-4.29	-80.38
Hostería Yacuan. Las Orquideas	Zamora	880	-4.24	-78.65
Huasimal. La Ceiba.	Loja	232	-4.36	-80.39
La Manga. Zapotillo	Loja	500	-4.22	-80.30
Los Baños del Inca. Mangahurco	Loja	505	-4.13	-80.42
Macara- Zapotillo	Loja	640	-4.29	-80.03
Mangahurco	Loja	327	-4.16	-80.43
Montehuaico vía Limo	Loja	1109	-3.98	-80.05
Paletillas	Loja	496	-4.16	-80.27
Pitayo. La Ceiba. Zapotillo	Loja	263	-4.34	-80.42
Platanillo, Las Lajas	El Oro	390	-3.80	-80.07
Quebrada Chirimoyos. Puente Chirimoyos	Loja	376	-3.90	-80.07
Quebrada Hualtaco Clavado. La Ceiba	Loja	450	-4.27	-80.31
San Agustín. Puyango	Loja	1020	-4.02	-80.05
Finca Binacional. Zapotepamba.	Loja	920	-4.04	-79.77

Tabla 1: Localidades de muestreo de abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) en el sur de Ecuador.

Género	<i>Cephalotrigona</i>	<i>Geotrigona</i>	<i>Melipona</i>	<i>Nannotrigona</i>	<i>Oxytrigona</i>	<i>Plebeia</i>	<i>Scaptotrigona</i>
<i>Cephalotrigona</i>							
<i>Geotrigona</i>	12,834*						
<i>Melipona</i>	408,532*	49,902*					
<i>Nannotrigona</i>	17,726*	26,246*	39,767*				
<i>Oxytrigona</i>	28,273*	12,03*	159,794*	27,106*			
<i>Plebeia</i>	71,248*	52,218*	69,887*	60,417*	104,235*		
<i>Scaptotrigona</i>	18,364*	25,362*	31,574*	22,422*	12,866*	29,507*	
<i>Trigona</i>	30,781*	30,032*	38,684*	31,894*	25,916*	29,077*	17,545*

Tabla 2: Distancias de Mahalanobis obtenidas en el análisis discriminante por realizado géneros. * = diferencia significativa.

La efectividad de la morfometría geométrica a la hora de identificar la biodiversidad de meliponinos del sur de Ecuador, fue evaluada mediante un test de validación cruzada, donde se analizó el porcentaje de asignación correcta de los individuos en los 3 niveles taxonómicos arriba mencionados.

Resultados

Se capturó un total de 113 individuos. Los individuos capturados pertenecen a 8 géneros diferentes y a 13 morfoespecies (Tabla 1, Apéndice 1). Los análisis para evaluar la influencia del tamaño determinaron que la regresión realizada entre el tamaño del centroide y las coordenadas de los puntos de referencia (*landmarks*) arrojaron diferencias significativas ($F= 57,9$, $d.f= 7$, $P < 0,0001$) resultando un 14,67 % de la variación de la forma explicada por el tamaño. En el ACP a nivel de género, las dos primeras componentes explicaron respectivamente el 57,19 % y el 20,47 % de la variación (Fig. 3). Este primer análisis permitió diferenciar tres

géneros *Melipona* Illiger, 1806, *Oxytrigona* Cockerell, 1917 y *Plebeia* Schwarz, 1938. El resto de géneros se solaparon en su morfoespacio (*Trigona* Jurine, 1807, *Cephalotrigona* Schwarz, 1940, *Nannotrigona* Cockerell, 1922, *Geotrigona* Cockerell, 1917 y *Scaptotrigona* Moure, 1950) (Fig. 3).

Para resolver el solapamiento de los géneros se realizó un segundo análisis donde se incluyeron solamente los cinco géneros que presentaban un solapamiento. Se obtuvieron unos valores de CP1 y CP2 de 34,63 y 24,71 respectivamente (Fig. 4). En este análisis se observó que todos los géneros se localizan bien diferenciados en su morfoespacios a excepción de *Trigona*, cuya variación morfológica se solapó con los demás géneros. El ACP del género *Trigona* resultó en un 84,06 % de la variación explicada con los dos primeros componentes. El análisis mostró la existencia del solapamiento en el morfoespacio de *T. aff silvestriana* con *T. setentrionalis* y las morfologías claramente diferenciadas de *T. aff amalthaea* y *T. fulviventris* (Fig. 5).

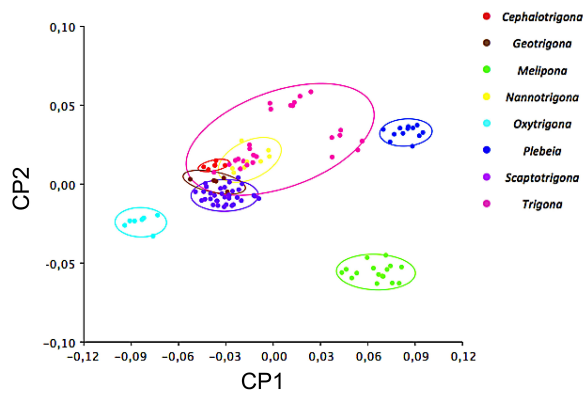


Figura 3: Representación gráfica de las dos primeras componentes del ACP para el análisis general de morfometría geométrica que incluye todos los géneros estudiados.

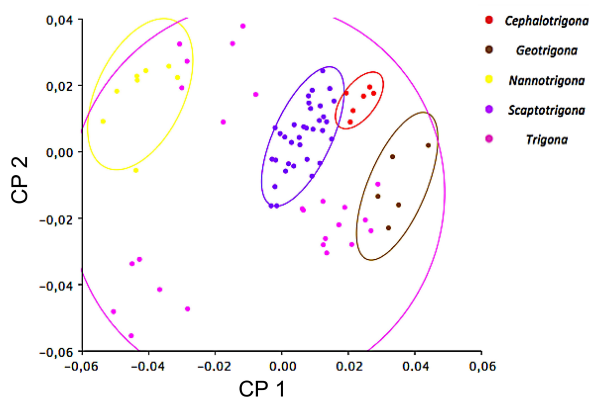


Figura 4: Representación gráfica de las dos primeras componentes del ACP para el análisis de morfometría geométrica que incluye los géneros que presentan solapamiento en su morfoespacio.

El dendrograma obtenido por las distancias de Mahalanobis del análisis FD (Fig. 6, Tabla 2) mostró que la separación intergéneros fue congruente con los resultados arrojados por el ACP y parcialmente con estudios moleculares previos [32]. Los géneros *Trigona*, *Scaptotrigona*, *Nannotrigona*, *Geotrigona* y *Cephalotrigona* mostraron una relación fenética estrecha.

El test de validación cruzada clasificó correctamente el 98,4 % de los individuos para los análisis a nivel de especie, aunque este porcentaje disminuyó cuando se realizó el test dentro de las especies del género *Trigona* (95,3 %). A nivel de género hubo un 99,6 % de asignación correcta y cuando se restringió el análisis a los 5 géneros que presentaban solapamiento, el porcentaje de asignación correcta fue del 100 %.

Discusión

Ante un escenario de cambio rápido global se requieren de nuevas estrategias que aceleren el proceso de catalogación de la biodiversidad y disminuyan el impedimento taxonómico. En este contexto, numerosos estudios han demostrado la utilidad de la morfometría geométrica de la venación alar para discriminar entre especies

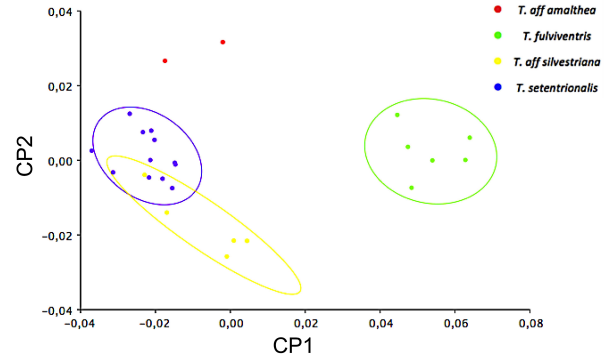


Figura 5: Representación gráfica de las dos primeras componentes del ACP para el análisis de morfometría geométrica a nivel intragénero de *Trigona*.

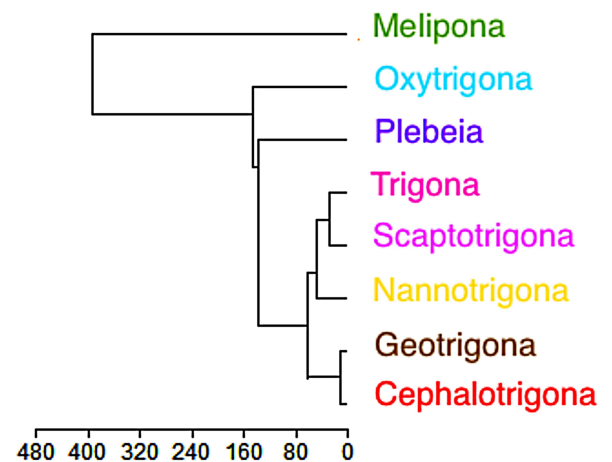


Figura 6: Dendrograma que representa las distancias relativas intergénero en base a las medidas tomadas mediante distancias Mahalanobis.

o poblaciones de abejas sin aguijón [23–26]. Nuestros resultados confirman que la posición de los puntos de referencia (*landmarks*) en la venación alar tiene un alto poder de resolución para caracterizar y para catalogar la diversidad de abejas sin aguijón del sur del Ecuador. A pesar de que el muestreo representa una pequeña fracción de la biodiversidad del grupo en Ecuador (13 morfoespecies), nuestro estudio plantea que la técnica de la morfometría geométrica supone una primera aproximación adecuada para caracterizar la biodiversidad de abejas sin aguijón de forma efectiva, rápida y económica.

El dendrograma basado en distancias de Mahalanobis resultó en unas relaciones fenéticas congruentes parcialmente con resultados filogenéticos basados en datos moleculares [32]. El árbol mostró algunas incongruencias como por ejemplo el género *Oxytrigona*, que no apareció relacionado fenéticamente con géneros filogenéticamente próximos (Fig. 6). Esta inconsistencia entre datos morfológicos y moleculares ha sido explicada debido a que las alas de las abejas están sujetas a presiones selectivas que producirían inferencias filogenéticas erróneas [33].

Por otro lado, los análisis de morfometría geométrica

han permitido caracterizar la variación morfológica entre las especies estudiadas, clasificando correctamente al 99,6 % de los individuos a nivel de género. Este porcentaje de asignación correcta se incrementó hasta el 100 % cuando se restringió a géneros que presentaban un solapamiento parcial en su morfoespacio. Además los análisis revelaron un elevado éxito para asignar de forma correcta los individuos a las diferentes morfoespecies estudiadas (98,4 %). En el caso del género *Trigona* donde existen más datos para cada una de las especies estudiadas, este porcentaje fue del 95,3 % de asignaciones correctas. Estos porcentajes de asignación correcta son similares a otros estudios de abejas sin aguijón a nivel de especie (*Plebeia remota*: 93,4 % [24]; *Melipona beecheii*: 87,1 % [26]) y de género (100 % [25]).

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de Patricia Vit con su Proyecto Prometeo "Valorización de mieles de pote producidas por Meliponini en Ecuador". De igual forma agradecemos a José Ureña, Felipe Sánchez y la fundación Naturaleza y Cultura Internacional por todo su apoyo durante los muestreos. Extendemos nuestra gratitud a los alumnos de GP de la Universidad Técnica Particular de Loja que han colaborado en alguna de las fases del proyecto.

Referencias Bibliográficas

- [1] Roubik, D. 1989. "Ecology and natural history of tropical bees". *Cambridge University Press: New York*.
- [2] Michener, C. 2007. "The bees of the world". 2a edition. *Johns Hopkins: Baltimore*.
- [3] Ramalho, M.; Kleinertgiovannini, A.; Imperatriz-Fonseca, V. 1990. "Important Bee Plants for Stingless Bees (*Melipona* and *Trigona*) and Africanized Honeybees (*Apis mellifera*) in Neotropical Habitats - A Review". *Apidologie*, 21: 469-488. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/apido:19900508>.
- [4] Biesmeijer, J.; Slaa, E.; Castro, M.; Viana, B.; Kleinert, A.; Imperatriz-Fonseca, V. 2005. "Connectance of Brazilian social bee: food plant networks is influenced by habitat, but not by latitude, altitude or network size". *Biota Neotropica*, 5: 85-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032005000100010>.
- [5] Kaminski, A.; Absy, M. 2006. "Bees visitors of three species of *Clusia* (Clusiaceae) flowers in Central Amazonia". *Acta Amazonica*, 36(2): 259-264. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672006000200016>.
- [6] Slaa, E.; Sanchez Chaves, L.; Malagodi-Braga, K.; Hofstede, F. 2006. "Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives". *Apidologie*, 37: 293-315. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2006022>.
- [7] dos Santos, S.; Roselino, A.; Hrcir, M.; Bego, L. 2009. "Pollination of tomatoes by the stingless bee *Melipona quadrifasciata* and the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae)". *Genetics and Molecular Research*, 8: 751-757.
- [8] Quezada-Euan, J. 2009. "Potencial de las abejas nativas en la polinización de cultivos". *Acta Biológica Colombiana*, 14: 169-172.
- [9] Camargo, J.; Pedro, S. 2008. "Meliponini Lepageletier". *Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region online version*. Available at <http://www.moure.cria.org.br/catalogue>.
- [10] Coloma, L. 1986. "Contribución para el Conocimiento de las abejas sin aguijón (Meliponinae, Apidae, Hymenoptera) de Ecuador". *Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Tesis de licenciatura: Quito*.
- [11] Rasmussen, C. 2004. "Abejas en el sur del Ecuador". *Lyona*, 7(2): 29-35.
- [12] Ramírez Romero, J.; Ureña Alvarez, J.; Camacho, A. 2013. "Las abejas sin aguijón (Apidae: Meliponini) de la región sur del Ecuador". *Cedamaz*, 3(1) 81-92.
- [13] Vamosi, J.; Knight, T.; Steets, J.; Mazer, S.; Burd, M.; Ashman, T. 2006. "Pollination decays in biodiversity hotspots". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 956-961. DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0507165103>.
- [14] Brown, M.; Paxton, R. 2009. "The conservation of bees: a global perspective". *Apidologie* 40: 410-416. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2009019>.
- [15] Freitas, B.; Imperatriz-Fonseca, V.; Medina, L.; Kleinert, A.; Galetto, L.; Nates-Parra, G.; Quezada-Euan, J. 2009. "Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics". *Apidologie*, 40: 332-346. <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2009012>.
- [16] Samejima, H.; Marzuki, M.; Nagamitsu, T.; Nakasizuka, T. 2004. "The effects of human disturbance on a stingless bee community in a tropical rainforest". *Biological Conservation*, 4:577-587. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2004.03.030>.
- [17] Cairns, C.; Villanueva-Gutiérrez, R.; Koptur, S.; Bray, D. 2005. "Bee Populations, Forest Disturbance, and Africanization in Mexico". *Biotropica*, 37: 686-692. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00087.x>.
- [18] Villanueva-Gutiérrez, R.; Roubik, D.; Colli-Ucán, W. 2005. "Extinction of *Melipona beecheii* and traditional beekeeping in the Yucatan peninsula". *Bee World*, 86(2): 35-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.3827/IBRA.2.86.2.03>.
- [19] Wheeler, Q.; Raven, P.; Wilson, E. 2004. "Taxonomy: impediment or expedient?" *Science*, 303(5656), 285. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.303.5656.285>.

- [20] Nimis, P.; Lebbe, R. 2010. "Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems". *Edizioni Università di Trieste: Trieste*.
- [21] Bookstein, F. 1991. "Morphometric tools for landmark data: geometry and biology". *Cambridge University Press, Cambridge*: 435.
- [22] Frézal, L.; Leblois, R. 2008. "Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects". *Infection, Genetics and Evolution*, 8: 727-736. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2008.05.005>.
- [23] Mendes, M.; Franco, T.; Nunes-Silva, P.; Menezes, C.; Imperatriz-Fonseca, V. 2007. "Intra-population variability of *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier 1836 (Hymenoptera, Meliponini) using relative warp analysis". *Bioscience Journal*, 23: 147-152.
- [24] Francisco, F.; Nunes-Silva, P.; Franco, T.; Wittmann, D.; Imperatriz-Fonseca, V.; Arias, M.; Morgan, E. 2008. "Morphometrical, biochemical and molecular tools for assessing biodiversity. An example in *Plebeia remota* (Holmberg, 1903) (Apidae, Meliponini)". *Insectes Sociaux*, 55: 231-237. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00040-008-0992-7>.
- [25] Franco, T.; Silva, R.; Nunes-Silva, P.; Menezes, C.; Imperatriz-Fonseca, V. 2009. "Gender identification of five genera of stingless bees (Apidae, Meliponini) based on wing morphology". *Genetic Molecular Research*, 8: 207-214.
- [26] Franco, T.; Grassi, M.; Imperatriz-Fonseca, V.; May-Itzá, W.; Quezada-Euán, J. 2011. "Geometric morphometrics of the wing as a tool for assigning genetic lineages and geographic origin to *Melipona beecheii* (Hymenoptera: Meliponini)". *Apidologie*, 42(4): 499-507. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13592-011-0013-0>.
- [27] Rohlf, F. 2004. "TPSUTIL". *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook: NY*.
- [28] Rohlf, F. 2001. "TPS DIG". *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook: NY*.
- [29] Klingenberg, C. 2011. "MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics". *Molecular Ecology Resources*, 11: 353-357.
- [30] Dryden, I.; Mardia, K. 1998. "Statistical Shape Analysis". *John Wiley: London*.
- [31] Kovach, W. 1993. "MVSP Plus: multivariate statistical package, version 2.1.". *Kovach Computing Services, Pentraeth, Anglesey*.
- [32] Rasmussen, C.; Cameron, S. 2010. "Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal". *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(1): 206-232. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01341.x>.
- [33] Klingenberg, C.; Gidaszewski, N. 2010. "Testing and quantifying phylogenetic signals and homoplasy in morphometric data". *Systematic Biology*, 59(3): 245-261. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/sysbio/syp106>.

Código	Género	Especie	Localidad	Provincia	Fecha	Colector
CISEC_0009152	Trigona	<i>aff silvestriana</i>	Quebrada Chirimoyos, Puente Chirimoyos	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009139	Trigona	<i>aff silvestriana</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009240	Trigona	<i>amallhea</i>	El PADMI	Zamora	15/05/2014	G. Anthony
CISEC_0009230	Melipona	<i>eburnea</i>	Hostería Yacuan, Las Orquídeas	Zamora	01/07/2013	C. Ruiz
CISEC_0009114	Trigona	<i>fulviventris</i>	Bosque Petrificado Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009119	Trigona	<i>fulviventris</i>	Cañas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009008	Trigona	<i>fulviventris</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009183	Trigona	<i>fulviventris</i>	Los Baños del Inca, Mangahurco	Loja	26/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009242	Trigona	<i>fulviventris</i>	Macara- Zapotillo	Loja	08/07/2014	C. Ruiz
CISEC_0009140	Trigona	<i>fulviventris</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009136	Melipona	<i>indecisa</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009137	Melipona	<i>indecisa</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009106	Melipona	<i>metimica</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009107	Melipona	<i>metimica</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009108	Melipona	<i>metimica</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009109	Melipona	<i>metimica</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009233	Melipona	<i>metimica</i>	Balsas de Algarrobbillo	Loja	05/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009234	Melipona	<i>metimica</i>	Balsas de Algarrobbillo	Loja	05/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009235	Melipona	<i>metimica</i>	Balsas de Algarrobbillo	Loja	05/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009113	Melipona	<i>metimica</i>	Bellavista	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009213	Melipona	<i>metimica</i>	Corral del Señor, 6km SO Celica	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009199	Melipona	<i>metimica</i>	Higueron	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009200	Melipona	<i>metimica</i>	Higueron	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009094	Melipona	<i>metimica</i>	Paletilas	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009095	Melipona	<i>metimica</i>	Paletilas	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009191	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Garza Real	Loja	25/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009192	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Garza Real	Loja	25/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009025	Trigona	<i>setentrionalis</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009082	Trigona	<i>setentrionalis</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009083	Trigona	<i>setentrionalis</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009244	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Macara- Zapotillo	Loja	08/07/2014	C. Ruiz
CISEC_0009185	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Mangahurco	Loja	26/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009186	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Mangahurco	Loja	26/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009187	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Mangahurco	Loja	26/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009145	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009147	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009148	Trigona	<i>setentrionalis</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009157	Trigona	<i>aff silvestriana</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009158	Trigona	<i>aff silvestriana</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009159	Trigona	<i>aff silvestriana</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009078	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009079	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009080	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	12 Diciembre, Pindal	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009149	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Bellavista	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009150	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Bellavista	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009151	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Bellavista	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009036	Oxytrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009037	Oxytrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009038	Oxytrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009039	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009040	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009042	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	06/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009054	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	11/02/2013	C. Ruiz
CISEC_0009001	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009002	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009003	Plebeia	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009032	Geotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009033	Geotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	07/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009057	Geotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	12/02/2014	V. García
CISEC_0009004	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	12/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009005	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	12/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009006	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Cabeza de toro, La Ceiba, Zapotillo	Loja	12/02/2014	C. Ruiz
CISEC_0009014	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	El Mango, Mangahurquillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009188	Plebeia	<i>sp1</i>	Garza Real	Loja	25/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009189	Plebeia	<i>sp1</i>	Garza Real	Loja	25/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009190	Plebeia	<i>sp1</i>	Garza Real	Loja	25/01/2014	C. Ruiz
CISEC_0009219	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	Huasimal, La Ceiba.	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009017	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009018	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009027	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009092	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009009	Nannotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009010	Nannotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009023	Oxytrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009024	Oxytrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009011	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009012	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009015	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009016	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009019	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009020	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009021	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009028	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009029	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009103	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009046	Geotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009047	Geotrigona	<i>sp1</i>	La Manga, Zapotillo	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009246	Oxytrigona	<i>sp1</i>	Macara- Zapotillo	Loja	08/07/2014	C. Ruiz
CISEC_0009248	Oxytrigona	<i>sp1</i>	Macara- Zapotillo	Loja	08/07/2014	C. Ruiz
CISEC_0009171	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009084	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Paletilas	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009085	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Paletilas	Loja	06/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009193	Nannotrigona	<i>sp1</i>	Pitayo, La Ceiba, Zapotillo	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009195	Nannotrigona	<i>sp1</i>	Pitayo, La Ceiba, Zapotillo	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009141	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009142	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009143	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009144	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	Platanillo, Las Lajas	El Oro	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009227	Cephalotrigona	<i>sp1</i>	Quebrada Hualtaco Clavado, La Ceiba	Loja	20/03/2014	C. Ruiz y V. García
CISEC_0009125	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009126	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009127	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009130	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009131	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009132	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009133	Scaptotrigona	<i>sp1</i>	San Agustín Puyango	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009052	Plebeia	<i>sp1</i>	Zapotepamba, Finca Binacional	Loja	11/02/2013	C. Ruiz
CISEC_0009053	Plebeia	<i>sp1</i>	Zapotepamba, Finca Binacional	Loja	11/02/2013	C. Ruiz
CISEC_0009176	Nannotrigona	<i>sp2</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009177	Nannotrigona	<i>sp2</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009178	Nannotrigona	<i>sp3</i>	Montehuaico vía Limo	Loja	07/11/2013	C. Ruiz
CISEC_0009194	Nannotrigona	<i>sp4</i>	Pitayo, La Ceiba, Zapotillo	Loja	21/03/2014	C. Ruiz y V. García

Apéndice 1: Especies de abejas sin aguijón capturadas en el sur del Ecuador, incluidas en este estudio y depositadas en la Colección de Invertebrados del Sur del Ecuador (CISEC) del Museo de Colecciones Biológicas de la Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.