

Separating Pollinator Bees of the Tribe Anthophorini (Hymenoptera: Apidae) Available at the 'Iranian Museum of Pollinator Insects' in Yasouj University, using Geometric Morphometric Method

Zohreh Khajuee Dehshib¹, Alireza Monfared^{2*}, Hojjatollah Mohammadi³

¹ M. S. Student of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

² Associated Professor of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

³ Assistant Professor of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Abstract

In this study, specimens of pollinator bees of tribe Anthophorini available in the 'Iranian Museum of Pollinator Insects', located at the Faculty of Agriculture, Yasouj University were studied. In order to perform geometric morphometric analysis, firstly specimens identified to species level. Then after final determinations, five species of bees related to three genera of *Anthophora*, *Amegilla* and *Habropoda* including: *Amegilla quadrifasciata*, *Anthophora (Melea) yasoujensis*, *Habropoda tarsata*, *Anthophora (Lophanthophora) agama* and *Anthophora (Pyganthophora) rogenhoferi*, were examined by method of geometric morphometric. In this study, 122 specimens including 53 female and 69 male, were examined. Thus, after digital photography and setting of landmarks on the node of wings by using the software Tps Dig version 2.1, output files were used in MorphoJ software, and finally analysis procedure was performed. These final outputs then would enter in software PAST version 2.17, and these later outputs were demonstrated as a tree. Therefore, the separation was carried out in three taxa levels of the, genus, subgenus and species. Results indicated that geometric morphometric method is an effective practical method and useful method with high coincidence with morphologic characters in segregating specimens of all three taxa mentioned level and is a powerful tool in separating taxa of these bees.

Key words: Geometric Morphometric, Pollinator Bees, Anthophorini, PAST, MorphoJ.

* amonfared@yu.ac.ir

تفکیک زنبورهای گردهافشان قبیله Anthophorini (Hymenoptera: Apidae)

موجود در موزه حشرات گردهافشان دانشگاه یاسوج به روش ریخت‌سنجی

هندسی

زهره خواجهی دهشیب^۱، علیرضا منفرد^{۲*}، حجت‌اله محمدی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
^۲ دانشیار حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
^۳ استادیار حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، نمونه‌های زنبورهای گردهافشان قبیله Anthophorini موجود در موزه «حشرات گردهافشان ایران» واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج بررسی شدند. به منظور انجام ریخت‌سنجی هندسی ابتدا نمونه‌ها تا حد گونه شناسایی شدند و پس از آن، پنج گونه از زنبورهای این قبیله از سه جنس *Amegilla*، *Anthophora* و *Habropoda* شامل گونه‌های *Amegilla quadrifasciata*، *Anthophora (Melea) yasoujensis*، *Anthophora (Pyganthophora) rogenhoferi* و *Anthophora (Lophanthophora) agama tarsata* به روش ریخت‌سنجی هندسی بررسی شدند. در بررسی حاضر تعداد ۱۲۲ نمونه شامل ۵۳ ماده و ۶۹ نر مطالعه شد؛ به این ترتیب که پس از عکس‌برداری دیجیتال و لندمارک‌گذاری روی بال‌ها، فایل‌های Tps با نرم‌افزار Tps Dig نسخه ۲/۱ به دست آمدند و در نهایت داده‌های حاصل که شامل عکس‌های لندمارک‌گذاری شده بودند به نرم‌افزار MorphoJ وارد شدند و تجزیه و تحلیل انجام شد؛ خروجی وارد نرم‌افزار PAST نسخه ۲/۱۷ شد و نتایج به شکل نمودارهای خوشه‌بندی شده نمایش داده شدند؛ به این ترتیب تفکیک در سطح جنس، زیرجنس و گونه انجام شد. نتایج بررسی حاضر نشان دادند روش ریخت‌سنجی هندسی روشی مؤثر و مفید با انطباق بسیار زیاد با کاراکترهای ریخت‌شناختی برای تفکیک نمونه‌های هر سه سطح است و ابزار قدرتمندی در جداسازی تاکسون‌های نمونه‌های این زنبورها به شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: ریخت‌سنجی هندسی، زنبورهای گردهافشان، Anthophorini، PAST، MorphoJ.

مقدمه

بالاخانواده Apoidea به علت ارتباط ویژه با گیاهان

گل‌دار بسیار درخور توجه است. حداقل ۶۷ درصد

گیاهان گل‌دار نیازمند گردهافشانی به وسیله زنبورها

راسته بال‌غشائیان یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین

راسته‌های حشرات است و در میان بال‌غشائیان نیز

* amonfared@yu.ac.ir

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

جهانی وابسته بوده است و باتوجه به خاص بودن گونه‌های مناطق مختلف دنیا، کلیدهای شناسایی جامعی در سطح گونه برای این زنبورها وجود نداشته‌اند و کلیدهای موجود کلیدهای شناسایی محلی (Local) بوده‌اند که غالباً بر اساس الگوی رنگی ظاهری نوشته شده‌اند. نظر به اینکه الگوی رنگی این زنبورها تحت تأثیر شرایط اقلیمی در طول زمان از منطقه‌ای به منطقه دیگر کاملاً تغییر کرده است (Williams *et al.*, 2007) بیشتر استفاده از کلیدهای شناسایی مناطق دیگر برای شناسایی گونه‌های ایران به نتیجه درستی منجر نمی‌شود. در روش ریخت‌سنجی هندسی تهیه عکس دیجیتال از اندام‌ها به‌ویژه بال حشرات ضروری است و تصاویر با لندمارک گذاری و وارد شدن در چند نرم‌افزار دسته‌بندی می‌شوند. در بیشتر موارد، شکل ظاهری بال بسیاری از نمونه‌ها کاملاً یکسان است و با روش سنتی مطالعه ریخت‌شناسی به‌ویژه در سطح گونه تفاوتی میان نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود؛ درحالی که تفکیک گونه‌ها در روش ریخت‌سنجی هندسی بر اساس لندمارک‌ها و محاسبه‌های ریاضی و آماری نهفته در نرم‌افزارها به‌آسانی انجام می‌شود. در زمینه رده‌بندی و تعریف جنس‌ها، زیرجنس‌ها و گونه‌های قبیله Anthophorini بین پژوهشگران بحث است. جامع‌ترین مطالعه در زمینه این قبیله را Brooks (۱۹۸۸) سی سال پیش انجام داده است. او در زمینه جنس *Habropoda* مطالعه‌ای نکرده و آن را مستقل از *Anthophora* در نظر گرفته است. این پژوهشگر کلیدهایی برای تشخیص زیرجنس‌های این قبیله ارائه کرده است؛ هرچند باوجود کار بسیار و خوبی که انجام شده است برای نمونه‌های ایران چندان قابل‌استفاده نیستند. همان‌طور که از مطالب کتاب

هستند (Michener, 2007). زنبورهای بالاخانواده Apoidea گرده‌افشان‌های اصلی در میان حشرات به شمار می‌روند (Klein *et al.*, 2007). قبیله Anthophorini از زنبورهای گرده‌افشان مهم خانواده Apidae با تنوع جهانی بین ۶۰۰ تا ۲۰۰۰ گونه است (Friese, 1896; Brooks, 1988). تشخیص سطوح مختلف رده‌بندی این زنبورها همواره از چالش‌های مهم پژوهشگران این گروه از زنبورها بوده است. امروزه برای تشخیص سطوح رده‌بندی جانوری از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود و سه روش عمده عبارتند از: ۱- روش‌های مورفولوژیک (ریخت‌شناسی) که قدیمی‌ترین روش‌ها هستند و بر اساس ویژگی‌های ظاهری نمونه‌ها انجام می‌شوند؛ ۲- روش‌های مولکولی که متنوع هستند و به روش‌های مختلفی انجام می‌شوند؛ ۳- روش ریخت‌سنجی هندسی. روش اول نیازمند صرف کار و زمان زیاد است. روش مولکولی به‌علت استفاده از مواد شیمیایی خاص و تجهیزات پیشرفته ضروری بسیار هزینه‌بر است (Nawrocka *et al.*, 2017)؛ همچنین استفاده از روش‌های مولکولی بر شناسایی سطوح مختلف رده‌بندی بر اساس روش‌های مورفولوژیک (ریخت‌شناسی) مبتنی است. روش ریخت‌سنجی هندسی که بر استفاده از عکس و نرم‌افزارهای در دسترس متکی است سرعت عمل زیادی دارد و روش آسان و مطمئنی است. گفتنی است دسته‌بندی درست نمونه‌ها و تشخیص صحیح سطوح مختلف رده‌بندی هدف نهایی است و پژوهشگر تاکسونومی بسته به شرایط تصمیم می‌گیرد از کدام روش یا روش‌ها استفاده کند. تاکنون شناسایی گونه در حشرات بالاخانواده Apoidea ایران به متخصصان

مطالعه‌های ریخت‌شناختی شامل داده‌های کمی یک یا چند ویژگی قابل اندازه‌گیری بودند که به‌طور میانگین خلاصه و گروه‌های مختلف باهم مقایسه می‌شدند. در اواسط قرن بیستم توصیف کمی شکل‌های ریخت‌شناختی با تحلیل‌های آماری همراه شد و الگوهای تنوع شکل داخل و بین گروه‌های موجودات را توصیف کرد و مرحله‌ای مدرن از ریخت‌سنجی آغاز شد (Adams *et al.*, 2004). در علم زیست‌شناسی به تحلیل کمی تغییرات شکل «ریخت‌سنجی» گفته می‌شود (Rohlf, 2002) و مطالعه رده‌بندی هر گونه که بر پایه ریخت‌شناسی موجودات باشد برای توصیف و مقایسه شکل‌های ساختارهای موجودات زنده به فناوری‌های ریخت‌سنجی نیاز دارد (Marcus, 1990). روش‌های ریخت‌سنجی برای شناسایی گونه‌های حشرات به کار می‌روند و ابزاری کمکی برای تاکسونومی محسوب می‌شوند (Francoy *et al.*, 2012). ریخت‌سنجی مطالعه کمی شکل زیستی، تنوع و تغییرات شکل و کوواریانس شکل و سایر عوامل و متغیرهای زنده و غیرزنده است (Webster and Sheat, 2010). مورفومتری معادل ریخت‌سنجی از واژه‌های Morph به معنای شکل و Metron به معنای اندازه‌گیری تشکیل شده و شاخه‌ای از آمار است (Mitteroecker and Gunz, 2009). در تقسیم‌بندی ریخت‌سنجی با دو واژه سنتی^۱ و هندسی^۲ سروکار داریم. ریخت‌سنجی سنتی شامل کاربرد تجزیه و تحلیل آماری چندمتغیره برای متغیرهایی نظیر طول، عرض، تعداد، نسبت‌ها، زوایا و ارتفاع است.

Brooks (۱۹۸۸) برمی‌آید این پژوهشگر نمونه‌های ایران را نیز بررسی کرده است اما با توجه به تجربه نگارنده دوم مقاله حاضر در پروژه مشترکی روی این زنبورها با دانشگاه مانس بلژیک که از سال ۲۰۱۵ تاکنون در حال انجام است برای تشخیص زیرجنس‌های نمونه‌های ایران به‌ویژه جنس *Amegilla* و برخی از زیرجنس‌های *Anthophora* تطابق زیادی ندارد و برای تشخیص نهایی ناگزیر به استفاده از تیپ‌های این زنبورها هستیم. همان‌طور که گفته شد بین پژوهشگران در مورد جنس‌های این قبیله اختلاف نظر وجود دارد؛ به‌طوری که برخی پژوهشگران جنس *Habropoda* را به رسمیت نمی‌شناسند و برخی دیگر آن را جنس مستقلی در نظر می‌گیرند و حتی گونه‌های جدیدی برای آن تعریف می‌کنند (Schwarz and Gusenleitner, 2001; Ascher, J. S. and J. Pickering, 2011)؛ بنابراین هدف از انتخاب گونه‌های مختلف این جنس‌ها در مطالعه حاضر اطمینان از مستقل بودن این جنس‌ها و مقدمه‌ای بر مطالعه گونه‌های آنها در ایران به روش ریخت‌سنجی هندسی است. روش ریخت‌سنجی هندسی ابزاری کمکی مبتنی بر ریاضی و آمار است و در کنار سایر روش‌هایی استفاده می‌شود که دارای پیشینه چندین ساله در علم زیست‌شناسی هستند. بررسی منابع نشان می‌دهد اوایل قرن بیستم آغاز دوران حرکت از مرحله توصیفی به اندازه‌گیری‌های کمی در علم زیست‌شناسی بوده است و تحلیل‌های ریخت‌شناختی با انقلاب کمی مواجه شده‌اند. ریخت‌سنجی فناوری‌ای در علوم طبیعی مدرن برای تشخیص شباهت‌ها و تفاوت‌های میان ساختمان‌های ریخت‌شناختی جوامع زیستی است. ابتدا

¹ Traditional

² Geometric

راسمونت، تشخیص داده شدند. پس از شناسایی نهایی و برگشت نمونه‌ها، پنج گونه از زنبورهای قبیله Anthophorini از سه جنس *Amegilla*، *Anthophora* و *Habropoda* شامل گونه‌های زیر به روش ریخت‌سنجی هندسی بررسی شدند:

Amegilla quadrifasciata, *Anthophora (Melea) yasoujensis*, *Habropoda tarsata*, *Anthophora (Lophanthophora) agama*, *Anthophora (Pyganthophora) rogenhoferi*.

در بررسی حاضر تعداد ۱۲۲ نمونه شامل ۵۳ ماده و ۶۹ نر مطالعه شدند؛ به این منظور، در مرحله اول بال جلو و عقب سمت راست ۱۲۲ زنبور گرده‌افشان جدا و از آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه شد. سپس تصاویر دیجیتالی اسلایدهای تهیه شده با دوربین عکاسی دیجیتال متصل به استریومیکروسکوپ گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل تصاویر، ابتدا فایل تصاویر بال با نرم‌افزار TpsUtil نسخه ۱/۴۰ (Rohlf, 2002) به فایل با فرمت tps تبدیل شد و لندمارک‌ها با نرم‌افزار TpsDig نسخه ۲/۱۱ (Rohlf, 2002) در محل تقاطع رگبال‌ها زده شدند (جدول ۱). تعداد ۲۰ عدد لندمارک در بال جلو (شکل ۱) و ۶ عدد در بال عقب تعیین شد (جدول ۲ و شکل ۲). این نرم‌افزار عکس‌های دارای لندمارک را به ماتریکس مختصات دیجیتالی با فرمت قابل استفاده برای سایر نرم‌افزارهای استفاده شده در ریخت‌سنجی تبدیل می‌کند.

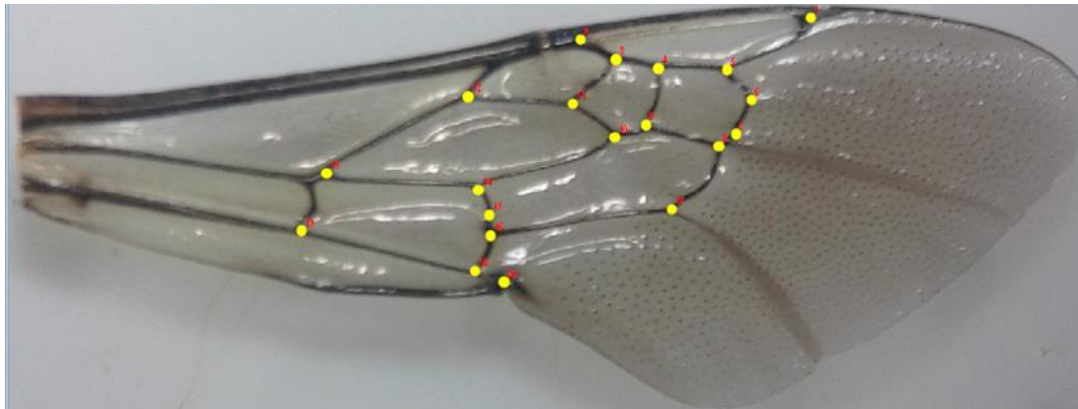
روش ریخت‌سنجی هندسی دسته‌ای از ابزارهای قدرتمند و پیچیده را پیشنهاد می‌کند که توانایی عالی‌ای برای کمی کردن آماری و به تصویر کشاندن تفاوت‌های شکل به‌طور هم‌زمان دارند (Rohlf, 2002)؛ بنابراین ریخت‌سنجی هندسی ابزاری کارآمد در تجزیه و تحلیل شکل است و به دلایل متعدد نسبت به ریخت‌سنجی سنتی برتری دارد. کاربرد مهم دیگر روش ریخت‌سنجی دنبال کردن روند تکامل بین گونه‌های فسیل شده و زنده حشرات و تعیین ارتباطات فیلوژنتیک آنها است (Wappler et al., 2012)؛ همچنین ریخت‌سنجی هندسی با تعیین لندمارک‌های روی بال یکی از روش‌هایی است که نامتقارنی نوسانی را در حشرات از جمله زنبورها اندازه‌گیری می‌کند (Smith et al., 1997). این نوع نامتقارنی سطوح تنش‌های ژنتیکی و محیطی اعمال شده روی افراد جمعیت طی دوران رشدونمو را منعکس می‌کند (Tomkins and Kotiaho, 2001).

مواد و روش‌ها

به منظور انجام ریخت‌سنجی هندسی روی گونه‌هایی از قبیله Anthophorini موجود در «موزه حشرات گرده‌افشان ایران» در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه یاسوج، ابتدا نمونه‌ها تا حد زیرجنس شناسایی شدند. نویسنده دوم مقاله حاضر همه نمونه‌ها را برای تشخیص گونه به دانشگاه مانس بلژیک منتقل کرد و نمونه‌ها به کمک متخصص مربوط به این زنبورها، پروفیسور

جدول ۱- محل لندمارک‌های بال جلو در نمونه‌های مطالعه‌شده

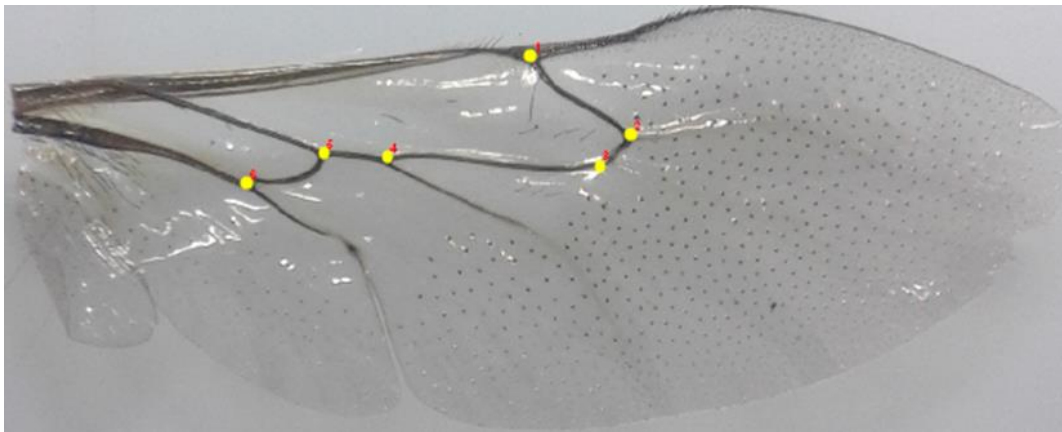
شماره لندمارک	محل لندمارک‌گذاری	شماره لندمارک	محل لندمارک‌گذاری
۱	تقاطع R به Rs	۱۱	تقاطع M به Rs (2nd abscissa)
۲	تقاطع R به r_rs	۱۲	تقاطع سه گانه M+Rs و Rs (1 st abscissa) و M (basal vein)
۳	تقاطع رگ‌های Rs و 2nd abscissa of Rs	۱۳	تقاطع چهارگانه M (basal vein) و Cu_a و Cu و M_Cu
۴	تقاطع Rs به 1rs_m	۱۴	تقاطع Cu به 1m_Cu
۵	تقاطع Rs به 2rs_m	۱۵	در طول Cu
۶	در طول 2rs_m	۱۶	تقاطع Cu و Cu1 و Cu2
۷	در طول 2rs_m	۱۷	تقاطع Cu1_Cu و 2m_Cu
۸	تقاطع M به 2rs_m	۱۸	تقاطع A به Cu_a
۹	تقاطع M به 2m_cu	۱۹	تقاطع A به Cu2
۱۰	تقاطع M به 1m_cu	۲۰	نزدیک رأس A



شکل ۱- محل لندمارک‌های بال جلو در نمونه‌های مطالعه‌شده در پژوهش حاضر (اصلی)

جدول ۲- محل لندمارک‌های بال عقب در نمونه‌های مطالعه‌شده

شماره لندمارک	محل لندمارک‌گذاری
۱	تقاطع Sc+R و R و Rs
۲	تقاطع Rs و rs_m
۳	تقاطع rs_m به M
۴	تقاطع M و M_Cu و Cu
۵	تقاطع M_Cu و Cu_a
۶	تقاطع A و Cu_a

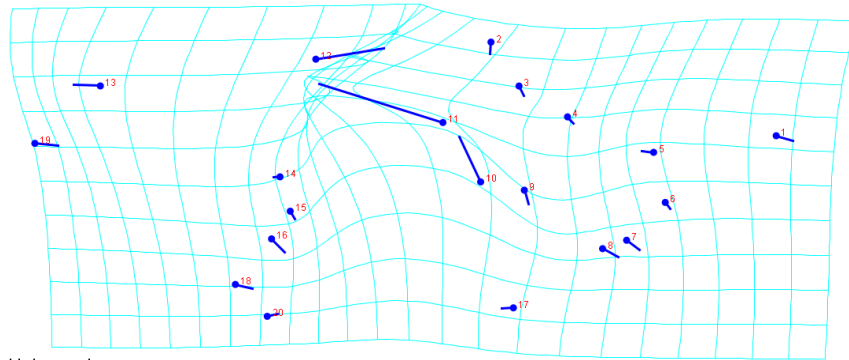


شکل ۲- محل لندمارک‌های بال عقب در نمونه‌های مطالعه‌شده در پژوهش حاضر (اصلی)

شامل فاصله‌ی ماهالانویس، فاصله‌ی پروکراست و تجزیه و تحلیل تابع تشخیص برای بررسی تمایز بین گونه‌ها انجام شدند. متوسط فاصله‌های ماهالانویس در آنالیز خوشه‌ای برای ایجاد دندروگرام UPGMA با نرم‌افزار PAST به کار رفت. تجزیه و تحلیل‌های ریخت‌سنجی روی پنج مجموعه داده انجام شدند. تفاوت شکل بال بین جنس‌ها، زیرجنس‌ها و گونه‌ها با استفاده از شبکه‌ی تغییر شکل و نمودار وایرفرایم آزموده شد تا تغییر شکل گسترده در شکل بال کشف شود و با مقایسه‌ی تغییر شکل بال بین گونه‌ها، لندمارک‌های دارای تأثیرگذاری بیشتر مشخص شوند.

در پژوهش حاضر از تغییرات شطرنجی مختصات لندمارک‌ها برای مقایسه‌ی تغییرات شکل بال و از واریانس لندمارک‌ها که نشان‌دهنده‌ی میزان بزرگی و جهت تغییرات لندمارک‌های نمونه‌های مطالعه‌شده و میزان تغییرات شکل بال نسبت به حالت اصلی است استفاده شد (شکل ۳).

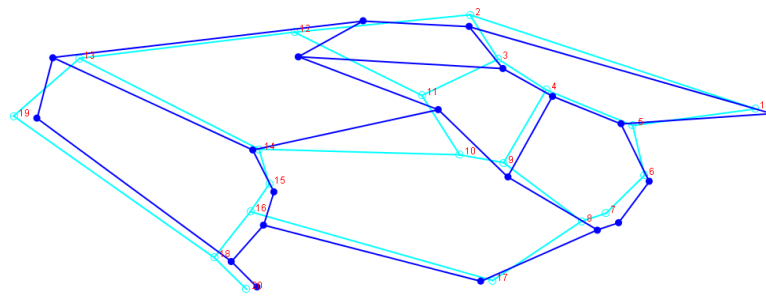
مرحله‌ی نهایی استفاده از نرم‌افزار MorphoJ (Klingenberg, 2011) بود که کار آن تبدیل و تجزیه و تحلیل داده‌های خام یا مختصات هندسی لندمارک‌ها است. یکی از کارکردهای این نرم‌افزار انجام تجزیه و تحلیل آماری مانند تحلیل مؤلفه‌های اصلی روی لندمارک‌های تعیین‌شده روی بال است که نتایج را به شکل گرافیکی ارائه می‌دهد. مختصات لندمارک‌ها با الگوریتم حداقل مربعات در نرم‌افزار MorphoJ (Klingenberg, 2011) روی هم‌گذاری شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه روی اندازه‌ی بال برای تعیین تغییرات اندازه‌ی بال بین گونه‌های مختلف انجام شد. معنادار بودن تفاوت‌های اندازه‌ی متوسط بال در افراد گونه‌ها با نرم‌افزار PAST تصویرسازی شد. آنالیز واریانس چندمتغیره برای آزمودن تغییرات شکل بال بین افراد گونه‌های مختلف انجام شد. تغییرات شکل بال بین گونه‌ها با تحلیل مؤلفه‌های اصلی و تجزیه و تحلیل متغیرهای کانونی تصویرسازی شد. محاسبه‌های آماری اضافی



شکل ۳- مقایسه میانگین شکل بال و واریانس لندمارک‌ها با استفاده از شبکه تغییر شکل

شدند میزان تغییرات و تفاوت شکل بال در نمونه‌های مطالعه‌شده را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر از مقایسه وایرفریم‌های دوتایی گونه‌ها برای مقایسه میزان تغییرات بال استفاده شد.

تغییرات وایرفریم‌های لندمارک‌ها در شکل (۴) دیده می‌شوند. شکل وایرفریم‌های ناشی از اتصال لندمارک‌ها میزان تطابق دو بال را نشان می‌دهد. مقایسه تغییرات مکان گره‌های بال که به منزله لندمارک انتخاب



شکل ۴- وایرفریم نشان‌دهنده تغییرات در موقعیت نسبی لندمارک‌های تجزیه‌شده به وسیله CVA

مقایسه بال جلوی گونه‌ها در زنبورهای ماده

مقایسه بال جلوی زنبورهای ماده تفکیک کامل گروه‌بندی گونه‌ها را نشان داد. در این گروه‌بندی، گونه‌های *Amegilla (Amegilla) quadrifasciata*، *Anthophora (Melea) yasoujensis*، *Anthophora (Lophanthophora) agama* و *Anthophora rogenhoferi* (Pyganthophora) با فاصله زیادی از *Habropoda tarsata* قرار گرفتند (شکل ۳). مقایسه

یافته‌ها

یافته‌های پژوهش حاضر بسیار درخور توجه بودند؛ به طوری که در مقایسه نمونه‌های مطالعه‌شده بر اساس بال جلو و بال عقب زنبورهای ماده و همچنین بال‌های بالا و پایین زنبورهای نر به طور مستقل و انجام تجزیه‌های آماری و به کمک نرم‌افزارهای تخصصی مورفومتریک غالباً تفکیک گونه‌ها، جنس‌ها و زیرجنس‌ها به خوبی انجام شد.

Amegilla و حتی گونه متعلق به جنس *Anthophora* فاصله کمتری نسبت به یکدیگر داشتند که مؤید شباهت زیاد این نمونه‌ها است. گفتنی است جنس *Amegilla* تا مدت‌ها در جنس *Anthophora* قرار داشته و سپس تفکیک شده است.

فاصله ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال جلوی زنبورهای ماده نیز نشان‌دهنده تفاوت زیاد گونه *H. tarsata* با گونه‌های دیگر بود (جدول ۳). این موضوع تا حد زیادی طبیعی به نظر می‌رسد زیرا این گونه از جنس متفاوتی است. در مقایسه، گونه‌های جنس

جدول ۳- مقایسه فاصله ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه‌شده (بال جلو_ ماده)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Anthophora rogenhoferi</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۲۸/۷۱۴۴			
<i>Anthophora rogenhoferi</i>	۱۴/۸۰۱۴	۲۷/۲۰۷۹		
<i>Habropoda tarsata</i>	۱۱۸/۶۸۱۸	۱۲۱/۶۴۰۰	۱۲۰/۵۲۰۹	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۱۶/۲۲۳۱	۳۱/۷۴۶۷	۱۸/۰۵۰۵	۱۱۴/۷۲۲۳

Habropoda tarsata با گونه‌های دیگر بود (جدول ۴).

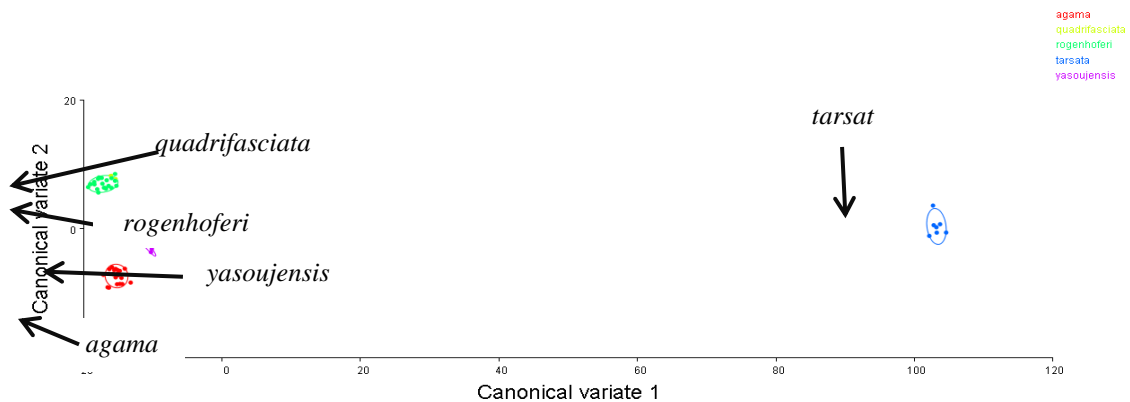
مقایسه مقادیر فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال جلوی جنس ماده نیز نشان‌دهنده تفاوت زیاد گونه

جدول ۴- مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده (بال جلو_ ماده)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Anthophora rogenhoferi</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۰/۰۶۱۴			
<i>Anthophora rogenhoferi</i>	۰/۰۲۱۱	۰/۰۵۷۱		
<i>Habropoda tarsata</i>	۰/۱۸۲۶	۰/۱۷۹۱	۰/۱۸۳۹	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۰/۰۲۹۳	۰/۰۶۲۵	۰/۰۲۶۱	۰/۱۹۵۰

مقایسه نمونه‌های مطالعه‌شده به روش ریخت‌سنجی هندسی باوجود نبود تفاوت ظاهری بین این زنبورها در شکل کلی بال و شباهت بسیار زیاد رگبال‌ها به‌ویژه در افراد یک جنس نشان‌دهنده توانایی این روش برای تفکیک نمونه‌هاست.

نتایج تجزیه مؤلفه‌های اصلی که در آن مقادیر مؤلفه اصلی اول (CV1) روی محور افقی و مؤلفه اصلی دوم (CV2) روی محور عمودی قرار داشتند نشان می‌دهند نمونه‌های مطالعه‌شده با روش ریخت‌سنجی هندسی به‌آسانی از هم تفکیک می‌شوند (شکل‌های ۵ تا ۸).



شکل ۵- تفکیک گونه‌ها بر پایه ۲۰ لندمارک (بال جلو_ ماده)

گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال عقب در جنس ماده نیز نشان‌دهنده تفاوت مشخص این مقادیر و تفاوت بین گونه‌ها بود (جدول ۵).

مقایسه بال عقب گونه‌ها در زنبورهای ماده

مقایسه ریخت‌سنجی هندسی در زنبورهای ماده بر مبنای بال عقب نیز انجام شد. اگرچه نتایج این تجزیه به اندازه بال جلو متمایزکننده نبودند گونه‌ها به خوبی از هم تفکیک شدند. مقایسه فاصله ماهالانویس بین

جدول ۵- مقایسه فاصله ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه‌شده (بال عقب_ ماده)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Anthophora rogenhoferi</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۳/۶۶۸۲			
<i>Anthophora rogenhoferi</i>	۳/۱۴۹۱	۸/۹۵۹۰		
<i>Habropoda tarsata</i>	۷/۴۱۰۷	۸/۰۳۰۵	۸/۳۲۴۲	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۴/۶۵۸۷	۱۰/۲۶۶۴	۳/۹۷۴۶	۱۰/۰۰۳۶

جنس ماده نیز نشان‌دهنده تفاوت بین گونه‌ها بود (جدول ۶).

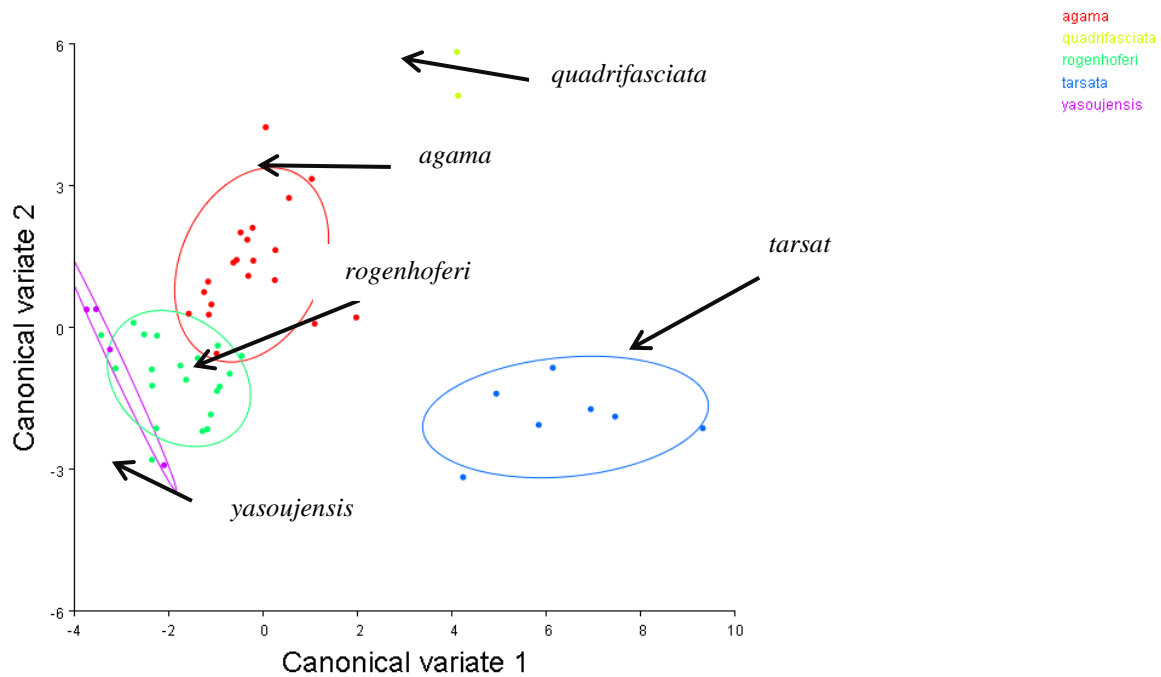
مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال عقب در

جدول ۶- مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده (بال عقب_ ماده)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Anthophora rogenhoferi</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۰/۰۶۷۴			
<i>Anthophora rogenhoferi</i>	۰/۰۲۹۳	۰/۰۹۳۱		
<i>Habropoda tarsata</i>	۰/۰۴۸۹	۰/۰۹۷۳	۰/۰۴۹۵	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۰/۰۴۲۳	۰/۰۹۵۳	۰/۰۳۰۶	۰/۰۶۵۸

شکل نیز تفکیک گونه‌ها به روش ریخت‌سنجی هندسی نمونه‌های مطالعه‌شده را نشان می‌دهد ولی به‌اندازهٔ بال جلو به‌آسانی از هم تفکیک نشدند و در برخی موارد دارای اختلاط برخی نمونه‌ها بودند.

نتایج تجزیهٔ مؤلفه‌های اصلی که در آن مقادیر مؤلفهٔ اصلی اول (CV1) روی محور افقی و مؤلفهٔ اصلی دوم (CV2) روی محور عمودی قرار داشتند بر اساس بال عقب زنبورهای ماده در شکل (۶) دیده می‌شوند. این



شکل ۶- تفکیک گونه‌ها بر پایهٔ ۶ لندمارک (بال عقب_ ماده).

Anthophora و *Amegilla quadrifasciata* *yasoujensis* به‌خوبی از هم تفکیک شدند. متأسفانه وارد کردن نمونهٔ نر گونهٔ *Anthophora rogenhoferi* به‌علت موجود نبودن امکان‌پذیر نبود.

مقایسهٔ بال جلوی گونه‌ها در جنس نر

مقایسهٔ فاصلهٔ ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال جلوی جنس نر تفاوت زیاد گونهٔ *Habropoda tarsata* با گونه‌های دیگر را نشان داد (جدول ۷) و گونه‌های

جدول ۷- مقایسهٔ فاصلهٔ ماهالانویس گونه‌های مطالعه‌شده (بال جلو_ نر)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۱۹/۴۴۷۰		
<i>Habropoda tarsata</i>	۷۳/۷۲۱۳	۷۱/۰۱۰۴	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۱۰/۴۹۴۳	۲۳/۰۹۸۳	۷۸/۱۵۷۴

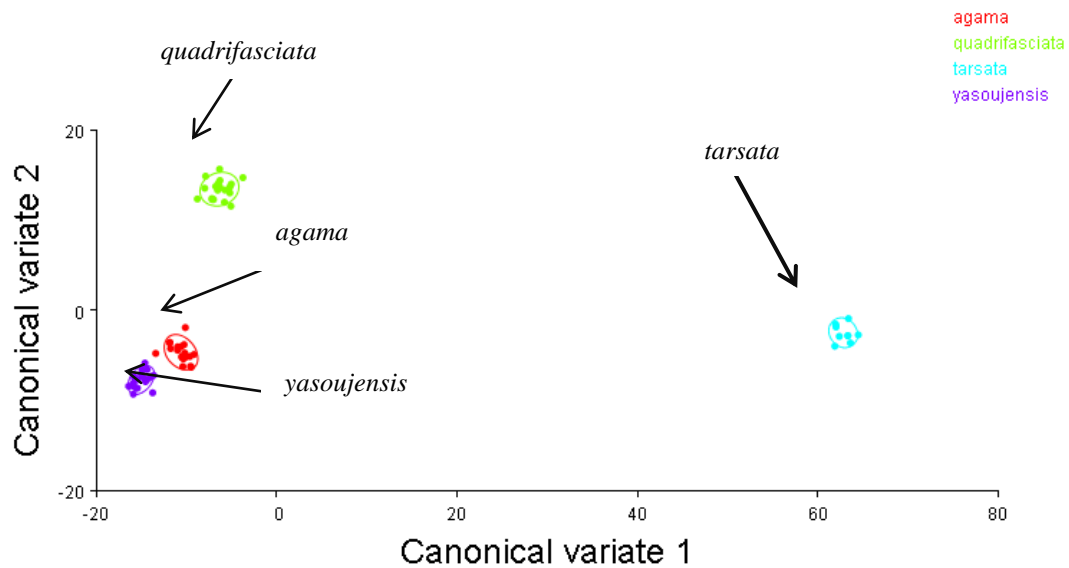
مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال جلوی جنس نیز نشان‌دهنده تفاوت زیاد گونه *Habropoda tarsata* با گونه‌های دیگر بود (جدول ۸).

جدول ۸- مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه‌شده (بال_جلو_نر)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۰/۰۵۸۸		
<i>Habropoda tarsata</i>	۰/۱۸۳۸	۰/۱۸۰۶	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۰/۰۲۸۷	۰/۰۶۸۴	۰/۱۹۷۴

شکل (۷) تفکیک گونه‌ها را بر اساس بال جلوی نر به خوبی نشان می‌دهد و فاصله گروه‌ها نشان‌دهنده تفاوت سطح‌های جنس و گونه است؛ برای نمونه، دو گونه *Anthophora* و *Anthophora agama* نسبت *yasoujensis* فاصله‌شان نسبت به هم کمتر از فاصله‌شان نسبت *Amegilla quadrifasciata* است. فاصله گروه‌ها در این شکل نشان دیده می‌شود.

شکل (۷) تفکیک گونه‌ها را بر اساس بال جلوی نر به خوبی نشان می‌دهد و فاصله گروه‌ها نشان‌دهنده تفاوت سطح‌های جنس و گونه است؛ برای نمونه، دو گونه *Anthophora* و *Anthophora agama*



شکل ۷- تفکیک گونه‌ها بر پایه ۲۰ لندمارک (بال_جلو_نر)

مقایسه فاصله عقب گونه‌ها در جنس نر بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال عقب جنس نر نیز نشان‌دهنده تفاوت بین گونه‌ها بود (جدول ۹).

مقایسه فاصله ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه‌شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته‌شده روی بال عقب

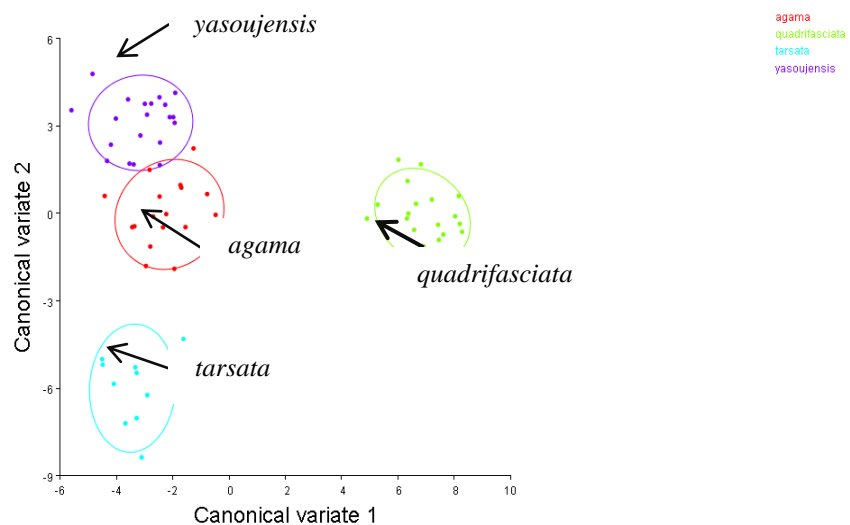
جدول ۹- مقایسه فاصله ماهالانویس بین گونه‌های مطالعه شده (بال عقب_نر)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۹/۱۲۷۱		
<i>Habropoda tarsata</i>	۶/۴۶۳۰	۱۱/۹۰۵۱	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۳/۹۲۱۵	۱۰/۵۴۳۱	۹/۱۰۷۶

مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه شده بر اساس لندمارک‌های گذاشته شده روی بال عقب جنس نر نیز نشان دهنده تفاوت بین گونه‌ها بود (جدول ۱۰).

جدول ۱۰- مقایسه فاصله پروکراست بین گونه‌های مطالعه شده (بال عقب_نر)

گونه	<i>Anthophora agama</i>	<i>Amegilla quadrifasciata</i>	<i>Habropoda tarsata</i>
<i>Amegilla quadrifasciata</i>	۰/۰۸۷۴		
<i>Habropoda tarsata</i>	۰/۰۵۴۳	۰/۱۲۴۰	
<i>Anthophora yasoujensis</i>	۰/۰۳۷۱	۰/۰۹۷۰	۰/۰۸۰۶



شکل ۸- تفکیک گونه‌ها بر پایه‌ی ۲۰ لندمارک (بال عقب_نر)

نتیجه و بحث

زمینه کاربرد ریخت‌سنجی در شناسایی و تفکیک افراد یک گونه یا گونه‌های مختلف که مهم‌ترین کاربرد این ابزار است بحث‌های مختلفی طی زمان وجود داشته و معمولاً این روش برای شناسایی گونه و یا سطوح بالاتر یا پایین‌تر رده‌بندی استفاده شده است. اگرچه برخی

روش ریخت‌سنجی یکی از ابزارهای قدرتمند در تفکیک سطوح مختلف رده‌بندی است. این ابزار در طول زمان تکامل یافته و از روش‌های مبتنی بر اندازه به روش مبتنی بر شکل و حذف اندازه رسیده است. در

را به‌خوبی از هم تفکیک می‌کند. با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده در زمینه ریخت‌سنجی هندسی زنبورهای گرده‌افشان و مقایسه آنها با پژوهش حاضر نتیجه‌گیری می‌شود ریخت‌سنجی هندسی روشی موفق و کاربردی در تفکیک سطوح مختلف است و می‌توان از آن برای تفکیک و جداسازی نمونه‌ها در همه سطوح استفاده کرد و به نتیجه مطلوبی دست یافت. در پژوهش حاضر از روش ریخت‌سنجی هندسی بر پایه لندمارک‌گذاری بال برای تفکیک و جداسازی سطوح جنس، زیرجنس و گونه قبیله Anthophorini استفاده شد. نتایج همه سطوح را با موفقیت تفکیک کردند، میزان تفاوت و درصد اختلاف سطوح را نشان دادند و اثبات کردند ریخت‌سنجی هندسی روشی قوی و کاربردی برای تفکیک سطوح مختلف تاکسونومیک است که سطوح را به‌آسانی بر اساس لندمارک‌ها از یکدیگر جدا می‌کند و میزان تفاوت بین سطوح را ارائه می‌دهد. مقایسه بال جلوی جنس ماده نشان داد بیشترین اختلاف به دو گونه *A. quadrifasciata* و *H. tarsata* مربوط است؛ درحالی‌که حداکثر اختلاف در مقایسه بال عقب جنس ماده بین دو گونه *A. quadrifasciata* و *A. yasoujensis* مشاهده شد. بیشترین اختلاف بین دو گونه *A. yasoujensis* و *H. tarsata* در مقایسه بال جلوی جنس نر و بیشترین اختلاف بین دو گونه *A. quadrifasciata* و *H. tarsata* در مقایسه بال عقب جنس نر مشاهده شد. مقایسه شکل شطرنجی تغییرات بال و وایرفریم در ۱۲۲ نمونه مطالعه‌شده معیار بسیار خوبی برای دقت در تغییرات شکل بال بود و اختلاط‌های نمونه‌ها را به‌خوبی نشان داد. نمونه‌های بررسی‌شده بر اساس اطلاعات حاصل به‌خوبی با یکدیگر مقایسه شدند (به‌علت

پژوهشگران اعتقادی به این ابزار ندارند شواهد بسیاری نشان می‌دهند ریخت‌سنجی هندسی ابزار قدرتمندی در تاکسونومی محسوب می‌شود. Francoy و همکاران (۲۰۰۶) در پی تلاش به‌منظور توسعه روش ساده‌ای برای تفکیک گونه‌های زنبورعسل از ریخت‌سنجی هندسی بال برای شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌های زنبورعسل با تعیین ۵ لندمارک روی تصاویر دیجیتالی‌شده سلول رادیال بال راست جلویی افراد کارگر سه گروه نژادی متفاوت *Apis mellifera* استفاده کردند. نتایج آنها نشان دادند ویژگی‌های اندازه‌گیری‌شده در یک سلول منفرد بال برای ایجاد تمایز بین گروه‌های نژادی کافی است و این گونه‌ها به‌آسانی از یکدیگر تفکیک می‌شوند. Khaghani Nia و همکاران (۲۰۰۹) در ایران این روش را برای مطالعه دو شکلی جنسی کرم سبب به کار بردند. به‌تازگی Falamarzi (۲۰۱۷) این روش را برای تفکیک برخی از گونه‌های زنبورهای خانواده Megachilidae در استان فارس استفاده کردند. پژوهشگرانی از جمله Güler و Çağatay (۲۰۰۶) نیز طی مطالعه‌های سیستماتیکی انجام‌شده به روش‌های ریخت‌سنجی هندسی لندمارک‌های روی بال‌ها و سر افراد قبیله Anthidiini از خانواده Megachilidae نتیجه گرفتند احتمال تعلق *Paraanthidium* به‌عنوان یک زیرجنس به *Anthidium* فرضیه‌ای قوی است. از سوی دیگر *Icterantheidium* و *Paraanthidium* به‌اندازه کافی تشابه نشان ندادند که بتوان آنها را در دو جنس جدا رده‌بندی کرد. نتایج پژوهش Yuksel و Tuzun (۲۰۱۱) روی ریخت‌شناسی بال چند گونه از زنبورهای جنس *Cerceris* در ترکیه نشان دادند روش ریخت‌سنجی هندسی بر پایه لندمارک بال این زنبورها

زنبورها از جمله زیرجنس‌ها، تکمیل نبودن مطالعه‌ها روی این گروه از زنبورهای ایران ضرورت انجام تفکیک نمونه‌ها را برای مطالعه آغازین روشن می‌کند. اکنون آشکار است مطالعه حاضر هدفمند بوده است؛ به این معنا که ابتدا ریخت‌سنجی هندسی روی تعداد کمی از گونه‌های شناسایی شده از جنس‌های سه‌گانه انجام شد تا در مراحل بعد، این کار برای تفکیک نمونه‌های جمع‌آوری شده انجام شود و در نهایت با مقایسه نمونه‌های تفکیک شده و نمونه‌های تیپ یا نمونه‌های تشخیص داده شده (به روش ریخت‌شناسی عادی یا روش ریخت‌شناسی هندسی) تشخیص گونه‌های زنبورهای این قبیله و قبیله‌های دیگر تسهیل شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از پروفیسور پیر راسمونت، استاد بخش جانورشناسی دانشگاه مانس بلژیک، که در شناسایی گونه‌های مطالعه شده همکاری کردند، از جناب آقای دکتر شهرام فلامرزی دانش‌آموخته دانشگاه شهید چمران اهواز که با حسن‌نیت در آموزش بخش مورفومتریک و در اختیار گذاشتن و معرفی نرم‌افزارهای مربوطه صمیمانه همکاری کردند و دو داور گرامی که نظرات ارزشمندشان موجب بهبود مطالب این نوشتار شد سپاسگزاری می‌کنند.

محدودیت نشریه از آوردن شکل‌ها خودداری شده است. شکل بال‌های جلو و عقب زنبورهای نر و ماده در این مقایسه‌ها به شکل دوتا دوتا باهم مقایسه شد. همان‌طور که گفته شد مشکلات فراوانی در زمینه شناسایی زنبورهای گرده‌افشان ایران وجود دارند که از جمله آنها نبود دسترسی به نمونه‌های تیپ، وجود نداشتن نمونه‌های تشخیص داده شده در ایران، کمبود و یا نبود متخصص جهانی به علت بازنشسته شدن و یا توقف فعالیت‌های پژوهشی و یا درگیر بودن آنها در پژوهش‌های بزرگ در دیگر نقاط دنیا مانند آفریقا و ... است که باعث محدود شدن همکاری آنها در زمینه شناسایی گونه‌های ایران شده است. همچنین منابع مکتوب و یا برخط جامعی وجود ندارند که به کمک آنها گونه‌های ایران را شناسایی کرد و امکان شناسایی قطعی با توجه به تفاوت‌های ظاهری افراد یک گونه و شباهت‌های ظاهری افرادی از گونه‌های مختلف بدون مشاهده و بررسی نمونه‌های تیپ وجود ندارد. نمونه‌های تیپ نیز در موزه‌های مختلف دنیا پراکنده‌اند و امکان مسافرت‌های متعدد به کشورهای مختلف برای مشاهده، بررسی و مطالعه این نمونه‌ها با توجه به کمبود منابع مالی و شرایط حاکم بر روابط بین‌الملل در شرایط فعلی میسر نیست و یا بسیار دشوار است. با توجه به مطالب یاد شده به نظر می‌رسد روش ریخت‌سنجی هندسی آغاز خوبی برای دسته‌بندی نمونه‌های ایران است تا در مراحل بعد بتوان به تدریج شناسایی نهایی این گونه‌ها را انجام داد. مشکلات در زمینه قبیله Anthophorini بیشتر هستند؛ نبود دسترسی به نمونه‌های تیپ، زیادی گونه‌ها، وجود نداشتن نمونه‌های تشخیص داده شده توسط متخصصان خارجی در ایران، تطابق نداشتن منابع خارجی در تشخیص سطوح مختلف رده‌بندی این

منابع

- Adams, D. C., Rohlf, F. J. and Slice, D. E. (2004) Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* 71: 5-16.
- Ascher, J. S. and Pickering, J. (2011) Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila). Bee species world checklist. Retrieved from http://www.discoverlife.org/mp/20q?act=x_checklist&guide=Apoidea_species. On 25 June 2017.
- Brooks, R. W. (1988) Systematics and phyligeny of the Anthophorine Bees (Hymenoptera: Anthophoridae, Anthophorini). *The University of Kansas science Bulletin* 53(9): 436-575.
- Falamarzi Sh. (2017) Faunistic survey of Megachilidae (Hymenoptera) and wing geometric morphometry study in *Megachile* spp. with particular reference on principal component analysis (PCA) in south of Fars province. PhD thesis, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran (in Persian).
- Francoy, T. M., Prado, P. R. R., Goncalves, L. S., Costa, L. F. and Jong, D. D. (2006) Morphometric difference in a single wing cell can discriminate *Apis mellifera* racial type. *Apidologie* 37:91-97.
- Francoy, T. M., Franko, F. and Roubik, D. W. (2012) Integrated landmark and outline-based morphometric methods efficiently distinguish species of Euglossa (Hymenoptera, Apidae, Euglossini). *Apidologie* 43(6): 609-617.
- Friese, A. H. (1896) Species aliquot novam vel minus cognitae generis podalirius lata, (*Anthophora* aut.). *Termeszetráji füzetek*: 265-269.
- Güler, Y. and Çağatay, N. (2006) Faunistic study on Megachilini, Osmiini and Anthidiini tribes (Hymenoptera: Megachilidae) in Central Anatolia. *Journal of the Entomological Research Society* 8(2): 15-34.
- Khaghani Nia, P., Mohammadi, S. A., Sarafrazi, A., Haddad Iraninejad, K., Ebrahimi, A., Alawi Kia, S. and Zahiri, R. (2009) Study of sexual dimorphism of codling moth; *Cydia pomonella* (Lep. Tortricidae) using geometric morphology in northwest of Iran. *Journal of Entomological Society of Iran* 28(1): 62-51 (in Persian).
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. and Tscharntke, T. (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world. crop. *Proceedings of Royal Society* 274: 303-313.
- Klingenberg, C. P. (2011) MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357.
- Marcus, L. F. (1990) Traditional morphometrics. In: *Proceeding of the Michigan morphometric workshop* (Eds. James Rohlf, F. and Bookste, Fred L.) 77-122. The University of Michigan Museum of Zoology.
- Michener, C. D. (2007) *The bees of the worlds*. The Johns Hopkins University Press, New Yourk.
- Mitteroecker, P. and Gunz, P. (2009) Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology* 36: 235-247.
- Nawrocka, A., Kandemir, İ., Fuchs, S. and Tofilski, A. (2017) Computer software for identification of honey bee subspecies and evolutionary lineages. *Apidologi*. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s13592-017-0538-y>. On: 14 June 2017.
- Rohlf, F. J. (2002) Geometric morphometrics and phylogeny. In: *Morphology, shape and phylogenetics* (Eds. MacLeod, N. and Forey, P. L.) Taylor and Francis, London.
- Smith, D. R., Crespi, B. J. and Bookstein, F. L. (1997) Fluctuating asymmetry in the honey bee, *Apis mellifera*: effects of ploidy and hybridization. *Journal of Evolutionary Biology* 10: 551-574.

- Schwarz, M. and Gusenleitner, F. (2001) Beitrag sur Kenntnis paläarktischer Anthophorini und Habropodini (Hymenoptera: Apidae). *Entomofauna* 22(6): 53-92.
- Tomkins, J. L. and Kotiaho, J. S. (2001) Fluctuating asymmetry. In: *Encyclopedia of life sciences* (Eds. Tomkins, J. and Kotiaho, J. S.) 1: 1-5. Stockton Press, London.
- Yuksel, S. and Tuzun, A. (2011) Use of wing morphometry for the discrimination of some *Cerceris* (Insecta: Hymenoptera: Crabronidae species). *African Journal of Biotechnology* 10(80): 8569-18580.
- Wappler, T., De Meulemeester, T., Aytakin, A. M., Michez, D. and Engel, M. S. (2012) Geometric morphometric analysis of a new Miocene bumble bee from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera: Apidae). *Systematic Entomology* 37: 784-792.
- Webster, M. and Sheats, H. D. (2010) A practical introduction to landmark-based geometric morphometrics. *The Paleontological Society* 16:163-188.
- Williams, P. H. (2007) The distribution of bumblebee colour patterns world-wide: possible significance for thermoregulation, crypsis, and warning mimicry. *Biological Journal of the Linnean Society* 92: 97-118.