

# Diversidad genética de la abeja *Exaerete smaragdina* (Guérin, 1844) (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) en el suroccidente colombiano

Genetic diversity of the orchid bee *Exaerete smaragdina* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) in southwestern Colombia

Vianny Plaza-Ortega   <sup>a</sup>

Heiber Cárdenas-Henao  <sup>a</sup>

James Montoya-Lerma  <sup>a</sup>

Nelson Rivera-Franco  <sup>a</sup>

María Cristina Gallego-Roperó  <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Biología, Universidad del Valle, Colombia

<sup>b</sup> Departamento de Biología, Universidad del Cauca, Colombia

Recibido: noviembre 16, 2023

Aceptado: mayo 28, 2024

Publicado en línea: octubre 28, 2024

<https://doi.org/10.21068/2539200X.1225>



## Resumen

Este artículo explora la influencia de las cordilleras sobre el flujo génico de *Exaerete smaragdina*, una abeja de amplia distribución en Colombia y de gran importancia en el sostenimiento de la diversidad florística de sistemas naturales, gracias a su función como agente polinizador de orquídeas neotropicales. Se muestrearon once bosques naturales conservados en el flanco occidental de la cordillera Central, el flanco oriental de la cordillera Centro-Oriental, el piedemonte amazónico y el flanco occidental de la cordillera Occidental. En cada bosque se establecieron dos transectos de 250 m x 2,5 m. A lo largo de cada transecto, se ubicaron seis estaciones de muestreo cada 50 metros, en las cuales se instalaron trampas de olor con atrayentes aromáticos. El material biológico recolectado fue procesado en el Laboratorio de Entomología de la Universidad del Cauca y las abejas depositadas en la Colección de Referencia del Museo de Historia Natural. Se realizó la caracterización molecular mediante el gen COI. Los resultados soportan la idea de que *E. smaragdina* es un complejo de especies en el país. La estructura genética y la alta diferenciación molecular entre las poblaciones dispuestas en cada flanco de las cordilleras sugiere su aparición como un evento geográfico que posiblemente aisló las poblaciones, donde los requerimientos ecológicos locales han constituido una barrera influyente en el aislamiento reproductivo de la especie.

**Palabras clave:** bosque, distribución, geografía, genética, polinización, reproducción.

## Abstract

This article explores the influence of mountain ranges on the gene flow of *Exaerete smaragdina*, a bee with a wide distribution and great importance in sustaining the floristic diversity of natural systems due to its function as a pollinating agent of neotropical orchids. Eleven conserved natural forests were sampled on the western and eastern flanks of the central mountain range, the Amazonian piedmont, and the western flank of the western mountain range. In each forest, two transects of 250 m x 2.5 m were delineated, and six stations were baited with aromatic attractants located every 50 m. Molecular characterization was carried out using the COI gene. Results support the idea that *E. smaragdina* is a species complex in the country. Genetic structure and high molecular differentiation were evident between the populations located on each side of the Central and Eastern mountain ranges, which suggests the appearance of mountain ranges as a geographical event that likely isolated the populations. Hence, the local ecological requirements have constituted a barrier that affects the reproductive isolation of the species.

**Keywords:** forest, distribution, geography, genetics, pollination, reproduction.

## Introducción

La fauna Apoidea, al igual que la mayoría de los insectos del país, ha sido poco estudiada y tiene una taxonomía que desconoce la heterogeneidad producida por la posición geográfica y la confluencia de especies de diferentes regiones (Nates & Fernández, 1992). En grupos de complejidad taxonómica como la familia Apidae, esto ha llevado a confusiones, identificaciones erróneas y a sobre o subestimaciones de poblaciones de especies, principalmente aquellas consideradas de amplia distribución geográfica (Bonilla & Nates, 1992).

La familia Apidae es cosmopolita e incluye abejas con altos grados de socialidad, morfológicamente caracterizadas por poseer lengua larga y con corbícula —estructura especializada para la colecta de polen, resina y arcilla—, con excepción de las hembras de especies parasíticas y reinas de especies altamente eusociales (Roubik & Hanson, 2004). A este grupo pertenecen las abejas de la tribu Euglossini, cuya diversificación ocurrió hace 15-20 millones de años, especialmente en tierras bajas de Centro y Suramérica (Roubik & Hanson, 2004; Ramírez et al., 2010). Este es un grupo monofilético de abejas grandes cuyos machos se caracterizan por poseer un ensanchamiento en las tibias posteriores, donde almacenan una mezcla de compuestos aromáticos recolectados de las plantas que visitan. Esta mezcla es considerada una señal semioquímica básica en el cortejo, selección de pareja y apareamiento reproductivo (Roubik & Hanson, 2004; Ramírez et al., 2010). Por su papel de polinizadores y gran capacidad de dispersión, se consideran especies clave en la especiación de orquídeas, aráceas y algunas angiospermas en los ecosistemas tropicales. Además, por sus requerimientos específicos de hábitat, son excelentes bioindicadores de la diversidad y del estado de los ecosistemas habitados (Bonilla & Nates, 1992; Roubik & Hanson, 2004; Pokorny et al., 2015; Engel, 2018).

Entre las Euglossini se destaca el género *Exaerete*, cuyas especies son de difícil observación, por ser cleptoparásitas con actividad ligada al ciclo de vida de

sus hospederos euglosinos de los géneros *Eulaema* y *Eufriesea* (Garófalo & Rozen, 2001; Nemésio & Silveira, 2006), acerca de los cuales, al igual que *Exaerete*, se conoce muy poco, ya que habitan áreas naturales altamente conservadas alejadas de caseríos o poblados (Roubik & Hanson, 2004; Roubik, 2019).

Las especies de *Exaerete* se distribuyen desde México hasta Argentina, y son relativamente grandes, pues tienen entre 15 y 18 mm de longitud (Kimsey, 1979; Dressler, 1982; Engel, 2018). Además, se diferencian fácilmente de otros géneros de la tribu porque los machos poseen modificaciones en las patas traseras, con hendiduras que pueden o no alcanzar el margen distal de la tibia, y dentículos alargados o cortos en el fémur posterior (Anjos et al., 2007), con patrones de coloración que varían desde verde y verde azulado a azul brillante. Dada la variabilidad en el patrón de coloración, la capacidad de mimetismo y la variación de algunos rasgos morfológicos particulares de cada especie, aún no están bien definidas las especies del género (Anjos et al., 2007; Nemésio, 2011; Engel, 2018). Según Ramírez et al. (2002), para Colombia se ha reportado: *E. smaragdina*, ampliamente distribuida en todo el territorio nacional; *E. frontalis*, presente en la región Andina, la Amazonia y la Orinoquia; y *E. dentata*, localizada en la región Andina, la Orinoquia y el Pacífico. Por su parte, Henao et al. (2022) y Gallego et al. (2022) reportaron *E. trochanterica* en la región del Amazonas (Caquetá y Guainía, respectivamente). En este estudio, se reporta por primera vez para Colombia *E. lepeletieri* para el departamento del Cauca (región Andina).

Por su ubicación, el departamento del Cauca abarca parte de tres de las cinco regiones geográficas de Colombia (Pacífico, Andina y Amazonia) y presenta diversos patrones y eventos biogeográficos: tres cordilleras; dos valles biogeográficos (Cauca y Patía); La Hoz de Minamá, formada cuando el río Patía atraviesa la cordillera Central y el Macizo colombiano donde, al sur, se entrelazan las cordilleras Occidental y Central, y al norte divergen la Central y la Oriental (CRC, 2010, 2012). En este punto se ubica la Bota Caucana, región con diferentes ecosistemas y zonas de vida interconectadas por continuos selváticos

ubicados principalmente sobre el flanco oriental de la cordillera Central y que hace parte de la provincia biogeográfica Norandina (Hernández et al., 1992). Esta condición biofísica ha favorecido que en el departamento se albergue una gran diversidad biológica florística y faunística, principalmente de insectos. Por tanto, se trata de un reservorio de diversidad biológica y genética, en su mayoría desconocida, de cuya historia natural y origen se generaron patrones evolutivos y de especiación (Hernández et al., 1992).

El suroccidente colombiano es una región de importancia biológica que alberga una gran diversidad de ecosistemas, zonas de vida, endemismos y especies amenazadas. Sin embargo, también ha sido escenario del conflicto armado, fenómeno que no solo ha limitado su conocimiento y el acceso a su riqueza biológica, sino que ha llevado al avance de procesos de transformación derivados de la explotación legal o ilegal de los recursos mineros, el establecimiento e intensificación de sistemas agrícolas y la reactivación de la cacería como sustento de vida (Baptiste et al., 2017).

Estos procesos antrópicos y geomorfológicos afectan la diversidad de abejas silvestres concentrada en las regiones de los Andes y la Amazonia. Algunos autores revelan una situación alarmante para el país: se cree que más de la mitad de las especies que potencialmente se localizan en Colombia no han sido descritas para la ciencia y se presume que un gran número de ellas se encuentra en peligro de extinción local por cuenta de la pérdida de hábitat y el uso indiscriminado de insecticidas (Nates & González, 2000; Roubik & Hanson, 2004; Engel, 2018; Roubik, 2019). Por ese motivo, es indispensable ser conscientes de las consecuencias de los procesos de transformación sobre las abejas silvestres, ya que, al reducir el tamaño de sus poblaciones, se disminuye la variabilidad genética y aumenta la endogamia, la producción de machos diploides, la deriva génica y la acumulación de mutaciones deletéreas (Zayed, 2009), lo cual afecta los procesos ecológicos de las especies, sus interacciones biológicas y la prestación

de servicios ecosistémicos (Potts et al., 2010, 2016; Hiraiwa & Ushimaru, 2017).

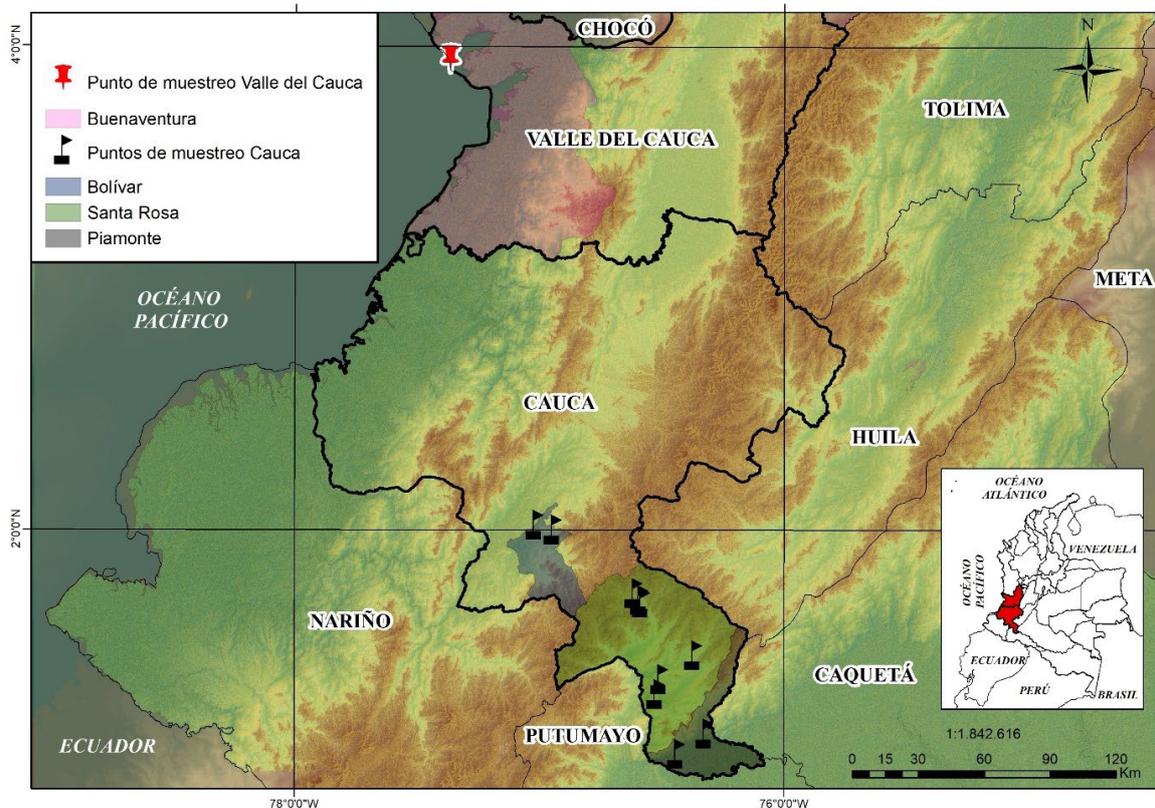
La evaluación y documentación del flujo génico es importante para evidenciar cambios en la estructura de las poblaciones inducidos por fuerzas evolutivas en presencia de factores como tamaño poblacional y aislamiento reproductivo, ya que esto influye en la respuesta a procesos como el cambio climático y geológico, las barreras geográficas y la presión antrópica (Flórez, 2009; Victoriano et al., 2012). Además, constituye un avance en la búsqueda de un equilibrio entre la conservación y el uso sostenible de los recursos como estrategia para mantener estables las poblaciones. Por ello, este estudio contribuye al conocimiento mediante la identificación de la diversidad genética de *E. smaragdina* y la caracterización de la influencia de la cordillera Central en el flujo génico de algunas de sus poblaciones.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

Se muestrearon diez bosques naturales conservados en cuatro municipios del departamento del Cauca, dos en el flanco occidental de la cordillera Central (Sucre y Guachicono-Bolívar) y dos (Santa Rosa y Piamonte) en el flanco oriental de la cordillera “Centro-oriental”. Esta última denominación se hace por conveniencia, debido a que las localidades de estudio se ubicaron en el área conocida como piedemonte Andino-amazónico, antes de la bifurcación de la cordillera Central y Oriental. Asimismo, se obtuvieron cuatro muestras del municipio de Buenaventura en el flanco occidental de la cordillera Occidental, litoral Pacífico del departamento del Valle del Cauca, donde se muestreó un bosque natural conservado (Figura 1, Tabla 1).

**Figura 1.** Ubicación de los puntos de recolecta de *Exaerete smaragdina*.



### Recolecta de material biológico

En cada bosque muestreado se trazaron dos transectos de 250 m x 2,5 m con estaciones para la recolecta cada 50 m. Para la recolección de machos de la tribu Euglossini, en cada estación se ubicaron siete trampas tipo botella PET con dos agujeros laterales que contenían alcohol al 96 % y cebadas con diferentes atrayentes: salicilato de metilo, eucaliptol, escatol, vainillina, eugenol,  $\beta$ -ionona y 1-3 dimetroxibenceno, para un total de 42 trampas. Cada una de ellas fue cebada a las 07:00 y recibada a las 12:00 horas durante tres días. El muestreo se complementó con la instalación de seis trampas Van Someren-Rydon (cada 50 m), cebadas con pescado descompuesto, expuestas durante 10 horas continuas para la recolecta de ejemplares hembra y con muestreos esporádicos de 60 min con red entomológica. Todo el material recolectado fue

rotulado y almacenado en viales con alcohol al 96 % hasta su análisis taxonómico y molecular.

### Identificación de las muestras

El tratamiento taxonómico, basado en caracteres morfológicos, siguió la clave para euglosinos de Colombia de [Bonilla y Nates \(1992\)](#) y para especies de *Exaerete* de [Engel \(2018\)](#). Todos los especímenes fueron depositados en la Colección de Entomología del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca (MHNUC). Las muestras de 19 ejemplares identificados como *Exaerete smaragdina* fueron procesadas para la amplificación del gen mitocondrial COI. Se garantizó un ejemplar *voucher* por cada individuo procesado depositado en la Colección de Entomología del MHNUC.

**Tabla 1.** Características geofísicas de los sitios de muestreo y relación de los machos de *Exaerete smaragdina* procesados en el análisis molecular.

Depto.	Cordillera	Flanco	Municipio	Localidad	Formación ecológica	Ubicación geográfica	Altitud (m s. n. m.)	Ind.	Rec.	MHNUC
Cauca	Central	Occidental	Sucre	Cerro Lerma	Bh-ST	2°00'09,1" N 76°56'39,5" O	1487-1559	0	-	-
			Bolívar	Guachicono-Vereda El Zaqué	Bs-T	2°00'78,5" N 77°01'06,8" O	700-800	2	X	
	Centro-oriental	Oriental	Santa Rosa	Vereda El Placer	Bh-ST	1°44'23,3" N 76°36'48,7" O	2192-2336	0	-	-
				Vereda El Carmelo	Bh-ST	1°42'36,1" N 76°35'19,6" O	2322-2373	0	-	-
				Reserva Serranía La Vieja	Bh-ST	1°41'59,2" N 76°34'54,5" O	1804-1994	0	-	-
				Vereda Santa Marta	Bmh-T	1°19'18,1" N 76°31'23,4" O	641-718	9	X	
				Reserva Verdeyaco	Bh-ST	1°22'58,9" N 76°30'30,6" O	1097-1194	1	X	
				San Juan de Villalobos	Bmh-T	1°28'56,4" N 76°22'10,4" O	1350-1377	0	-	-
				Vereda Rosal	Bmh-T	1°04'25,1" N 76°26'21,0" O	375-477	0	-	-
	Vereda La Sonora	Bmh-T	1°09'31,1" N 76°19'24,4" O	419-638	3	X				
Valle del Cauca	Occidental	Occidental	Buenaventura	Reserva Natural La Barra	Bmh-T	3°57'0,0" N 77°22'0,0" O	40	4	X	

Notas. Bh-ST = bosque húmedo subtropical; Bs-T = bosque seco tropical; Bmh-T = bosque muy húmedo tropical; Ind. = individuos; Rec. = Recolectado; MHNUC = Colección Entomológica del Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca.

### Amplificación del gen mitocondrial COI

Las patas traseras y/o el músculo torácico de 19 individuos machos (15 de las localidades del departamento del Cauca y 4 ejemplares del departamento del Valle del Cauca) se utilizaron para la extracción de ADN siguiendo el protocolo de *salting out* (Birungi & Munstermann, 2002). Para la amplificación del gen mitocondrial COI, se usaron los cebadores universales LCO1490: 5'-gggtcaacaatcataaagatattgg-3' y HCO2198: 5'-taaacttcagggtgaccaaataatca-3' (Folmer et al., 1994). Cada reacción de PCR tuvo un volumen final de 25 µl,

compuesto por 2 µl de ADN, buffer 1X, 2 µM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 µM de cada cebador, 0,05 µM de dNTPs y 1 unidad de Taq ADN polimerasa (Invitrogen), en las condiciones de termociclado propuestas por Folmer et al. (1994), con ligeros ajustes en las temperaturas de desnaturalización y anillado o templado (94 y 42 °C, respectivamente). Aunque el autor propone 35 ciclos, se realizaron 40, lo cual permitió obtener bandas limpias y de buena calidad para la lectura de la electroforesis. Los amplificados se enviaron al Instituto de Biología de la Universidad Nacional

Autónoma de México para su secuenciación tipo *Sanger* en ambos sentidos.

### Alineamiento múltiple, edición de secuencias y análisis

Los análisis genéticos se restringieron a secuencias de entre 500 y 700 pares de bases revisadas manualmente en los electroferogramas. La secuencia consenso se obtuvo usando el programa Sequencher versión 4.1.4 (Gene Code Corporation 1991-2002). Se realizó el alineamiento múltiple de las secuencias de interés junto a la secuencia completa del gen COI reportada en GenBank (EU421457) (Ramírez et al., 2016), utilizando el programa Geneious 7.1.3 (Biomatters Ltd. 2005-2014). Se construyeron las redes de haplotipos usando el programa Network 10.0.0 (Fluxus Technology Ltd. 1999-2024).

Con el programa Arlequín 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010) se estimó la diversidad genética y se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) para determinar los componentes de varianzas genéticas entre grupos y dentro de las poblaciones de las subzonas de estudio. La diferenciación en la estructura genética se realizó con los estadísticos  $F_{ST}$  (Wright, 1951). Con el programa DnaSP v6 (Rozas et al., 2017) se hicieron las pruebas de neutralidad D-Tajima y FS de Fu, diversidad haplotípica "h", número de haplotipos y diversidad nucleotídica  $\pi$ . Se estimó una matriz de distancias genéticas a partir de Neighbor Joining en el programa Mega X (Kumar et al., 2018), usando el método de sustitución nucleotídica de Kimura 2-parámetros, debido al tamaño de la muestra y la naturaleza de los datos. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia del 5 %.

### Resultados y discusión

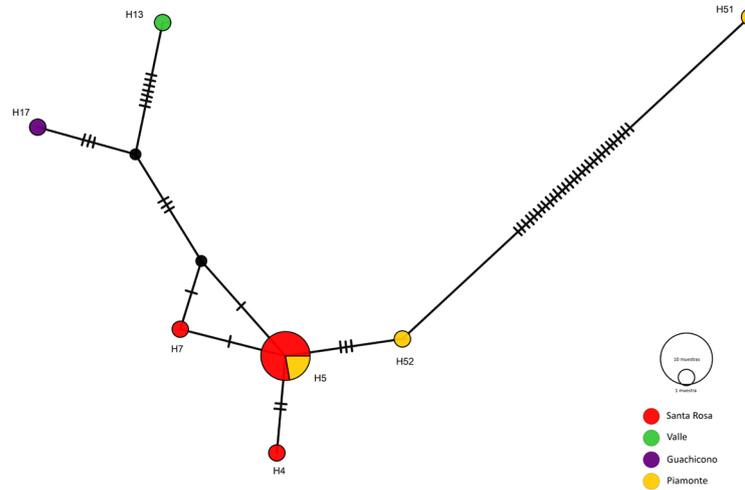
Se revelaron variaciones morfológicas y de tamaño en los 19 individuos machos analizados de *E. smaragdina*. Su longitud total varió entre 16,22 y 25,16 mm ( $\bar{X} = 19,27$ ,  $SD = 3,62$ ) y, al igual que las otras especies del género, su coloración fue verde metálico. Los individuos fueron reconocidos principalmente por el tubérculo hipoepimeral. Sin

embargo, este carácter se encuentra en las especies que conforman el grupo de las smaragdinas. De acuerdo con Engel (2018), la ausencia de un tubérculo o protuberancia en la frente, la presencia de dos nudos laterales y uno medio en el mesoescutelo y el margen posterior del mesoescutelo convexo son características propias de la especie. La variabilidad de caracteres morfológicos en taxones de amplia distribución en diferentes dominios fitogeográficos y de tamaño poblacional reducido, como es el caso de *Exaerete* spp., sugieren la hipótesis de la presencia de complejos de especies para este género. En este sentido, Silva (2009) propone que la evaluación de la diversidad genética soportaría la detección de especies crípticas, pues la acumulación de diferencias genéticas entre poblaciones es un determinante para la especiación.

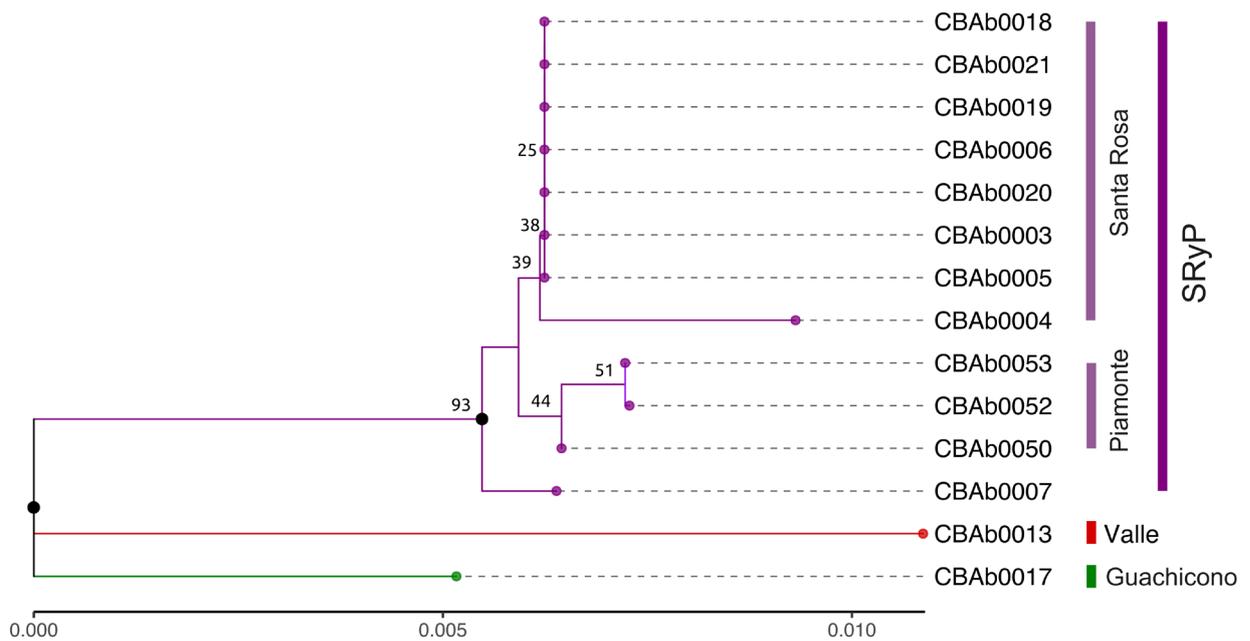
### Caracterización molecular, diversidad y estructura genética de *E. smaragdina*

Del total de las muestras procesadas para la caracterización de un fragmento de COI se obtuvieron secuencias para 14 individuos de *E. smaragdina* de cuatro localidades: Guachicono, en el flanco occidental de la cordillera Central (1); Santa Rosa (9) y Piamonte (3), en el flanco oriental de la cordillera Centro-oriental (piedemonte andino-amazónico); y el Valle en el litoral Pacífico (1). Las otras secuencias no se incluyeron en los análisis moleculares, debido a que no fueron secuencias de buena calidad. Al compararlas con las secuencias reportadas en GenBank, los porcentajes de similitud variaron entre 98,62 % y 100 %, confirmando su asignación a *E. smaragdina*. Un macho (código molecular CBA0051) recolectado el 17 diciembre de 2018 en La Sonora, Piamonte (Cauca), fue genéticamente distante (5,07-5,92 %) a lo reportado para los individuos de *E. smaragdina* (0,16-1,7%) e identificado posteriormente como *E. lepeletieri* (Oliveira y Nemésio, 2003) por Roubik. Según Lanteri (2007), Packer et al. (2008) y Sheffield et al. (2009), los porcentajes de divergencia de ADNmt entre especies de artrópodos son mayores al 3 %. Por tal razón, esta secuencia se excluyó de los análisis de estructura genética. La secuencia del ejemplar de *E. lepeletieri* se

**Figura 2.** Red de haplotipos del gen COI para individuos macho de la especie *Exaerete smaragdina* en once bosques naturales conservados.



**Figura 3.** Representación gráfica de las distancias genéticas entre individuos de *Exaerete smaragdina*.



Notas. Método de *Neighbor Joining*, usando el modelo de sustitución Kimura 2-parámetros.

publicó en la plataforma GenBank con código “OR 225120.1”, y su ejemplar *voucher* se encuentra depositado en la colección del MHNUC:EN:012835.

Se evidenció la existencia de siete haplotipos diferentes (Figura 2, Tabla 2). Los análisis de la red de haplotipos mostraron la presencia de estructura

genética con referencia al marcador (COI) y soportado por las distancias genéticas (Figura 3), donde además se evidenció la presencia de tres poblaciones: una conformada por individuos colectados en el flanco oriental de la cordillera Centro-oriental (Santa Rosa y Piamonte) con los

**Tabla 2.** Frecuencias y pasos mutacionales de los haplotipos encontrados en las poblaciones evaluadas de *Exaerete smaragdina*.

Cordillera	Flanco	Localidad	Haplotipo	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Pasos mutacionales
Occidental	Occidental	Buenaventura	13	1	1	11
Central	Occidental	Guachicono	17	1	1	7
Centro-oriental	Oriental	Piamonte	52	3	0,75	1
			51	1	0,25	32
Centro-oriental	Oriental	Santa Rosa	5	7	0,77	Haplotipo central
			7	1	0,11	1
			4	1	0,11	2

haplotipos H05, H07, H04, H52, que exhibieron relaciones filogenéticas más cercanas y conforman una sola población; otra representada por un individuo colectado en el flanco occidental de la cordillera Central (Guachicono) con el haplotipo H17, separado de la anterior por la presencia de la Cordillera Central, y una última población representada por un individuo del litoral Pacífico (Valle del Cauca) con el haplotipo H13, apartado de las poblaciones anteriores por la presencia de la cordillera Occidental, la cual no fue objeto de estudio.

Todas las localidades presentaron haplotipos diferentes (Figura 3). La mayor riqueza se presentó en el flanco oriental de la cordillera Centro-oriental, donde se obtuvieron cinco haplotipos diferentes: H51 y H52 en Santa Rosa y H05, H07 y H04 en Piamonte (Tabla 2). Entre los haplotipos, H05 fue el más frecuente, con presencia en ocho individuos analizados. En contraste, H17 y H13 fueron encontrados, cada uno, en un solo individuo, en una de las localidades muestreadas en el flanco occidental de la cordillera Central y en la localidad ubicada en la cordillera Occidental. Su poca frecuencia (*singletons*) en los individuos analizados obedece a la baja recolecta de ejemplares de *Exaerete* para esas regiones a pesar del esfuerzo de muestreo (Tabla 2, Figura 4). En este sentido, Silva (2009) sugiere que una pequeña muestra para cada localidad puede influenciar los resultados, dada la tendencia a observar menos representatividad de los polimorfismos en muestras pequeñas que en muestras grandes, lo que reduce la capacidad de

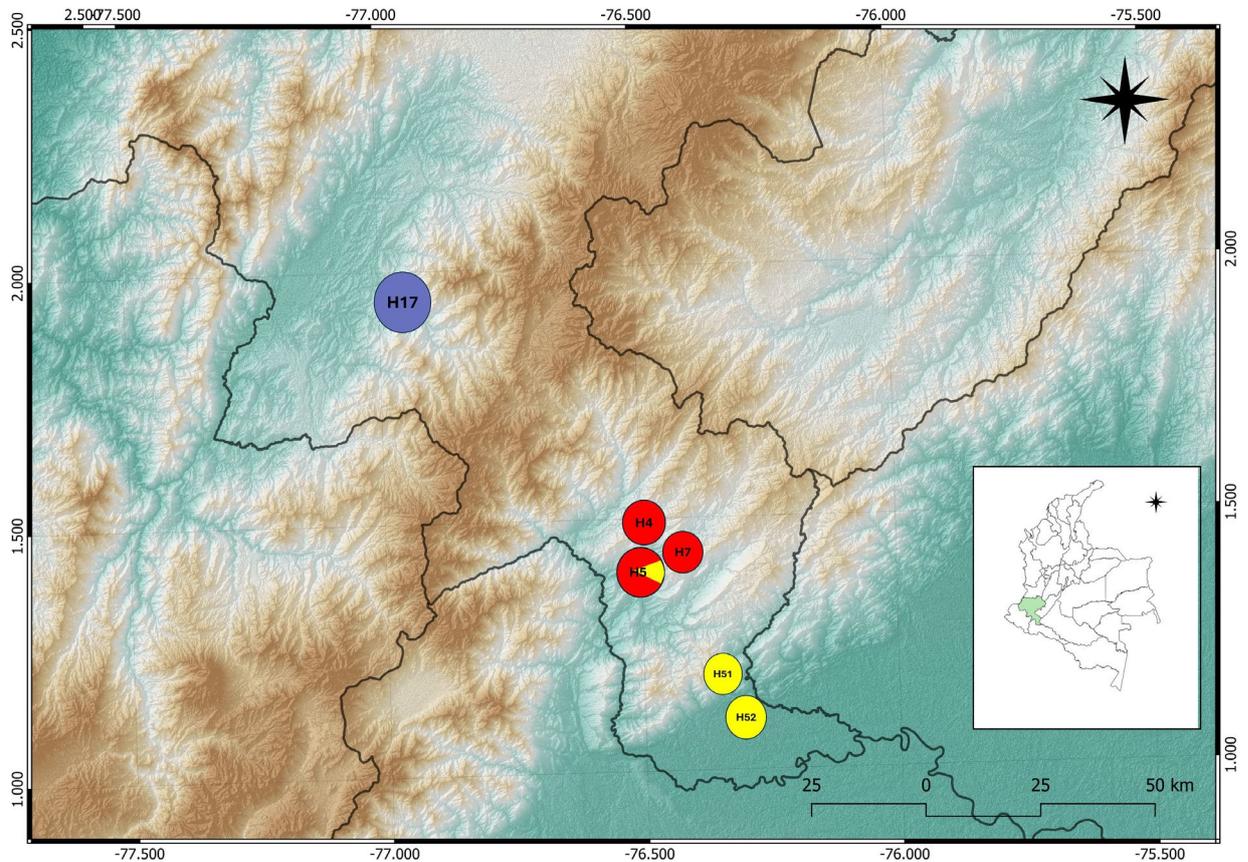
identificar fuerzas evolutivas determinísticas atenuantes.

En general, la red presenta una configuración tipo estrella en la cual H05 (haplotipo más frecuente) está centralizado con diversos haplotipos que evolucionaron a partir de él, en más de un paso mutacional, mientras que H17 y H13 registraron 7 y 11 pasos mutacionales, respectivamente, con relación a H05. Por su parte, H07 solo fue registrado en un individuo, con un paso mutacional; H52 en tres individuos, con tres cambios mutacionales; mientras que H04 mostró dos respecto a H05. Para el caso del único individuo que exhibió el haplotipo H51, se evidencia un cambio de 32 pasos mutacionales con respecto al H05 (Tabla 2, Figura 2).

Se obtuvo una matriz final de 14 taxones y 632 posiciones, con 589 sitios conservados y 44 posiciones variables. La composición nucleotídica osciló entre 31,64 % y 31,91 % para timina y entre 46,32 % y 46,84 % para adenina. Esta es una configuración típica en el ADN mitocondrial en himenóptera (Arias et al., 2003). Silva (2009) reportó valores similares de composición nucleotídica para muestras de *E. smaragdina*.

En los análisis moleculares posteriores se consideró a Santa Rosa y Piamonte, ubicados en la vertiente oriental de la cordillera Centro-oriental, como una sola población. Por otro lado, debido al tamaño de la muestra de la subzona de Guachicono (vertiente occidental de la cordillera Central) no se interpretaron los análisis de diversidad genética y,

**Figura 4.** Distribución de los haplotipos encontrados en las muestras analizadas de *Exaerete smaragdina*.



Notas. Elaboración: Yamid Mera.

por tanto, no se hizo ninguna inferencia de lo que ocurre con la dinámica poblacional de esta localidad. El AMOVA reveló que más de tres cuartos de la variación genética la aportan las diferencias entre las poblaciones de estudio (84,52 %), mientras que la variabilidad dentro de las poblaciones representó el 15,48 % (Tabla 3). Esto soporta la idea de un posible aislamiento genético de las poblaciones por efecto de la barrera geográfica representada por la cordillera Central. El valor  $\theta_{ST}$  para la población estudiada fue altamente significativo ( $\theta_{ST} = 0,845$ ; valor  $p < 0,0001$ , calculado con 1023 permutaciones), lo que, según la tabla de interpretación de Wright (1965), se considera una alta diferenciación genética entre poblaciones y soporta la idea de un alto grado de aislamiento genético entre las poblaciones estudiadas. Para el AMOVA se excluyó la población del litoral Pacífico debido a que la influencia de la

cordillera Occidental no es objeto de estudio para este trabajo. En general, el análisis de diversidad (Tabla 4) mostró un polimorfismo bajo, de 0% en Santa Rosa a 5,1% en Piamonte.

**Tabla 3.** Análisis AMOVA entre las poblaciones de *Exaerete smaragdina*.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	3	11,62	1,46	Va = 84,52 %
Dentro de poblaciones	10	2,67	0,27	Vb = 15,48 %
Total	13	14,29	1,72	100 %

Notas. g.l. = Grados de libertad.

Ante los valores de las pruebas de neutralidad D-Tajima y FS de Fu (Tabla 5), es plausible sugerir que entre las localidades que conforman la población Santa Rosa y Piamonte, ubicada en el flanco oriental de la cordillera Centro-oriental, probablemente, pueden haber ocurrido dos cosas: la existencia de un exceso de alelos raros o la existencia de un patrón recurrente de expansión poblacional debido probablemente a un cuello de botella. Sin embargo, considerando el tamaño de muestra, estos resultados deben ser interpretados con cautela. No es posible inferir cuál de estas dos hipótesis explica lo que pasó en esta población hasta contar con nuevas pruebas o estudios que incluyan un mayor tamaño muestral. De igual manera, Silva (2009) reportó en su estudio que no existe soporte estadístico para ambas pruebas de neutralidad para los genes evaluados (16S, COI y Cyt B) en muestras de *E. smaragdina*. Esto le permitió postular la hipótesis de una evolución neutral para las poblaciones de esta especie y sugerir que las poblaciones objeto de su estudio no habían sufrido un evento de expansión o retracción demográfica reciente.

Aunque en la Bota Caucana los procesos que originan fragmentación (p. ej., deforestación y extracción de recursos naturales y mineros) fueron vetados durante la época de presencia de grupos al margen de la ley, en la actualidad tienen vía libre (observación personal). Esto constituye una preocupación constante ya que los diferentes grupos biológicos de la zona quedan vulnerables a la degradación del ecosistema natural y a la pérdida de conectividad (Primack et al., 2001). El escenario amenaza la persistencia local de las poblaciones de las abejas de las orquídeas debido a que, para mantener el flujo de genes, prevenir la endogamia y disminuir el riesgo de extinción, los euglosinos dependen de la dispersión, la conectividad funcional del paisaje, la disposición espacial de los diferentes hábitats, la distribución espacial de las poblaciones y el impacto de los hábitats en los organismos (Tonhasca et al., 2003; Zayed, 2009; Zimmermann et al., 2011; Suni & Brosi, 2012; Suni et al., 2014). En este escenario, la principal amenaza genética para las abejas provendría de la pérdida de diversidad genética asociada al declive del

tamaño poblacional, agravada por un flujo génico limitado o discontinuo (Frankham et al., 2002; Frankham, 2003; Suni et al., 2014; Penha et al., 2015; Rosa et al., 2016).

Es factible que el continuo de bosques naturales conservados que forman parte del corredor biológico andino-amazónico haya favorecido el intercambio de haplotipos entre las poblaciones del flanco oriental de la cordillera Central (Santa Rosa y Piamonte en el departamento del Cauca). Esta situación permite explicar la red de haplotipos a través del comportamiento ecológico de las abejas euglosinas. *Exaerete* es un género de abejas solitarias de gran tamaño corporal, lo cual está ligado a su alta capacidad de vuelo. Los machos de *E. frontalis*, por ejemplo, pueden sobrevolar áreas con promedios de 40 ha y altitudinalmente cerca de los 2000 m s. n. m., teniendo como base su sitio de forrajeo (Roubik & Hanson, 2004). Según Pokorny et al. (2015), esta situación responde a que los machos no están obligados a permanecer en un sitio específico hasta encontrar un lugar adecuado para su establecimiento, por lo cual los obstáculos naturales moderados (pasturas, grandes cuerpos de agua, colinas o valles) no influyen en sus movimientos (Tonhasca et al., 2003). Ante la ausencia de barreras u obstáculos naturales extremos, una interconexión adecuada de las áreas (como lo es un corredor biológico) que garantice la oferta de recursos florales facilitaría la dispersión de los agentes polinizadores y visitantes euglosinos, característica que resalta el papel de las abejas de las orquídeas como polinizadoras en largas distancias (Suni et al., 2014; Pokorny et al., 2015).

Tonhasca et al. (2003) sugieren que los obstáculos naturales más extremos (altitudes por encima del rango de distribución y el área de paisaje alterado o antropizado) y las características ecológicas propias de cada especie pueden limitar la movilidad de estas abejas. En este sentido, la distribución altitudinal del género *Exaerete* para Colombia (0-2650 m s. n. m.), según el reporte de Ramírez et al. (2002), así como los hábitos ecológicos especializados, representan una limitante a la hora de mantener el flujo génico entre

**Tabla 4.** Estadísticos básicos del análisis de diversidad de *Exaerete smaragdina*.

Estadísticos	Guachicono	Santa Rosa	Piamonte	SRyP	Media	Desviación estándar
N.º de copias de gen	1	3	9	12	3,75	3,78
N.º de loci	632	632	632	632	632	0
N.º de loci usables	632	589	630	589	620	21,18
S	-	0	3	3	0,75	1,50
h	-	-	0,41	0,31		
$\pi$	-	0,00	0,00	0,00		
Promedio He	-	0,00	0,00	0,16	0,00	0,00

Notas. S = número de sitios polimórficos; h = diversidad haplotípica;  $\pi$  = diversidad nucleotídica; He = heterocigosidad esperada; SRyP = Santa Rosa y Piamonte.

**Tabla 5.** Resumen de la prueba de neutralidad con diferentes estadísticos.

Estadísticos	Santa Rosa	Piamonte	SRyP	Promedio	Desviación estándar
Theta pi	0	0,66	0,5	0,16	0,33
FS	0	-15,4	-	0	0
FS P-Valor	1	0	-	NA	NA
D-Tajima	-	-1,51	-1,62	-0,37	0,75
D-Tajima P- Valor	-	0,04	NS	0,76	0,47

Notas. SRyP = Santa Rosa y Piamonte; NA = no aplica; valor de significancia =  $p < 0,05$ .

las poblaciones a lados opuestos de la cordillera. Esto conduce al aislamiento reproductivo por barreras geográficas y, por ende, al establecimiento de linajes independientes. Esta situación explica la presencia de haplotipos diferentes y distantes del haplotipo central para las poblaciones de los flancos occidentales de las cordilleras Central (Guachicono, Cauca) y Occidental (Buenaventura, Valle del Cauca), con respecto a la población del flanco oriental de la cordillera Centro-oriental (Santa Rosa y Piamonte). Aunque los muestreos abarcaron diferentes zonas de vida desde los 40 hasta los 2373 m s. n. m., los individuos solo se obtuvieron en un rango altitudinal entre 40 y 1194 m s. n. m. en un bosque seco tropical (Bs-T) del flanco occidental de la cordillera Central

(Guachicono) y en el bosque muy húmedo tropical (Bmh-T) en Santa Rosa, Piamonte y Buenaventura.

En la Bota Cauca los diferentes ecosistemas presentan condiciones microclimáticas variables que favorecen la adaptación y el establecimiento de *E. smaragdina* como poblaciones independientes y aisladas reproductivamente. Aunado a esto, se debe reconocer que la presencia de una matriz antrópica en las partes altas de los flancos occidental y oriental de la cordillera Central puede limitar el intercambio genético entre las poblaciones de ambos lados de la cordillera. A su vez, esto favorece la diferenciación o la estructura genética entre las localidades evaluadas, pues los hábitos ecológicos de *E. smaragdina* la restringen a amplias zonas de continuos boscosos con

altos niveles de conservación (Roubik & Hanson, 2004; Roubik, 2019).

En general, para este estudio, la diversidad alélica en las localidades del flanco oriental de la cordillera Centro-oriental fue baja, contrario a lo encontrado por Zimmermann et al. (2011), con un tamaño poblacional pequeño. Así mismo, los análisis de diferenciación indican la presencia de estructura genética espacial, lo que sugiere que la dispersión de las poblaciones de *E. smaragdina* es dependiente de las barreras geográficas (presencia de la cordillera), pero principalmente ecológicas (requerimientos de la especie), lo que aporta a la variabilidad genética, tanto entre poblaciones como dentro de ellas. En este sentido, la variabilidad dentro de las poblaciones podría explicarse debido a que la mayoría de las especies fuente de fragancias (orquídeas y aráceas, entre otras) para los machos de euglosinos tienen una vida relativamente corta, es decir, son atractivas y disponibles a los polinizadores por muy poco tiempo. Además, tienen una distribución extensa en el espacio, lo que “obliga” a que los machos de euglosinos, recolectores de fragancias, tracen rutas imaginarias de vuelo regulares entre 40-45 ha, estableciendo a lo largo de las rutas territorios de exhibición reproductiva en rangos de acción amplios, por lo que se mueven y habitan por periodos de tiempo lo que en ecología se conoce como área de vida (*home range*) (Pokorny et al., 2015).

Frankham (2003) y Suni y Brosi (2012) consideran que el intercambio de individuos entre subpoblaciones (migración) favorece un flujo génico suficiente para mantener la diversidad genética en niveles similares a una población contigua y disminuir la diferenciación genética. Al reemplazar los alelos perdidos por deriva génica se mitiga la depresión por endogamia. Diversos estudios muestran que las hembras de *Euglossini* son filopátricas, es decir, que, contrario a lo que ocurre con los machos, ellas están generalmente ligadas a sus sitios de anidación y dependen de la disponibilidad suficiente de néctar y polen para sostenerse y aprovisionar las celdas de cría. Esto respalda la idea de que el intercambio de flujo génico en abejas de las orquídeas es, en su

mayoría, debido a la dispersión de los machos (Andrade & Nascimento, 2012; Augusto & Garófalo, 2004).

Suni et al. (2014) y Suni y Brosi (2012) sugieren que la capacidad de vuelo no es un factor que define las dinámicas de dispersión en algunas especies de *Euglossini*. En estudios de marcaje y recaptura se ha demostrado que los machos de *Exaerete*, *Eulaema* y *Eufriesea*, pese a su capacidad de vuelo y a tener amplios rangos de acción como área de vida, presentan altos niveles de fidelidad a sus áreas natales. En ambos estudios, se concluye que los niveles de diferenciación entre poblaciones de algunas especies de *Euglossini* pueden deberse a procesos de transformación paisajística o geomorfológica o ser un reflejo de la dispersión natural y las distancias de forrajeo de cada especie, pues la movilidad de las abejas de las orquídeas difiere fuertemente entre especies.

## Conclusiones

La estructura genética poblacional de la especie *Exaerete smaragdina* en el suroccidente de Colombia es moldeada por la presencia de las cordilleras y posiblemente por los requerimientos ecológicos de la especie. Las poblaciones evaluadas exhibieron un alto nivel de diferenciación genética ligada a la distribución altitudinal que alcanza la especie y a los eventos antropogénicos observados, tanto en la parte alta del flanco oriental como en el flanco occidental de la cordillera Central, la cual favorece la desconexión entre los bosques naturales de cada zona.

Los análisis genéticos de los ejemplares recolectados en las localidades evaluadas al mismo lado de la cordillera sugieren que el conjunto de individuos se comporta como una sola población fragmentada o metapoblación, donde el intercambio de flujo génico de los individuos de Piamonte y Santa Rosa en el flanco oriental de la cordillera Centro-oriental es favorecido por el continuo selvático y la similitud del aspecto geomorfológico de ambas zonas que hacen parte del corredor biológico andino-amazónico.

Aunque los análisis mostraron que del haplotipo central divergen haplotipos satélites presentes en los individuos recolectados en Santa Rosa y Piamonte, el tamaño de la muestra no permite asegurar lo que sucede evolutivamente en esta población.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a MinCiencias y su programa Colombia Bio, por la financiación del proyecto “Comunidades de insectos y caracterización molecular en áreas poco exploradas de las subzonas hidrográficas alto Patía, Guachicono, medio y alto Caquetá en la ‘Bota caucana’”, contrato 498-2016 ejecutado por la Universidad del Cauca en convenio con la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca y amparado por la Resolución 0152 del 2015 emitida por la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales que otorgó “permiso de recolección de especímenes de especies silvestres, con fines de investigación científica no comercial” a la Universidad del Cauca, por un periodo de 10 años. Agradecen también al Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca por facilitar algunos de los ejemplares usados en esta investigación; a las comunidades locales de las zonas de influencia del estudio (Guachicono, Santa Rosa y Piamonte); a los estudiantes de biología de la Universidad del Cauca que asistieron como monitores durante el trabajo de campo y de laboratorio; a los profesores Ismael Hinojosa-Díaz y David Roubik por la confirmación en la identificación de las abejas; a los estudiantes del posgrado en Ciencias-Biología de la Universidad del Valle; a los Grupos de Investigación en Genética Molecular Humana y al Grupo de Estudios Ecogenéticos y Biología Molecular de la Universidad del Valle, por facilitar las instalaciones para el procesamiento molecular de las muestras; al Grupo de Estudios Ambientales-GEA y al Semillero de Investigación en Diversidad Funcional y Servicios Ecosistémicos; al biólogo Yamid Mera-Velasco por la elaboración de los mapas.

## Referencias

- Andrade-Silva, A., & Nascimento, F. (2012). Multifemale nests and social behavior in *Euglossa melanotricha* (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Journal of Hymenoptera Research*, 26(2), 1-16. <http://dx.doi.org/10.3897/JHR.26.1957>
- Anjos-Silva, E., Engel, M., & Andena, S. (2007). Phylogeny of the cleptoparasitic bee genus *Exaerete* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 38, 419-425. <https://doi.org/10.1051/apido:2007023>
- Arias, M., de Oliveira, F., & Silvestre, D. (2003). O DNA mitocondrial em estudos populacionais e evolutivos de meliponíneos. En G. Melo, & I. Alves-dos-Santos (Eds.), *Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure* (pp. 305-309). UNESCO.
- Augusto, S., & Garófalo, C. (2004). Nesting biology and social structure of *Euglossa* (*Euglossa*) *townsendi* Cockerell (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Insectes Sociaux*, 51, 400-409. <https://doi.org/10.1007/s00040-004-0760-2>
- Baptiste, B., Pinedo-Vásquez, M., Gutiérrez-Vélez, V., Andrade, G., Vieira, P., Estupiñán-Suárez, L., Londoño, M., Laurance, W., & Ming Lee, T. (2017). Greening peace in Colombia. *Nature Ecology and Evolution*, 1, 1-3. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0102>
- Birungi, J., & Munstermann, L. (2002). Genetic structure of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations based on Mitochondrial ND5 sequences: Evidence for an independent invasion into Brazil and United States. *Entomological Society of America*, 95(1), 125-132. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0125:GSOAAD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0125:GSOAAD]2.0.CO;2)
- Bonilla-Gómez, M., & Nates-Parra, G. (1992). Abejas euglosinas de Colombia (Hymenoptera: Apidae) I. Claves ilustradas. *Caldasia*, 17(1), 149-172.
- Corporación Autónoma Regional del Cauca. (2010). *Caracterización ambiental plan departamental de aguas y saneamiento básico: Departamento del Cauca*. CRC.

- Corporación Autónoma Regional del Cauca. (2012). *Plan de Gestión Regional del Cauca*. CRC.
- Dressler, R. (1982). Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13, 373-394. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.072103.115855>
- Engel, M. (2018). A new species of the cleptoparasitic orchid bee genus *Exaerete* from northern Venezuela (Hymenoptera: Apidae). *Entomologist's Monthly Magazine*, 154, 161-175. <https://doi.org/10.31184/M00138908.1543.3949>
- Excoffier, L., & Lischer, H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564-567. [10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x)
- Flórez-Rueda, A. (2009). *Estructura poblacional y filogeografía de Cucurbita moschata*. Universidad Nacional de Colombia.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial Cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. *Comptes Rendus Biologies*, 326, S22-S29. [https://doi.org/10.1016/S1631-0691\(03\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00023-4)
- Frankham, R., Briscoe, D., & Ballou, J. (2002). *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press.
- Gallego-Ropero, M., Freitas de Oliveira, F., Palomino-Gómez, L., Zambrano-Yepes, J., Nemésio, A., Hinojosa, I., & Higgins, M. (2022). Abejas Euglossini del departamento de Guainía. En J. Usmá Oviedo, F. Trujillo, & L. Naranjo (Eds.), *Diversidad biológica y cultural del Departamento de Guainía* (pp. 142-145). Gobernación de Guainía; WWF Colombia; CDA; Instituto Sinchi.
- Garófalo, C., & Rozen, J. (2001). Parasitic behaviour of *Exaerete smaragdina* with descriptions of its mature oocyte and larval instars (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). *American Museum Novitates*, 3349, 1-28. [https://doi.org/10.1206/0003-0082\(2001\)349<0001:PBOESW>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0082(2001)349<0001:PBOESW>2.0.CO;2)
- Henao-Bañol, E., Rodríguez-Chilito, E., & Velásquez-Valencia, A. (2022). Caracterización entomológica (mariposas, escarabajos coprófagos y abejas de las orquídeas) en la vereda peregrinos en el marco de las expediciones Caquetá-BIO. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 11(1), 108-135.
- Hernández-Camacho, J., Hurtado-Guerra, A., Ortiz-Quijano, R., & Walschburger, T. (1992). Unidades biogeográficas de Colombia. En G. Halffter (Ed.), *La diversidad biológica de Iberoamérica* (pp. 41-239). Instituto de Ecología.
- Hiraiwa, M., & Ushimaru, A. (2017). Low functional diversity promotes niche changes in natural island pollinator communities. *Proceedings of Royal Society B*, 284(20162218). <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.2218>
- Kimsey, L. (1979). An illustrated key to the genus *Exaerete* with descriptions of male genitalia and biology (Hymenoptera: Euglossini, Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 52(4), 735-746.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). Mega X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lanteri, A. (2007). Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la entomología. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 66(3-4), 15-25.
- Nates-Parra, G., & Fernández, F. (1992). Abejas de Colombia II. Claves preliminares para las familias, subfamilias y tribus (Hymenoptera: Apoidea). *Acta Biológica Colombiana*, 2(7-8), 55-89.
- Nates-Parra, G., & González, V. H. (2000). Las abejas silvestres de Colombia: por qué y cómo conservarlas. *Acta Biológica Colombiana*, 5(1), 5-37.

- Nemésio, A. (2011). *Exaerete salsai* sp. n. (Hymenoptera: Apidae): a new orchid bee from eastern Brazil. *Zootaxa*, 2967, 12-20. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2967.1.2>
- Nemésio, A., & Silveira, F. (2006). Deriving ecological relationships from geographical correlations between host and parasitic species: An example with orchid bees. *Journal of Biogeography*, 33, 91-97. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2005.01370.x>
- Oliveira, M., & Nemésio, A. (2003). *Exaerete lepeletieri* (Hymenoptera: Apidae: Apini: Euglossina): A new cleptoparasitic bee from Amazonia. *Lundiana*, 4(2), 117-120. [10.35699/2675-5327.2003.21863](https://doi.org/10.35699/2675-5327.2003.21863)
- Packer, L., Gibbs, J., Sheffield, C., & Kevan, P. (2008). Barcoding the bees of the world. En D. de Jong, T. Francoy, & W. Santana (Eds.), *VIII Encontro sobre Abelhas* (pp. 276-282). Funpec.
- Penha, R., Gaglianone, M., Almeida, F., Boff, S., & Sofia, S. (2015). Mitochondrial DNA of *Euglossa iopoeila* (Apidae, Euglossini) reveals two distinct lineages for this orchid bee species endemic to the Atlantic Forest. *Apidologie*, 46, 346-358. [10.1007/s13592-014-0329-7](https://doi.org/10.1007/s13592-014-0329-7)
- Pokorny, T., Loose, D., Dyker, G., Quezada-Euán, J., & Eltz, T. (2015). Dispersal ability of male orchid bees and direct evidence for long-range flights. *Apidologie*, 46, 224-237. [10.1007/s13592-014-0317-y](https://doi.org/10.1007/s13592-014-0317-y)
- Potts, S., Biesmeijer, J., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. (2010). Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, 25, 345-353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Potts, S., Vera, I., Hien, T., Marcelo, A., Jacobus, C., Thomas, D., Lynn, V., Lucas, A., Hill, R., Settele, J., & Adam, J. (2016). Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, 540(7632), 220-229. <https://doi.org/10.1038/nature20588>
- Primack, R., Rozzi, R., Massardo, F., & Feinsinger, P. (2001). Destrucción y degradación del hábitat. En R. Primack, R. Rozzi, P. Feinsinger, R. Dirzo, & F. Massardo (Eds.), *Fundamentos de conservación biológica: Perspectivas latinoamericanas*. Fondo de Cultura Económica.
- Ramírez, S., Dressler, R., & Ospina, M. (2002). Abejas euglosinas (Hymenoptera: Apidae) de la región neotropical: listado de especies con notas sobre su biología. *Biota Colombiana*, 3(1), 7-118.
- Ramírez, S., Roubik, D., Skov, C., & Pierce, N. (2010). Phylogeny, diversification patterns and historical biogeography of euglossine orchid bees (Hymenoptera: Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 100, 552-572. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2010.01440.x>
- Ramírez, S., Roubik, D., Skov, C., & Pierce, N. (2016). *Exaerete smaragdina* voucher EU1 cytochrome oxidase subunit 1 (CO1) gene, partial cds; mitochondrial. Genbank [EU421457].
- Rosa, J., Ramalho, M., & Arias, M. (2016). Functional connectivity and genetic diversity of *Eulaema atleticana* (Apidae, Euglossina) in the Brazilian Atlantic forest corridor: Assessment of gene flow. *Biotropica*, 1-9. <https://doi.org/10.1111/btp.12321>
- Roubik, D. (2019). Population traits and a female perspective for *Aglae* and *Exaerete*, tropical bee parasites (Hymenoptera, Apinae: Euglossini). *Psyche*, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/4602785>
- Roubik, D., & Hanson, P. (2004). *Abejas de las orquídeas de la América tropical. Biología y Guía de campo*. INBio.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez del Barrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP v6: DNA Sequence polymorphism analysis of large datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- Sheffield, C., Hebert, P., Kevan, P., & Packer, L. (2009). DNA barcoding a regional bee (Hymenoptera: Apoidea) fauna and its potential for ecological

- studies. *Molecular Ecology Resources*, 9(1), 126-207. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02645.x>
- Silva, O. L. (2009). *Análises filogeográficas de Exaerete smaragdina (Guérin-Méneville, 1845) (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) e sua hospedeira Eulaema nigrita (Lepeletier, 1841) (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) e o status de Exaerete lepeletieri (Oliveira, & Nemésio, 2003)*. Universidade Federal de São Carlos.
- Suni, S., Bronstein, J., & Brosi, B. (2014). Spatio-temporal genetic structure of a tropical bee species suggests high dispersal over a fragmented landscape. *Biotropica*, 46(2), 202-209. <https://doi.org/10.1111/btp.12084>
- Suni, S., & Brosi, B. (2012). Population genetics of orchid bees in a fragmented tropical landscape. *Conservation Genetics*, 13, 232-332. <https://doi.org/10.1007/s10592-011-0284-z>
- Tonhasca, A., Albuquerque, G., & Blackmer, J. (2003). Dispersal of euglossine bees between fragments of the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Tropical Ecology*, 19(1), 99-102. <https://doi.org/10.1017/S0266467403003122>
- Victoriano, P., Vera, I., Olmos, V., Dib, M., Insunza, B., Muñoz-Ramírez, C., Montoya, R., Jara, A., & Habit, E. (2012). Patrones idiosincráticos de diversidad genética de peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia), un sistema de la región glaciada del sur de Chile. *Gayana*, 76, 71-85. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382012000100007>
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323-354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x>
- Zayed, A. (2009). Bee genetics and conservation. *Apidologie*, 40, 237-262. <https://doi.org/10.1051/apido/2009026>
- Zimmermann, Y., Schorkopf, D., Moritz, R., Pemberton, R., Quezada-Euan, J., & Eltz, T. (2011). Population genetic structure of orchid bees (Euglossini) in anthropogenically altered landscapes. *Conservation Genetics*, 12, 1183-1194. <https://doi.org/10.1007/s10592-011-0221-1>