



Universidad de San Carlos de Guatemala

CENTRO UNIVERSITARIO DE ZACAPA - INSTITUTO DE INVESTIGACIONES

Guatemala, 28 de febrero del 2023
Ref: Inv- B25CU-2022-1-2023

Dra. Alice Burgos Paniagua
Dirección General de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Respetable Doctora Burgos

Con un cordial saludo me dirijo a usted para hacer entrega en versión impresa y electrónica del informe final del proyecto de investigación titulado "Aplicación de "ADN metabarcoding" de polen para evaluar asociaciones plantas-abejas nativas en el bosque seco de Zacapa." código B25CU-2022, número de partida 4.8.58.0.83, Coordinado por la Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols.

Sin otro particular, me suscribo de usted,
Atentamente,

Dr. Manuel Alejandro Barrios Izás
Coordinador
Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

VoBo. M.Sc. Carlos Vargas Gálvez
Director
Centro Universitario de Zacapa



Programa Universitario de Investigación en Ciencias
Básicas

Nombre del programa universitario de investigación

Aplicación de “ADN metabarcoding” de polen para evaluar asociaciones plantas-abejas nativas en el bosque seco de Zacapa.

Nombre del proyecto

4.8.58.0.83

Partida presupuestaria

B25CU-2022

Código del proyecto

Instituto de Investigaciones del Centro Universitario de Zacapa (IICUNZAC)

Unidad avaladora

Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols, Coordinadora
M.Sc. Elizabeth Solórzano, Investigadora Asociada
Dra. Ana Gabriela Armas Quiñónez, Investigadora
Br. Dulce María Herrera Palencia, Auxiliar de Investigación

Zacapa, Guatemala, 28/02/2023

lugar y fecha de presentación del informe

Autoridades

Dra. Alice Burgos Paniagua
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador del Programa de Investigación

Dr. Carlos Augusto Vargas Gálvez,
Director del Centro Universitario de Zacapa

Dr. Manuel Alejandro Barrios Izás,
Coordinador del Instituto de Investigaciones
Centro Universitario de Zacapa

Dra. María Eunice Enríquez
Directora del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológica
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera
Director del Centro de Estudios para la Conservación
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Autores

Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols
Coordinadora del proyecto
Instituto de Investigaciones, Centro Universitario de Zacapa
Universidad de San Carlos de Guatemala

Dra. Ana Gabriela Armas Quiñónez
Investigadora
Unidad para el conocimiento, uso y valoración de la biodiversidad, CECON
Universidad de San Carlos de Guatemala

Dulce María Gabriela Herrera Palencia
Auxiliar de investigación II

M.Sc. Elizabeth Solórzano Ortiz
Investigadora Asociada
Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2QB3-
Universidad Mariano Gálvez

Agradecimientos

El equipo de investigación agradece al Ingeniero Mario Véliz, curador del Herbario Bigu por su apoyo en la identificación morfológica de las plantas. A la Licda. Mabel Vásquez, del Centro de Estudios Conservacionistas -CECON-, por su apoyo en la identificación de las especies de abejas. Al Dr. Ricardo San José, Licda. Rebeca Méndez y Licda. Suzette Boburg por autorizar el uso de las instalaciones de laboratorio del I2QB3 de la Universidad Mariano Gálvez, a la Licda. Milagro Gómez del I2QB3 por el apoyo brindado para adquirir material necesario para el desarrollo del trabajo de laboratorio. A la Licda. María Isabel Urréjola, Coordinadora del Laboratorio molecular y a la Licda. Licda. Rosa María Zanuncini, Jefa del laboratorio, ambas del Laboratorio Clínico Popular, Programa de EDC, de la Fac. de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC. Al licenciado Jimmy Alexander Vargas Salguero, tesorero de CUNZAC por facilitar la ejecución de los fondos destinados al proyecto.

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2022. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria 4.8.58.0.83 con código B25CU-2022 en el Programa Universitario de Investigación en Ciencias Básicas.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.



Índice

1	Resumen y palabras claves	1
2	Introducción	2
3	Planteamiento del problema	4
4	Delimitación en tiempo y espacio	5
5	Marco teórico	7
6	Estado del arte	10
7	Objetivos	12
8	Hipótesis de investigación	13
9	Materiales y métodos	13
10	Resultados y discusión	18
10.1	Resultados	18
10.2	Discusión de resultados	28
10.3	Conclusiones	29
11	Referencias	31
12	Apéndice	37
13	Aspectos éticos	45
14	Vinculación	45
15	Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual	45
16	Aporte de la propuesta de investigación a los ODS	46
17	Orden de pago final	47
18	Declaración de Coordinadora del proyecto de investigación	47
19	Aval del Coordinador de investigación del centro regional universitario	48
20	Visado de la Dirección General de Investigación	49

Lista de Figuras

- Figura 1. Ubicación de la región de estudio, el polígono en amarillo indica el área del bosque seco donde se realizará el trabajo 6
- Figura 2. Composición taxonómica de las plantas a las que pertenece el polen de las cargas polínicas de 19 abejas recolectadas en la zona del bosque seco de Zacapa, usando la técnica metabarcoding: Cada barra representa una muestra y cada color corresponde a una familia (gráfico A), un género (gráfico B) o una especie (Gráfico C), el color gris corresponde a no identificadas. 21
- Figura 3. Red de interacción entre abejas y las plantas donde fueron colectadas en el bosque seco de Zacapa. Los nodos de la parte superior corresponden a las especies de plantas y los de la parte inferior a las abejas. El grosor de los nodos indica la cantidad de interacciones. 22
- Figura 4. Redes de interacción entre abejas de las que se extrajeron cargas polínicas y plantas sobre las que se observaron (A) y plantas identificadas por análisis de metabarcoding del polen (B) 25

Lista de Tablas

- Tabla 1. Localidades de colecta 5
- Tabla 2. Riqueza de especies, géneros y familias de abejas recolectadas en cada tipo de uso de la tierra durante las dos visitas de campo realizadas en el bosque seco de Zacapa, se muestra además la abundancia de individuos colectados en cada área de trabajo. AE: Agricultura extensiva, AI: Agricultura intensiva y AP: área aledaña a área protegida. 18
- Tabla 3. Riqueza de especies, géneros y familias de plantas visitadas por las abejas en cada tipo de uso de la tierra durante las dos visitas de campo realizadas en el bosque seco de Zacapa. AE: Agricultura extensiva, AI: Agricultura intensiva y AP: área aledaña a área protegida. 19
- Tabla 4. Parámetros de red calculados para la red de interacción entre abejas y plantas donde fueron colectadas, en el bosque seco de Zacapa 23
- Tabla 5. Grado de las especies de plantas y abejas que intervienen en la red. Solo se muestran los datos de las especies con un grado igual o mayor a 5. 23
- Tabla 6. Parámetros de red calculados para las redes de interacción entre abejas de las que se extrajeron cargas polínicas y plantas sobre las que se observaron (OB), y plantas identificadas por medio del análisis de metabarcoding del polen (CP). 26
- Tabla 7. Grado de las especies de plantas y abejas que intervienen en las redes construidas a partir de observación directa y de análisis de metabarcoding. 26

1 Resumen y palabras claves

La polinización es un proceso ecológico esencial que es necesario conservar para mantener la estabilidad y productividad de los ecosistemas, e implica el establecimiento de redes de interacción planta-polinizadores. Los ecosistemas de bosque seco son particularmente vulnerables en la región de Zacapa debido al desarrollo de una agricultura intensiva. Por lo tanto, es necesario generar información que permita desarrollar estrategias eficientes para conservar la diversidad de plantas, animales y procesos ecológicos esenciales en esta región. En este proyecto fueron aplicadas la técnica molecular de “DNA metabarcoding” y la de observación directa, para evaluar su eficacia en la identificación de las especies de plantas visitadas por las abejas en el estudio de redes de interacción entre plantas y abejas, en áreas de bosque seco de Zacapa. En total, se encontraron 51 especies de abejas visitando 29 especies de plantas. Se secuenciaron las cargas polínicas de 19 especímenes pertenecientes a 11 especies de abejas recolectadas visitando 10 especies de plantas. El análisis de metabarcoding de cargas polínicas detectó al menos 79 unidades taxonómicas operacionales. De esas únicamente 13 (16%) fueron identificadas hasta especie. Utilizando los especímenes cuyas cargas polínicas fueron secuenciadas, la red construida aplicando el método de metabarcoding presentó más interacciones que el método de observación directa (86 vs. 19 interacciones). A pesar de las limitaciones, el trabajo confirma que la técnica molecular permite obtener redes de interacción más completas. Sin embargo, es imprescindible incrementar la representatividad de la flora local en las bases de datos de referencia para los análisis.

Palabras claves: redes de interacción, secuenciación de nueva generación, biodiversidad, conservación, redes de visitas.

Abstract and keyword

Pollination is an essential ecological process that needs to be conserved to maintain the stability and productivity of ecosystems and involves the establishment of plant-pollinator interaction networks. Dry forest ecosystems are particularly vulnerable in the Zacapa region due to the development of intensive agriculture. Therefore, it is necessary to generate information that allows the development of efficient strategies to conserve the diversity of plants, animals and essential

ecological processes in this region. In this project, the molecular techniques of "DNA metabarcoding" and direct observation were applied to evaluate their effectiveness in identifying the plant species visited by bees in the study of interaction networks between plants and bees, in dry forest areas of Zacapa. In total, 51 species of bees were found visiting 29 species of plants. The pollen loads of 19 specimens belonging to 11 species of bees collected visiting 10 species of plants were sequenced. Metabarcoding analysis of pollen loads detected at least 79 operational taxonomic units. Of these, only 13 (16%) were identified as species. Using specimens whose pollen loads were sequenced, the network constructed applying the metabarcoding method presented more interactions than the direct observation method (86 vs. 19 interactions). Despite the limitations, the work confirms that the molecular technique allows to obtain more complete interaction networks. However, it is essential to increase the representativeness of the local flora in the reference databases for the analyses.

Keywords: interaction networks, new generation sequencing, biodiversity, conservation, visitor networks.

2 Introducción

Los ecosistemas de bosque seco poseen una alta diversidad, sin embargo, están altamente amenazados por factores de origen antrópico (Janzen, 1988). En el departamento de Zacapa el ecosistema de bosque seco está comprometido debido, en gran medida, a la expansión de la agricultura intensiva de cultivos de exportación como el melón (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Asociación ZOOTROPIC, Centro de Estudios Conservacionistas, The Nature Conservancy, 2011; Elías, 2015).

Actualmente, los esfuerzos de conservación buscan proteger un rango amplio de la biodiversidad, tratando de incluir tanto especies que estén directamente involucradas en proporcionar servicios ecosistémicos de importancia para el hombre, como especies que no proporcionen servicios evidentes (Kleijn et al. 2015), y procesos ecológicos, como las interacciones entre especies que determinan el desempeño de los sistemas ecológicos (Tylianakis et al., 2008).

La polinización es un proceso ecológico esencial en ecosistemas agrícolas y naturales (Ollerton 2017) que involucra la interacción entre plantas y agentes polinizadores. Se estima que alrededor del 87.5% de las plantas con flor (Ollerton et al., 2011) y el 75 % de los cultivos más importantes

para la alimentación humana (Klein et al., 2007), se benefician de la polinización por animales principalmente de las abejas (Ollerton, 2017). Sin embargo, existen múltiples estudios que muestran que las poblaciones de abejas están en peligro y, por lo tanto, las redes de polinización en las que participan también lo están (Biesmeijer et al., 2006, Valiente-Banuet et al., 2015). El enfoque de redes ha sido aplicado para estudiar las interacciones planta-polinizador (Jordano et al., 2003). Los datos de riqueza de las especies involucradas en las redes de interacción planta-polinizador se han obtenido tradicionalmente a través de la observación directa de los visitantes sobre las flores o a través de la identificación por medio de microscopía de las especies de plantas a las que pertenecen los granos del polen en el cuerpo de los visitantes (Bosch et al., 2009). Recientemente se ha aplicado la técnica molecular de “DNA metabarcoding” para identificar el polen de las cargas polínicas (Bell et al., 2017). Esta técnica combina el uso de la tecnología de secuenciación de nueva generación y el análisis de “DNA barcoding” (Taberlet et al., 2012) y ha resultado ser una herramienta alternativa bastante eficiente para identificar el polen de las cargas polínicas (Bell et al., 2017; Pornon et al., 2017).

Debido a la importancia de los bosques secos como refugio de biodiversidad, y a la relevancia de la polinización en el funcionamiento óptimo de los ecosistemas, y para poder proponer estrategias efectivas de conservación, este proyecto tuvo como objetivo implementar la técnica molecular de “ADN metabarcoding” y evaluar su eficacia en el estudio de cargas polínicas para investigar las asociaciones entre plantas y abejas nativas en el bosque seco de Zacapa, como una metodología alternativa a la observación directa de las abejas visitantes sobre las flores. Adicionalmente, la implementación de esta metodología ofrece una nueva opción para evaluar cambios en las redes de interacción.

En total, se encontraron 51 especies de abejas visitando 29 especies de plantas y formando 138 interacciones. Se secuenciaron cargas polínicas de 19 especímenes pertenecientes a 11 especies de abejas recolectadas visitando 10 especies de plantas. El análisis de metabarcoding de las cargas polínicas detectó al menos 79 unidades taxonómicas operacionales (OTU's). De esas únicamente 13 (16%) fueron identificadas hasta especie. Comparando únicamente las redes construidas utilizando los especímenes cuyas cargas polínicas fueron secuenciadas, se observa que la red construida utilizando el método de metabarcoding presentó más interacciones que el método de observación directa (86 vs. 19 interacciones). A pesar de las limitaciones, el trabajo confirma que

la técnica molecular permite obtener redes de interacción más completas. Sin embargo, es imprescindible incrementar la representatividad de la flora local en las bases de datos de referencia para los análisis.

3 Planteamiento del problema

Los ecosistemas de bosque seco se caracterizan por que poseen una alta diversidad endémica, sin embargo, también poseen características que favorecen el establecimiento de asentamientos humanos, lo cual ha provocado que sufran un fuerte deterioro ambiental (Janzen, 1988). En Guatemala, este tipo de ecosistemas se distribuye en 16 departamentos entre los cuales se encuentra el departamento de Zacapa (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, 2013). En este departamento las principales amenazas que afectan este tipo de bosque son el desarrollo urbano y el cambio del uso de la tierra por la adopción de una agricultura intensiva de cultivos de exportación como el melón, la sandía y el limón (CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC, 2011; Elías, 2015).

La polinización es un proceso ecológico esencial en ecosistemas naturales y agrícolas (Ollerton, 2017), que implica la interacción entre plantas y agentes polinizadores de origen abiótico o más comúnmente de origen animal. Se estima que alrededor del 87.5% de las plantas con flor (Ollerton et al., 2011) y el 75 % de los principales cultivos para la alimentación humana (Klein et al., 2007), se benefician de la polinización por animales. Entre estos, las abejas son consideradas como el grupo de polinizadores más efectivos (Ollerton, 2017), sin embargo, factores como la deforestación o el avance de la frontera agrícola amenazan a sus poblaciones (Biesmeijer et al., 2007; Potts et al., 2010) y alteran las redes de polinización en las que participan (Valiente-Banuet et al., 2015). Actualmente existe una tendencia a implementar programas de conservación que favorezcan la protección de un espectro más amplio de la biodiversidad. Estos esfuerzos buscan incluir tanto a las especies que benefician directamente a las actividades humanas como a las que no ofrecen beneficios evidentes (Kleijn et al., 2015). Además, también se ha hecho evidente la importancia de conservar las interacciones entre especies, las cuales son esenciales en el desempeño de los sistemas ecológicos (Tylianakis et al., 2008).

El estudio de las redes de interacción planta-polinizador se ha basado tradicionalmente en la observación directa de los visitantes sobre las flores y en el análisis del polen obtenido del cuerpo

de los polinizadores, por medio de microscopía (Bosch et al., 2009). Recientemente, se ha implementado el uso de la técnica molecular de “DNA metabarcoding” (Bell et al., 2017; Lucas et al., 2018). Esta técnica combina el uso de la tecnología de secuenciación de nueva generación y el análisis de “DNA barcoding” (Taberlet et al., 2012) y ha resultado ser una herramienta alternativa bastante eficiente para identificar el polen de las cargas polínicas (Bell et al., 2017; Pornon et al., 2017).

Bustamante-Castillo et al., (2018) desarrollaron un estudio que documenta la diversidad de polinizadores potenciales del melón, en la zona del bosque seco de Zacapa. Sin embargo, ellos no profundizan en las interacciones planta-polinizador y restringen su estudio al servicio que prestan los polinizadores a la agricultura. Por otra parte, Bustamante-Castillo et al., (2019) llevaron a cabo un estudio con enfoque más holístico en el cual comparan la estructura de las redes de interacción colibríes y plantas en áreas seminaturales de bosque seco y áreas agrícolas. Estas autoras aplican únicamente el método tradicional de observación directa para documentar las redes de interacción que estudiaron.

Debido a la importancia de los bosques secos como refugio de biodiversidad, y a la relevancia de la polinización en el funcionamiento óptimo de los ecosistemas y para poder proponer estrategias efectivas de conservación, este proyecto busca implementar la técnica molecular de “ADN metabarcoding” y evaluar su eficacia en el estudio de cargas polínicas para investigar las asociaciones entre plantas y abejas nativas en el bosque seco de Zacapa, como una metodología alternativa a la observación directa de las abejas visitantes sobre las flores.

4 Delimitación en tiempo y espacio

4.1 Delimitación en tiempo

El estudio tuvo una duración de 11 meses, dio inicio en febrero y finalizó en diciembre de 2022.

4.2 Delimitación espacial

El trabajo se realizó en la región del bosque seco del departamento de Zacapa (Figura 1), en donde se seleccionaron localidades de colecta en áreas aledañas a hábitats con diferente uso de la tierra (agricultura extensiva, agricultura intensiva y área protegida) (Tabla 1). Las localidades específicas de colecta se establecieron por conveniencia de acuerdo a la disponibilidad de plantas en floración.

Las localidades de la zona de agricultura extensiva se seleccionaron en áreas con campos de agricultura de subsistencia asociados a zonas de guamil. La zona de agricultura intensiva se caracterizó por la presencia de extensiones grandes de algún cultivo (melón, maíz, berenjena y otros). Las localidades de colecta de la zona de área protegida se ubicaron en zonas aledañas a la Reserva del Heloderma.

Tabla 1. Localidades de colecta

Tipo de hábitat	Municipio	Localidad	Coordenadas	Altitud (msnm)
Agricultura extensiva	Cabañas	Potrero	14.88093, -89.74763	400
		Trabajadores	14.87484, -89.74588	426
		Zorrillo	14.86292, -89.72388	561
	San Diego	San Diego 1	14.87685, -89.80777	334
		San Diego 2	14.87872, -89.80635	363
Agricultura intensiva	Cabañas	Berenjenal	14.93749, -89.81256	249
		Cabañas_1	14.9334, -89.77301	261
		Cabañas_2	14.92753, -89.77812	252
	Huité	Entrada a Huité	14.93192, -89.71627	327
Área protegida	Cabañas	Camino a Heloderma	14.8713, -89.76224	422
		Heloderma_1	14.86742, -89.77774	501
		Heloderma_2	14.86211, -89.78609	524
		Heloderma_3	14.86393, -89.78115	496
		Heloderma_4	14.86612, -89.77984	490

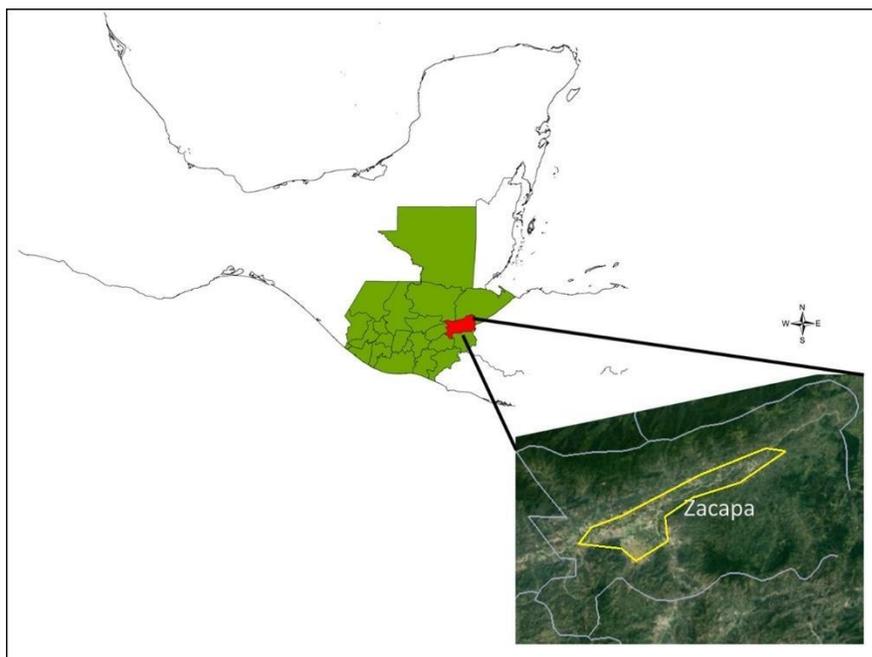


Figura 1. Ubicación de la región de estudio, el polígono en amarillo indica el área del bosque seco donde se realizará el trabajo

5 Marco teórico

De acuerdo a los criterios de Holdridge, los ecosistemas de bosque seco representan el 49% de los bosques de la región Neotropical (Murphy & Lugo, 1995). En Guatemala este tipo de ecosistema ocupa actualmente 3.7% de la extensión territorial total y se distribuye en 16 departamentos, ubicándose la mayor extensión en la zona oriental del país, en los departamentos de El Progreso, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa y Baja Verapaz (CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC, 2011). Los ecosistemas de bosque seco son altamente diversos y poseen características ecológicas que benefician el desarrollo agropecuario por lo que, a nivel mundial, han sido particularmente afectados por los efectos contraproducentes de las actividades humanas (Murphy & Lugo, 1995; Janzen, 1988). Guatemala no ha sido la excepción (Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa, 2010; Elías, 2015). De hecho, de acuerdo al estudio técnico “Evaluación, del bienestar humano y ambiente en el corredor seco oriental de Guatemala” el área de dicho estudio, que abarca 8 municipios de El Progreso y Zacapa, sufrió una pérdida de 26,936 ha de bosque en 20 años (1991-2011) (PNUD, 2013). Las principales fuentes de amenaza a los ecosistemas de bosque seco en Guatemala son el desarrollo urbano y el cambio del uso de la tierra por la expansión de la

agricultura (CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC, 2011). En el área de Zacapa la principal amenaza la constituye el desarrollo de cultivos intensivos de exportación dependientes de la polinización mediada por animales como el melón, la sandía, el limón, la okra (Elías, 2015).

La polinización es un proceso ecológico esencial, tanto desde el punto de vista de los ecosistemas agrícolas como naturales (Ollerton, 2017). Este proceso implica el establecimiento de interacciones entre plantas y agentes polinizadores, los cuáles pueden ser abióticos (i.e. agua, viento) o bióticos. La polinización biótica, es decir la polinización mediada por animales, es la más común, estimándose que aproximadamente el 87.5% de las plantas con flor (Ollerton et al., 2011) y el 75 % de los cultivos más importantes para la alimentación humana (Klein et al. 2007), son polinizados por animales. Entre los distintos grupos de polinizadores las abejas son consideradas las más efectivas debido a las características morfológicas que han desarrollado, como por ejemplo la presencia de pelos plumosos que favorece la adhesión de los granos de polen, facilitando así su transporte entre flores (Ollerton, 2017).

Actualmente, existen numerosos estudios que muestran una disminución generalizada de las poblaciones de abejas asociadas a cultivos, debido a factores como la deforestación y la expansión de la frontera agrícola (Biesmeijer et al., 2006; Potts et al., 2010). Sin embargo, Kleijn et al., (2015) mostraron que, aunque efectivamente la diversidad de abejas disminuye en áreas donde predomina la agricultura intensiva, la implementación de estrategias de conservación para mejorar el hábitat circundante, beneficia a las poblaciones de especies involucradas en la polinización de los cultivos, pero no a otras especies. Afortunadamente, otros estudios han mostrado que paisajes más heterogéneos, con agricultura menos intensiva, que combinan áreas seminaturales asociadas a cultivos, benefician la conservación de un espectro más amplio de polinizadores que no dependen de cultivos pero que pueden potencialmente aportar al servicio de la polinización agrícola (Galliot et al., 2017; Priess et al., 2007).

Las estrategias de conservación se han basado primordialmente en preservar la biodiversidad (i.e. la riqueza y abundancia de especies), desestimando en gran medida la importancia que representan las interacciones entre los componentes de la biodiversidad (Tylianakis et al., 2008). Sin embargo, existen estudios que muestran que una mayor riqueza de especies está relacionada con redes de interacción que poseen mayor cantidad y diversidad de enlaces, y por lo tanto son más robustas y estables y más resilientes para enfrentar amenazas naturales, o de origen antrópico (Ebeling et al.,

2011; Rogers et al., 2014). Por otro lado, también se ha mostrado que la disminución de especies puede afectar de manera diferencial las interacciones ya sea acelerando su pérdida o aumentando su número por efecto de redundancia (algunas especies ocupan el nicho de especies con poblaciones disminuidas), alterando de cualquier manera el funcionamiento de los ecosistemas (Valiente-Banuet et al., 2015). Es evidente, por lo tanto, la importancia de estudiar la estructura de las redes de interacción entre especies, en este caso entre plantas y abejas nativas, para poder predecir el efecto que causa la disminución y/o extinción de las especies involucradas.

Con base en el análisis de datos históricos de colectas de abejas, plantas y sus asociaciones en un área que ha sufrido un marcado deterioro ambiental (deforestación y aumento de temperaturas) y su posterior comparación con datos actuales, Burkle et al., (2013) han mostrado un debilitamiento de las interacciones planta-polinizador en un período de 120 años. Este estudio muestra la utilidad de generar una línea base de información que permita monitorear los cambios en la biodiversidad y en las interacciones ecológicas entre especie para tener herramientas que permitan proponer estrategias efectivas de conservación en el momento apropiado.

Desde los años de 1940 el uso del enfoque de redes en ecología ha contribuido a entender el funcionamiento de los ecosistemas, a través de parámetros estadísticos que miden y describen la estructura de redes ecológicas, y permiten inferir sobre su estabilidad y complejidad (Bascompte, 2007; Derocles et al., 2018). El uso de este enfoque en el estudio de las interacciones que se establecen entre las plantas y sus polinizadores es relativamente reciente (Jordano et al., 2003).

El estudio de las redes de interacción planta-polinizador se ha basado tradicionalmente en las observaciones directas de los visitantes sobre las flores, sin embargo, aunque útil, este enfoque ofrece una visión limitada del espectro de posibles relaciones (Bosch et al., 2009; Pornon et al., 2017). Posteriormente, fue aplicado el análisis del polen obtenido del cuerpo de los polinizadores, por medio de microscopía, lo cual permitió identificar más relaciones y obtener redes más completas (Bosch et al., 2009). Sin embargo, esta técnica es lenta, compleja y la resolución taxonómica es limitada (Bell et al., 2017). Recientemente, se ha aplicado la técnica molecular de “DNA metabarcoding” como una herramienta alternativa y más eficiente para identificar el polen de las cargas polínicas (Bell et al., 2017; Lucas et al., 2018). Esta técnica combina el uso de la tecnología de secuenciación de nueva generación y el análisis de “DNA barcoding” (Taberlet et al., 2012). La técnica molecular del código de barras o “DNA barcoding” es una herramienta

utilizada para identificar especies y descubrir nuevas especies. Se basa en el análisis de las diferencias genéticas inter e intraespecíficas en el código de barras del ADN, el cual es una secuencia corta de una región específica de un gen estándar. Se espera que la diferencia genética de esa porción de gen sea mayor entre individuos de distintas especies que entre individuos de la misma especie (Hebert et al., 2003). Los principales marcadores de códigos de barra para plantas son dos fragmentos de 500 a 800 pares de bases de los genes del cloroplasto ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa (*rbcL*) y *maturasaK* (*matK*) (CBOL Plant Group, 2009). En el análisis de metabarcoding de cargas polínicas, el ADN de distintas especies se aísla del conjunto de granos de polen extraídos del cuerpo de cada visitante floral, se amplifica la región del código de barras que se desea estudiar usando la técnica de PCR, y los productos de la PCR se secuencian usando secuenciación de nueva generación. Posteriormente, para identificar las especies a las que pertenecen las secuencias obtenidas, estas se contrastan con secuencias ya identificadas del código de barras de plantas de una base de datos de referencia previamente preparada (Bell et al., 2017).

6 Estado del arte

Frente a la actual crisis de la biodiversidad derivada de los efectos de las actividades humanas, las estrategias de conservación se justifican principalmente utilizando como argumento los beneficios que las especies aportan a la humanidad, es decir se basan en promover la protección de las especies que proveen servicios ecosistémicos (Winfrey, 2020). Algunos estudios han mostrado que aunque las principales abejas polinizadoras de cultivos solo representan una porción reducida del total de la diversidad de abejas, si se aumenta el área de muestreo el número de especies aumenta e incluye especies poco comunes que se benefician tanto de los cultivos como de plantas no cultivadas (Senapathi et al., 2021; Mcleod et al., 2020). Este razonamiento pone en evidencia la necesidad de estudiar áreas poco perturbadas de bosque seco para generar información sobre estos sistemas que sirvan como base para diseñar estrategias de conservación más holísticas.

Por otra parte, se ha sugerido la importancia de no basar los esfuerzos de conservación únicamente en evitar la pérdida de la biodiversidad (i.e. riqueza y abundancia de especies) pero ampliar el enfoque e incluir la protección de los procesos ecológicos (e.g. depredación, polinización) que determinan el funcionamiento saludable de los ecosistemas (Heinen et al., 2020). Se ha evidenciado que muchas veces las interacciones entre especies pueden modificarse a un ritmo más

acelerado que la pérdida de las especies involucradas, perdiéndose interacciones y, a veces, creándose otras para suplirlas, pero en todo caso debilitando las redes de interacción y por lo tanto disminuyendo su potencial de resiliencia frente a la disminución de otras especies debido a amenazas de origen antrópico o natural (Zoller et al., 2023).

Los trabajos que analizan redes de interacción planta-polinizador emplean principalmente la técnica de la observación directa de los individuos que visitan las flores. Otra técnica implementada más recientemente se basa en la identificación de las especies de plantas visitadas por medio del análisis, por microscopía, del polen presente en el cuerpo de los visitantes florales (Macgregor et al., 2019). Esta última técnica permite identificar una mayor diversidad taxonómica de plantas visitadas que la técnica de observación directa (Macgregor et al., 2019). Actualmente, diversos estudios han implementado la técnica molecular de “DNA metabarcoding” para identificar el polen en mieles de abeja (de Vere et al., 2017) o en cargas polínicas de insectos (Bell et al., 2017; Lucas et al., 2018; Pornon et al., 2017). Trabajos que comparan la técnica de “DNA metabarcoding” con la observación directa, muestran que la primera es más efectiva para detectar un espectro más amplio de la diversidad de especies de plantas visitadas por los visitantes florales y, por lo tanto, permite construir redes de interacción planta-polinizador más completas (Pornon et al., 2017). Adicionalmente, estudios comparativos muestran que la técnica molecular ofrece resultados comparables a la técnica de identificación por medio de microscopía, en cuanto a la resolución taxonómica, con la ventaja de ser una técnica rápida y estandarizada que no depende de expertos en palinología (Bell et al., 2017). Sin embargo, a pesar de las ventajas que ofrece el uso de la técnica molecular de “DNA metabarcoding” para identificar los granos de polen es necesario tomar en cuenta que existen algunas limitaciones, como la ausencia de una base de datos de referencia completa, de secuencias de códigos de barra de las especies de plantas de las áreas de estudio (Bell et al., 2017; Ruppert et al., 2019).

A pesar de la alta biodiversidad que albergan los ecosistemas de bosque seco en general, estos representan una porción muy reducida de los esfuerzos de conservación (Portillo-Quintero & Sanchez-Azofeifa, 2010). En Guatemala, existen esfuerzos a nivel nacional que plantean estrategias para conservar la biodiversidad y garantizar el desarrollo sostenible de los bosques secos (CONAP-ZOOTROPIC-CECON-TNC, 2011). En la región del valle del Motagua se han desarrollado recientemente estudios sobre la diversidad de abejas (Barrios-Izás, 2021) y otras

investigaciones con un enfoque más ecológico que tienen relación con el tema del presente proyecto. Bustamante-Castillo et al., (2018) estudiaron la contribución de remanentes de bosque seco en la diversidad de polinizadores de melón en el bosque seco del valle del Motagua. Por otro lado, Bustamante-Castillo et al., (2019) aplicaron el enfoque de redes para comparar las interacciones entre plantas y colibríes en áreas de bosque seco seminaturales y áreas agrícolas. Estos autores basaron los análisis de redes en la observación directa de las aves sobre las flores.

7 Objetivos

Objetivo general

Implementar la técnica molecular de “DNA metabarcoding” para evaluar la eficacia de su aplicación en el estudio de cargas polínicas para investigar las asociaciones entre plantas y abejas nativas en el bosque seco de Zacapa, como una metodología alternativa a la observación directa de las abejas visitantes sobre las flores.

Objetivos específicos

- Determinar si el análisis de las cargas polínicas usando la técnica molecular de “ADN metabarcoding” permite obtener un registro taxonómico de la diversidad de plantas visitadas más detallado que la observación directa de las abejas sobre las flores, en el bosque seco de Zacapa.
- Caracterizar la estructura de las redes de interacción planta-abejas nativas a través de la identificación de las especies de plantas por medio del análisis de las cargas polínicas usando la técnica molecular de “DNA metabarcoding”, en el bosque seco de Zacapa.
- Describir la estructura de las redes de interacción planta-abejas nativas por medio de la identificación de las plantas por observación directa de los visitantes sobre las flores, en el bosque seco de Zacapa.
- Comparar la estructura de las redes de interacción planta-abejas nativas construidas por medio del análisis del polen de las cargas polínicas usando la técnica molecular de “DNA metabarcoding” y por medio de la observación directa de los visitantes sobre las flores, en el bosque seco de Zacapa.

8 Hipótesis de investigación

- El análisis de cargas polínicas usando la técnica molecular de “ADN metabarcoding” detecta mayor diversidad taxonómica de plantas con flor visitadas por las abejas que la observación directa en flores.
- El análisis de cargas polínicas usando la técnica molecular de “ADN metabarcoding” permite construir redes de interacción planta-abejas nativas más completas (i.e. más relaciones) que las redes construidas a partir de la observación directa en flores.

9 Materiales y métodos

Enfoque de la investigación

Esta investigación tiene un enfoque mixto, ya que se obtuvieron datos para poder comparar la técnica de análisis de cargas polínicas mediante el uso de la técnica molecular de “ADN metabarcoding” y la técnica de observación directa de abejas sobre las flores, utilizadas para examinar las asociaciones planta-abejas. Además, se realizaron análisis cualitativos de las redes de interacción entre plantas y abejas.

Técnicas e instrumentos.

La selección de los sitios de muestreo se realizó por conveniencia, de acuerdo a la disponibilidad de plantas en floración. Los sitios se localizaron en 3 tipos diferentes de uso de la tierra, para abarcar una mayor representatividad de las redes de interacción planta-polinizador del bosque seco. Los tipos de hábitat seleccionados fueron: 1) agricultura intensiva, 2) agricultura extensiva y 3) área con bosque poco intervenido aledaña a área protegida.

Se realizaron dos visitas de campo, una en época seca (fin de abril) y otra en época lluviosa (mediados de octubre), durante las cuales se hicieron colectas en tres sitios de muestreo en cada tipo de hábitat, excepto en “agricultura intensiva” en donde únicamente se visitaron dos sitios. En cada sitio de muestreo se recolectaron todas las abejas que se encontraban visitando las flores de las plantas en floración. El esfuerzo de recolecta fue de 4 personas por una hora de colecta en cada localidad de muestreo.

Las unidades de muestreo corresponden a las localidades de muestreo. La población corresponde a todas las plantas, abejas y sus cargas polínicas del área de estudio y la muestra a los ejemplares colectados.

Recolecta de abejas

Las abejas fueron capturadas individualmente sobre la flor utilizando tubos de microcentrífuga estériles de 1.5 ml, cuando la abeja era muy grande se usaron tubos tipo Falcon estériles de 50 ml. Cuando fue necesario se usó una red entomológica limpia para la captura de la abeja, la cual fue transferida posteriormente a un tubo individual, tratando de evitar en lo posible la contaminación de polen entre individuos capturados. Todos los tubos conteniendo las abejas colectadas en una misma planta en cada sitio fueron guardados en una bolsa ziplock a la cual se le introdujo una etiqueta con la respectiva información de colecta (código único de identificación, fecha, localidad, transecto, código de planta en donde se colectó). Las abejas permanecieron congeladas a -20°C en su respectivo tubo hasta que fueron procesadas para extraerles el polen del cuerpo. Luego de extraerles el polen, las abejas fueron montadas en alfileres entomológicos y etiquetadas. Posteriormente, las abejas fueron identificadas utilizando un estereomicroscopio, marca Premiere^R (aumento 40X) y claves de identificación (Ayala, 1999; Michener et al., 1994). Las abejas sin aguijón fueron identificadas hasta especie mientras las demás abejas únicamente hasta género y en pocos casos hasta especie, debido a que no se tienen disponibles claves para especie. Los especímenes están almacenados en cajas entomológicas y serán resguardados en gabinetes entomológicos en la Colección de Referencia del Instituto de Investigaciones del CUNZAC y en la Colección de Referencia de Abejas Nativas de la Unidad de Biodiversidad -CECON-.

Recolecta de plantas

De cada planta sobre la que se colectó una abeja se obtuvo de 1 a 3 muestras para herbario, las cuáles se transportaron al laboratorio donde se colocaron en una prensa para secarlas. Las plantas colectadas fueron ingresadas en el Herbario Bigu de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos y fueron identificadas morfológicamente por el ingeniero Mario Véliz, curador del herbario. De cada planta también se obtuvo muestras para desarrollar análisis moleculares de código de barras para complementar la base de datos de referencia de secuencias de especies de la región, contra las cuáles se contrastan las secuencias obtenidas del análisis de las cargas

polínicas a través del “DNA metabarcoding”. El material para dichos análisis consiste en fragmentos de 0.5 x 0.5 cm aprox. de una hoja verde, en buen estado que se colocaron en una bolsa zip-lock conteniendo 1 cucharada de silica gel. A cada bolsa conteniendo una muestra se le colocó una etiqueta con la información correspondiente (código de identificación, fecha, localidad, transecto, código de abeja que fue colectada sobre ella) y luego se colocó en un recipiente con las demás muestras para su transporte al laboratorio, donde se procesó posteriormente.

La planta sobre la cual se colectó cada abeja se asume como la observación directa de la especie de planta visitada por dicha abeja.

Extracción de polen corporal

Las abejas se lavaron en el microtubo de colecta original. A cada tubo se le agregó 1 ml de agua esterilizada y se agitó vigorosamente con un vórtex por dos minutos para desprender todo el polen del cuerpo de la abeja. Si las abejas fueron capturadas en tubos tipo Falcon el agua se agregó al tubo, se agitó con el vórtex y la solución se transfirió a un microtubo de 1.5 ml. Posteriormente al lavado, cada abeja se retiró de la solución con polen con una pinza estéril para evitar contaminar la solución y se procedió a montarla. Los tubos con la solución fueron centrifugados a 14,000 rpm por dos minutos para precipitar el polen y el líquido sobrenadante se descartó. Posteriormente se agregó 1 ml etanol al 95% para lavar el polen, y se procedió a centrifugar por dos minutos a 14,000 rpm. El sobrenadante se descartó y se agregó de nuevo 1 ml de etanol. El microtubo con el polen y el etanol se almacenó en un refrigerador a -20°C hasta ser procesado para aislar el ADN. Las abejas fueron montadas en alfileres entomológicos, etiquetadas y procesadas según se indicó anteriormente.

Elaboración de base de datos de secuencias para identificación taxonómica

Para identificar las especies de plantas a las cuales pertenece el polen obtenido del cuerpo de las abejas es necesario tener una base de datos de referencia de secuencias del marcador genético RbcL ya identificadas para comparar las secuencias obtenidas de las cargas polínicas y así poder asignarles un nombre.

Para reunir las secuencias disponibles en la red, se elaboró inicialmente un listado de plantas de la región de estudio. Se tomó como base el documento de Véliz et al. (2003) y se seleccionaron las especies de amplia distribución, especies frecuentes y especies que incluyen nombre común. Posteriormente, se identificó una base de datos de libre acceso con más de 76 mil secuencias de secuencias del marcador RbcL (Bell et al. 2021). Por medio del buscador del editor de texto JEdit (<http://www.jedit.org/>) se identificaron secuencias correspondientes a las especies del listado previamente preparado.

Barcoding de muestras de plantas

En la propuesta original se consideró realizar análisis de barcoding de plantas de la región para complementar las bases de datos de secuencias del marcador RbcL de acceso libre que pudieran estar disponible en la red, sin embargo, los fondos no fueron suficientes para completar estos análisis. Únicamente, se logró realizar la extracción y la amplificación de ADN de las muestras colectadas para realizar estos análisis. Para esto se utilizó el kit comercial REDEExtract-N-Amp Plant PCR Kits. Los productos de la PCR serán almacenados hasta que puedan ser enviados para secuenciación y así contribuir a completar la base de datos de referencia del gen RbcL, para que la identificación por medio molecular sea más efectiva. Para la amplificación y secuenciación de las regiones barcoding se utilizaron los primers (rbcLaf y rbcLr506).

Metabarcoding de cargas polínicas

El procedimiento para realizar el análisis molecular de cargas polínicas usando la técnica de DNA metabarcoding también incluye los pasos de extracción, amplificación y secuenciación, sin embargo, en este caso se trata de un proceso de secuenciación de nueva generación o secuenciación masiva de tipo Illumina, en el cual se secuenciaron de forma simultánea la región barcoding de la mezcla genómica de todas las especies de polen contenidas en cada carga polínica analizada. La extracción se realizó con el kit comercial DNeasy plant mini kit (Qiagen). El polen extraído de las abejas fue descongelado, se centrifugó y se descartó el sobrenadante. El pellet fue secado a temperatura ambiente y se procedió a realizar la extracción. Durante el primer paso de la extracción que corresponde a la maceración del material biológico, para liberar el ADN, a una parte de las muestras se le agregó 30 µl de proteinasa K. Para los siguientes pasos se siguieron las instrucciones del fabricante. Los productos de la extracción se visualizaron utilizando geles de

agarosa al 1.5%. El producto de la extracción fue enviado para amplificación y secuenciación a la empresa MacroGen (<https://www.macrogen.com/en/main>). Para la amplificación y secuenciación de las regiones barcoding se utilizaron los primers rbcLaf y rbcLr506.

Análisis de datos

Análisis bioinformáticos

Las lecturas obtenidas de la secuenciación masiva fueron analizadas por calidad utilizando el software Fastqc, posteriormente las secuencias serán filtradas por calidad con base en el valor de calidad Phred, se eliminaron las secuencias quiméricas y los errores de llamada utilizando las rutas bioinformáticas de acceso libre QIIME2 pipeline (versión 2019-04) (Bolyen et al. 2019). Posteriormente, se eliminaron los adaptadores utilizando los softwares BbMap y Trimmomatic. Las secuencias forward y reverse fueron ensambladas usando el software BWA y las secuencias consenso se generaron utilizando bcftools y se guardaron en formato FASTA. Por último, las secuencias de metabarcoding obtenidas se contrastaron con las secuencias de barcoding obtenidas de las bases de datos de acceso libre para realizar la clasificación taxonómica de las secuencias del polen utilizando el paquete de QIIME2 DADA2 (Callahan et al., 2016). Cuando hay coincidencias entre secuencias del polen y las secuencias de plantas de la base de datos, se asignó el nombre correspondiente a la secuencia del polen. Debido a que la cobertura de secuencias de RbcL disponibles no es completa y tiende a contener más información de otras áreas geográficas, algunas especies sólo fueron identificadas hasta género o hasta especie.

Análisis de redes de redes de interacción

Se construyó una red de interacción con base en la riqueza de los visitantes florales y de las especies de plantas que visitaron. En relación a los análisis de redes con base en la información obtenida por medio del método de metabarcoding del polen, se construyó una red utilizando las especies de donde se extrajeron las cargas polínicas y las especies de plantas identificadas por medio de ese método. Además, se construyó una red con base en las especies de abejas de donde se obtuvieron las muestras de polen y las plantas en donde se observaron. Para crear las redes de interacción se utilizó el paquete “bipartite” de R (Dormann, et al. 2008). Se calcularon los

siguientes parámetros para describir las redes: Asimetría, conectancia, enlaces por especie e índice de Shanon. Adicionalmente, se realizaron análisis a nivel de especie de abejas y de plantas.

10 Resultados y discusión

10.1 Resultados

Diversidad de visitantes florales

Durante las dos visitas de campo se recolectaron 371 especímenes de abejas pertenecientes a 5 familias, 35 géneros y 51 especies (Apéndice 1, Tabla A1). La familia con la mayor riqueza de especies fue Apidae (30 especies), seguida de Halictidae (14), Megachilidae (4), Andrenidae (2) y Colletidae (2). De la misma manera, la mayor abundancia de individuos colectados pertenece a la familia Apidae con 81.7% de los especímenes. Dentro de esta familia, 12 especies contribuyen con el 63% del total recolectado. Las especies más abundantes fueron *Trigona corvina* (58) y *T. fulviventris* (37), seguidas de *Apis mellifera* (30), *Nannotrigona perilampoides* (27), *Scaptotrigona pectoralis* (21), *T. fuscipennis* (19), y *Pseudopanurgus sp.* (18). Dentro de las 15 especies que están representadas por 10 individuos o más, todas pertenecen a la familia Apidae, excepto *Pseudopanurgus sp.* (Andrenidae) y más de la mitad (8) corresponden al grupo de abejas sociales sin aguijón (Meliponini, Apidae). En total fueron colectadas 13 especies de Meliponini. Este grupo fue el más abundante, contribuyendo con el 57.7% (214) del total de abejas recolectadas.

Los dos eventos de colecta presentaron una tendencia similar en cuanto a la riqueza y abundancia de especies, sin embargo, durante el segundo evento se colectaron individuos de 5 familias, mientras que en el primer evento solo de 4 familias (Tabla 2). Solo 13 especies y 9 géneros fueron recolectados en las dos visitas de campo.

Tabla 2. Riqueza de especies, géneros y familias de abejas recolectadas en cada tipo de uso de la tierra durante las dos visitas de campo realizadas en el bosque seco de Zacapa, se muestra además la abundancia de individuos colectados en cada área de trabajo. AE: Agricultura extensiva, AI: Agricultura intensiva y AP: área aledaña a área protegida.

Categoría	Gira 1				Gira 2				Total general
	AE	A I	AP	Total	AE	A I	AP	Total	
Familia	4	2	2	4	5	4	3	5	5

Género	14	9	17	25	12	13	16	24	35
Especie	22	14	26	32	22	22	36	32	51
Individuos	57	41	99	197	42	49	83	174	371

En ambas visitas de campo la mayoría de abejas fue recolectada en la zona aledaña al área protegida (AP), en este tipo de hábitat también se recuperaron la mayor cantidad de especies en ambas visitas (26 y 32 respectivamente) (Tabla 2). La zona de agricultura extensiva (AE) presentó una mayor riqueza de especies, géneros y familias, así como una mayor abundancia de individuos en comparación con la zona de agricultura intensiva (AI) en la visita realizada en época seca. En la época lluviosa se observó una tendencia ligeramente contraria. Únicamente 5 especies fueron recolectadas en los tres tipos de uso de la tierra, en ambos eventos de colecta y todas están representadas por 10 o más individuos (*A. mellifera*, *N. perilampoides*, *Pseudopanurgus sp.*, *Frieseomellita nigra* y *Lasioglossum sp1.*) (Apéndice 1, Tabla A1.). Ocho especies fueron recolectadas en AE y AP, pero no en AI, dos corresponden a *T. corvina* y *T. fulviventris*, las especies más abundantes (58 y 37 individuos respectivamente), y las seis restantes están representadas por entre 10 y 12 individuos. Cinco especies fueron capturadas en AE y AI, pero no en AP, y dos especies poco abundantes fueron colectadas en AI y AP, pero no en AE. Trece especies fueron colectadas únicamente en AP, diez en AI y ocho en AE.

Diversidad de plantas visitadas por método de observación directa

Las abejas recolectadas fueron encontradas interactuando con 29 especies de plantas que pertenecen a 27 géneros y 15 familias. La familia con más especies visitadas corresponde a Asteraceae (5 especies) seguida de Malvaceae (4), Fabaceae y Boraginaceae con tres especies cada una, Convolvulaceae, Poaceae y Sapindaceae con dos y el resto con solo una especie visitada (Apéndice 1, Tabla A1). Únicamente tres especies de plantas fueron encontradas en ambos eventos de colecta (*Cascabela ovata*, *Cordia alliodora* y *Antigonon leptopus*). *C. alliodora* es una especie con numerosas visitas (36) que corresponden a 16 especies de abejas y fue encontrada en los tres tipos de uso de la tierra. *A. leptopus* tiene un número intermedio de visitas que corresponden a tres especies y fue encontrada en AI y AP. *C. ovata* es una especie con numerosas visitas (37) que corresponden únicamente a 8 especies de abejas y solo fue encontrada en AP. Por otra parte, *Ipomoeae lindenii*, fue colectada sólo en la

segunda visita pero se encontraba presente en los tres tipos de uso de la tierra y es una de las especies con más visitas (47) que corresponden a 15 especies de abejas. *Thouinidium decandrum*, *Hymenostephium gracillimum* e *Hyptis urticoides* se encuentra en AP y AE. *T. decandrum* e *H. gracillimum* también son especies con numerosas visitas (56 y 42 respectivamente) y con un alto número de especies de abejas que las visitan (19 y 13 respectivamente), pero la primera solo fue observada en la primera visita (época seca) y la segunda solo en la época lluviosa.

Tabla 3. Riqueza de especies, géneros y familias de plantas visitadas por las abejas en cada tipo de uso de la tierra durante las dos visitas de campo realizadas en el bosque seco de Zacapa. AE: Agricultura extensiva, AI: Agricultura intensiva y AP: área aledaña a área protegida.

Categoría	Gira 1				Gira 2				Total general
	AE	A I	AP	Total	AE	A I	AP	Total	
Familia	5	2	5	10	7	6	10	11	15
Género	5	2	5	11	9	7	12	20	27
Especie	5	2	5	12	9	7	13	22	29

La riqueza de plantas visitadas por las abejas fue mayor en la segunda visita realizada en octubre (época lluviosa), encontrando 22 especies de plantas. La mayor riqueza de especies fue encontrada en los sitios de colecta localizados en la zona aledaña al área protegida (13 especies) Tabla 3.

Diversidad de plantas visitadas detectada por método de metabarcoding de cargas polínicas

Las cargas polínicas de las abejas recolectadas visitando las flores de las plantas en floración fue variable. En general las abejas recolectadas durante la primera visita de campo presentaron cargas polínicas muy poco evidentes a simple vista en comparación con las abejas de la segunda visita. Sin embargo, todas las abejas fueron lavadas para extraerles el polen adherido a su cuerpo. Las cargas polínicas extraídas fueron igualmente poco visibles a simple vista en la mayoría de las muestras, pero no se realizó ningún análisis para cuantificarlas (Apéndice 4, Fig. F1).

La selección de las muestras para realizar los análisis de metabarcoding fue por conveniencia, eligiendo las muestras que presentaban una cantidad muy evidente de polen (Apéndice 4, Fig. F2). Debido a la limitación de fondos para realizar los análisis moleculares de secuenciación, se enviaron únicamente 19 muestras a secuenciar. Inicialmente se seleccionaron 37 muestras para realizar la

extracción del polen. Después de visualizar los productos de la extracción se seleccionaron las 19 muestras que presentaron mejores bandas (más fuertes y bien definidas). Las abejas seleccionadas fueron colectadas en diferentes tipos de hábitat y pertenecen a 11 especies diferentes especies de abejas, para cuatro de ellas hay más de un individuo (5 *Apis mellifera*, 3 *Trigona fuscipennis*, 2 *Diadasia olivácea*, 2 *Exomalopsis sp.*) (Apéndice 2, Tabla A2).

Después de realizar los análisis bioinformáticos para curar las secuencias, se realizó la asignación taxonómica utilizando una base de datos de secuencias del gen RbcL descargada de internet. Esta base de datos contiene más de 76 mil secuencias de libre acceso del gen RbcL que han sido secuenciadas en todo el mundo.

La mayoría de las secuencias obtenidas en cada una de las 19 muestras pudo ser asignada a una o más familia taxonómica (Fig. 2, gráfico A), identificándose 18 familias diferentes en comparación a las 6 familias identificadas por observación directa. En nueve de las muestras fueron identificadas más de una familia. La familia más abundante en relación al número de muestras donde se identificó es Asteraceae (9 muestras) seguida de Fabaceae (7) y Malvaceae (4 muestras). En las muestras provenientes de las localidades aledañas a áreas protegidas fueron identificadas 7 familias diferentes, mientras en las otras localidades solo 5 familias fueron identificadas. Las familias Asteraceae, Fabaceae y Malvaceae fueron identificadas en los tres tipos de hábitat (Apéndice 2, Tabla A2).

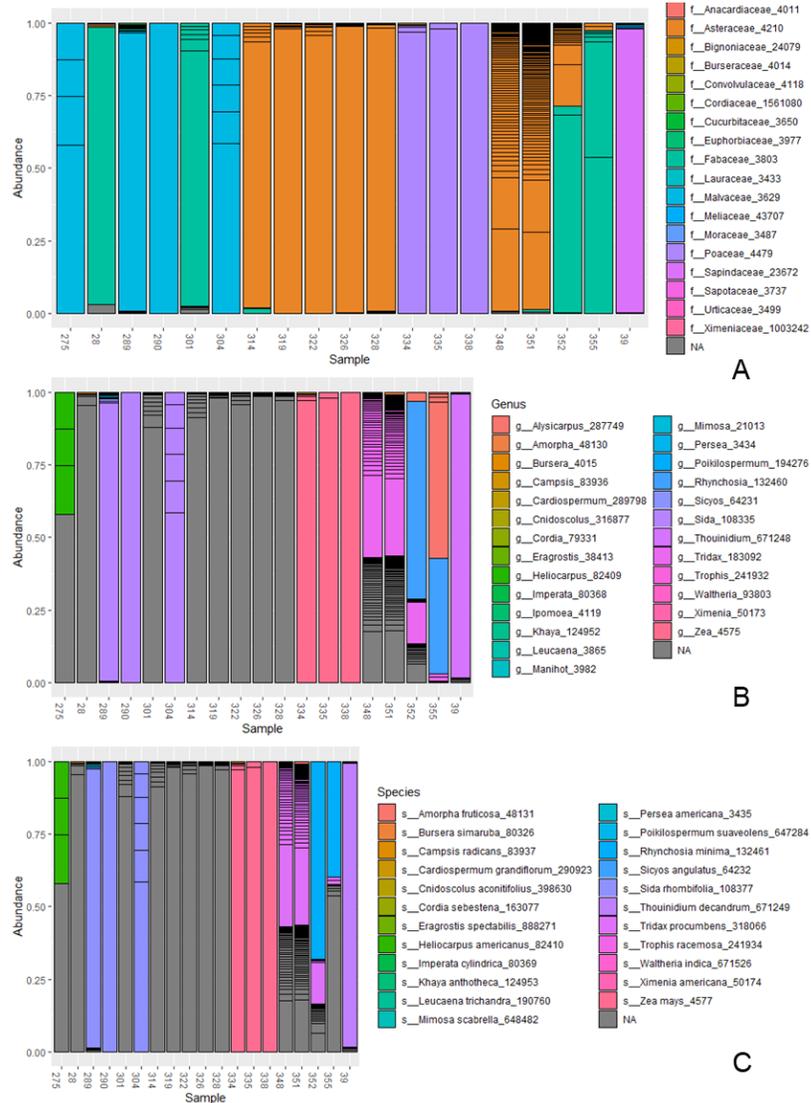


Figura 2. Composición taxonómica de las plantas a las que pertenece el polen de las cargas polínicas de 19 abejas recolectadas en la zona del bosque seco de Zacapa, usando la técnica metabarcoding: Cada barra representa una muestra y cada color corresponde a una familia (gráfico A), un género (gráfico B) o una especie (Gráfico C), el color gris corresponde a no identificadas.

A nivel de especie, al menos 79 unidades taxonómicas operacionales (OTU's) fueron detectadas. De esas únicamente 13 unidades (16%) fueron identificadas hasta especie (Fig. 2, gráficos B y C). En seis de las 19 muestras (muestras 301, 314, 319, 322, 326, 328), ninguna secuencia pudo ser asignada a algún género o especie, pero sí fueron detectadas una o más OTU's. En cuatro muestras fue detectada e identificada una sola especie (muestras 290, 304, 335 y 338). En una muestra fueron detectadas e

identificadas 4 especies de plantas. En el resto fueron identificadas una o dos especies, y se detectaron de una a 10 OTU's adicionales (Fig. 2, gráficos B y C y Apéndice 2, Tabla A2). En siete muestras fue identificada la especie de planta en la que la abeja fue observada (*Tridax procumbens*, *Zea mays* y *Thouinidium decandrum*). En una muestra fue identificada una especie del mismo género (*Heliocarpus americanus*) pero no la especie observada y en el resto fueron identificadas las familias a las que pertenecen las especies observadas, pero no el género o la especie.

Redes de interacción con base en método de observación directa

Encontramos 51 especies de abejas visitando 29 especies diferentes de plantas en el área de bosque seco de Zacapa, evidenciando 138 interacciones (Fig. 3, Apéndice 3, Tabla A3). La mayor cantidad de visitantes respecto a las plantas visitadas determina una red con asimetría negativa. La conectancia presentada por la red es baja, es decir que el porcentaje de enlaces que se forma es bajo con relación al total de enlaces se pueden formar en la red (Tabla 4).

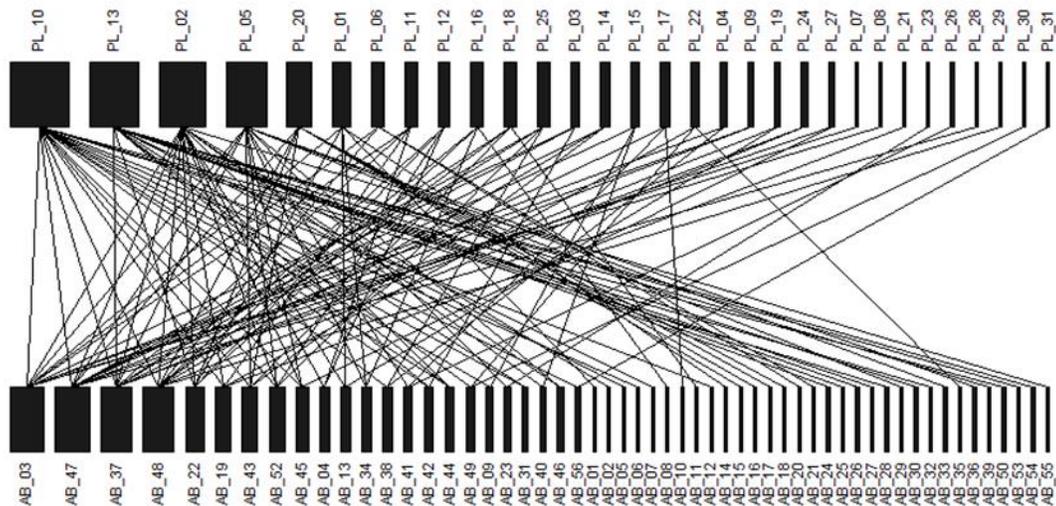


Figura 3. Red de interacción entre abejas y las plantas donde fueron colectadas en el bosque seco de Zacapa. Los nodos de la parte superior corresponden a las especies de plantas y los de la parte inferior a las abejas. El grosor de los nodos indica la cantidad de interacciones. Los códigos de las especies de plantas y abejas puede revisarlos en la Tabla A3, Apéndice 3.

El índice de enlaces por especie (promedio de número de enlaces por especie) y la diversidad de interacciones (índice de Shannon) son altos para esta red, lo que puede sugerir que la selección de recursos no es tan específica y las especies son más generalistas.

Tabla 4. Parámetros de red calculados para la red de interacción entre abejas y plantas donde fueron colectadas, en el bosque seco de Zacapa

Parámetros	Observación directa de visitas
Asimetría	-0,28
Conectancia	0,08
Enlaces/sp	1,56
Shannon	4,91

Solo seis especies de plantas y siete de abejas presentan más de cinco conexiones con abejas o plantas respectivamente (Tabla 5). En relación a las plantas solo ocho especies forman una sola conexión (27.6%), mientras en abejas 29 (54%). La especie de planta con más especies de visitantes fue *Thouinidium decandrum*, especie encontrada únicamente en la época seca y en dos tipos de hábitat (AE y AP). *Ipomoea lindenii* e *Hymenostephium gracillimum* fueron encontradas solo en la época lluviosa, la primera en los tres tipos de hábitat y la segunda solo en AE y AP. *Cordia alliodora* estuvo presente en los dos eventos de colecta y fue encontrada en los tres tipos de hábitat.

Tabla 5. Grado de las especies de plantas y abejas que intervienen en la red. Solo se muestran los datos de las especies con un grado igual o mayor a 5.

Espece planta	Grad o	Espece abeja	Grad o
<i>Thouinidium decandrum</i>	19	<i>Apis mellifera</i>	11
<i>Cordia alliodora</i>	16	<i>Trigona corvina</i>	11
<i>Ipomoea lindenii</i>	15	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	10
<i>Hymenostephium gracillimum</i>	13	<i>Trigona fulviventris</i>	10
<i>Cascabela ovata</i>	8	<i>Frieseomelitta nigra</i>	6
<i>Gaya calyprata</i>	6	<i>Exomalopsis sp.</i>	5
		<i>Tetragona dorsalis</i>	5

En relación a las abejas, *Apis mellifera* y *Trigona corvina* son las especies que más especies de plantas que visitaron seguidas de *Nannotrigona perilampoides* y *T. fulviventris*. Las cuatro especies fueron

encontradas en ambos eventos de colecta. *A. mellifera* y *N. perilampoides* fueron encontradas en todos los tipos de hábitat. *T. corvina* y *T. fulviventris* únicamente en AE y AP. Con excepción de *Exomalopsis* sp. las especies con un grado alto son especies sociales del grupo de las abejas sin aguijón, excepto *A. mellifera* (Tabla 5).

Redes de interacción usando los métodos de metabarcoding de cargas polínicas y observación directa

Se construyeron dos redes de interacción utilizando únicamente la información obtenida a partir de los 19 especímenes de abejas cuyas cargas polínicas fueron secuenciadas. Una red se construyó utilizando la información de las plantas sobre las cuales las abejas fueron observadas (OD). Para elaborar la segunda red se utilizó la información recuperada de la secuenciación de las cargas polínicas (CP) (Tabla A2).

La red OB incluye 8 especies de plantas y 11 de abejas, que forman 19 interacciones. La red CP incluye 13 especies de plantas y 11 de abejas, y se forman 86 interacciones. En esta última red se observa el taxón “sp” que contiene todas las especies que no pudieron ser identificadas, pero sí detectadas, por lo que puede haber más de una especie. Aun así, esta red presenta un mayor número de interacciones (Figura 4).

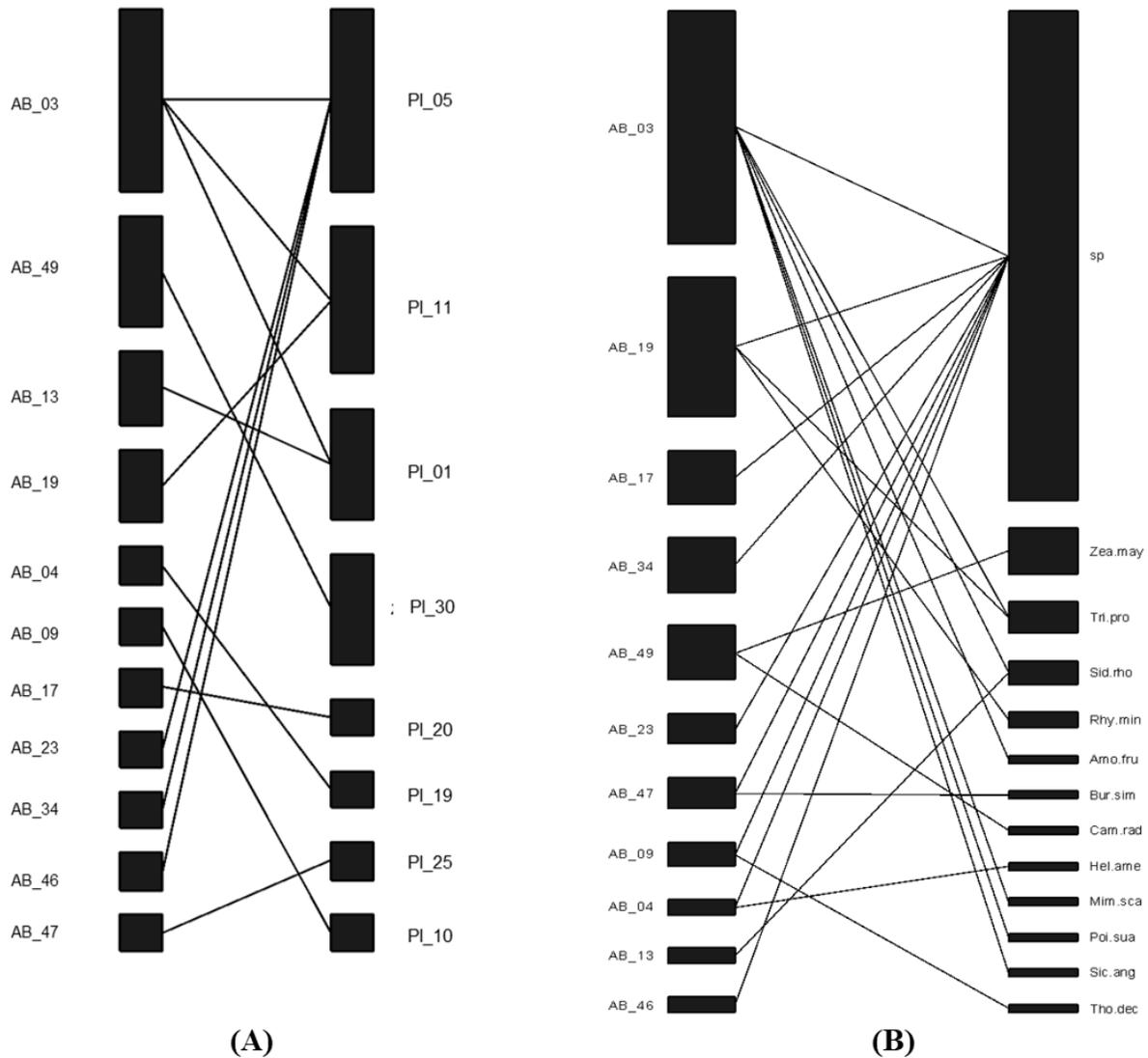


Figura 4. Redes de interacción entre abejas de las que se extrajeron cargas polínicas y plantas sobre las que se observaron (A) y plantas identificadas por análisis de metabarcoding del polen (B). Los códigos de las especies de plantas y abejas puede revisarlos en la Tabla A3, Apéndice 3

La red OB tiene una asimetría positiva mientras en la red CP se observa una asimetría negativa, en función de la proporción de las especies abejas respecto a las especies de plantas. La conectancia, es decir el porcentaje de enlaces que se forman, es alto con relación al total de enlaces que se pueden formar en ambas redes. El índice de enlace y el índice de Shannon son relativamente bajos en ambas

redes, lo que puede sugerir que la selección de recursos es más selectiva y las especies tenderían a ser más especialistas. Sin embargo, el índice de enlaces por especie es ligeramente más alto en la red de cargas polínicas (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros de red calculados para las redes de interacción entre abejas de las que se extrajeron cargas polínicas y plantas sobre las que se observaron (OB), y plantas identificadas por medio del análisis de metabarcoding del polen (CP).

Parámetros	Red CP	Red OB
Asimetría	0,08	-0,16
Conectancia	0,16	0,15
Enlaces/sp	0,96	0,68
Shanon	2,54	2,48

En relación al grado de las especies de abejas, en ambas redes *A. mellifera* es la especie que forma enlaces con más especies de plantas (Tabla 7). Sin embargo, en la red OD 10 especies (91%) forman enlaces con una única especie, mientras en la red CP el porcentaje es de 45% que corresponde a cinco especies. Respecto al grado de las plantas en la red CP, la especie que forma enlaces con más especies de abeja corresponde a la OTU denominada “sp” (Tabla 7). Esta unidad, como fue explicado anteriormente, incluye a todas las especies que fueron detectadas, pero no identificadas por lo que puede haber varias especies y entonces este dato puede variar.

Tabla 7. Grado de las especies de plantas y abejas que intervienen en las redes construidas a partir de observación directa y de análisis de metabarcoding.

Metabarcoding				Observación directa			
Especie planta	Grado	Especie abeja	Grado	Especie planta	Grado	Especie abeja	Grado
sp	9	<i>Apis mellifera</i>	7	<i>Hymenostephium gracillimum</i>	4	<i>Apis mellifera</i>	3
<i>Tridax procumbens</i>	2	<i>Exomalopsis sp</i>	3	<i>Tridax procumbens</i>	2	<i>Trigona corvina</i>	1
<i>Sida rhombifolia</i>	2	<i>Trigona fuscipennis</i>	2	<i>Gaya calyptrata</i>	2	<i>Diadasia olivacea</i>	1

<i>Zea mays</i>	1	<i>Cephalotrigona zexmeniae</i>	2	<i>Zea mays</i>	1	<i>Exomalopsis sp</i>	1
<i>Rhynchosia minima</i>	1	<i>Trigona corvina</i>	2	<i>Cascabela ovata</i>	1	<i>Augochlora sp</i>	1
<i>Amorpha fruticosa</i>	1	<i>Augochlora sp</i>	2	<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>	1	<i>Cephalotrigona zexmeniae</i>	1
<i>Bursera simaruba</i>	1	<i>Halictus ligatus</i>	1	<i>Senna atomaria</i>	1	<i>Eufriesea sp</i>	1
<i>Campsis radicans</i>	1	<i>Eufriesea sp</i>	1	<i>Thouinidium decandrum</i>	1	<i>Halictus ligatus</i>	1
<i>Heliocarpus americanus</i>	1	<i>Megachile sp1</i>	1			<i>Megachile sp1</i>	1
<i>Mimosa scabrella</i>	1	<i>Diadasia olivacea</i>	1			<i>Thygater sp</i>	1
<i>Poikilospermum suaveolens</i>	1	<i>Thygater sp</i>	1			<i>Trigona fuscipennis</i>	1
<i>Sicyos angulatus</i>	1						
<i>Thouinidium decandrum</i>	1						

10.2 Discusión de resultados

La base de datos utilizada para realizar la asignación taxonómica de las secuencias de RbcL generadas en este trabajo contiene una gran cantidad de secuencias identificadas provenientes de diversas regiones del mundo. Sin embargo, la representación geográfica no es equitativa y la vegetación de las zonas tropicales está menos representada. De hecho, al examinar la base de datos de referencia se constató que para cuatro de las 8 especies de plantas sobre las que fueron observadas las abejas no existe secuencia de RbcL ni de otra especie del mismo género. La especie *Heliocarpus terebinthinaceus* tampoco está representada, pero sí existen secuencias de dos especies del mismo género, una de las cuales fue asignada a una o más secuencias de una de las muestras del trabajo. La especie *Gaya calytrata* no está representada en la base de datos, sin embargo, en las tres muestras provenientes de la abeja observada en esta especie se identificó la presencia de *Sida rhombifolia*. Esta situación podría interpretarse como una inconsistencia. Otros estudios han reportado inconsistencias en la asignación taxonómica que explican a una mala identificación morfológica (Arstinsgtall et al., 2021), o, a la utilización de una base de datos del gen usado incompleta (Bell et al., 2017). En este

último caso algunos autores comprobaron que la utilización de bases de datos con información de la flora local mejora la resolución taxonómica durante el proceso de la asignación de especies.

Otro factor que puede afectar la capacidad de una asignar un nombre a una secuencia puede estar influenciado por la calidad de las secuencias. Debido a la baja calidad de las secuencias generadas por la empresa contratada fue necesario utilizar un score de calidad de 20 (Q20). Esto implica que un existe un mayor porcentaje de encontrar errores en las bases de los reads y por lo tanto existe una mayor probabilidad de una identificación incorrecta.

Arstingstall et al., (2021) evidencian otro aspecto a considerar en los casos en que la especie de planta donde la abeja fue observada no aparezca identificada en las muestras de polen es que no se comprobó que la abeja efectivamente colectó polen de la planta antes de ser capturada.

En este trabajo construimos una sola red con todas las especies de abejas recolectadas y las plantas que visitaban para tener una idea general de lo que sucede en el área del bosque seco de Zacapa. Los resultados muestran que la red de interacción entre esos actores es suficientemente compleja con una diversidad de interacciones alta y una conectancia baja. La condición de este último parámetro sugiere que se trata de un sistema con una resiliencia alta, como lo señala Villa-Galaviz et al., (2012). El hecho de que una considerable proporción de especies se encuentren en los diferentes tipos de hábitat muestreados refuerza la idea de que se trata de un sistema resiliente.

Las redes construidas únicamente empleando la información relacionada con las especies de abejas cuyas cargas polínicas fueron secuenciadas, son redes menos complejas y estables que la red general, esto se puede explicar debido al reducido número de especies utilizadas (11). Sin embargo, es evidente que la técnica molecular de metabarcoding al incrementar la cantidad de especies de plantas identificadas revela interacciones imposibles de detectar con el método de observación directa. Esto permitiría describir de manera más completa la situación de la diversidad del área y evaluar la salud del ecosistema con más elementos.

10.3 Conclusiones

A pesar de las limitaciones en cuanto al número de muestras que fueron secuenciadas, los resultados de este trabajo muestran que la aplicación del método de metabarcoding para identificar las especies de los granos de polen de las cargas polínicas permite obtener un registro taxonómico más detallado

de las plantas visitadas por las abejas, que el método de observación directa. Sin embargo, es necesario enfatizar que a pesar de que fueron detectadas aproximadamente 79 unidades taxonómicas operacionales -OTU's únicamente el 16% fue identificado hasta especie.

A pesar de que existe un gran número de secuencias del gen RbcL de acceso libre, en este trabajo se pone en evidencia una vez más que la representatividad geográfica no es equitativa. Por lo tanto, es necesario incrementar el acervo local de secuencias del gen RbcL y otros marcadores empleados en barcoding para que la identificación molecular de especies a través del método de metabarcoding sea efectivo y confiable. Esto debe considerarse como una prioridad importante, tomando en cuenta que las tecnologías de secuenciación son cada vez más accesibles y sus aplicaciones más comunes.

A pesar de que los eventos de recolecta fueron de poca duración la red construida con todas las especies de abejas recolectadas y las plantas donde fueron observadas es una red compleja con una conectancia baja, donde se observa una diversidad alta de interacciones. Esto permite inferir que la selección de los recursos es poco específica, las especies generalistas y por lo tanto es una red estable por lo que se puede esperar que sea un sistema resiliente ante potenciales eventualidades provocadas por el clima o actividades antropogénicas.

Al comparar las redes construidas empleando únicamente la información asociada a las especies de abejas cuyas cargas polínicas fueron analizadas se evidencia que el empleo de la técnica de metabarcoding permite construir redes más completas. Tomando en cuenta que la red general demuestra ser una red compleja y estable podríamos esperar que al aplicar la técnica de metabarcoding para analizar un mayor número de cargas polínicas se revelaran un mayor número de interacciones, produciéndose una red más completa. Esto permitiría tomar decisiones mejor informadas para definir estrategias de conservación en el área del bosque seco de Zacapa.

11 Referencias

- Ariano-Sánchez, D., Mortensen, R. M., R., S. & Rosell, F. (2020). Escaping drought: Seasonality effects on home range, movement patterns and habitat selection of the Guatemalan Beaded Lizard. *Global Ecology and Conservation*, 23. e01178. 10.1016/j.gecco.2020.e01178.
- Arstingstall, K. A., DeBano, S. J., Li, X., Wooster, D. E., Rowland, M. M., Burrows, S., & Frost, K. (2021). Capabilities and limitations of using DNA metabarcoding to study plant-pollinator interactions. *Molecular ecology*, 30(20), 5266–5297. <https://doi.org/10.1111/mec.16112>
- Ayala, R. (1999). Revisión de las abejas sin aguijón de México (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Folia Entomologica Mexicana*, 10, 106-123.
- Barrios-Izás, M. (2021). *Diversidad de Coleoptera (Curculionidae:Molytinae) e Hymenoptera (Apoidea) en los ecosistemas de Zacapa*. [Informe final. Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala].
- Bascompte, J. (2007). Networks in ecology. *Basic and Applied Ecology*, 8, 485-490.
- Bell, Karen (2021): rbcL July 2021. figshare. Dataset. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14936007.v1>
- Bell, K. L., Fowler, J., Burgess, K. S., Dobbs, E. K., Gruenewald, D., Lawley, B., Morozumi, C., & Brosi, B. J. (2017). Applying pollen DNA metabarcoding to the study of plant-pollinator interactions. *Applications in plant sciences*, 5(6), apps.1600124. <https://doi.org/10.3732/apps.1600124>
- Bell, K. L., N. de Vere, A. Keller, R. T. Richardson, A. Gous, K. S. Burgess, & B. J. Brosi. (2016). Pollen DNA barcoding: Current applications and future prospects. *Genome* 59: 629– 640., <https://doi.org/10.1139/gen-2015-0200>
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemuller, R., Edwards, M., Peeters, T. et al. (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313, 351–354.
- Bolyen, E., Rideout, J., Dillon, M.R., Bokulich, N., Abnet, C., Al-Ghalith, G., Alexander, H., Alm, E., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J.H., Cope, E., Silva, R.D.,

- Diener, C., Dorrestein, P., Douglas, G., Durall, ... & Caporaso, J. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 1-5.
- Bosch, J., González, A. M. M., Rodrigo, A., & Navarro, D. (2009). Plant–pollinator networks: Adding the pollinator’s perspective. *Ecology Letters*, 12(5), 409–419. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01296.x>
- Burkle, L., Marlin, J., & Knight, T. (2013). Plant-Pollinator Interactions over 120 Years: Loss of Species, Co-Occurrence, and Function. *Science*, 339, 1611 - 1615.
- Bustamante Castillo, M., Hernández-Baños, B., & Arizmendi, M. (2019). Hummingbird-plant visitation networks in agricultural and forested areas in a tropical dry forest region of Guatemala. *Journal of Ornithology*, 161(1), 189-201. 10.1007/s10336-019-01712-4.
- Bustamante-Castillo, M., Armas-Quiñonez, G., Barrios-Izás, M., Bosarreyes-Leja, B. (2018). *Evaluación de la importancia de los remanentes de bosque seco en la diversidad de polinizadores de los cultivos de melón (Cucumis melo) en la Región Semiárida del Valle del Motagua, Departamento de Zacapa, informe Final*. FINDECYT/FODECYT. Guatemala.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. 10.1038/nmeth.3869.
- CBOL Plant Working Group. (2009) A DNA barcode for land plants. *PNAS*, 106, 12794–12797.
- Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Asociación ZOOTROPIC, Centro de Estudios Conservacionistas, The Nature Conservancy. (2011). Plan de conservación de las regiones secas de Guatemala. D. Ariano & E. Secaira (Eds.). Guatemala: documento técnico No. 99 (01-2011). 76 pp.
- De Vere, N., Jones, L. E., Gilmore, T., Moscrop, J., Lowe, A., Smith, D., Hegarty, M. J., Creer, S., & Ford, C. R. (2017). Using DNA metabarcoding to investigate honey bee foraging reveals limited flower use despite high floral availability. *Scientific Reports*, 7, [42838]. <https://doi.org/10.1038/srep42838>
- de Vere, N., Rich, T. C., Trinder, S. A., & Long, C. (2015). DNA barcoding for plants. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1245, 101–118. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_8

- Derocles, S. Bohan, D., Dumbrell, A., Kitson, J., Massol, F., Pauvert, C., Plantegenest, M., Vacher, C. & Evans, D. (2018). Biomonitoring for the 21st Century: Integrating next-generation sequencing into ecological network analysis. *Advances in Ecological Research*, 58, 1-62. 10.1016/bs.aecr.2017.12.001.
- Dormann, C. F., Gruber, B., & Fründ, J. (2008). Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R News* 8, 8–11.
- Ebeling, A., Klein, A., & Tschardt, T. (2011). Plant–flower visitor interaction webs: Temporal stability and pollinator specialization increases along an experimental plant diversity gradient. *Basic and Applied Ecology*, 12, 300-309.
- Elías, S. (2015). *Dinámicas territoriales, políticas públicas y cambio climático: Estudio de caso del territorio del Valle del Motagua, Guatemala*. Fundación PRISMA.
- Galliot, J.-N., Brunel, D., Bérard, A., Chauveau, A., Blanchetête, A., Lanore, L., & Farruggia, A. (2017). Investigating a flower-insect forager network in a mountain grassland community using pollen DNA barcoding. *Journal of Insect Conservation*, 21(5–6), 827–837. <https://doi.org/10.1007/s10841-017-0022-z>
- Hawkins, J., Vere, N.D., Griffith, A., Ford, C.R., Allainguillaume, J., Hegarty, M., Baillie, L., & Adams-Groom, B. (2015). Using DNA Metabarcoding to Identify the Floral Composition of Honey: A New Tool for Investigating Honey Bee Foraging Preferences. *PLoS ONE*, 10.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Heinen, J.H., Rahbek, C. and Borregaard, M.K. (2020), Conservation of species interactions to achieve self-sustaining ecosystems. *Ecography*, 43: 1603-1611. <https://doi.org/10.1111/ecog.04980>
- Janzen, D.H., (1988). Tropical dry forests. The most endangered major tropical ecosystem. In E.O. Wilson, (Ed.), *Biodiversity* (pp. 130–137). Washington: National Academy Press.
- Jordano, P., Bascompte, J., & Olesen, J. M. (2003). Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. *Ecology Letters*, 6, 69–81.
- Keller, A., Danner, N., Grimmer, G., Ankenbrand, M., von der Ohe, K., von der Ohe, W., Rost, S., Härtel, S. & Steffan-Dewenter, I. (2015). Evaluating multiplexed next-generation sequencing as a method in palynology for mixed pollen samples. *Plant Biology*, 17, 558-566.

- Kleijn, D., Winfree, R., Bartomeus, I., Carvalheiro, L. G., Henry, M., Isaacs, R., Klein, A. M., Kremen, C., M'Gonigle, L. K., Rader, R., Ricketts, T. H., Williams, N. M., Lee Adamson, N., Ascher, J. S., Báldi, A., Batáry, P., Benjamin, F., Biesmeijer, J. C., Blitzer, E. J., Bommarco, R., ... Potts, S. G. (2015). Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature communications*, 6, 7414. <https://doi.org/10.1038/ncomms8414>
- Klein, A., Vaissière, B., Cane, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings: Biological Sciences*, 274(1608), 303-313.
- Lucas, A., Bodger, O., Brosi, B. J., Ford, C. R., Forman, D. W., Greig, C., Hegarty, M., Jones, L., Neyland, P. J., & de Vere, N. (2018). Floral resource partitioning by individuals within generalised hoverfly pollination networks revealed by DNA metabarcoding. *Scientific reports*, 8(1), 5133. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23103-0>
- Macgregor, C. J., Kitson, J. J. N., Fox, R., Hahn, C., Lunt, D. H., Pocock, M. J. O. & Evans, D.M. (2019), Construction, validation, and application of nocturnal pollen transport networks in an agro-ecosystem: a comparison using light microscopy and DNA metabarcoding. *Ecological Entomology*, 44, 17-29. <https://doi.org/10.1111/een.12674>
- MacLeod, M., Reilly, J., Cariveau, D., Genung, M. A., Roswell, M., Gibbs, J., Winfree, R. (2020). How much do rare and crop-pollinating bees overlap in identity and flower preferences? *Journal of Applied Ecology*, 57, 413– 423. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13543>
- Martínez-Falcón, A.P., Martínez-Adriano, C.A., Dáttilo, W. (2019) Redes complejas como herramientas para estudiar la diversidad de las interacciones ecológicas. En Moreno C.E. (Ed.), *La biodiversidad en un mundo cambiante: Fundamentos teóricos y metodológicos para su estudio* (pp. 265-283). Ciudad de México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo/Libermex.
- Michener, C.D., Mcginley, R.J., Danforth, B.N. (1994). *The bee genera of North and Central America (Hymenoptera:Apoidea)*. Smithsonian Institution Press.

- Murphy, P., & Lugo, A. (1995). Dry forests of Central America and the Caribbean. In S. Bullock, H. Mooney, & E. Medina (Eds.), *Seasonally Dry Tropical Forests* (pp. 9-34). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511753398.002
- Ollerton, J. (2017). Pollinator Diversity: Distribution, ecological function, and conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 48, 353–76
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120, 321–26.
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (2013). Evaluación del bienestar humano y ambiente en el corredor seco oriental de Guatemala. [Informe final. Guatemala].
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M., & Escaravage, N. (2017). DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Scientific Reports*, 7.
- Portillo-Quintero, C., & Sánchez-Azofeifa, G. (2010). Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation*, 143, 144–55.
- Potts, S., Biesmeijer, J., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*, 25(6), 345-53.
- Priess, J. A., Mimler, M., Klein, A.M., Schwarze, S., Tschardtke, T. & Steffan-Dewenter, I. (2007). Linking deforestation scenarios to pollination services and economic returns in coffee agroforestry systems. *Ecological Applications*, 17, 407-417.
- Richardson, R. T., Lin, C. H., Sponsler, D. B., Quijia, J. O., Goodell, K., & Johnson, R. M. (2015). Application of ITS2 metabarcoding to determine the provenance of pollen collected by honey bees in an agroecosystem. *Applications in Plant Sciences*, 3(1), 1400066. <https://doi.org/10.3732/apps.1400066>
- Rogers, S. R., Tarpy, D. R., & Burrack, H. J. (2014) Bee species diversity enhances productivity and stability in a perennial crop. *PLoS ONE* 9(5), e97307. doi:10.1371/journal.pone.0097307.
- Ruppert, K.M., Kline, R., & Rahman, S. (2019). Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17.
- Senapathi, D., Fründ, J., Albrecht, M., Garratt, M. P. D., Kleijn, D., Pickles, B. J., Potts, S. G., An, J., Andersson, G. K. S., Bänisch, S., Basu, P., Benjamin, F., Bezerra, A. D. M., Bhattacharya, R., Biesmeijer, J. C., Blaauw, B., Blitzer, E. J., Brittain, C. A., Carvalheiro, L. G., Cariveau, D. P.,

- ... Klein, A. M. (2021). Wild insect diversity increases inter-annual stability in global crop pollinator communities. *Proceedings. Biological sciences*, 288(1947), 20210212. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.0212>
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E. (2012). Towards next generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 21, 2045–2050
- Tylianakis, J. M., Didham, R.K., Bascompte, J., & Wardle, D. A., (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 1351–1363.
- Valiente-Banuet, A., Aizen, M. A., Alcántara, J. M., Arroyo, J., Cocucci, A., Galetti, M., García, M. B., García, D., Gómez, J. M., Jordano, P., Medel, R., Navarro, L., Obeso, J. R., Oviedo, R., Ramírez, N., Rey, P. J., Traveset, A., Verdú, M., & Zamora, R. (2015). Beyond species loss: The extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology*, 29(3), 299–307. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12356>
- Véliz, M., Ramírez, F., Cóbar, A. & García, M. (2003). *La diversidad florística del monte espinoso de Guatemala*. [Informe final de Proyecto, USAC/CONCYT].
- Villa-Galaviz, E., Boege, K., del-Val, E. (2012) Resilience in Plant-Herbivore Networks during Secondary Succession. *PLoS ONE*, 7(12), e53009. doi:10.1371/ journal.pone.0053009
- Winfree, R. (2020). How Does Biodiversity Relate to Ecosystem Functioning in Natural Ecosystems? In A. Dobson, D. Tilman & R. Holt (Ed.), *Unsolved Problems in Ecology* (pp. 338-354). Princeton: Princeton University Press. <https://doi.org/10.1515/9780691195322-027>
- Zoller, L., Bennett, J., & Knight, T. M. (2023). Plant-pollinator network change across a century in the subarctic. *Nature ecology & evolution*, 7(1), 102–112. <https://doi.org/10.1038/s41559-022-01928-3>

12 Apéndice

Apéndice 1.

Tabla A1. Listado de abejas colectadas y las plantas que visitaban en dos visitas de campo realizadas en abril y octubre de 2022 en localidades ubicadas en tres tipos de uso de la tierra en el área de bosque seco del departamento de Zacapa, Guatemala. AE: Agricultura extensiva, AI: Agricultura intensiva y AP: área aledaña a área protegida. ^a indica que la abeja fue recolectada en las dos visitas y ^b indica que la abeja pertenece a la tribu Meliponini (abejas sin aguijón).

Familia	Especie abeja	Especie planta	Gira 1		Gira 2		Total			
			AE	A I	AP	AE		A I	AP	
Andrenid ae	<i>Calliopsis? sp</i>	<i>Cordia alliodora</i>					2	2		
	<i>Pseudopanurgus sp</i>	<i>Bouteloua curtipendula</i>					3	3		
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>				8	6	14		
		<i>Isocarpha oppositifolia</i>					1	1		
Apidae	<i>Ancyloscelis sp</i>	<i>Ipomoea lindenii</i>					2	2		
	<i>Apis mellifera</i> ^a	<i>Antigonon leptopus</i>		3				1	4	
		<i>Cordia prunifolia</i>		3					3	
		<i>Gaya calyptata</i>					1		1	
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>				2		2	4	
		<i>Hyptis urticoides</i>				1		1	2	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					3		3	
		<i>Lonchocarpus minimiflorus</i>						2	2	
		<i>Melochia tomentosa</i>					1		1	
		<i>Muntingia calabura</i>		3					3	
		<i>Thouinidium decandrum</i>		2		3			5	
		<i>Tridax procumbens</i>						2	2	
		<i>Centris sp1</i>	<i>pl5_1</i>		2					2
		<i>Cephalotrigona zexmeniae</i> ^b	<i>Hechtia guatemalensis</i>				2			2
			<i>Thouinidium decandrum</i>		6		4			10
<i>Ceratina sp</i>	<i>Ipomoea lindenii</i>						1	1		
	<i>Isocarpha oppositifolia</i>					1		1		

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Familia	Especie abeja	Especie planta	Gira 1			Gira 2			Total
			AE	A	AP	AE	A	AP	
	<i>Ceratina sp1</i>	<i>Cnidoscopus urens</i>			1			1	
	<i>Diadasia olivacea</i>	<i>Gaya calytrata</i>				1	1	2	
		<i>Heliotropium angiospermum</i>					1	1	
		<i>Ipomoea lindenii</i>				1		1	
		<i>Epeolus sp</i>	<i>Gaya calytrata</i>				1	1	
	<i>Epicharis sp</i>	<i>Cascabela ovata</i>					2	2	
	<i>Epicharis sp1</i>	<i>Cascabela ovata</i>			1			1	
	<i>Eufriesea sp</i>	<i>Cascabela ovata</i>					1	1	
	<i>Euglossa sp1</i>	<i>Cascabela ovata</i>			9			9	
	<i>Exomalopsis sp^a</i>	<i>Chamaecrista sp.</i>				1		1	
		<i>Ipomoea lindenii</i>				1		1	
		<i>Rhynchosia minima</i>					2	2	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	4					4	
		<i>Tridax procumbens</i>					2	2	
	<i>Exomalopsis sp1</i>	<i>Hyptis urticoides</i>				1		1	
	<i>Exomalopsis sp2</i>	<i>Hyptis urticoides</i>				1		1	
	<i>Frieseomellita nigra^{a,b}</i>	<i>Cascabela ovata</i>			1			1	
		<i>Cordia alliodora</i>		1				1	
		<i>Gaya calytrata</i>					1	1	
		<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>						1	
		<i>Ipomoea lindenii</i>				2		2	
		<i>pl5_1</i>	4					4	
		<i>Nannotrigona perilampoides^{a,b}</i>	<i>Cnidoscopus urens</i>			1			1
		<i>Cordia alliodora</i>		1				1	
		<i>Heliotropium angiospermum</i>				1		1	
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>				2		2	
		<i>Ipomoea lindenii</i>				1	9	10	
		<i>Isocarpha oppositifolia</i>					4	4	
		<i>Milleria quinqueflora</i>					2	2	
		<i>Senna atomaria</i>			1			1	
		<i>Thouinidium decandrum</i>			4			4	
		<i>Tridax procumbens</i>					1	1	

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Familia	Especie abeja	Especie planta	Gira 1			Gira 2			Total
			AE	A I	AP	AE	A I	AP	
	<i>Partamona bilineata</i> ^b	<i>Cordia prunifolia</i>	1					1	
		<i>Senna atomaria</i>			1			1	
		<i>Thouinidium decandrum</i>			4			4	
	<i>Plebeia parkeri</i> ^{?b}	<i>Cordia alliodora</i>					1	1	
	<i>Plebeia sp</i> ^b	<i>Hechtia guatemalensis</i>			4			4	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					1	1	
	<i>Scaptotrigona pectoralis</i> ^b	<i>Antigonon leptopus</i>		8				8	
		<i>Cordia alliodora</i>		2				2	
		<i>Thouinidium decandrum</i>			11			11	
	<i>Tetragona dorsalis</i> ^{a,b}	<i>Cascabela ovata</i>			5			5	
		<i>Cnidoscolus urens</i>				2		2	
		<i>Hamelia patens</i>	2					2	
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>					1	1	
	<i>Tetragonisca angustula</i> ^{a,b}	<i>Cordia alliodora</i>		1				1	
		<i>Ipomoea lindenii</i>				5		5	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	1					1	
	<i>Tetraloniella sp</i> ^a	<i>Hymenostephium gracillimum</i>					3	3	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					2	2	
		<i>Thouinidium decandrum</i>			1			1	
		<i>Tithonia tubaeformis</i>					1	1	
		<i>volando</i>					3	3	
	<i>Thygater sp</i> ^a	<i>Hymenostephium gracillimum</i>				3	6	9	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					2	2	
	<i>Triepeolus sp</i>	<i>volando</i>					1	1	
	<i>Trigona corvina</i> ^{a,b}	<i>Antigonon leptopus</i>					2	2	
		<i>Cascabela ovata</i>			17			17	
		<i>Hamelia patens</i>	8					8	
		<i>Hechtia guatemalensis</i>			8			8	
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>					2	2	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					13	13	
		<i>Ipomoea sp.</i>					1	1	
		<i>Muntingia calabura</i>	1					1	

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Familia	Especie abeja	Especie planta	Gira 1			Gira 2			Total
			AE	A I	AP	AE	A I	AP	
		<i>Senna atomaria</i>			2			2	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	2					2	
		<i>Tithonia tubaeformis</i>					1	1	
		<i>volando</i>	1					1	
	<i>Trigona fulviventris</i> ^{a,b}	<i>Cascabela ovata</i>					1	1	
		<i>Cnidoscolus urens</i>			11			11	
		<i>Hamelia patens</i>	2					2	
		<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>					3	3	
		<i>Hyptis urticoides</i>					2	2	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					1	1	
		<i>Milleria quinqueflora</i>					2	2	
		<i>pl5_1</i>	5					5	
		<i>Serjania lobulata</i>					6	6	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	4					4	
	<i>Trigona fuscipennis</i> ^{a,b}	<i>Cordia alliodora</i>		8		3		11	
		<i>Rhynchosia minima</i>					1	1	
		<i>Zea mays</i>				7		7	
	<i>Trigonisca</i> sp ^b	<i>Thouinidium decandrum</i>			1			1	
Colletidae	<i>Colletes</i> sp	<i>Thouinidium decandrum</i>			2			2	
	<i>Hylaeus</i> sp ^a	<i>Hymenostephium gracillimum</i>				1		1	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	1					1	
Halictidae	<i>Agapostemon</i> sp	<i>Gaya calyptrata</i>					1	1	
	<i>Augochlora</i> sp	<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>					1	1	
		<i>Ipomoea lindenii</i>					3	3	
		<i>Tridax procumbens</i>					5	5	
	<i>Augochlorella</i> sp	<i>Cordia alliodora</i>		1				1	
	<i>Augochlorini</i> sp1	<i>Thouinidium decandrum</i>			1			1	
	<i>Augochloropsis</i> sp	<i>Thouinidium decandrum</i>	1					1	
	<i>Halictus ligatus</i>	<i>Hymenostephium gracillimum</i>				1	2	3	
		<i>Tithonia tubaeformis</i>					1	1	
	<i>Halictus</i> sp	<i>Cordia alliodora</i>		2				2	
	<i>Halictus</i> sp1	<i>Cordia alliodora</i>		1				1	

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Familia	Especie abeja	Especie planta	Gira 1			Gira 2			Total
			AE	A I	AP	AE	A I	AP	
	<i>Halictus sp2</i>	<i>Cordia alliodora</i>		1				1	
	<i>Halictus sp3</i>	<i>Cordia alliodora</i>		2				2	
	<i>Halictus sp4</i>	<i>Thouinidium decandrum</i>	1					1	
	<i>Lasioglossum sp1^a</i>	<i>Cordia alliodora</i>		8				8	
		<i>Thouinidium decandrum</i>	1		1			2	
	<i>Lasioglossum sp2</i>	<i>Cordia alliodora</i>		2				2	
		<i>Thouinidium decandrum</i>			1			1	
Megachili dae	<i>Megachile sp</i>	<i>Hymenostephium gracillimum</i>				1		1	
	<i>Megachile sp1</i>	<i>Gaya calytrata</i>					1	1	
		<i>Hymenostephium gracillimum</i>				1		1	
		<i>pl5_1</i>		2				2	
	<i>Megachile sp2</i>	<i>Rhynchosia minima</i>					1	1	
<i>Megachile sp3</i>	<i>Hymenostephium gracillimum</i>				1		1		

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Apéndice 2.

Tabla A2. Muestras de cargas polínicas secuenciadas. Se muestra las especies de abejas, las plantas donde fueron observadas y las especies identificadas por medio del análisis de metabarcoding de las cargas polínicas.

Habitat	Localidad	Código abeja	Especie abeja	Observación directa			Metabarcoding			OUT's detectadas
				Familia	Especie	Presencia en BD	Familia	Género	Especie	
Agricultura intensiva	C2	BC_12-abe-348	<i>Apis mellifera</i>	Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i>	especie	Asteraceae	no id	no id	10
		BC_12-abe-351	<i>Apis mellifera</i>	Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i>	especie	Asteraceae	no id	no id	10
		BC_12-abe-352	<i>Exomalopsis sp</i>	Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i>	especie	Fabaceae	<i>Amorpha</i>	<i>Amorpha fruticosa</i>	
							Asteraceae	<i>Alysicarpus</i>	no id	no id
		BC_12-abe-355	<i>Exomalopsis sp</i>	Asteraceae	<i>Tridax procumbens</i>	especie	Fabaceae	<i>Rhynchosia</i>	<i>Rhynchosia minima</i>	
	Asteraceae						<i>Alysicarpus</i>	no id	no id	4
	Ehu	BC_11-abe-289	<i>Apis mellifera</i>	Malvaceae	<i>Gaya calyptrata</i>	no	Cucurbitaceae	<i>Sicyos</i>	<i>Sicyos angulatus</i>	
							Fabaceae	<i>Mimosa</i>	<i>Mimosa scabrella</i>	
							Malvaceae	<i>Sida</i>	<i>Sida rhombifolia</i>	
	Agricultura extensiva	SD1	BC_11-abe-290	<i>Diadasia olivacea</i>	Malvaceae	<i>Gaya calyptrata</i>	no	Malvaceae	<i>Sida</i>	<i>Sida rhombifolia</i>
BC_13-abe-304			<i>Diadasia olivacea</i>	Malvaceae	<i>Gaya calyptrata</i>	no	Malvaceae	<i>Sida</i>	<i>Sida rhombifolia</i>	
BC_13-abe-314			<i>Megachile sp1</i>	Asteraceae	<i>Hymenostephium gracillimum</i>	no	Asteraceae	no id	no id	6
BC_13-abe-319			<i>Thygater sp</i>	Asteraceae	<i>Hymenostephium gracillimum</i>	no	Fabaceae	no id	no id	1
							Asteraceae	no id	no id	2
BC_13-abe-322		<i>Halictus ligatus</i>	Asteraceae	<i>Hymenostephium gracillimum</i>	no	Asteraceae	no id	no id	4	
						Asteraceae	no id	no id	1	
BC_13-abe-328		<i>Apis mellifera</i>	Asteraceae	<i>Hymenostephium gracillimum</i>	no	Asteraceae	no id	no id	2	
SD2		BC_14-abe-334	<i>Trigona fuscipennis</i>	Poaceae	<i>Zea mays</i>	especie	Bignoniaceae	<i>Campsis</i>	<i>Campsis radicans</i>	
	BC_14-abe-335	<i>Trigona fuscipennis</i>	Poaceae	<i>Zea mays</i>	especie	Poaceae	<i>Zea</i>	<i>Zea mays</i>	3	
						Poaceae	<i>Zea</i>	<i>Zea mays</i>		
Che	BC_07-abe-275	<i>Augochlora sp</i>	Malvaceae	<i>Heliolepis terebinthinaceus</i>	género	Malvaceae	no id	no id	1	
							<i>Heliolepis</i>	<i>Heliolepis americanus</i>		
Área protegida	He1	BC_04-abe-301	<i>Euphrosia sp</i>	Apocynaceae	<i>Cascabela ovata</i>	no	Fabaceae	no id	no id	5
							no id	no id	no id	2
	He4	BC_07-abe-28	<i>Trigona corvina</i>	Fabaceae	<i>Senna atomaria</i>	especie	Burseraceae	<i>Bursera</i>	<i>Bursera simaruba</i>	
							Fabaceae	no id	no id	1
							no id	no id	no id	1
BC_07-abe-39	<i>Cephalotrigona zexmeniae</i>	Sapindaceae	<i>Thouinidium decandrum</i>	especie	Ximeriaceae	no id	no id	1		
					Meliaceae	no id	no id	2		
						Sapindaceae	<i>Thouinidium</i>	<i>Thouinidium decandrum</i>		

Apéndice 3.

Tabla A3. Códigos de especies de plantas y abejas utilizadas para construir las redes de interacción

Abejas		Plantas	
Código	Especie	Especies de observación directa	
AB_01	<i>Agapostemon sp.</i>	Código	Especie
AB_02	<i>Ancyloscelis sp.</i>	PL_01	<i>Gaya calyprata</i>
AB_03	<i>Apis mellifera</i>	PL_02	<i>Ipomoea lindenii</i>
AB_04	<i>Augochlora sp.</i>	PL_03	<i>Antigonon leptopus</i>
AB_05	<i>Augochlorella sp.</i>	PL_04	<i>Cordia prunifolia</i>
AB_06	<i>Augochlorini sp1</i>	PL_05	<i>Hymenostephium gracillimum</i>
AB_07	<i>Calliopsis? Sp.</i>	PL_06	<i>Hyptis urticoides</i>
AB_08	<i>Centris sp1</i>	PL_07	<i>Lonchocarpus minimiflorus</i>
AB_09	<i>Cephalotrigona zexmeniae</i>	PL_08	<i>Melochia tomentosa</i>
AB_10	<i>Ceratina sp.</i>	PL_09	<i>Muntingia calabura</i>
AB_11	<i>Ceratina sp1</i>	PL_10	<i>Thouinidium decandrum</i>
AB_12	<i>Colletes sp</i>	PL_11	<i>Tridax procumbens</i>
AB_13	<i>Diadasia olivacea</i>	PL_12	<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i>
AB_14	<i>Epeolus sp</i>	PL_13	<i>Cordia alliodora</i>
AB_15	<i>Epicharis sp</i>	PL_14	<i>Hamelia patens</i>
AB_16	<i>Epicharis sp1</i>	PL_15	<i>Hechtia guatemalensis</i>
AB_17	<i>Eufriesea sp</i>	PL_16	<i>pl5_1</i>
AB_18	<i>Euglossa sp1</i>	PL_17	<i>Isocarpa oppositifolia</i>
AB_19	<i>Exomalopsis sp</i>	PL_18	<i>Cnidioscolus urens</i>
AB_20	<i>Exomalopsis sp1</i>	PL_19	<i>Heliotropium angiospermum</i>
AB_21	<i>Exomalopsis sp2</i>	PL_20	<i>Cascabela ovata</i>
AB_22	<i>Frieseomellita nigra</i>	PL_21	<i>Chamaecrista sp.</i>
AB_23	<i>Halictus ligatus</i>	PL_22	<i>Rhynchosia minima</i>
AB_24	<i>Halictus sp</i>	PL_23	<i>Tithonia tubaeformis</i>
AB_25	<i>Halictus sp1</i>	PL_24	<i>Milleria quinqueflora</i>
AB_26	<i>Halictus sp2</i>	PL_25	<i>Senna atomaria</i>
AB_27	<i>Halictus sp3</i>	PL_26	<i>Bouteloua curtipendula</i>
AB_28	<i>Halictus sp4</i>	PL_27	<i>Tithonia tubaeformis</i>
AB_29	<i>Hylaeus sp</i>	PL_28	<i>Ipomoea sp.</i>
AB_30	<i>Lasioglossum sp1</i>	PL_29	<i>Serjania lobulata</i>
AB_31	<i>Lasioglossum sp2</i>	PL_30	<i>Zea mays</i>
AB_31	<i>Lasioglossum sp2</i>	PL_31	<i>Richardia scabra</i>
AB_32	<i>Lasioglossum sp3</i>		
AB_33	<i>Megachile sp</i>	Especies de plantas de cargas polínicas	
AB_34	<i>Megachile sp1</i>	Código	Especie
AB_35	<i>Megachile sp2</i>	Zea.may	<i>Zea mays</i>
AB_36	<i>Megachile sp3</i>	Tri.pro	<i>Tridax procumbens</i>
AB_37	<i>Nannotrigona perilampoides</i>	Sid.rho	<i>Sida rhombifolia</i>
AB_38	<i>Partamona bilineata</i>	Amo.fru	<i>Amorpha fruticosa</i>
AB_39	<i>Plebeia parkeri?</i>	Bur.sim	<i>Bursera simaruba</i>
AB_40	<i>Plebeia sp</i>	Cam.rad	<i>Campsis radicans</i>
AB_41	<i>Pseudopanurgus sp</i>	Hel.ame	<i>Heliocarpus americanus</i>
AB_42	<i>Scaptotrigona pectoralis</i>	Mim.sca	<i>Mimosa scabrella</i>
AB_43	<i>Tetragona dorsalis</i>	Sic.ang	<i>Sicyos angulatus</i>
AB_44	<i>Tetragonisca angustula</i>	Rhy.min	<i>Rhynchosia minima</i>
AB_45	<i>Tetraloniella sp</i>	Tho.dec	<i>Thouinidium decandrum</i>
AB_46	<i>Thygater sp</i>	Poi.sua	<i>Poikilospermum suaveolens</i>
AB_47	<i>Trigona corvina</i>		
AB_48	<i>Trigona fulviventris</i>		
AB_49	<i>Trigona fuscipennis</i>		
AB_50	<i>Trigonisca sp</i>		
AB_51	<i>Tripeolus sp</i>		
AB_52	<i>Avispa</i>		
AB_53	<i>Chalcidoidea sp1</i>		
AB_54	<i>Coleoptera sp1</i>		
AB_55	<i>Coleoptera sp2</i>		
AB_56	<i>Coleoptera sp3</i>		

Apéndice 4.

Fotografías



Figura F1. Abeja cubierta de polen colectada sobre planta en el bosque seco de Zacapa



Figura F2. Polen extraído de cuerpo de abeja para identificación de especies polen colectado por abejas en bosque seco de Zacapa por método de metabarcoding

13 Aspectos éticos

Fue tramitada una licencia de investigación y una licencia de colecta ante el Consejo Nacional de Áreas Protegidas.

14 Vinculación

Este proyecto fortalece las relaciones entre unidades de investigación de la Universidad de San Carlos ya que vinculó directamente una unidad de investigación de un centro universitario y una unidad de investigación de la sede central. Además, se estableció un vínculo con el Laboratorio molecular del Laboratorio Clínico Popular, Programa de EDC, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, en donde se realizó una parte de los análisis moleculares. Estas vinculaciones son importantes porque fomentan el trabajo colaborativo y complementario entre unidades de investigación de la universidad. Este proyecto se ejecutó gracias a la vinculación que se desarrolló con el Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas -I2QB3- de la Universidad Mariano Gálvez a través de la coordinadora de investigación de dicho instituto quien participó como investigadora asociada del proyecto y que además gestionó el uso de las instalaciones del laboratorio para realizar una parte de los análisis moleculares.

El estudio también se vincula con CONAP, la institución encargada de la conservación de la biodiversidad a nivel nacional, ya que genera información sobre las características de la biodiversidad del país.

Por último, el trabajo se vincula indirectamente con la empresa privada ya que la información puede ser útil para que se implementen estrategias que favorezcan los programas de polinización de sus cultivos.

15 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Fueron elaborados un poster y una presentación, las cuales serán colocadas en la página del Instituto de Investigaciones de CUNZAC. Además, se elaboró un video de animación sobre el proceso de identificación molecular de los granos de polen.

Por último, los ejemplares recolectados estarán almacenados en la colección de referencia del Instituto de Investigación de CUNZAC para poder ser consultados, previa solicitud.

16 Aporte de la propuesta de investigación a los ODS

Este proyecto contribuye con el cumplimiento del Objetivo Sustentable 15 “vida de ecosistemas terrestres”. El conocimiento de las características de las redes de interacción planta-abejas nativas es importante porque proporciona evidencia del nivel de conservación de un área ya que las redes más complejas evidencian ecosistemas más saludables. Por otra parte, las abejas son consideradas como uno de los polinizadores más importantes por lo que el conocimiento de su diversidad y de sus relaciones con las plantas puede contribuir a establecer estrategias de conservación más integrales.

Este proyecto también contribuye indirectamente con el Objetivo 13 “Acción por el clima”. Conocer la diversidad de un área y la estructura de las relaciones entre los componentes de esa diversidad permite tener una medida de la resiliencia potencial del área. Teniendo esa información se pueden desarrollar estrategias de conservación acordes con las características del área que permitan fortalecer o mantener la resiliencia del área frente a potenciales desastres naturales o de origen antropogénico.

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

17 Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Carmen Lucía Yurrita Obiols	Coordinadora	970104		
Ana Gabriela Armas Quiñónez	Investigadora	20050797		
Dulce María Gabriela Herrera Palencia	Auxiliar I	20220856		

18 Declaración de Coordinadora del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Dra. Carmen Lucía Yurrita Obiols Coordinadora del proyecto de investigación	 Firma
Fecha: 28/02/2023	

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

19 Aval del Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto “Aplicación de “ADN metabarcoding” de polen para evaluar asociaciones plantas-abejas nativas en el bosque seco de Zacapa” en mi calidad de Coordinador de investigación del Centro Universitario de Zacapa, mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Dr. Manuel Barrios Izás
Vo.Bo. Coordinador Instituto de Investigación
CUNZAC


Firma

Fecha: 28/02/2023

Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

20 Visado de la Dirección General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Vo.Bo. Coordinador del Programa Universitario de Investigación	Firma
Fecha: 28/02/2023	

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Vo.Bo. Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación	Firma
Fecha: 28/02/2023	