



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

TESIS

**EFFECTO DE LA ESTRUCTURA DEL PAISAJE SOBRE LA DIVERSIDAD DE POLINIZADORES, LA
POLINIZACIÓN, Y GENÉTICA POBLACIONAL DE CUCURBITA PEPO, EN UN BOSQUE DE NIEBLA DE
GUATEMALA**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA EUNICE ENRÍQUEZ COTTÓN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. JUAN NUÑEZ FARFÁN, Instituto de Ecología, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. CARLOTA MONROY (Supervisora), Facultad CC.QQ. y Farmacia, USAC.

Dr. RICARDO AYALA BARAJAS, Instituto de Biología, UNAM.

CIUDAD DE MÉXICO

MAYO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

TESIS

**EFFECTO DE LA ESTRUCTURA DEL PAISAJE SOBRE LA DIVERSIDAD DE POLINIZADORES, LA
POLINIZACIÓN, Y GENÉTICA POBLACIONAL DE CUCURBITA PEPO, EN UN BOSQUE DE NIEBLA DE
GUATEMALA**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARÍA EUNICE ENRÍQUEZ COTTÓN

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. JUAN NUÑEZ FARFÁN, Instituto de Ecología, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. CARLOTA MONROY (Supervisora), Facultad CC.QQ. y Farmacia, USAC.

Dr. RICARDO AYALA BARAJAS, Instituto de Biología, UNAM.

MÉXICO D.F

MAYO, 2017

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 12 de septiembre de 2016 aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **ENRIQUEZ COTTÓN MARÍA EUNICE** con número de cuenta 510452126 con la tesis titulada: **"EFECTO DE LA ESTRUCTURA DEL PAISAJE SOBRE LA DIVERSIDAD DE POLINIZADORES, LA POLINIZACIÓN Y GENÉTICA POBLACIONAL DE *Cucurbita pepo*, EN UN BOSQUE DE NIEBLA DE GUATEMALA"**, bajo la dirección del **DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFAN**

Presidente:	DR. RAFAEL LIRA SAADE
Vocal:	DR. LUIS ENRIQUE EGUARTE FRUNS
Secretario:	DR. RICARDO AYALA BARAJAS
Suplente:	DR. VÍCTOR ARROYO RODRÍGUEZ
Suplente	DR. ALEJANDRO CASAS FERNÁNDEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx. a 27 de abril de 2017


DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



Agradecimientos Institucionales

A la Universidad Autónoma de México por permitir que realizara mis estudios de doctorado y darme el privilegio de conocer algunos de sus excelentes profesores e investigadores.

Al posgrado en Ciencias Biológicas por la gestión administrativa llevada a cabo durante mi programa de doctorado.

A mi comité tutorial, Dr. Juan Nuñez Farfán (tutor principal), Dr. Ricardo Ayala y Dra. Carlota Monroy, por su guía y apoyo durante el desarrollo de mi tesis doctoral.

A la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología de Guatemala, por el financiamiento otorgado por medio de los proyectos FODECYT 15-2011 y FODECYT 26-2012, lo cual permitió las colectas de visitantes florales de *C. pepo* y la toma de muestras vegetales de *C. pepo* para la extracción del ADN; así como los reactivos para la extracción y amplificación del ADN.

Agradecimiento personales

Al Dr. Juan Nuñez Farfán, que, durante su gestión como director en el Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, y gracias a su entusiasmo, profesionalismo y experiencia, logró la consolidación del programa de Doctorado en Ciencias Biológicas con sede externa en la Universidad de San Carlos de Guatemala, en el año 2009. Lo cual ha permitido el incrementar el nivel académico de varios guatemaltecos en el área de ciencias biológicas. Así mismo, le agradezco por ser mi tutor, por su asesoría académica, amistad, apoyo incondicional y por el privilegio de ser parte de su equipo, en el Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, del Instituto de Ecología de la UNAM. Además, por el financiamiento en el estudio molecular de *Cucurbita pepo*.

Al Dr. Ricardo Ayala, del Instituto de Biología de la UNAM, por ser parte de mi comité tutorial. Así mismo, por enseñarme el maravilloso mundo de las abejas nativas, por el apoyo incondicional durante más de 15 años y por su amistad. Por último, por el financiamiento en el trabajo de campo y la ayuda en la identificación de algunas especies de abejas.

A la Dra. Carlota Monroy, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser parte de mi comité tutorial. Así mismo, por ser un ejemplo digno de seguir, como mujer y profesional; así como por todo su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera profesional. Por último, por el apoyo en el desarrollo en el estudio molecular de *Cucurbita pepo*, el cual se desarrolló en Laboratorio de Entomología Aplicada –LENAP- en Guatemala.

A la Dra. María del Coro Arizmendi, directora del Posgrado en Ciencias Biológicas por su apoyo en el desarrollo del convenio UNAM-USAC. Así mismo, a Lilia Espinosa por su apoyo en todos los procesos administrativos.

A la Dra. Rosalinda Tapia por su apoyo en el desarrollo de las técnicas moleculares con primers microsatélites. Así mismo, a Marisol y Erika, Vania, Jorge y a todo el resto del grupo, por su hospitalidad y enseñanzas.

Al Dr. Mauricio Quezada que muy amablemente proporcionó algunos de los primeros tipos de microsatélites utilizados en el estudio de diversidad genética de *Cucurbita pepo*. Con financiamiento del proyecto SEP-CONACYT 2009-131008.

Al Ing. Dauno Chew, del Centro de Datos para la Conservación, del Centro de Estudios Conservacionistas, Universidad de San Carlos de Guatemala, por la ayuda en la realización de los análisis de la estructura del paisaje por medio de sistemas de información geográfica.

A Mabel Vásquez por su ayuda en la identificación de abejas colectadas en los distintos experimentos de diversidad de abejas y polinización en el corredor del bosque nuboso.

A Patricia Landaverde, por su amistad, por sus valiosos consejos sobre la forma de hacer ciencia y sus consejos en el desarrollo de mi tesis; así mismo por la ayuda en la realización de los análisis genéticos y de polinización de *C. pepo*.

Raquel Lima y Elizabeth Solórzano por su ayuda en la extracción y amplificación de ADN, en el LENAP, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Patricia Landaverde, Raquel Lima, Natalia Escobedo, Carmen Yurrita, Mabel Vásquez, Gabriela Armas, María Fernanda Bracamonte, Elizabeth Solórzano, Oscar Martínez y Martín Rangel por su ayuda en el desarrollo del trabajo de campo en el corredor del bosque nuboso.

Al Dr. Víctor Gonzáles por su ayuda en elaboración del manuscrito de requisito. A Amy Comfort de González, Claus Rasmussen, Cory Sheffield, Jason Gibbs y Donald Miller por sus comentarios y sugerencias al manuscrito requisito titulado “Alpha and beta diversity of bee species and their pollination role on *Cucurbita pepo* (cucurbitaceae) in the guatemalan cloud forest”.

A Mayra Oliva, administradora del Biotopo para la Conservación del Quetzal, así como a los guarda-recursos, por el acompañamiento durante la colecta de los datos y muestras de campo; así como el desarrollo de las encuestas en el corredor del bosque nuboso, Baja Verapaz, Guatemala.

A los agricultores del corredor del bosque nuboso, Baja Verapaz, Guatemala, por la confianza brindada durante la realización de las encuestas sobre conocimiento tradicional y las colectas de muestras de *C. pepo*.

A mi jurado de grado, Dr. Ricardo Ayala, Dr. Alejandro Casas, Dr. Víctor Arroyo, Dr. Rafael Lira y Dr. Luis Eguiarte, por sus valiosas recomendaciones para la mejora del informe final de tesis de doctorado.

Dedicatoria

A Carlos e Ixchel, por su amor infinito y apoyo incondicional.

Indice

Resumen.....	11
Abstract.....	13
Introducción	15
Capítulo I. Alpha and beta diversity of bee species and their pollination role on Cucurbita pepo L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest.....	30
Capítulo II. Efecto de la estructura del paisaje y la calidad del suelo en la comunidad de abejas y el servicio de polinización de Cucurbita pepo en un bosque de niebla moderadamente fragmentado en el centro de Guatemala	54
Capítulo III. Population genetics of traditional landrace of Cucurbita pepo in the cloud forest in Baja Verapaz, Guatemala	100
Discusión general.....	156
Conclusiones generales.....	162
Recomendaciones generales	163

Resumen

Los cambios en la estructura del paisaje, puede modificar la distribución y abundancia de las especies remanentes y los servicios ecosistémicos en los que están involucradas. Las abejas, un grupo de polinizadores importante, presentan una gran variación en aspectos biológicos y ecológicos, lo que conlleva distintos grados de tolerancia a los cambios en la estructura del paisaje y de forma indirecta a la calidad del suelo. Las variaciones en cuanto a la abundancia, riqueza y conducta de las abejas pueden alterar los patrones de polinización en las plantas silvestres y cultivadas. Las plantas con mayores grados de especialización en la polinización son particularmente vulnerables a los cambios en la estructura del paisaje, ya que una disrupción del mutualismo de polinización puede limitar su diversidad genética. *Cucurbita pepo* es una planta dependiente de la polinización por abejas y juega un papel importante en la dieta y culturas mesoamericanas, desde épocas ancestrales. El objetivo del presente trabajo fue conocer el efecto de la estructura del paisaje del bosque de niebla sobre la diversidad de polinizadores, la polinización y la variabilidad genética y flujo génico de *C. pepo*. Se establecieron 11 cultivos experimentales en el Corredor del Bosque Nuboso -CBN-, en el altiplano de la región central de Guatemala, como sitio de estudio. En ellos se documentó la estructura de la comunidad de abejas visitantes florales, su rol como polinizadores y la relación de las variables del paisaje local, y calidad del suelo, con la comunidad de abejas y la polinización en *C. pepo*. Así mismo, se estudió la genética poblacional de *C. pepo*, su relación con la estructura del paisaje y el manejo agrícola tradicional en 7 cultivos tradicionales, por medio de marcadores microsatélites. Al menos 27 especies de abejas visitaron *C. pepo*, entre las cuales destacan *Partamona bilineata* y

Bombus ephippiatus, como los polinizadores nativos y polinizadores eficientes de *C. pepo* en el CBN. El aumento en la proporción de los hábitats naturales, alrededor de los cultivos de *C. pepo*, incrementaron la riqueza de especies de abejas visitantes. Sin embargo, esta riqueza de especies no presenta una correlación positiva sobre la producción de frutos y semillas de *C. pepo*. Por otro lado, *P. bilineata* no presentó correlación positiva con el hábitat natural, lo que destaca su resiliencia ante la alteración del paisaje. Por último, la variación genética y el flujo génico de *C. pepo* no se correlacionaron con la estructura del paisaje del CBN, sino más bien con los patrones de intercambio de semillas, asociados al manejo agrícola tradicional. Los resultados resaltan la importancia de preservar la diversidad de abejas en los hábitats naturales de los bosques de niebla, dada su función como polinizadores de muchas plantas silvestres y cultivadas. Los resultados también evidencian la importancia del manejo agrícola tradicional en la genética poblacional de *C. pepo*. Se espera que la información generada contribuya a crear estrategias para la conservación del servicio de polinización en el bosque de niebla y las prácticas tradicionales asociadas a estos cultivos nativos, dependientes de la polinización.

Abstract

Changes in the structure of the landscape can modify the distribution and abundance of the remaining species and the ecosystem services in which they are involved. Bees, an important group of pollinators, shows large variations regarding their biological and ecological aspects, which implies different tolerance degrees to habitat altering and soil quality. Variations in abundance, richness and behavior of bee species can alter pollination patterns in wild and cultivated plants. On the other hand, plants with higher pollination specialization, prevailing in the tropics, are more vulnerable to the effects of altering landscape structure, due to a disruption of the mutualistic relation of pollination and its consequent negative effects on their genetic diversity. *C. pepo*, our study plant, is bee pollination-dependent and plays an important role in Mesoamerican culture and diet since ancestral times. The objective of this work was to know the effect of landscape structure of cloud forest has over the pollinator diversity, the pollination ecosystem service, the genetic variation, and genic flow of *C. pepo*. 11 experimental plots were established in the Cloud Forest Corridor -CFC-, in the Guatemalan central region highlands, as the study site. In these plots bee community structure of floral visitors was documented, as well as their role as pollinators and the relationship between the variables local landscape, and soil quality, with bee community and *C. pepo* pollination. *C. pepo* population genetics and its relationship with the landscape structure and traditional agricultural management in 7 traditional crops was studied as well by means of microsatellite markers. At least 27 bee species visit *C. pepo*, among which *Partamona bilineata* and *Bombus ephippiatus* stand out as both native and efficient pollinators of *C. pepo* in the CFC. The increase in the proportion of natural habitats, around *C. pepo* crops, increased the richness of bee species. However, this species richness does not present a positive correlation on the production of fruits and seeds of *C. pepo*. *P. bilineata* abundance is not necessarily associated to natural habitats, which points out its resilience to

landscape altering. Lastly, *C. pepo* genetic variation and genic flow do not relate to the CFC landscape structure, but mostly to the seed exchange, associated to the traditional agricultural management. Results point out the importance of preserving the bee diversity in natural habitats along the cloud forest, given its role as pollinators of many wild and cultivated plants. Also, results show evidence regarding the importance of the traditional agricultural management in the *C. pepo* population genetics. It is expected that the information generated hereby be a contribution for the creation of conservation strategies dealing with the conservation of the pollination service in the cloud forest and the traditional practices associated to native crops, pollination-dependent.

Introducción

Los cambios en la estructura del paisaje, implica cambios en la composición y configuración de los componentes originales del paisaje (Hadley & Betts, 2012), los cuales pueden ser positivos o negativos según la vulnerabilidad de las especies y los servicios ecosistémicos que brindan (Taki et al., 2008). Algunos patrones que producen un cambio en la estructura del paisaje, que regularmente tienen efectos negativos son: fragmentación, pérdida (reducción del monto total) y aislamiento del hábitat natural; así como la hostilidad de la matriz que rodean al hábitat natural (Montero-castaño & Vilá, 2012). Los cuales inducen a una pérdida de biodiversidad y la alteración de los procesos ecológicos a nivel mundial (Foley et al., 2009; Ahrens & James, 2016). Estudios sugieren que la pérdida de hábitat (e.g. deforestación) tiene un efecto enorme, consistentemente negativo, sobre la biodiversidad (Fahrig, 2003). Sin embargo, la respuesta de las comunidades de insectos a la pérdida de hábitat, principalmente de aquellos que son polinizadores, son pobremente conocidas (Steffan-Dewenter et al., 2006). La pérdida de hábitats naturales del paisaje original, puede afectar la riqueza y abundancia de los polinizadores en diferentes aspectos como: disminución en la disponibilidad de recursos alimenticios, provisión de sitios de anidamiento y disponibilidad de plantas hospederas para las larvas (Winfree et al., 2011; Montero-castaño & Vilá, 2012). Las abejas son uno de los grupos de polinizadores más importantes debido a su hábito de recolección de polen y néctar para la subsistencia de sus crías (Kremen et al., 2007). Este grupo presenta respuestas variadas a la pérdida de hábitats naturales, que depende de factores intrínsecos como los rasgos de historia de vida que determinan el grado de tolerancia a la perturbación; y la condición del hábitat local (Taki et al., 2008). La localización de los nidos y el grado de sociabilidad son rasgos importantes que moderan la respuesta de las especies de abejas a la pérdida de hábitats naturales (Winfree et al., 2011). Son especialmente afectadas, dentro de este grupo, las especies con limitadas habilidades de

dispersión, rangos geográficos restringidos, las que presentan bajas densidades y fluctuaciones poblacionales, las ubicadas en altos niveles tróficos y las especializadas en cuanto a su hábitat o requerimiento de plantas nutricias (Steffan-Dewenter et al., 2006).

Una disminución de la abundancia, riqueza y conducta de las especies de abejas propicia importantes consecuencias para la persistencia de las plantas y efectos negativos en la polinización de las mismas (Tscharntke et al., 2005; Ricketts et al., 2008). Así, la polinización puede ser afectada vía la alteración de tres mecanismos primarios relacionados con las especies que interactúan: 1) densidad de las plantas, 2) densidad de las abejas y 3) conducta de las abejas (particularmente el movimiento) (Hadley & Betts, 2012). Se han realizado varios estudios sobre el efecto del tamaño del fragmento y la distancia al hábitat natural, sobre la comunidad de abejas y la polinización (Ricketts, 2004; Brosi et al., 2008; Gemmill-Herren & Ochieng, 2008; Carvalheiro et al., 2010; Garibaldi et al., 2011; Holzschuh et al., 2012; Krishnan et al., 2012). Muchos de ellos coinciden en que la polinización de las plantas disminuye al aumentar la distancia con el hábitat natural, así como con la disminución del tamaño del fragmento. Sin embargo, debido a la variación en las especies de abejas, sus conductas y requerimientos, aún son insuficientes los estudios que abordan la influencia de todos los componentes del paisaje y su configuración, incluyendo la composición de la matriz que rodea al hábitat natural (Kremen et al., 2004; Jha & Vandermeer, 2010; Benjamin et al., 2014; Motzke et al., 2016; Saturni et al., 2016).

La riqueza y abundancia de abejas y su efecto en la producción de frutos y semillas son clave para el mantenimiento de los ecosistemas, ya que propician el flujo génico que asegura la calidad de frutos y semillas de las plantas que polinizan (Kearns et al., 1998). Así mismo, la polinización por abejas asegura la dinámica poblacional y la variabilidad genética entre y dentro de las

poblaciones de plantas (Barrett, 2003; Albrecht et al., 2012). Así, el efecto de la alteración del paisaje sobre la comunidad de abejas afecta el flujo génico de las plantas, con efecto en la diversidad genética de dichas poblaciones (Aguilar et al., 2006). En los trópicos predominan las especies de plantas con altos grados de especialización en la polinización (Ollerton et al., 2011), más vulnerables a la pérdida de hábitat naturales, por la disrupción del mutualismo de polinización, con efectos negativos en su diversidad genética (Aguilar et al., 2006). Esto debido a que, con la disminución de los hábitats naturales, se crean áreas no favorables para la movilización de los polinizadores, creando barreras que reducen el flujo de polen e interrumpiendo la conectividad genética entre las poblaciones de plantas (Cuartas-Hernández et al., 2010). Lo anterior conlleva a serias consecuencias en la genética poblacional de estas plantas dependientes de polinización cruzada: disminución en la variabilidad genética e incrementos en la divergencia genética entre poblaciones debido a la deriva génica y la endogamia, entre otros (Aguilar et al., 2008). Algunos estudios han evaluado el efecto de la estructura del paisaje en la comunidad de abejas y la polinización de plantas altamente dependientes de la polinización (Julier & Roulston, 2009; Lowenstein et al., 2012; Phillips and Gardiner, 2015). Sin embargo, son sumamente escasos los estudios realizados en ambientes tropicales.

Cucurbita pepo, planta modelo en el presente estudio, es nativa de Mesoamérica, con origen en las regiones templadas y semi-áridas de Norteamérica; fue domesticada, al menos dos veces, en México hace aproximadamente 10,000 años, y en USA hace aproximadamente 4,000 años (Paris, 2016). *C. pepo* es una planta monoica (Wien, 1997), de polinización cruzada (Walters & Taylor, 2006) y dependiente de los polinizadores, principalmente abejas (Isac et al., 2016). Además, es una planta de rápido crecimiento, con flores altamente atractivas para las abejas, y el tiempo de apertura de la flor está restringida a solo 4 horas (Hoehn et al., 2008). Esta planta es visitada por

abejas manejadas (*Apis mellifera*), abejas sociales silvestres (Meliponinos y abejas del género *Bombus*); así como por polinizadores especialistas solitarios silvestres (del género *Peponapis*) (Hurd et al., 1971; Hurd et al., 1974; Pinkus-Rendon et al., 2005; Shuler et al., 2005; Zambrano, et al., 2013; Enríquez et al., 2015; Phillips & Gardiner, 2015). Por lo tanto, es un sistema de estudio único para evaluar la estructura del paisaje y la sustentación del servicio de polinización. Por otro lado, *C. pepo* muestra una alta diversidad morfológica (Rios et al., 1997; Wessel-Beaver, 1998) y la más grande diversidad genética entre las especies del género *Cucurbita* (Gong et al., 2013). Por último, *C. pepo* juega un rol importante en la dieta y cultura de los humanos a lo largo de Mesoamérica (Lira et al., 1998; Merrick, 1995), desde épocas ancestrales (Turner, 1984; Ximenez, 1972), junto con el maíz y el frijol, por lo que la intervención humana a través de la su domesticación, también ha influido en el modelaje de su diversidad genética a lo largo del tiempo (Lira et al., 1998; Merrick, 1995). Sin embargo, al igual que otros cultivos autóctonos de los trópicos, los aspectos sobre la estructura del paisaje y la dinámica de la polinización en esta planta permanecen desconocidos (Macias-Macias et al., 2009). Así mismo, poco es sabido con respecto al efecto de la estructura del paisaje y el manejo agrícola tradicional en la variación genética, y el flujo génico de *C. pepo*, en áreas tropicales moderadamente fragmentadas como las que encontramos en el centro de Guatemala.

El bosque de niebla (bosque mesófilo de montaña, cloud forest o bosque nuboso -como se conoce en Guatemala-) (Williams-Linera et al., 2002) presenta una gran variación en composición de especies, debido a sus hábitats heterogéneos y aislamiento topográfico (Hamilton et al., 1995; Williams-Linera et al., 2002; Williams-Linera et al., 1997). Sin embargo, es uno de los ecosistemas menos estudiados en los trópicos; y la interacción animal-planta es poco conocida (Williams-Linera et al., 2002). El “Corredor del bosque nuboso -CBN-”, en Baja

Verapaz, en el centro de Guatemala, es un área considerada moderadamente fragmentada y es el sitio escogido para la realización del presente trabajo. Este es un ecosistema tropical de bosque de niebla, habitado por pobladores de las etnias Maya Queqchí y Pocomchí (CECON, 1999; SEGEPLAN, 2010; SEGEPLAN, 2011; INE, 2002). El CBN se ha caracterizado por altos niveles de endemismo y diversidad (Campbell & Vannini, 1989; Ordóñez, 1999; RECOSMO, 2007; Schuster et al., 2000) a la cual se suma la alta diversidad cultural.

Con el objetivo de contribuir en el conocimiento del efecto de la estructura del paisaje de los bosques de niebla en Guatemala sobre la diversidad de polinizadores, la polinización y la variabilidad genética y flujo génico de *C. pepo*, una planta nativa cultivada, se plantearon las siguientes interrogantes: 1) ¿Cuál es la diversidad y la composición de especies de abejas visitantes florales de *C. pepo* y cuál es el polinizador más importante?; 2) ¿Cuál es el efecto de la estructura del paisaje local del CBN en la comunidad de abejas y el servicio de polinización en *C. pepo*?; y 3) ¿Cuál es el efecto de la estructura del paisaje y el manejo tradicional en la genética poblacional de *C. pepo* en el CBN?

Con el fin de responder las primeras dos preguntas, se establecieron 11 cultivos experimentales en cinco localidades del CBN, donde se documentó la estructura de la comunidad de abejas visitantes florales, su rol como polinizadores y la relación de las variables del paisaje local con la comunidad de abejas y la polinización en *C. pepo*. Finalmente, para responder a la tercera pregunta se estudió la genética poblacional de *C. pepo* y su relación con la estructura del paisaje y el manejo agrícola tradicional en 7 cultivos tradicionales, por medio de marcadores microsatélites.

Esta investigación aporta conocimiento sobre los polinizadores, la polinización y diversidad genética de plantas nativas cultivadas en los bosques de niebla de Guatemala. Además, provee

las bases para un aprovechamiento en el servicio ecosistémico de la polinización. Así como, los aspectos que condicionan la diversidad genética de una planta cultivada de gran valor cultural para la región. Con estos resultados, se pretende contribuir en la conservación del bosque de niebla en Guatemala, de sus polinizadores y promover una la producción sustentable de plantas nativas.

Referencias

AGUILAR, R., L. ASHWORTH, L. GALETTO, and M.A. AIZEN. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: Review and synthesis through a meta-analysis.

Ecology Letters 9: 968–980.

AGUILAR, R., M. QUESADA, L. ASHWORTH, Y. HERRERIAS-DIEGO, and J. LOBO.

2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* 17: 5177–5188.

AHRENS, C.W., and E.A. JAMES. 2016. Conserving the small milkwort, *Comesperma*

polygaloides, a vulnerable subshrub in a fragmented landscape. *Conservation Genetics* 17: 891–901.

ALBRECHT, M., B. SCHMID, and C. HAUTIER, YANN; MULLER. 2012. Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B:*

Biological Sciences 279: 4845–4852.

BARRETT, S.C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing – selfing

paradigm and beyond. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 991–1004.

- BENJAMIN, F.E., J.R. REILLY, and R. WINFREE. 2014. Pollinator body size mediates the scale at which land use drives crop pollination services. *Journal of Applied Ecology* 51: 440–449.
- BROSI, B.J., G.C. DAILY, T.M. SHIH, F. OVIEDO, and G. DURÁN. 2008. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology* 45: 773–783.
- CAMPBELL, J.A., and J.P. VANNINI. 1989. Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Proceedings of the western foundation of vertebrate zoology* 4: 1–21.
- CARVALHEIRO, L.G., C.L. SEYMOUR, R. VELDTMAN, and S.W. NICOLSON. 2010. Pollination services decline with distance from natural habitat even in biodiversity-rich areas. *Journal of Applied Ecology* 47: 810–820.
- CECON. 1999. Plan maestro Biotopo Universitario “Mario Dary Rivera” para la conservación del Quetzal 2,000-2004. Ciudad de Guatemala.
- CUARTAS-HERNÁNDEZ, S., J. NÚÑEZ-FARFÁN, and P.E. SMOUSE. 2010. Restricted pollen flow of *Dieffenbachia seguine* populations in fragmented and continuous tropical forest. *Heredity* 105: 197–204.
- ENRIQUEZ, E., R. AYALA, V.H. GONZALEZ, and J. NUNEZ-FARFAN. 2015. Alpha and beta diversity of bees and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest. *Pan-Pacific Entomologist* 91: 211–222.

- FAHRIG, L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34: 487–515. Available at:
<http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146%2Fannurev.ecolsys.34.011802.132419>.
- FOLEY, J.A., R. DEFRIES, G.P. ASNER, C. BARFORD, G. BONAN, S.R. CARPENTER, F.S. CHAPIN, ET AL. 2009. Global Consequences of Land Use. *Science* 309: 570–574.
- GARCÍA, B. 1999. El Biotopo Universitario para la Conservación del Quetzal “Mario Dary Rivera”. *Mesoamericana* 4 (2):53–54.
- GARIBALDI, L.A., I. STEFFAN-DEWENTER, C. KREMEN, J.M. MORALES, R. BOMMARCO, S.A. CUNNINGHAM, L.G. CARVALHEIRO, ET AL. 2011. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters* 14: 1062–1072.
- GEMMILL-HERREN, B., and A.O. OCHIENG. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 127: 31–36.
- GONG, L., H.S. PARIS, G. STIFT, and T. LELLEY. 2013. Genetic relationships and evolution in *Cucurbita* as viewed with simple sequence repeat polymorphisms: the centrality of *C. okeechobeensis*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 1531–1546.
- HADLEY, A.S., and M.G. BETTS. 2012. The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: Absence of evidence not evidence of absence. *Biological Reviews* 87: 526–544.

- HAMILTON, L.S., J.O. JUVIK, and F.N. SCATENA. 1995. Tropical Montane Cloud Forests. 1st edition. O. L. Lange, H. A. Mooney, and H. Remmert [eds.]. Springer-Verlag, New York, Inc.
- HOEHN, P., T. TSCHARNTKE, J.M. TYLIANAKIS, and I. STEFFAN-DEWENTER. 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275: 2283–2291.
- HOLZSCHUH, A., J.H. DUDENHÖFFER, and T. TSCHARNTKE. 2012. Landscapes with wild bee habitats enhance pollination, fruit set and yield of sweet cherry. *Biological Conservation* 153: 101–107.
- HURD, P.D., E.G. Linsley, and A.E. Michelbacher. 1974. Ecology of the squash and gourd bee, *Peponapis pruinosa*, on cultivated cucurbits in California (Hymenoptera: Apoidea). Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 17.
- HURD, P.D., L.E. GORTON, and W.T. W. 1971. Squash and Gourd Bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the Origin of the Cultivated Cucurbita. *Evolution* 25: 218–234.
- INE, 2002. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA -INE-. 2002. Censo Nacional Agropecuario. Guatemala.
- ISAC, S.A., M. BRENO, S. FERNANDO, and WALTERS. 2016. Pollination in Cucurbit Crops. In P. Mohammad [ed.], Handbook of Cucurbits, growth, cultural practices, and physiology, 181–200. CRC press. Available at: <http://www.crcnetbase.com/doi/10.1201/b19233-16>.

- JHA, S., and J.H. VANDERMEER. 2010. Impacts of coffee agroforestry management on tropical bee communities. *Biological Conservation* 143: 1423–1431. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2010.03.017>.
- JULIER, H.E., and T.H. ROULSTON. 2009. Wild bee abundance and pollination service in cultivated pumpkins: Farm management, nesting behavior and landscape effects. *Journal of Economic Entomology* 102: 563–573. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-65349103619&partnerID=40&md5=5b72d6409c6fb9591a632c2daba625f4>.
- KEARNS, C.A., D.W. INOUE, N.M. WASER, C.A. KEARNS, and D.W. INOUE. 1998. ENDANGERED MUTUALISMS: The Conservation of Plant-Pollinator Interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 83–112.
- KREMEN, C., N.M. WILLIAMS, M.A. AIZEN, B. GEMMILL-HERREN, G. LEBUHN, R. MINCKLEY, L. PACKER, ET AL. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters* 10: 299–314.
- KREMEN, C., N.M. WILLIAMS, R.L. BUGG, J.P. FAY, and R.W. THORP. 2004. The area requirements of an ecosystem service: Crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7: 1109–1119.
- KRISHNAN, S., C.G. KUSHALAPPA, R.U. SHAANKER, and J. GHAZOUL. 2012. Status of pollinators and their efficiency in coffee fruit set in a fragmented landscape mosaic in South India. *Basic and Applied Ecology* 13: 277–285.

- LIRA, R., C. RODRIGUEZ-JIMENEZ, J.L. ALVARADO, I. RODRIGUEZ, J. CASTREJON, and A. DOMINGUEZ-MARIANI. 1998. Diversidad e Importancia de la Familia Cucurbitaceae en México. 42: 43–77.
- LOWENSTEIN, D.M., A. S. HUSETH, and R.L. GROVES. 2012. Response of Wild Bees (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila) to Surrounding Land Cover in Wisconsin Pickling Cucumber. *Environmental Entomology* 41: 532–540. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732611>.
- MACIAS-MACIAS, O., J. CHUC, P. ANCONA-XIU, O. CAUICH, and J.J.G. QUEZADA-EUÁN. 2009. Contribution of native bees and Africanized honey bees (Hymenoptera: Apoidea) to Solanaceae crop pollination in tropical México. *Journal of Applied Ecology* 133: 456–465.
- MERRICK, L.C. 1995. Squashes, pumpkins and gourds: Cucurbita (Cucurbitaceae). In: Smartl J, Simmonds NW (eds) *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK, pp 95-105.
- MONTERO-CASTAÑO, A., and M. VILÁ. 2012. Impact of landscape alteration and invasions on pollinators: a meta-analysis. *Journal of Ecology* 100: 884–893.
- MOTZKE, I., A.-M. KLEIN, S. SALEH, T.C. WANGER, and T. TSCHARNTKE. 2016. Habitat management on multiple spatial scales can enhance bee pollination and crop yield in tropical homegardens. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 223: 144–151. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880916301281>.
- OLLERTON, J., R. WINFREE, and S. TARRANT. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120: 321–326.

- ORDONEZ, N. 1999. Diversidad de Mamíferos Menores en Cuatro Bosques Nubosos del Núcleo de Centroamérica. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- PARIS, H.S. 2016. Germplasm enhancement of Cucurbita pepo (pumpkin, squash, gourd: Cucurbitaceae): progress and challenges. *Euphytica* 208: 415–438.
- PHILLIPS, B.W., and M.M. GARDINER. 2015. Use of video surveillance to measure the influences of habitat management and landscape composition on pollinator visitation and pollen deposition in pumpkin (*Cucurbita pepo*) agroecosystems. *PeerJ* 3: e1342. Available at: <https://peerj.com/articles/1342>.
- PINKUS-RENDON, M.A., V. PARRA-TABLA, and V. MELÉNDEZ-RAMÍREZ. 2005. Floral resource use and interactions between *Apis mellifera* and native bees in cucurbit crops in Yucatán, México. *The Canadian Entomologist* 137: 441–449.
- RECOSMO, 2007. PROYECTO REGIÓN DE CONSERVACIÓN Y DESARROLLO SOSTENIBLE SARSTÚN-MOTÁGUA –RECOSMO-. Creación de una red ambientalista regional en Guatemala. Guatemala.
- RICKETTS, T.H. 2004. Tropical forest fragments enhance pollinator activity in nearby coffee crops. *Conservation Biology* 8: 1262–1271.
- RICKETTS, T.H., J. REGETZ, I. STEFFAN-DEWENTER, S. A. CUNNINGHAM, C. KREMEN, A. BOGDANSKI, B. GEMMILL-HERREN, ET AL. 2008. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? *Ecology Letters* 11: 499–515.

- RIOS, H., A. FERNANDEZ, O. BATISTA. 1997. Cuban pumpkin genetic variability under low input conditions. *Cucurbit Genetics Cooperative Report* 20: 48-49.
- SATURNI, F.T., R. JAFFÉ, and J.P. METZGER. 2016. Landscape structure influences bee community and coffee pollination at different spatial scales. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 235: 1–12. Available at:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016788091630500X>.
- SCHUSTER, J.C., E.B. CANO, and C. CARDONA. 2000. Un método sencillo para priorizar La conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando Passalidae (Coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zoológica Mexicana* 80: 197–209.
- SEGEPLAN, 2011. SECRETARÍA GENERAL DE PLANIFICACIÓN –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Purulhá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.
- SEGEPLAN, 2010. SECRETARÍA GENERAL DE PLANIFICACIÓN –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Salamá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.
- SHULER, R.E., T. A I.H. ROULSTON, and G.E. FARRIS. 2005. Farming Practices Influence Wild Pollinator Populations on Squash and Pumpkin. 790–795.
- STEFFAN-DEWENTER, I., A.M. KLEIN, V. GAEBELE, T. ALFERT, and T. TSCHARNTKE. 2006. Bee diversity and plant-pollinator interactions in fragmented landscapes. In N. M. Waser, and J. Ollerton [eds.]. *Plant–Pollinator Interactions. From Specialization to Generalization*, The University of Chicago Press, Chicago and London. 387–410.
Available at:
<http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=BqTHi53QKsMC&oi=fnd&pg=PA387&dq=Bee+diversity+and+plant->

pollinator+interactions+in+fragmented+landscapes&ots=8Zkz_luwT2&sig=pBv3rHzaVkW0aUS3RUALDklYtq8.

TAKI, H., B.F. VIANA, P.G. KEVAN, F.O. SILVA, and M. BUCK. 2008. Does forest loss affect the communities of trap-nesting wasps (Hymenoptera: Aculeata) in forests? Landscape vs. local habitat conditions. *Journal of Insect Conservation* 12: 15–21.

TSCHARNTKE, T., A.M. KLEIN, A. KRUESS, I. STEFFAN-DEWENTER, and T. CARSTEN. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters* 8: 857–874.

TURNER II, B.L., C.H. Miksicek. 1984. Economic plant species associated with prehistorical agriculture in the maya lowlands. *Economic Botany* 38:179–193.

WESSEL-BEAVER, L.1998. Pumpkin breeding with a tropical twist. *The Cucurbit Network News* 5: 2-3.

WIEN, H. 1997. The cucurbits: cucumber, melon, squash and pumpkin. In: *The physiology of vegetable crops*. New York: CAB International, Oxford, 345–386.

WALTERS, S.A., and B.H. TAYLOR. 2006. Effects of Honey Bee Pollination on Pumpkin Fruit and Seed Yield. *Hort Science* 41: 370–373.

WILLIAMS-LINERA, G. 1997. Phenology of deciduous and broadleaved-evergreen tree species in a Mexican tropical lower montane forest. *Global Ecology and Biogeography Letters* 6: 115–127.

WILLIAMS-LINERA, G., R.H. MANSON, and E. ISUNZA. 2002. La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa,

Veracruz, México. *Madera y Bosques* 8: 73–89. Available at:

<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:La+fragmentaci?n+del+bosque+mes?filo+de+monta?a+y+patrones+de+uso+del+suelo+en+la+regi?n+oeste+de+Xalapa+,+Veracruz+,+M?xico#0>.

WINFREE, R., I. BARTOMEUS, and D.P. CARIVEAU. 2011. Native Pollinators in

Anthropogenic Habitats. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 42: 1–22.

XIMENEZ, F. 1967. *Historia Natural del Reino de Guatemala*. Editorial José de Pineda Ibarra.

ZAMBRANO, G., GONZÁLES, V., HINOJOSA-DÍAZ, I., ENGEL, M. 2013. Bees visiting

squash (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) in southwestern Colombia

(Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Melittology* 18:1–5.

Capítulo I. Alpha and beta diversity of bee species and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest

Publicado en la revista Pan Pacific Entomologist

Alpha and beta diversity of bee species and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest

Eunice Enríquez^{1,2}, Ricardo Ayala³, Victor H. Gonzalez⁴ and Juan Núñez-Farfán¹

¹Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, México, Distrito Federal 04510, México

²Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la Biodiversidad, Centro de Estudios Conservacionistas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, Avenida Reforma 0-63, Zona 10, Ciudad de Guatemala, 01010, Guatemala, e-mail: enriquez.eunice@usac.edu.gt (corresponding author)

³Estación de Biología Chamela, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); Apartado postal 21, San Patricio, Jalisco, 48980, México

⁴Undergraduate Biology Program & Department of Ecology and Evolutionary Biology, Haworth Hall, 1200 Sunnyside Avenue, University of Kansas, Lawrence, Kansas, 66045, U.S.A.

Abstract. *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) was an integral component of the diet of Pre-Columbian Mesoamerican cultures and is an important cash crop with high cultural value in contemporaneous indigenous populations of Guatemala. Despite the increasing attention to native bees as pollinators of cucurbit crops, little is known about the diversity of bees that visit or pollinate these crops in many regions. Based on collections from 11 observational plots of *C.*

pepo established in five localities and maintained by the local community across the cloud forest corridor in Guatemala, we documented 27 bee species belonging to 14 genera in Apidae and Halictidae as floral visitors. Species composition was significantly different among plots and among localities; however, honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758) (Apidae: Apini) and the stingless bee *Partamona bilineata* (Say, 1837) (Apidae: Meliponini) were the most abundant flower visitors in all plots and localities, accounting up to 80% of the total number of visits. Two species of squash bees were recorded, *Peponapis apiculata* (Cresson, 1878) and *P. limitaris* (Cockerell, 1906) (Apidae: Eucerini), but they were rare (3.4% of total number of specimens) across all plots and localities. Based on pollinator exclusion experiments as well as comparisons of fruit weight and seed number and weight, we confirmed the dependence of this crop on insect pollination and the role of honey bees and *P. bilineata* as main pollinators in the observational plots. Surveys of bees in the surrounding vegetation of the plots indicated a higher diversity (36 species of 28 genera) than in the plots; about 40% of these species are also common visitors of flowers of *C. pepo*.

Key Words. Crop pollination, güicoy, honey bees, squash bees, stingless bees

Running title. Bee pollination of squash in a Guatemalan cloud forest

Introduction

Bees are the most important pollinators of both wild and cultivated plants, and changes in their abundance, richness, and behavior might have important consequences on reproductive success and persistence of many flowering plant species (e.g., Tschardt et al. 2005, Klein et al. 2007, Ricketts et al. 2008). Among cultivated plants, several species of *Cucurbita* L. (Cucurbitaceae), including pumpkins, gourds, and squashes, depend on bees for pollen transfer (Lowenstein et al. 2012). Species of *Cucurbita* have unisexual flowers, and bees transfer gametes (pollen) among flowers to facilitate reproduction (Robinson & Decker 1997). Individual flowers of *Cucurbita* have several adaptations for insect pollination including large and sticky pollen grains, a sticky stigma, a large yellow corolla, and a high production of sugar-rich nectar by both male and female flowers (Hurd et al. 1971).

Several species of wild bees visit flowers of *Cucurbita* (e.g., Meléndez-Ramírez et al. 2002, Serra & Campos 2010, Lowenstein et al. 2012, Zambrano-G et al. 2013), including honey bees (*Apis mellifera* L.) (Apidae: Apini) and several species of the genera *Peponapis* Robertson, 1902 and *Xenoglossa* Smith, 1854 (Apidae: Eucerini), two genera that are pollen specialists of *Cucurbita* (Hurd et al. 1971). Yet, little is known about the diversity of bees that visit or pollinate *Cucurbita* species in many regions, particularly in the cloud forests of Guatemala. Domesticated *Cucurbita* species have been an important component of the diet of ancient Mesoamerican cultures, such as the Aztecs and Mayans (Robinson & Decker 1997). Even today, indigenous peoples in Mesoamerica use and preserve native *Cucurbita* and other species in traditional gardens, maintained throughout the crop-growing system known as *milpa*, an association of corn, beans, and pumpkins (Lira 1990). In Guatemala, *Cucurbita pepo* L. is locally known as güicoy, and this crop has high economic and cultural values (Azurdia 1999). However, the contribution

of bees as pollinators remains largely undocumented (Macias-Macias et al. 2009).

Herein we document the diversity of bees visiting flowers of *C. pepo* at mid-elevation localities in Guatemala and assess their role as pollinators. We conducted observations in 11 plots maintained by the local community in five localities across the cloud forest corridor in the Department of Baja Verapaz. We asked the following questions: What is the diversity and composition of bees visiting flowers of *C. pepo*? What are the most ecologically dominant bee species visiting flowers of *C. pepo*? What are the most important pollinators of *C. pepo* in the study area?

Materials and Methods

Study sites. We conducted our sampling in areas corresponding to the Cloud Forest Corridor (CFC) of Guatemala (RECOSMO 2007), Department of Baja Verapaz, in the municipalities of Salamá, Purulhá, and San Jerónimo (15.087°–15.273°N, 90.078°–90.331°W, 1320–2137 m.a.s.l.; Fig. 1). The CFC, which ranges from Chiapas, Mexico to Honduras, is characterized by having high levels of endemism and biodiversity (Campbell & Vannini 1989, Ordóñez 1999, Schuster et al. 2000, RECOSMO 2007). However, the CFC is being threatened by deforestation due to agriculture, human settlements, and mining, as well as by cultivation of exotic species such as the leather leaf fern *Rumohra adiantiformis* (G. Forst.) Ching (Elaphoglossaceae) (CECON 2002, RECOSMO 2007). The annual mean temperature and precipitation in the study area are 18.1 °C and 2092.4 mm, respectively (García 1998, CECON 2002).

We selected five localities (Chipacay, Panzal, Purulhá, Repollal, and Unión Barrios) along the CFC, separated from each other by at least 2.5 km (2.5–10.6, \bar{x} = 6.1, S.D. = 3.2, n =

5). On each locality we established two observational plots of *C. pepo*, except at Repollal where we established three plots (Fig. 1). Plots were maintained by the community and corresponded to areas previously used to grow *C. pepo* and other crops. Within each locality, plots were separated from each other by a distance ranging from 286 to 1050 m ($\bar{x} = 769.7$, S.D. = 274.8, $n = 7$). The surrounding vegetation varied among study sites, ranging from grazing pastures and patches of secondary growth vegetation to other crops (e.g., banana, corn, bean, tomatoes, and coffee), except for those plots at Purulhá and Unión Barrios which were closer to highways and semi-urban settlements (Fig. 1). Within each plot, plants were separated 3 m apart from each other, and no pesticides were used during the years of sampling. Not all plants survived and thus the number of plants per plot ranged from 19 to 49.

Richness and abundance of bee visitors. During the flowering peak of *C. pepo* (i.e., April–June) in 2012, we recorded species richness and abundance of bee visitors on both female and male flowers in each plot. Observations were conducted during the flower anthesis period of *C. pepo*, from 06:00 to 11:00 h. During each survey period, an observer spent three minutes per flower and recorded the number of bees of each species arriving or already at the flower. Due to their easy recognition, three bee species were recorded but not collected: *A. mellifera*, *Partamona bilineata* (Say, 1837) (Apidae: Meliponini), and *Bombus ephippiatus* Say, 1837 (Apidae: Bombini); all other bees were collected. The number of flowers observed varied among plots depending on their availability (female flowers: 97–162, male flowers: 97–323). Each plot was sampled two or three times during the flowering peak. Concurrent with pollinator observations, we hand-netted bees at nearby wildflowers for a 30-minute period to compare the diversity of bees visiting *C. pepo* with that of the surrounding vegetation.

Pollinator exclusion experiments. To assess the importance as pollinators of the most abundant floral visitors of *C. pepo*, we bagged a total of 92 female flowers prior to anthesis and conducted the following treatments during anthesis: 1) Single visit: we uncovered 43 flowers and observed them until they were visited once by a single bee species and then covered them again; visitation time was recorded for each species and was restricted to the three most dominant species: *A. mellifera*, *B. ephippiatus*, and *P. bilineata*. 2) Open pollination control: we uncovered 38 flowers from 05:00 to 11:00 h, the period that corresponds to the opening periods of *C. pepo* flowers, and then covered them again. 3) Closed pollination control: we kept the remaining 11 flowers covered during the entire anthesis period. Fruits were allowed to mature for one month and then fruit weight, seed set, and seed weight were recorded for each resulting fruit. Experiments were carried out in two observational plots at two localities (Unión Barrios and Chilascó) during 2011.

Voucher specimens. All collected specimens were pinned, labeled, and are deposited in the Colección de Abejas Nativas de Guatemala (CANG), Centro de Estudios Conservacionistas, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Statistical analyses. We estimated the alpha and beta diversity of bees visiting flowers of *C. pepo* at each plot. As in Meléndez-Ramirez et al. (2002), Relative Dominance (RD) for each species was estimated as the sum of their relative abundance (species abundance/total abundance \times 100) plus their relative frequency (species frequency/total frequency \times 100) divided by two to obtain RD values between 0 and 100%. Species with $RD \leq 5\%$ were considered as rare and non-dominant, while species with $RD > 5\%$ were considered as abundant and dominant. For rare species we estimated the means of singletons (species with only one individual), doubletons

(species with only two individuals), unique (species that occur in only one sample), and duplicates (species that occur in two samples) using EstimateS 8.2 (Colwell 2013). To assess the completeness of the survey, we calculated for each plot the non-parametric estimators ICE (Incidence-based Coverage Estimator) and Chao2; then, we used the average value of each estimator to calculate the percentage of species that have been collected thus far. For each observational plot, we estimated the following non-parametric diversity measures: Shannon-Wiener Index (H), Simpson Index and Hill's Numbers (Magurran 1988); we estimated heterogeneity using the Pielou evenness index (J') (Pielou 1969). To analyze beta diversity, we first conducted a similarity measurement based on the Bray-Curtis index (Bray & Curtis 1957) among plots. Then, we calculated turnover of bee species among plots with the vegan package of R software (R Development Core Team, 2013) using the Whittaker beta diversity index (β_w) (Koleff et al. 2009). Finally, we calculated the total beta diversity by averaging the beta diversity values obtained between each pair of possible combinations among the 11 plots ($n = 55$ comparisons).

We assessed the relationships between fruit set and the type of treatment using a Chi Square test. To evaluate number of seeds, seed and fruit weight among treatments and visits by individual bee species, we performed an Analysis of Variance (ANOVA); in that analysis variables were log-transformed and samples from plots were treated as replicates. In addition, to understand the composition of *C. pepo* visitors by locality, we evaluated the differences in the proportion of each dominant species among localities, with a multi-dimensional contingency analysis and a Multivariate Correspondence Analysis (MCA) using JMP software V.10 (SAS institute 2012). Although *Trigona silvestriana* Vachal, 1908 (Apidae: Meliponini) had a RD index greater than 5%, it was excluded from the MCA analysis because it was collected on a

single plot, unlike all other dominant species that were present in at least two plots.

Results

Richness and abundance of bee visitors. From April to June 2012, we recorded a total of 1667 floral visits in all localities corresponding to 27 species (14 genera in the families Apidae and Halictidae). The mean number of species per plot ranged from 5 to 14 ($\bar{x} = 8.3$, S.D. = 2.8, $n = 11$) while the number of individual bees recorded at flowers ranged from 42 to 349 ($\bar{x} = 151.5$, S.D. = 92.9, $n = 11$). The number of rare species per plot ranged from zero (Unión Barrios 1) to five (Chipacay 2). The genera *Augochlora* Smith, 1853 (Halictidae, Augochlorini) and *Trigona* Jurine, 1807 (Apidae, Meliponini) had the highest number of species (Table 1). *Partamona bilineata* and *A. mellifera* accounted for 40.7%, and 38.9%, respectively, of total individuals collected. Together with eight additional dominant species (i.e., RD > 5%), they comprised a total of 93.2% of total floral visitors of *C. pepo* recorded; *T. silvestriana* also had a RD index greater than 5%, but it was collected on only a single plot unlike all other dominant species that were present in at least two plots. All dominant species were pollen generalist bees. Two oligolectic species on flowers of *Cucurbita* (Hurd et al. 1971), *Peponapis apiculata* (Cresson, 1878) and *Peponapis limitaris* (Cockerell, 1906) (Apidae: Eucerini), were recorded only in two plots and accounted for about 3.4% of the specimens collected during this survey (Table 1). Among plots, the richness estimator Chao2 ranged from 19.2 to 32.9 ($\bar{x} = 29.5$, S.D. = 3.8, $n = 11$) while ICE ranged from 31.7 to 39.8 ($\bar{x} = 36.9$, S.D. = 3.0, $n = 11$). Thus, our study surveyed between 73.2% and 91.6% of the total expected bee species visiting flowers of *C. pepo* in the plots.

A higher number of bee species (36 spp.) belonging to 28 genera in four families

(Andrenidae, Colletidae, Megachilidae, and Apidae) were collected in the vegetation surrounding the observational plots of *C. pepo*. Apidae and Halictidae were the families with most species (55.6% and 25.0%, respectively), and *Trigona* ($n = 6$) and *Bombus* Latreille, 1802 ($n = 3$) the genera with the highest number of species recorded. However, only 22 species were found exclusively in this habitat. The observational plots established in the localities of Chipacay (CH2) and Repollal (RE2) had the highest diversity indices, while those in Unión Barrios (UB1 and UB2) had the lowest (Table 2).

The total beta diversity in the observational plots was low ($\bar{x} = 0.51$, S.D. = 0.10, $n = 55$) and there were statistically significant differences in the composition of dominant species among plots ($X^2 = 1032.9$, $df = 80$, $p < 0.001$) and among localities ($X^2 = 461.2$, $df = 32$, $p < 0.001$) (Fig. 2). Based on the composition of dominant species, the five studied localities are arranged into two groups: one formed by the localities Purulhá and Unión Barrios (where the stingless bee *P. bilineata* is dominant) and the other including the remaining localities [here, the dominant species are: *Agapostemon* sp. (Halictidae: Caenohalictini), *Augochlora smaragdina* Friese, 1917, *Lasioglossum (Dialictus)* sp. (Halictidae: Halictini), *Neocorynura* sp. (Halictidae: Augochlorini), *B. ephippiatus*, *Ceratina* sp. (Apidae: Ceratinini), *Eulaema* sp. (Apidae: Euglossini), and *A. mellifera*]. Species composition explains 92% of the variance [MCA, principal component 1, (C1) = 82% and principal component 2 (C2) = 10%] (Fig. 2). Excluding *T. silvestriana* from this analysis did not alter the arrangements in two groups.

Pollinator exclusion experiments. No fruits were formed in the closed pollination control treatment. In contrast, fruits developed in the other two treatments but fruit set was relatively low (14 to 57% of flowers resulted in a fruit, Table 3). Fruit success was independent of the type of

treatment and bee species ($r^2 = 0.053$, $df = 3$, $X^2 = 5.377$, $p = 0.14$) and no statistically significant differences in the number and weight of fruits and seeds were detected between treatments (ANOVA, fruit weight: $F = 1.27$, $p < 0.3181$, $r^2 = 0.192$; seed number: $F = 2.4$, $p < 0.1032$, $r^2 = 0.313$; seed weight: $F = 2.49$, $p < 0.097$, $r^2 = 0.319$). Average duration of bee visits to flowers of *C. pepo* varied significantly among the three most dominant bee species (*A. mellifera*, $\bar{x} = 138$ s, S.D. = 80.1, $n = 29$; *B. ephippiatus*, $\bar{x} = 125$ s, S.D. = 69.2, $n = 7$; *P. bilineata*, $\bar{x} = 24$ s, S.D. = 11.5, $n = 7$; ANOVA, $F = 18.23$, $p < 0.0001$, $r^2 = 0.48$). However, *P. bilineata* spent significantly less time on flowers when compared with *A. mellifera* and *B. ephippiatus* (*T-student*, $T = 2.02$, $\text{Alpha} = 0.05$, *A. mellifera*-*P. bilineata* $p < 0.001$, *B. ephippiatus*-*P. bilineata* $p < 0.001$, *A. mellifera*-*B. ephippiatus* $p = 0.8952$).

Discussion

The diversity of bee species that visited the flowers of *C. pepo* in Baja Verapaz, Guatemala (27 species) is comparable with that found in other studies in North and South America (e.g., Meléndez-Ramirez et al. 2002, Krug et al. 2010, Adamson et al. 2012). The exotic honey bee, *A. mellifera*, and the native stingless bee, *P. bilineata*, were the most dominant visitors of flowers of *C. pepo* in the studied localities. Such a finding was rather unexpected given that solitary bees of the genus *Peponapis*, which were rare in our study sites, are often among the most dominant, if not the most dominant, species visiting *Cucurbita* flowers otherwise (e.g., Julier & Roulston 2009, Meléndez-Ramirez et al. 2002, Krug et al. 2010, Zambrano et al. 2013). Given that *Peponapis* are cucurbit specialists, their low abundance in study sites might be a consequence of the low abundance of wild *Cucurbita* species in the CFC or that the study area might be at the limit or outside of their elevational range.

Our study demonstrated significant differences in species richness and abundance of bees visiting *C. pepo* flowers among localities as well as changes in the composition of the most dominant species among plots and among localities. Such a variation in bee richness and diversity might be associated with differences in floristic composition, size, and conservation status of vegetation surrounding the observational plots (e.g., Klein et al. 2003, Kremen 2004, Murray et al. 2012). For instance, the high bee diversity observed in Repollal and Chipacay (Table 2) may be due to their proximity to large forest fragments (≥ 300 ha) and the distance from human settlements. In contrast, the plots in Purulhá and Unión Barrios, surrounded by disturbed habitats and closer to urbanized areas and highways, may favor biotic homogenization, i.e., low species diversity and the dominance of few species (*P. bilineata*). Furthermore, because we found low bee species turnover among *C. pepo* plots, and that alpha diversity was higher than beta diversity across localities, this result suggest that conservation efforts should be directed to preserve high alpha diversity while increasing connectivity between localities (Murray et al. 2012).

Our study confirmed the relevance of bees as pollinators of *C. pepo*, although we found great variability in the reproductive success among flowers in each locality. *Bombus ephippiatus*, *P. bilineata* and *A. mellifera* appeared to be effective pollinators of *C. pepo* in CFC given their abundance and that these species contacted the female and male flower structures during their visits. However, the latter two species can be considered the most important given their higher abundance in the plots (Table 1). Honey bees are efficient pollinators of native plant species including squash (e.g., Sampson & Cane 2000, Gross 2001, Machado & Sazima 2008, Neves & Viana 2011), and *P. bilineata*, despite its relatively small body size and short duration visits to *C. pepo*, has been previously reported as an important pollinator of cucurbit crops in Yucatán,

México (Meléndez-Ramirez et al. 2002).

The overall percentage of mature fruits in the Open Pollination Control was relatively low (23%) in the studied plots. This may have been caused by several abiotic and biotic factors, including high temperatures, low bee diversity and low visitation rate by bees. It is known that abundant pollinators as well as high number of floral visits are critical for successful fruit development in cucurbit crops (Cane et al. 2011). For example, at least a dozen visits by honey bees have been estimated as the optimum number to maximize fruit set in *C. pepo* (e.g., Vidal et al. 2010). The two plots in which we were able to conduct the pollinator exclusion experiments were located in Unión Barrios and Chilascó, areas with low bee diversity (see Table 2), probably due to their proximity to disturbed habitats. Thus, a higher percentage of fruit success may be expected if the experiments were carried out in other areas with higher bee diversity such as Repollal and Chipacay. The dependence of cucurbit crops to high visitation rates by bee species to accomplish reproductive success also explains the similarly low percentage of fruits developed (17.2–57.1%) after a single visit treatment. Results of this study highlight the importance of preserving the diversity of bee species in the Cloud Forest Corridor in Baja Verapaz given their role in cross pollination of many wild plant species. Not least important is their role on crop production, as in *C. pepo*. This vegetable is an income source for farmers of this region, and many of them are not aware of the role of bees on fruit production (E. Enríquez Cotton, unpublished data). Future studies should focus on assessing how bee abundance and species richness across sites influence the pollination success in relationship to the type, use, and extension of surrounding land cover.

Acknowledgments

We thank Mabel Vásquez for her help with bee identification; Carlota Monroy for constant encouragement and mentoring to the first author; Patricia Landaverde, Raquel Lima, Natalia Escobedo, Carmen Yurrita, Mabel Vásquez, Gabriela Armas, María Fernanda Bracamonte, Elizabeth Solórzano, and Martín Rangel for their help in the field; Amy Comfort de Gonzalez, Claus Rasmussen, Cory Sheffield, Jason Gibbs, and Donald Miller for their comments and suggestions that significantly improved this work; and the administrative staff and forest guards of the Quetzal Conservation Biotope in Baja Verapaz, Guatemala, for support and accommodation. Financial support (to E.E.) was provided by the Postgrado en Ciencias Biológicas of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) of Guatemala (Grant No. 26-2012).

Literature Cited

- Adamson, N. L., T. H. Roulston, R. D. Fell & D. E. Mullins. 2012. From April to August—Wild bees pollinating crops through the growing season in Virginia, USA. *Environmental Entomology* 41(4):813–821.
- Azurdia, C. 1999. Las cucurbitas de Guatemala. *Tikalía* 17(1):44–58.
- Bray, J. R. & C. T. Curtis. 1957. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27:325–349.
- Campbell, J. A. & J. P. Vannini. 1989. Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Proceedings of the Western Foundation of Vertebrate Zoology* 4(1):1–21.
- Cane, J. H., B. J. Sampson & S. A. Miller. 2011. Pollination value of male bees: The specialist bee *Peponapis pruinosa* (Apidae) at summer squash (*Cucurbita pepo*). *Environmental*

- Entomology* 40(3):614–620.
- Centro de Estudios Conservacionistas (CECON). 2002. Plan Maestro 2000–2004 Biotopo Universitario “Mario Dary Rivera” para la Conservación del Quetzal. CECON, USAC. Guatemala, Guatemala.
- Colwell, R. K. 2013. *PROC User’s Manual*. Department of Ecology & Evolutionary Biology, University of Connecticut, USA.
- García, B. 1999. El Biotopo Universitario para la Conservación del Quetzal “Mario Dary Rivera”. *Mesoamericana* 4(2):53–54.
- Gross, C. L. 2001. The effect of introduced honeybees on native bee visitation and fruit-set in *Dillwynia juniperina* (Fabaceae) in a fragmented ecosystem. *Biological Conservation* 102(1): 89–95.
- Hurd, P. D., Jr., E. G. Linsley & T. W. Whitaker. 1971. Squash and gourd bees (*Peponapis*, *Xenoglossa*) and the origin of the cultivated *Cucurbita*. *Evolution* 25(1):218–234.
- Julier, H. E. & T. H. Roulston. 2009. Wild bee abundance and pollination service in cultivated pumpkins: farm management, nesting behavior, and landscape effects. *Journal of Economic Entomology* 102(2):563–573.
- Klein, A. M., B. E. Vaissière, J. H. Cane, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen & T. Tscharntke. 2007. Importance of crop pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274(1608):303–313.
- Klein, A. M., I. Steffan-Dewenter & T. Tscharntke. 2003. Pollination of *Coffea canephora* in relation to local and regional agroforestry management. *Journal of Applied Ecology* 40(5):837–845.
- Koleff, P., K. J. Gaston & J. J. Lennon. 2003. Measuring beta diversity for presence-absence

- data. *Journal of Animal Ecology* 72:367–382.
- Kremen C., N. M. Williams, R. L. Bugg, J. P. Fay & R. W. Thorp. 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7(11):1109–1119.
- Krug, C., I. Alves-dos-Santos & J. Cane. 2010. Visiting bees of *Cucurbita* flowers (Cucurbitaceae) with emphasis on the presence of *Peponapis fervens* Smith (Eucerini-Apidae) – Santa Catarina, southern Brazil. *Oecologia Australis* 14(1):128–139.
- Lira, R. 1990. Estudios taxonómico y ecogeográfico de las cucurbitáceas de Latinoamérica. 1st biannual report (Jan.–Aug. 1990). International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
- Lowenstein, D. M., A. S. Huseh & R. L. Groves. 2012. Response of wild bees (Hymenoptera: Apoidea: *Anthophila*) to surrounding land cover in Wisconsin pickling cucumber. *Environmental Entomology* 41(3):532–540.
- Machado, I. C .S. & M. Sazima. 2008. Pollination and breeding system of *Melochia tomentosa* L. (Malvales), a keystone floral resource in the Caatinga: the role of *Apis mellifera* and autochthonous pollinators in fruit set. *Flora* 203(6):484–490.
- Macias-Macias, O., J. Chuc, P. Ancona-Xiu, O. Cauich & J. J. G. Quezada-Euán. 2009. Contribution of native bees and Africanized honey bees (Hymenoptera: Apoidea) to Solanaceae crop pollination in tropical México. *Journal of Applied Entomology* 133(6):456–465.
- Magurran, A.E. 1988. *Ecological Diversity and Its Measurement*. Princeton University Press, New Jersey, 192 pp.
- Meléndez-Ramírez, V., S. Magaña-Rueda, V. Parra-Tabla, R. Ayala & J. Navarro. 2002.

- Diversity of native bee visitors of cucurbit crops (Cucurbitaceae) in Yucatán, México. *Journal of Insect Conservation* 6:135–147.
- Michener, C. D., R. J. McGinley & B. N. Danforth. 1994. *The Bee Genera of North and Central America (Hymenoptera: Apoidea)*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., viii + 209 pp.
- Murray, T. E., U. Fitzpatrick, A. Byrne, R. Fealy, M. J. F. Brown & R. J. Paxton. 2012. Local-scale factors structure wild bee communities in protected areas. *Journal of Applied Ecology* 49(5):998–1008.
- Neves, E. L. & B. F. Viana. 2011. Pollination efficiency of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae) on the monoecious plants *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. and *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) in a semi-arid Caatinga area, northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 71(1):107–113.
- Ordóñez, N. 1999. *Diversidad de Mamíferos Menores en Cuatro Bosques Nubosos del Núcleo de Centroamérica. Tesis de licenciatura en Biología*. Universidad de San Carlos de Guatemala, 71 pp.
- Pielou, E. C. 1969. *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience, New York, viii + 286 pp.
- R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from: <http://www.R-project.org/> (accessed “20 April 2014”).
- Ricketts, T. H., J. Regetz, I. Steffan-Dewenter, S. A. Cunningham, C. Kremen, A. Bogdanski, B. Gemmill-Herren, S. S. Greenleaf, A. M. Klein, M. M. Mayfield, L. A. Morandin, A. Ochieng, S. G. Potts & B. F. Viana. 2008. Landscape effects on crop pollination services:

- are there general patterns? *Ecology Letters* 11(5):499–515.
- RECOSMO. 2007. Proyecto Región de Conservación y Desarrollo Sostenible Sarstún-Motagua – RECOSMO-. Creación de una red ambientalista regional en Guatemala. Guatemala, 214 pp.
- Robinson, R. W. & D. S. Decker-Walters. 1997. *Cucurbits*. CAB International, Wallingford, United Kingdom, 226 pp.
- Sampson, B. J. & J. H. Cane. 2000. Pollination efficiency of three bee (Hymenoptera: Apoidea) species visiting rabbiteye blueberry. *Journal of Economic Entomology* 93(6):1726–1731.
- SAS Institute. 2012. *PROC User's Manual*. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Serra, B. D. V. & L. A. Campos. 2010. Polinização entomófila de abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). *Neotropical Entomology* 39(2):153–159.
- Schuster, J., E. B. Cano & C. Cardona. 2000. Un método sencillo para priorizar la conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando Passalidae (coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zoológica Mexicana* 80:197–209.
- Tscharntke, T., A. M. Klein, A. Kruess, I. Steffan-Dewenter & C. Thies. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity - ecosystem service management. *Ecology Letters* 8:857–874.
- Vidal, M. G., D. Jong, H. C. Wien & R. A. Morse. 2010. Pollination and fruit set in pumpkin (*Cucurbita pepo*) by honey bees. *Revista Brasileira de Botânica* 33(1):106–113.
- Zambrano-G, G., V. H. Gonzalez, I. Hinojosa-Díaz & M. S. Engel. 2013. Bees visiting squash (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) in southwestern Colombia (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Melittology* 18:1–5.

Table 1. Bee species recorded visiting flowers of *Cucurbita pepo* and in surrounding vegetation. **a** = Rare species in observational plots of *C. pepo*, Relative Dominance $\leq 5\%$; **b** = Dominant species in observational plots of *C. pepo*, Relative Dominance $> 5\%$. * = *Trigona silvestriana* (Apidae: Meliponini) had a RD index greater than 5% but it was collected on a single plot.

Family	Species	<i>C. pepo</i>	Wildflowers
Colletidae	<i>Colletes</i> sp.	0	5
	<i>Hylaeus</i> sp.	0	8
Andrenidae	<i>Protandrena</i> sp.	0	1
	<i>Pseudopanurgus</i> sp.	0	2
Halictidae	<i>Agapostemon</i> sp. ^b	30	10
	<i>Augochlora albiceps</i> Friese, 1925 ^a	8	0
	<i>Augochlora aurifera</i> Cockerell, 1897 ^a	1	0
	<i>Augochlora nigrocyanea</i> Cockerell, 1897 ^a	5	0
	<i>Augochlora quiriguensis</i> Cockerell, 1913 ^a	3	0
	<i>Augochlora smaragdina</i> Friese, 1917 ^b	25	3
	<i>Augochlora</i> sp. ^a	2	18
	<i>Augochloropsis metallica</i> (Fabricius, 1793)	0	1
	<i>Augochloropsis</i> sp.	0	14
	<i>Dinagapostemon</i> sp. ^a	4	0
	<i>Lasioglossum (Lasioglossum)</i> sp.	0	4
	<i>Lasioglossum (Dialictus)</i> sp. ^b	31	24
	<i>Lasioglossum (Evylaeus)</i> sp. ^a	8	7
	<i>Lasioglossum</i> sp. ^a	2	0
	<i>Neocorynura</i> sp. ^b	7	27
Megachilidae	<i>Coelioxys</i> sp.	0	2
	<i>Hypanthidium</i> sp.	0	1
	<i>Megachile</i> sp.	0	11
Apidae	<i>Apis mellifera</i> L., 1758 ^b	649	2
	<i>Bombus wilmattae</i> Cockerell, 1912	0	2
	<i>Bombus ephippiatus</i> Say, 1837 ^b	43	61
	<i>Bombus variabilis</i> (Cresson, 1872)	0	10
	<i>Centris</i> sp.	0	1
	<i>Ceratina</i> sp. ^b	7	14
	<i>Deltoptila</i> sp.	0	4
	<i>Epeolus</i> sp.	0	1
	<i>Euglossa</i> sp.	0	1
	<i>Eulaema cingulata</i> (Fabricius, 1804) ^a	3	0
	<i>Eulaema polychroma</i> (Mocsáry, 1899) ^a	5	0
	<i>Eulaema</i> sp. ^b	9	0
	<i>Exomalopsis</i> sp.	0	8
<i>Nannotrigona perilampoides</i> (Cresson,	0	2	

Family	Species	<i>C. pepo</i>	Wildflowers
	1878)		
	<i>Partamona bilineata</i> (Say, 1837) ^b	679	23
	<i>Peponapis apiculata</i> (Cresson, 1878) ^a	19	0
	<i>Peponapis limitaris</i> (Cockerell, 1906) ^a	37	1
	<i>Plebeia</i> sp. ^a	1	0
	<i>Thygater</i> sp.	0	1
	<i>Trigona corvina</i> Cockerell, 1913	0	1
	<i>Trigona fulviventris</i> Guérin-Méneville, 1844 ^a	4	6
	<i>Trigona nigerrima</i> Cresson, 1878 ^a	6	2
	<i>Trigona silvestriana</i> Vachal, 1908 ^{b*}	74	1
	<i>Trigona</i> sp. ^a	3	0
	<i>Xylocopa</i> sp. ^a	2	0
	<i>Scaptotrigona mexicana</i> Guérin-Méneville, 1845	0	1
	<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811)	0	3
	Total	1667	282

Table 2. Diversity of bee species visiting flowers of *Cucurbita pepo* L. Localities: Chipacay (CH), Panzal (PA), Purulhá (PU), Repollal (RE), and Unión Barrios (UB); number after locality abbreviation indicates plot number. Abundance corresponds to the total number of individual bees recorded at flowers. Common species: species with Relative Dominance higher than 5% (a); Rare species: species with Relative Dominance $\leq 5\%$. Singletons, doubletons, unique and duplicates included. The mean of rare species was obtained by bootstrapping. High diversity values are indicated in bold.

	Localities										
	PU1	PU2	RE1	RE2	RE3	PA1	PA2	CH1	CH2	UB1	UB2
Species (S)	6	6	6	9	8	12	9	9	14	5	7
Abundance (N)	124	52	166	42	80	210	349	243	74	138	189
Common Species	4	4	5	8	6	8	5	5	9	5	5
Rare Species	2	2	1	1	2	4	4	4	5	0	2
Singletons Mean	2.26	3.3	4.24	3.74	3.22	4.28	4.44	4.2	4.36	2.72	2.00
Doubletons Mean	0.8	1.72	2.14	3.58	3.94	2.88	3.36	3.42	3.42	3.48	3.00
Uniques Mean	7.6	8.52	9.8	8.92	8.18	10.64	10.94	10.42	10.06	6.64	5.00
Duplicates Mean	0.00	3.88	3.04	8.5	9.08	4.00	5.18	6.42	7.44	10.16	11.00
Shannon	0.90	0.88	1.00	1.88	0.96	1.19	1.37	1.01	2.0	0.76	0.57
Evenness	0.27	0.26	0.30	0.57	0.29	0.37	0.42	0.31	0.61	0.23	0.17
Inv Simpson	1.89	1.81	2.08	5.34	1.68	2.13	3.28	1.79	4.78	1.66	1.30
Hill's N1	2.47	2.40	2.72	6.56	2.62	3.27	3.94	2.76	7.42	2.15	1.77

Table 3. Number and weight of fruits and seeds of *Cucurbita pepo* produced in each pollination treatment. N = sample size; \bar{x} = average; SD = standard deviation.

Treatments	Fruit success		Fruit weight (g)			Seed number			Seed weight (g)		
	N	%	N	\bar{x}	SD	N	\bar{x}	SD	N	\bar{x}	SD
Closed pollination control	11	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Open pollination control	38	23.7	9	1180	706.6	10	294	92.9	10	0.1	0.04
Single visit– <i>A. mellifera</i>	29	17.2	5	1171	486.2	5	231	112.1	5	0.2	0.02
Single visit– <i>B. ephippiatus</i>	7	14.3	1	454	—	1	150	—	1	0.1	—
Single visit– <i>P. bilineata</i>	7	57.1	4	795	540.4	4	170	52.9	4	0.1	0.05

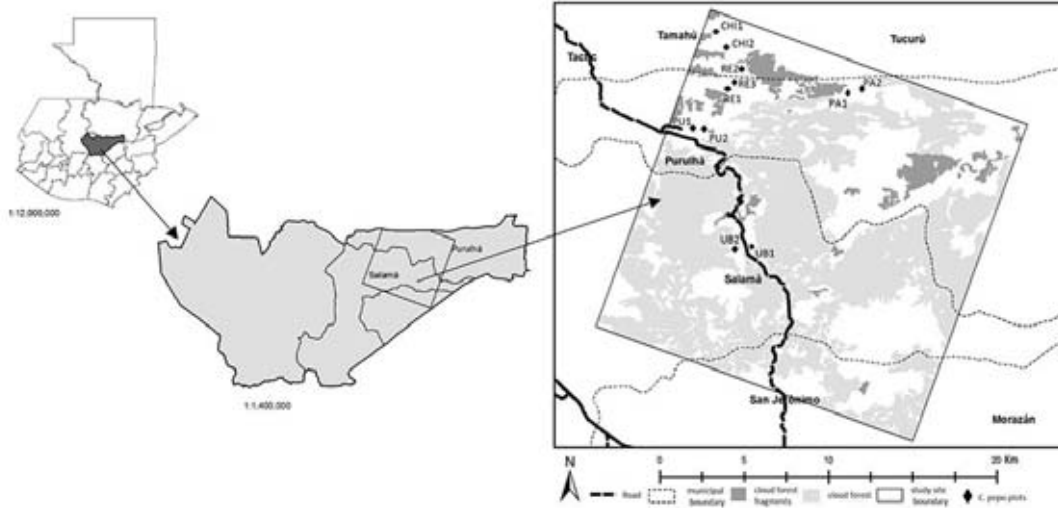


Figure 1. Localities and observational plots of güicoy (*Cucurbita pepo* L.) in the Cloud Florest Corridor, Baja Verapaz, Guatemala. Localities: Chipacay (CH), Panzal (PA), Purulhá (PU), Repollal (RE), and Unión Barrios (UB). Number after locality abbreviation indicates plot number.

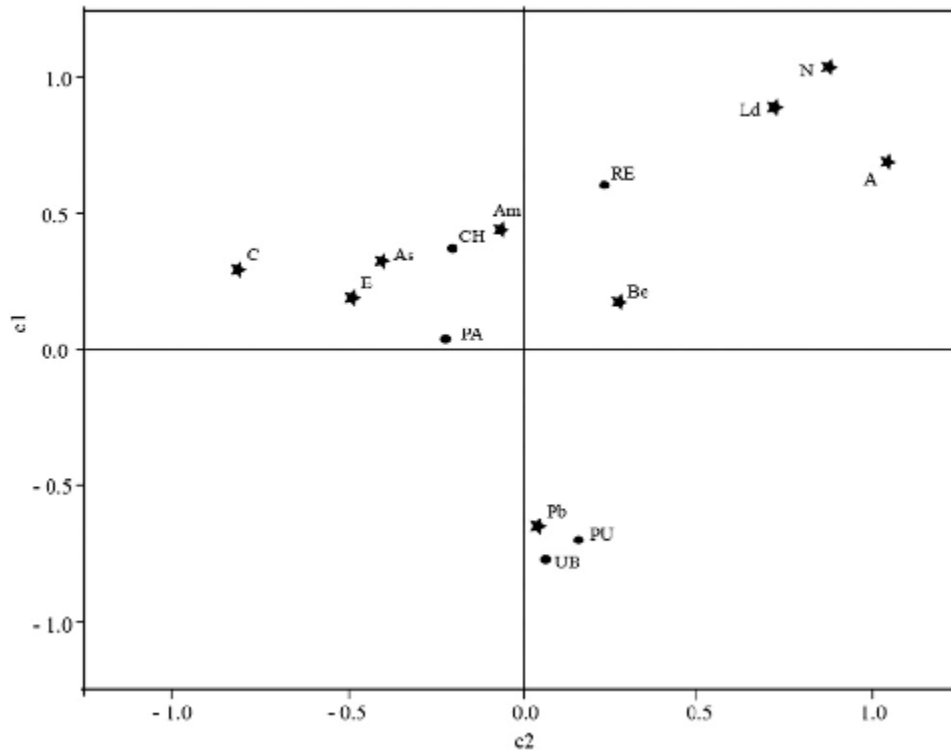


Figure 2. Proportion of dominant species (Relative Dominance > 5%) visiting flowers of *Cucurbita pepo* among localities. Dominant species (indicated by stars): *Agapostemon* sp. (A), *Augochlora smaragdina* (As), *Lasioglossum (Dialictus)* sp. (Ld), *Neocorynura* sp. (N), *Bombus ephippiatus* (Be), *Ceratina* sp. (C), *Eulaema* sp. (E), *Partamona bilineata* (Pb), *Apis mellifera* (Am). Localities (indicated by circles): Chipacay (CH), Panzal (PA), Purullhá (PU), Repollal (RE), and Unión Barrios (UB). Species composition explains 92% of the variance [MCA, principal component 1 (C1) = 82% and principal component 2 (C2) = 10%].

Capítulo II. Efecto de la estructura del paisaje y la calidad del suelo en la comunidad de abejas y el servicio de polinización de *Cucurbita pepo* en un bosque de niebla moderadamente fragmentado en el centro de Guatemala

Efecto de la estructura del paisaje y la calidad del suelo en la comunidad de abejas y el servicio de polinización de *Cucurbita pepo* en un bosque de niebla moderadamente fragmentado en el centro de Guatemala

Eunice Enríquez

Resumen

La polinización por las abejas incrementa la cantidad y calidad de la producción de muchos cultivos. La alteración del paisaje original puede llevar al declive del tamaño poblacional y alteración de la salud de las abejas, pero pocos estudios evalúan este tema. Además, la calidad del suelo puede influenciar de forma indirecta a la comunidad de abejas y estas influir en la producción del cultivo. En este trabajo estudiamos la respuesta de la comunidad de abejas y de la polinización de *C. pepo* a la composición y configuración del paisaje a escala del paisaje local (i.e. escala de cultivo). Se evaluó el efecto de la comunidad de abejas en la producción de frutos y semillas de *C. pepo*; posteriormente se evaluó el efecto del paisaje local y calidad del suelo sobre los polinizadores de *Cucurbita pepo* en un bosque de niebla tropical, el Corredor del Bosque Nuboso (CBN) en el centro de Guatemala. Se observó que la polinización de *Cucurbita pepo* está asociada principalmente a *P. bilineata* en el CBN. Sin embargo, la presencia de esta abeja en los cultivos de *C. pepo* no es favorecida por los hábitats naturales. Lo que convierte a *P. bilineata* en una especie resiliente e importante para la producción de *C. pepo* en el CBN. La materia orgánica y el PH en el suelo juegan un papel importante en la producción de flores y la atracción de polinizadores, sin embargo, es un aspecto que debe ser evaluado a detalle. Estos resultados son de suma importancia para el mantenimiento de la polinización

en los sistemas agrícolas en áreas moderadamente fragmentadas. Así como, entender cuáles son los factores a nivel local que afectan la abundancia de las abejas. Se espera que la información generada sea de utilidad para la implementación de prácticas de manejo que conserven el servicio de polinización, y por lo tanto favorezcan el incremento de la productividad de los cultivos.

Introducción

Cerca del 85% de las especies de plantas descritas son dependientes, en algún grado, de la polinización por animales (Ollerton et al., 2011). Las abejas son el grupo de insectos más importantes en el proceso de polinización, debido a su hábito de coleccionar néctar y polen. Dicho hábito favorece la calidad y cantidad de frutos de plantas silvestres y cultivadas, mantiene la diversidad genética (Kearns et al., 1998), la fertilidad y el vigor de las semillas en la siguiente generación (Barrett, 2003; Albrecht et al., 2012). En consecuencia, la polinización por abejas incrementa el valor económico de la producción de muchos cultivos (Garratt et al., 2014; Klatt et al., 2014), y la producción de alimento depende directa o indirectamente de esta interacción (Klein et al., 2007; Kremen et al., 2007; Aizen et al., 2009; Calderone, 2012).

A pesar de la importancia de las abejas para los ecosistemas naturales y la producción de alimento, existe un declive en el número y en la salud de las mismas (Lennartsson, 2002; Biesmeijer et al., 2006; Girao et al., 2007; Potts et al., 2010; Cameron et al., 2011; Dupont et al., 2011). Esto se debe a múltiples factores como: cambio climático, cambio del uso del suelo, uso de agroquímicos, proliferación de especies invasoras (Freitas et al., 2009; Potts et al., 2010; González-Varo et al., 2013; Morales et al., 2013; Vanbergen, 2013; Godfray et

al., 2014; Vanbergen et al., 2014; Goulson and Hughes, 2015; Kerr et al., 2015), e infección por parásitos y patógenos (Le Conte et al., 2010). En los trópicos, el efecto de la pérdida de hábitats naturales es mayor debido a que las abejas sociales nativas necesitan cavidades para anidamiento, proporcionadas por árboles nativos maduros (Roubik, 1992; Brosi et al., 2008; Ricketts et al., 2008). Tomando en cuenta lo anterior, es de suma importancia investigar los efectos de la alteración de la estructura del paisaje sobre los polinizadores y el proceso de polinización en los trópicos (Viana et al., 2012; Saturni et al., 2016), donde se ha realizado un menor número de estudios.

Existen evidencias del efecto del tamaño del fragmento y su aislamiento sobre la comunidad de abejas y el servicio de polinización (Ricketts, 2004; Brosi et al., 2008; Gemmill-Herren and Ochieng, 2008; Carvalheiro et al., 2010; Garibaldi et al., 2011; Holzschuh et al., 2012; Krishnan et al., 2012). Muchos coinciden en que el servicio de polinización disminuye al aumentar la distancia con el hábitat natural, así como con la disminución del tamaño del fragmento. Sin embargo, aún son insuficientes los estudios que abordan la influencia de la composición de la matriz y la configuración del paisaje, principalmente en los trópicos (Kremen et al., 2004; Jha and Vandermeer, 2010; Benjamin et al., 2014; Motzke et al., 2016; Saturni et al., 2016), y muy pocos han sido realizados en *Cucurbita* (Julier and Roulston, 2009; Lowenstein et al., 2012; Phillips and Gardiner, 2015).

La calidad del suelo puede influenciar el crecimiento vegetativo, floración, fructificación (Muñoz et al., 2005), producción de polen (Lau and Stephenson, 1994) y néctar (Campbell and Halama, 2012) en las plantas. Por lo que también, de forma indirecta, puede inducir un

cambio en los patrones de visitación de los polinizadores, afectar significativamente las interacciones planta-polinizador e influenciar de manera directa la nutrición de los polinizadores y su rendimiento en general (Cardoza et al., 2012). Por lo que, cualquier condición que afecte la actividad de las abejas, producción de flores, y la apertura de las flores, puede afectar la polinización y el desarrollo de los frutos de *C. pepo* en el CBN (Abbey, 2016), pero sus efectos en la interacción planta-polinizador son pobremente entendidos.

Cucurbita pepo es una planta autóctona, nativa de Mesoamérica (Azurdiá, 2014), es monoica (Wien, 1997) y altamente dependiente de la polinización cruzada (Walters and Taylor, 2006). Dentro de su rango de distribución, se reportan como visitantes florales, principalmente abejas, a especies de abejas sociales (Meliponinos y *Apis*), del género *Bombus* y *Peponapis* (Hurd et al., 1971; Hurd et al., 1974; Pinkus-Rendon et al., 2005; Shuler et al., 2005; Zambrano, G., Gonzáles, V., Hinojosa-Díaz, I., Engel, 2013; Enriquez et al., 2015; Phillips and Gardiner, 2015). Para el sitio de estudio, el CBN, se reportan 27 especies de abejas visitantes de *C. pepo*. Dentro de estas, los principales polinizadores son: las abejas nativas *Partamona bilineata* y *Bombus ephippiatus*; así como la abeja introducida *Apis mellifera*. Se reporta la visitación de las abejas especialistas del género *Peponapis* pero son más bien raras en el sitio de estudio (Enriquez et al., 2015). A pesar de su importancia, al igual que otros cultivos autóctonos de los trópicos, los aspectos sobre la contribución de las abejas como polinizadores de esta planta permanecen desconocidos (Macias-Macias et al., 2009).

El bosque mesófilo de montaña es el menos estudiado y más amenazado de todos los tipos de vegetación tropical, por lo que la biodiversidad y las interacciones animal-planta en este ecosistema son poco conocidas (Williams-Linera et al., 2002). La mayoría de los bosques mesófilos de montaña que existen son remanentes fragmentados de bosque original (Hamilton et al., 1995) que exhiben una gran variación natural en composición de especies y estructura, debido a su heterogeneidad en el hábitat y aislamiento topográfico (Williams-Linera et al., 2002). Hasta donde sabemos, no existen estudios sobre la dinámica de polinización, ni sobre los servicios ecosistémicos brindados por las abejas en el bosque de niebla. El presente estudio es el primero que buscan entender el efecto del paisaje y la calidad del suelo en la dinámica de polinización de *C. pepo*. Para lo cual se planteó la siguiente hipótesis: La producción de frutos y semillas de *C. pepo* se ve favorecido por una mayor diversidad en la comunidad de abejas, la cual está asociada a una mayor proporción de hábitats naturales, ya que estos les brindan sitios de anidamiento y recursos alimenticios; así mismo, por una mayor disposición de nutrientes en el suelo, que favorecen, de forma indirecta un incremento en la tasa de visita de los polinizadores. Con lo que se pretende contestar las siguientes interrogantes: 1) ¿Cuáles son las especies, dentro de la comunidad de abejas visitantes florales de *C. pepo*, que afectan la producción de frutos y semillas de esta especie, en el CBN?; 2) ¿Cuál es el efecto de la composición y configuración del paisaje en las especies de abejas que polinizan *C. pepo*, en el CBN?; 3) Cual es el efecto de la calidad del suelo en la abundancia de las especies de abejas que polinizan *C. pepo*, en el CBN?. Para responder estas preguntas, se realizó un análisis de la composición y configuración del paisaje, alrededor de los cultivos de *C. pepo*, a una escala local del paisaje. Así como, correlaciones múltiples por medio de modelos lineales generalizados,

para establecer la relación entre los visitantes florales de *C. pepo* y la producción de frutos y semillas; y posteriormente la relación del paisaje local y la calidad del suelo, con las abejas polinizadoras de dicha planta cultivada en el CBN. Este tipo de investigaciones son importantes en los bosques nubosos tropicales ya que provee las bases para un aprovechamiento en el servicio ecosistémico que pueda beneficiar la conservación y la producción sustentable.

Materiales y Métodos

Sitio de estudio y cultivos experimentales de *C. pepo*

Nuestro trabajo se desarrolló en lo que se conoce como “Corredor del bosque nuboso” - CBN-, en Baja Verapaz, en el centro de Guatemala (Enríquez et al., 2015). Este es un ecosistema tropical de bosque de niebla, moderadamente fragmentado y habitado por pobladores de las etnias Maya Queqchí y Pocomchí (SEGEPLAN, 2010; SEGEPLAN, 2011; INE, 2002). El CBN es un área de 28,638.9 ha bajo protección que conecta varias áreas protegidas de bosque de niebla con la reserva de biosfera “Sierra de las Minas”, con 79,000 ha de bosque de niebla, una de las mayores reservas de este tipo de ecosistema en Mesoamérica (RECOSMO, 2007). Actualmente, en el CBN el uso de suelo dominante es aún el bosque primario (51%) seguido de la agricultura (27%) y vegetación secundaria (15.4%) (Enríquez et al. datos no publicados). Sin embargo, el CBN está bajo amenaza debido a la agricultura de tumba y quema, los asentamientos humanos, la agricultura moderna, minería, y cultivos del helecho *Rumhora adiantiformis*, desde 1980. La temperatura promedio anual en el CBN es de 18.1 °C y la precipitación de 2,092.4 mm (García, 1999; CECON, 1999). La elevación se encuentra entre los 500 y 2,348 m.s.n.m. y

presenta pendientes entre 45 a 60 grados (CECON, 1999). La vegetación del CBN incluye helechos arborescentes, epífitas, dosel mixto de árboles templados deciduos y árboles tropicales de hoja ancha siempre verdes (Williams-Linera, 1997). El CBN se ha caracterizado por altos niveles de endemismo y diversidad (Campbell and Vannini, 1989; Ordóñez, 1999; Schuster et al., 2000; RECOSMO, 2007), a la cual se suma la alta diversidad cultural (SEGEPLAN, 2010; SEGEPLAN, 2011; INE, 2002). Se establecieron 10 cultivos experimentales de *Cucurbita pepo* (Enríquez et al. 2015).

Variables del paisaje

Los tipos de coberturas fueron analizados utilizando el mapa de bosques y uso de la tierra 2012, generado por el Grupo Interinstitucional de Monitoreo de Bosques y Uso de la Tierra (2014). Esta información fue verificada a nivel de campo, durante el año 2013 y se encontró un 82% de coincidencia con el mapa de bosques y uso de la tierra utilizado en el presente análisis (Enríquez et al., datos no publicados). Se determinó la proporción del cada tipo de cobertura alrededor de los cultivos de *C. pepo* para evaluar la respuesta de la comunidad de abejas al uso del suelo. Para esto se realizó un análisis a escala local del paisaje, estableciendo un buffer de 200 m de radio a partir del centro de cada cultivo experimental. El área del buffer se eligió sobre la base de algunos estudios que han reportado una mayor correlación entre la riqueza y abundancia de abejas con el paisaje, a escala local (Benjamin et al., 2014; Landaverde-González et al., 2016; Saturni et al., 2016). Por otra parte, los radios de 200 m permitieron mantener la independencia (evitar el traslape) entre las áreas analizadas. También se determinó la distancia de los cultivos al fragmento de bosque más cercano y el tamaño de dicho fragmento de bosque. Para estos

análisis del paisaje se usó el programa de análisis de información espacial ARC GIS 9.3 y las extensiones Spatial Analysis y Geoprocessing (www.esri.com). Los tipos de cobertura del paisaje determinados fueron: bosque, con una proporción de 3-37% en los cultivos experimentales; hábitat natural de 0-100% (conformado por la sumatoria de bosque, vegetación secundaria y café); agricultura de 0-86%; pastizales de 0-36%; las áreas urbanas de 0-69%; cafetal de 0-69% (Tabla 1).

Comunidad de abejas y la producción de frutos y semillas de *C. pepo*

Se registró la riqueza y la abundancia de los visitantes florales durante el pico de floración del año 2012, en cada uno de los 10 cultivos experimentales de *C. pepo*. Todas las flores, tanto femeninas como masculinas, fueron observadas durante tres minutos, de 0600 a 1100 horas. Para más detalles sobre la colecta de datos consultar Enríquez et al. (2015). Para medir el éxito reproductivo de *C. pepo*, en cada uno de los cultivos experimentales, se marcaron 100 flores abiertas, las cuales se observaron hasta la producción de frutos. Un mes después de las observaciones se colectaron y contaron todos los frutos producidos en cada uno de los cultivos. Cada fruto de cada cultivo de *C. pepo* fue medido y pesado; luego se extrajeron y contaron las semillas.

Análisis de suelos

Se determinaron algunas características de calidad del suelo, para evaluar su efecto en el desarrollo de *C. pepo* y el efecto en la comunidad de abejas en los cultivos experimentales. En cada cultivo experimental, se determinó la proporción de materia orgánica (MO) por el método Walkley y Black; el PH con ayuda de un Ph-metro; y por último se midió la Capacidad de Intercambio Catiónico (C.I.C.) por medio de la extracción con $\text{CH}_3\text{COONH}_4$

1N PH 7 y cuantificación por absorción atómica y fotometría de llama (Álvarez-Sánchez and Marín-Campos, 2011). Dichos análisis se realizaron en el laboratorio de suelo-planta-agua “Salvador Castillo Orellana”, de la Facultad de Agronomía, de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Análisis estadístico

Para tener una aproximación de la heterogeneidad del paisaje local y los tipos de cobertura que mejor la explican, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el porcentaje de cobertura de cada uno de los tipos de uso de suelo presentes en el paisaje local alrededor de los cultivos (Saturni et al., 2016).

Se realizó una estimación de la riqueza por medio de estimador no paramétrico Chao-1, que toma en cuenta los singletons y los doubletons ($Chao-1 = S + F1(F1 - 1) / (2 (F2 + 1))$, donde S es la riqueza total estimada, F1 es el número de singletons y F2 el número de doubletons), utilizando el programa PAST v.3.1. Por otro lado, las variables de producción de *C. pepo* (variables respuesta) son las siguientes: producción de frutos (*fruit set*), promedio semillas por fruto (*seed set*) y volumen del fruto. Para evaluar el efecto de la composición y configuración del paisaje local de los cultivos de *C. pepo*, así como la calidad del suelo, en la riqueza total y la abundancia de los distintos grupos de abejas y en la producción de frutos y semilla de *C. pepo*, se realizó un análisis en dos pasos: 1) Primero, se evaluó el efecto de riqueza total, así como de la abundancia de los distintos grupos funcionales de abejas (variables predictivas), en la producción de frutos y semillas de *C. pepo* (variables respuesta). Las variables de la comunidad de abejas (variables predictivas) son: riqueza total por cultivo, abundancia de todas las especies, abundancia de

las siete especies dominantes en el sitio de estudio (son aquellas que tienen una dominancia relativa de mayor al 5%, toma en cuenta su abundancia relativa y su frecuencia relativa, más detalles en Enríquez et al., 2015 para el mismo sitio), abundancia de abejas solitarias, abundancia de abejas sociales, abundancia de abejas sociales-silvestres (meliponinos), abundancia de abejas silvestres, abundancia de *A. mellifera*, abundancia de *P. bilineata* y abundancia de *B. ephippiatus*. 2) Como segundo paso, se evaluó el efecto de la composición y configuración del paisaje, así como la calidad del suelo (variables predictivas), únicamente en las variables de la comunidad de abejas (variables respuesta) que sí presentaron efecto en la producción de frutos y semillas de *C. pepo*. Las métricas del paisaje (variables predictivas) que se utilizaron son las siguientes: proporción de bosque, proporción de hábitat natural (bosque, más cafetal, más vegetación secundaria), proporción de agricultura, proporción de pastizales, proporción de área urbana y proporción de café, como variables de composición del paisaje; así como distancia al fragmento de bosque más cercano y el tamaño del fragmento más cercano, como variables de configuración del paisaje. Las métricas de la calidad del suelo (variables predictivas) que también se incluyeron en los análisis son las siguientes: proporción de materia orgánica (MO), Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y PH.

La selección de modelos para evaluar el efecto de las abejas en la producción de *C. pepo*; así como el efecto de la composición y configuración del paisaje, y el tipo de suelo, en la comunidad de abejas, se realizó por medio de modelos lineales (LM: Gaussian) y modelos lineales generalizados (GLM; poisson), para cada una de las variables respuesta e incluyendo todas las variables predictivas. Para lo cual se utilizó el paquete, Rcmdr en la interfase R commander, v.2.3.0. (R core team, 2014). Fijando una distribución tipo Poisson

para las variables de conteo y una Gaussian para las de proporciones. Con cada uno de los modelos, se evaluó si existía multicolinealidad entre las variables predictivas, utilizando el factor de inflación de la varianza (variance inflation factor -VIF-), por medio del paquete Car, en la interfase R Studio v.2.1. (R core team, 2014). Variables con valores de VIF mayores de 10 fueron descartadas por ser consideradas altamente colineales y por ende afectar los resultados asociados con análisis de regresión múltiple. Por último, para facilitar la comparación entre los modelos seleccionados, se obtuvo el coeficiente de regresión estandarizado, con el comando lm.beta, del paquete QuantPsyc v.1.5, en R (R core team, 2014).

Resultados

Paisaje local alrededor de los cultivos de *Cucurbita pepo*

En promedio, los tipos de cobertura representados en el paisaje local alrededor de los cultivos de *C. pepo* son agricultura (46.7%), vegetación secundaria (16.4%), bosque (12.9%), cafetal (6.9%), áreas urbanas (11.7%) y pastizales (5.4%). El paisaje local aún conserva un 36.2 % de hábitat natural (que agrupa, bosque, café y vegetación secundaria) (tabla 1, figura 1). En cuanto al paisaje local de cada uno de los cultivos experimentales de *C. pepo*, en seis de los cultivos predomina la agricultura en combinación con vegetación secundaria y bosque (Rep1, Rep2, Rep3, UB1, Chi1, Chi2). Por otro lado, tres cultivos presentan una combinación de áreas urbanas, pastizales y agricultura (UB2, Pur2 y Pur1). Por último, en un solo cultivo predomina las plantaciones de café en combinación con bosque (Pan2; tabla 1, figura 1, y figura 2). Se expresó la heterogeneidad del paisaje local de los cultivos de *C. pepo* en los componentes principales 1 y 2. En este sentido, el

componente principal 1 (explica el 36.4% de la varianza) está representado en su mayoría por los siguientes tipos de cobertura: bosque, vegetación secundaria, área urbana y pastizales. Mientras que el componente principal 2 (que explica el 34.0% de la varianza) está representado por los siguientes tipos de cobertura: cafetal, bosque, agricultura y vegetación secundaria. Ambos componentes explican el 70.4% de la varianza (tabla 2, figura 2).

Comunidad de abejas y su efecto en la producción de *Cucurbita pepo*

De los distintos grupos de la comunidad de abejas evaluados, solamente la abundancia de *Bombus ephippiatus* y de *Partamona bilineata*, así como, la riqueza total, presentaron una correlación significativa sobre la producción de *Cucurbita pepo* (tabla 3). La abundancia de *Bombus ephippiatus* se correlacionó positivamente con la proporción de frutos de *Cucurbita pepo* ($P=2.79E-06^{***}$, $R^2=0.47$; figura 3A); y la abundancia de *Partamona bilineata* tiene el mismo efecto, pero en la producción de semillas ($P=0.00687^{**}$, $R^2=0.70$; figura 3B). Sin embargo, la riqueza se correlacionó negativamente con la producción de semillas ($P=5.18E-05^{***}$, $R^2=-0.62$; figura 3C). El resto de grupos funcionales de la comunidad de abejas visitantes florales de *C. pepo* no está asociada con la producción de frutos y semillas de esta planta (Tabla 3).

Estructura del paisaje y calidad del suelo y su efecto en la riqueza, abundancia de *P. bilineata* y la abundancia de *B. ephippiatus*

La proporción de bosque presentó una correlación negativa con la riqueza de abejas ($P=0.0494^*$, $R^2=-0.12$; figura 4A), mientras la proporción de hábitat natural (suma de café, vegetación secundaria y bosque) presentó una correlación positiva con la riqueza de abejas

($P=0.0423^*$, $R^2=0.19$; figura 4B). Por otro lado, la distancia al fragmento más cercano presentó una correlación positiva con la riqueza de abejas ($P=0.0244^*$, $R^2=0.05$; figura 4C). Por último, la materia orgánica en el suelo presentó una correlación negativa con la riqueza de abejas ($P=1.31E-06^{***}$, $R^2=-0.55$; figura 4D; tabla 3).

La proporción de vegetación secundaria presentó una correlación negativa con la abundancia de *Partamona bilineata* ($P=0.02135^*$, $R^2=-0.67$; figura 5A). Pero la distancia al fragmento más cercano presentó una correlación positiva con la abundancia de *P. bilineata* ($P=1.53E-09^{***}$, $R^2=0.33$; figura 5B). Por último, el PH presentó una correlación positiva con la abundancia de *P. bilineata* ($P<2e-16^{***}$, $R^2=0.44$; figura 5C).

La proporción de vegetación secundaria presentó una correlación positiva con la abundancia de *B. ephippiatus* ($P=0.0466^*$, $R^2=0.58$; figura 6A). Así mismo, la distancia al fragmento más cercano presentó una correlación positiva con la abundancia de *B. ephippiatus* ($P=0.025^*$, $R^2=0.35$; figura 6B). Sin embargo, la materia orgánica en el suelo presentó una correlación negativa con la abundancia de *B. ephippiatus* ($P=0.0174^*$, $R^2=-0.36$; figura 6C).

Discusión

Las especies de abejas que favorecen la producción de frutos y semillas de *Cucurbita pepo* en el Corredor del Bosque nuboso -CBN- son: *Partamona bilineata* y *Bombus ephippiatus*. Los hábitats naturales, al parecer, no favorecen la abundancia de *P. bilineata*; sin embargo, la vegetación secundaria sí podría favorecer la abundancia de *B. ephippiatus*. Por otro lado, la riqueza de abejas no favorece la producción de *C. pepo*, pero los hábitats naturales favorecen esta riqueza de abejas alrededor de los cultivos de *C. pepo*. La distancia a los

fragmentos de bosque, al parecer, favorecen la diversidad y la abundancia de las abejas en el CBN. Por último, la materia orgánica tiene un efecto negativo en la riqueza total de abejas y en la abundancia de *B. ephippiatus*; y el PH parece favorecer a *P. bilineata*.

Descripción del paisaje a escala local

El paisaje local alrededor de los cultivos de *Cucurbita pepo* aún conservan un 36.2% de hábitat natural (que incluye bosque, vegetación secundaria y cafetales). Esto probablemente se debe a los esfuerzos de conservación en el CBN que han dado protección a los remanentes de hábitat natural, a pesar de la constante amenaza del avance de la frontera agrícola y la deforestación (RECOSMO, 2007). El paisaje local alrededor de los cultivos de *C. pepo* es heterogéneo, ya que además de la vegetación natural, hay un alto porcentaje de agricultura (46.7%). Los pastizales y áreas urbanas se encuentran en menor proporción.

Comunidad de abejas y su efecto en la producción de *Cucurbita pepo*

La abundancia de *Partamona bilineata* presenta un efecto positivo y significativo en el número de semillas por fruto (*fruit set*) de *Cucurbita pepo*, mientras la abundancia de *Bombus ephippiatus* tiene un efecto positivo y significativo en la producción de frutos (*fruit set*). Esto reafirma lo encontrado por Enríquez, et al. (2015), donde *P. bilineata* y *B. ephippiatus* son importantes polinizadores de *C. pepo* en el CBN, junto con *Apis mellifera*. La abeja nativa *P. bilineata*, se ha reportado como importante polinizador de *C. pepo* en México (Meléndez-Ramírez et al., 2002). Así mismo, la abeja melífera (*Apis mellifera*) y los abejorros (*Bombus spp.*) son ampliamente utilizados como insectos polinizadores manejados en cultivos de *Cucurbita* (Isac et al., 2016). Sin embargo, es importante recalcar que *A. mellifera* no tiene ningún efecto en la producción de *C. pepo*. Esto ha sido reportado

anteriormente por Garibaldi et al. (2013) quienes reportan que el set de frutos incrementa solo en un 14% con la visitación de la abeja melífera, en 41 cultivos estudiados alrededor del mundo, por lo que los insectos silvestres polinizan los cultivos de forma más efectiva. Por otro lado, cabe resaltar, que la abeja nativa *P. bilineata* es clave para la producción de frutos y semillas en el CBN, no solo por su eficiencia en la polinización de *C. pepo*, ya que logra la producción de semillas y frutos con una sola visita (Enríquez et al.,2015), sino también porque conforma el 41% de la abundancia total de abejas visitantes de *C. pepo* en el CBN (Enríquez et al.,2015). Además *P. bilineata* presenta una alta capacidad de dispersarse por todo este ecosistema de niebla del CBN, así como resiliencia debido a su alta diversidad genética, como lo ha reportado Landaverde-González et al. (2017) en un estudio en la misma región, donde demostró que *P. bilineata* presenta poca diferenciación genética poblacional en el CBN, siendo una especie resiliente e importante para la provisión del servicio de polinización en el CBN. Por otro lado, a pesar que *B. ephippiatus*, solo conforma el 3% del total de la abundancia de visitantes florales en *C. pepo*, también presenta un efecto en la producción de *C. pepo*, esto se podría deber a que es un polinizador muy eficiente, necesitando de 4-8 visitas para lograr un óptimo en el set de frutos (*Apis melifera* necesita al menos 12 visitas; Isac et al., 2016). Además, *B. ephippiatus* tiene amplios rangos de distribución debido a su tamaño (Greenleaf et al., 2007); y es una especie adaptada a climas templados, predominante en el CBN. El hecho de que la riqueza se correlacione negativamente con el *seed set*, probablemente se deba al fenómeno de homogenización, donde la diversidad de especies disminuye y aumenta la dominancia de unas pocas especies generalistas (Tscharntke et al., 2005). Sin embargo, Kleijn et al 2005, ha demostrado que es la abundancia de especies dominantes son las responsables de la

producción de frutos en varios cultivos, apoyando nuestros resultados. En el CBN estas especies dominantes, son *B. ephippiatus* y *P. bilineata*, que es su conjunto conforman el 80% de la abundancia total; además, son importantes para la polinización de *C. pepo* (Enríquez et al (2015)).

Componentes del paisaje y su efecto en la comunidad de abejas

Una disminución de la proporción de bosque y la lejanía al mismo, parecen favorecer la riqueza de especies de abejas en el CBN. Pero, el hábitat natural, conformado de vegetación secundaria, bosque y cafetal, es decir una heterogeneidad de hábitats naturales, al parecer, favorece la riqueza de especies de abejas en el sitio de estudio. Los tipos de cobertura natural mencionados, les brindan a las abejas, diversos sitios de anidamiento; y un suplemento continuo y diverso de plantas alimenticias a lo largo del año (Dramstad and Fry, 1995). La heterogeneidad de hábitat naturales en los alrededores de los cultivos de *C. pepo* asegura la permanencia de una comunidad con gran diversidad de abejas, caracterizada por distintos hábitos alimenticios, tamaños y sociabilidad. Las abejas solitarias constituyen la mayor parte de la riqueza de especies visitantes florales de *C. pepo* (Enríquez et al., 2015) y entre el 5 al 66% de la abundancia total en los cultivos evaluados. Las abejas solitarias, contienen 20 especies presentes en los cultivos experimentales (74% de la riqueza total y 12% de la abundancia total), con 9 géneros: *Agapostemon*, *Eulaema*, *Lassioglossum*, *Neocorynura*, *Peponapis*, *Ceratina*, *Dinagapostemon*, *Thygater* y *Xylocopa*. Los géneros *Agapostemon*, *Lassioglossum*, *Peponapis* y *Xylocopa* han sido reportados como visitantes comunes de *Cucurbita* (Julier and Roulston, 2009; Isac et al., 2016); pero solo *Peponapis* es un importante polinizador de *C. pepo* (Artz and Nault, 2011). Estos 9 géneros

de abejas solitarias representan una gran diversidad de hábitos alimenticios, capacidad de vuelo y requerimientos de sitios de anidamiento (Michener, 2000); y como se mencionó antes, son favorecidas por la heterogeneidad de hábitat naturales en los alrededores de los cultivos de *C. pepo*. Aunque la riqueza de especies no tiene ninguna importancia en la producción de *C. pepo* en el CBN, indudablemente son polinizadores eficientes de otras especies de plantas silvestres y cultivadas en el CBN. Se ha reportado que una abeja del género *Lasioglossum* es un importante polinizador de chile en Yucatán, México (Landaverde-González et al., 2016). Por esta razón, es necesario mantener hábitats heterogéneos en el paisaje local de los cultivos, que propicien el mantenimiento de la riqueza de abejas en el CBN, y del servicio de polinización que estos insectos proporcionan a plantas silvestres y cultivadas.

Una disminución de la proporción de vegetación secundaria y la lejanía a las masas boscosas, parecen favorecer la abundancia de *Partamona bilineata*, una abeja que sí tiene un efecto en la producción de *C. pepo*. Esto podría deberse a que la vegetación secundaria regularmente provee recursos diversos y de buena calidad, compitiendo con *C. pepo* y afectando la presencia de *P. bilineata* en los cultivos. Esta competencia podría tener consecuencias en el servicio de polinización que *P. bilineata* brinda a los cultivos de *C. pepo* en el CBN. Se ha reportado para algunos cultivos que las abejas generalistas, como *A. mellifera*, pueden rápidamente cambiar sus preferencias y actividad en respuesta a la floración de otras especies (Cane and Payne, 1993). Así mismo, el bosque no explica la abundancia de *P. bilineata*, una abeja social en CBN. Estos resultados son inesperados, debido a que las abejas sociales silvestres regularmente están asociadas al bosque (Winfrey et al., 2009; Brosi et al., 2010). Sin embargo, se ha observado nidos de este grupo de abejas

en árboles aislados en pastizales y en estructuras de origen antropogénico (Brosi et al., 2008). Brown and Albrecht, (2001) han observaron que las abejas sociales pueden presentar respuestas contrastantes a la deforestación. Así mismo, el grupo de abejas sociales silvestres visitantes de *C. pepo* en el CBN, son especies que no necesitan cavidades de árboles para anidar, ya que tienen nidos expuestos o hacen sus nidos entre las raíces de los árboles. Landaverde et al (2016), también reportó que la abundancia y presencia de especies con hábitos de anidamiento en el suelo y de amplia distribución eran beneficiadas con la presencia de bosque secundario y etapas de sucesión del bosque, que son el resultado de prácticas tradicionales de agricultura de rotación. Por otro lado, las abejas sociales silvestres, aunque son muy abundantes en los trópicos, disminuyen en riqueza a altitudes mayores a 1,500 m.s.n.m (Yurrita and Vásquez, 2013).

Un aumento en la proporción de vegetación secundaria y la lejanía a las masas boscosas, parecen favorecer la abundancia de *Bombus ephippiatus*. Esto podría explicarse porque la vegetación secundaria le brinda recursos suficientes a *B. ephippiatus* para el mantenimiento de sus crías, principalmente polen. Por otro lado, la distancia al fragmento más cercano podría afectar la abundancia de *B. ephippiatus* debido que estas abejas prefieren sitios abiertos para forrajear y dispersarse por el paisaje. Sin embargo, Sároszpataki et al. (2016) concluyeron que la composición del paisaje a pequeña escala tiene poca importancia para las especies de *Bombus*, en comparación con una importancia significativa de la composición a una mayor escala, muy probablemente porque son abejas robustas, con amplios rangos de vuelo, por lo que los abejorros forrajea muy lejos de sus nidos (Greenleaf et al., 2007). Sin embargo, nuestros resultados sí encuentran una respuesta de *B. ephippiatus* a una escala local de paisaje con una correlación positiva y significativa con la

vegetación secundaria y la distancia al fragmento más cercano. Benjamin et al. (2014) han demostrado que el manejo del hábitat a nivel local (nivel de cultivo) podría beneficiar tanto polinizadores grandes y pequeños en paisajes agrícolas. Esto debido a la fuerte respuesta negativa de las abejas grandes a la agricultura. Así, es muy probable que las abejas grandes en el CBN tengan una respuesta similar a una mayor escala del paisaje. Por lo que se esperaría que abejas de mayor tamaño, con amplios rangos de forrajeo, como *Eulaema*, *Xylocopa*, entre otras (Greenleaf et al., 2007), tengan una respuesta similar al paisaje local.

Calidad del suelo y su efecto en la comunidad de abejas

La materia orgánica tiene un efecto negativo en la riqueza de abejas y en la abundancia de *B. ephippiatus*; por otro lado, el PH parece favorecer la abundancia de *P. bilineata*. La materia orgánica contiene cerca del 5% del nitrógeno total del suelo y además contiene otros elementos esenciales como fósforo, magnesio, calcio, azufre, y micronutrientes (Julca-Otiniano et al., 2006). Sin embargo, una alta concentración de nitrógeno en el suelo conduce a un excesivo crecimiento vegetativo y la reducción del crecimiento reproductivo. Esto reduce el desarrollo de flores femeninas en las Cucurbitáceas (Abbey, 2016). Por otro lado, la materia orgánica en el suelo también facilita los mecanismos de absorción de sustancias peligrosas como plaguicidas (Vangestel, 1996). Esto podría afectar la atracción de distintas especies de abejas en los cultivos de *C. pepo* evaluados. Así mismo, la materia orgánica está asociada a la presencia de masas boscosas en el CBN, que también mostró tener un efecto negativo en la riqueza de abejas. Por su parte, el PH afecta la disponibilidad de nutrientes en el suelo, por ejemplo, los suelos ácidos, como la mayoría de suelos evaluados en el CBN, impiden la disponibilidad de nitrógeno y potasio, entre otros. El

potasio puede incrementar la producción de flores en algunas Cucurbitáceas; y el nitrógeno con el Molibdeno incrementa el número de flores y mejorar la producción de polen y el set de frutos en las Cucurbitáceas (Abbey, 2016). Por lo que el PH podría afectar el desarrollo de las plantas y la atracción de los polinizadores, como es el caso de *P. bilineata*. Sin embargo, muchos de estos aspectos aún son desconocidos, por lo que es necesario profundizar en la relación indirecta del suelo en los polinizadores. Por esta razón, la integración de conservación, ambiente y ciencias agronómicas es crucial para sostener la producción agrícola a través de la optimización del manejo de los insumos agrícolas y biodiversidad basada en los servicios ecosistémicos (Marini et al., 2015).

A manera de conclusión, se observó una fuerte respuesta de las abejas que polinizan *C. pepo* a una escala local del paisaje en el CBN, por lo que los cambios a esta escala podrían comprometer el servicio de polinización en el sitio de estudio (Benjamin et al., 2014). La polinización de *Cucurbita pepo* está asociada principalmente a *P. bilineata* en el CBN. Sin embargo, la presencia de esta abeja en los cultivos de *C. pepo* no es favorecida por los hábitats naturales. Probablemente esto se debe a que estos últimos proveen a *P. bilineata* de recursos para alimentación y anidación, afectando su abundancia como visitante floral de *C. pepo*. Además, *P. bilineata* es uno de los meliponinos que no necesitan el bosque para anidar y presenta poblaciones con flujo génico constante. Todo lo anterior, lo hace una especie resiliente e importante para proveer el servicio de polinización en el CBN. La calidad del suelo como el contenido de materia orgánica y el PH juegan un papel importante en la producción de flores y la atracción de polinizadores, sin embargo, es un aspecto que debe ser evaluado a detalle. Estos resultados son de suma importancia para el mantenimiento de la polinización en los sistemas agrícolas en áreas moderadamente

fragmentadas. Así como, entender cuáles son los factores a nivel local que afectan la abundancia de las abejas. Se espera que la información generada sea de utilidad para la implementación de prácticas de manejo que conserven el servicio de polinización, y por lo tanto favorezcan el incremento de la productividad de los cultivos.

Referencias Bibliográficas

ABBEY, LORD. 2016. Cucurbits Physiological Stages of Growth. In P. Mohammad [ed.], Handbook of Cucurbits, growth, cultural practices, and physiology, 151–169. CRC press.

AIZEN, M. A., L. A. GARIBALDI, S. A. CUNNINGHAM, and A.M. KLEIN. 2009. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of botany* 103: 1579–1588.

ALBRECHT, M., B. SCHMID, and C. HAUTIER, YANN; MULLER. 2012. Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279: 4845–4852.

ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M.E., A. MARÍN-CAMPOS. 2011. Manual de procedimientos analíticos de suelo y planta Laboratorio de Química, Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 65 pp.

ARTZ, D.R., and B. A NAULT. 2011. Performance of *Apis mellifera*, *Bombus impatiens*, and *Peponapis pruinosa* (Hymenoptera: Apidae) as pollinators of pumpkin. *Journal of economic entomology* 104: 1153–1161. Available at:

<http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=0022-0493&volume=104&issue=4&spage=1153>.

- AZURDIA, C. 2014. Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados. Cucurbitas (Cucurbitas spp.). C. Azurdia [ed.]. Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Guatemala.
- BARRETT, S.C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing – selfing paradigm and beyond. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 358: 991–1004.
- BENJAMIN, F.E., J.R. REILLY, and R. WINFREE. 2014. Pollinator body size mediates the scale at which land use drives crop pollination services. *Journal of Applied Ecology* 51: 440–449.
- BIESMEIJER, J.C., S.P.M. ROBERTS, M. REEMER, R. OHLEMULLER, M. EDWARDS, T. PEETERS, P.A. SCHAFFERS, et al. 2006. Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313: 351–354.
- BROSI, B.J., G.C. DAILY, P.R. EHRLICH, S.E., and N. MAR. 2010. Bee Community Shifts with Landscape Context in a Tropical Countryside. *Ecological Society of America* 17: 418–430.
- BROSI, B.J., G.C. DAILY, T.M. SHIH, F. OVIEDO, and G. DURÁN. 2008. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology* 45: 773–783.
- BROWN, J.C., and C. ALBRECHT. 2001. The effect of tropical deforestation on stingless bees of the genus *Melipona* (Insecta: Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in Central Rondonia, Brazil. *Journal of Biogeography* 28: 623–634.

- CALDERONE, N.W. 2012. Insect Pollinated Crops, Insect Pollinators and US Agriculture: Trend Analysis of Aggregate Data for the Period 1992 – 2009. *Plos One* 7: e37235.
- CAMERON, S.A., J.D. LOZIER, J.P. STRANGE, J.B. KOCH, N. CORDES, and L.F. SOLTER. 2011. Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *PNAS* 108: 662–667.
- CAMPBELL, D.R., and K.J. HALAMA. 2012. Resource and Pollen Limitations to Lifetime Seed Production in a Natural Plant Population. *Ecological Society of America* 74: 1043–1051.
- CAMPBELL, J.A., and J.P. VANNINI. 1989. Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Proceedings of the western foundation of vertebrate zoology* 4: 1–21.
- CANE, J.H., and J.A. PAYNE. 1993. Regional, annual, and seasonal variation in pollinator guilds: intrinsic traits of bees (Hymenoptera: Apoidea) underlie their patterns of abundance at *Vaccinium ashei* (Ericaceae). *Annals of the Entomological Society of America* 86(5): 577-588.
- CARDOZA, Y.J., G.K. HARRIS, and C.M. GROZINGER. 2012. Effects of soil quality enhancement on pollinator-plant interactions. *Psyche* 2012: 1–8.
- CARVALHEIRO, L.G., C.L. SEYMOUR, R. VELDTMAN, and S.W. NICOLSON. 2010. Pollination services decline with distance from natural habitat even in biodiversity rich areas. *Journal of Applied Ecology* 47: 810–820.

- CECON. 1999. Plan maestro Biotopo Universitario “Mario Dary Rivera” para la conservación del Quetzal 2,000-2004. Ciudad de Guatemala.
- DRAMSTAD, W., and G. FRY. 1995. Foraging activity of bumblebees (*Bombus*) in relation to flower resources on arable land. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 53: 123–135.
- DUPONT, Y.L., C. DAMGAARD, and V. SIMONSEN. 2011. Quantitative historical change in bumblebee (*Bombus* spp.) assemblages of red clover fields. *Plos One* 6: e25172.
- ENRIQUEZ, E., R. AYALA, V.H. GONZALEZ, and J. NUNEZ-FARFAN. 2015. Alpha and beta diversity of bees and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest. *Pan-Pacific Entomologist* 91: 211–222.
- FREITAS, B.M., V.L. IMPERATRIZ-FONSECA, L.M. MEDINA, A.D.M.P. KLEINERT, L. GALETTO, G. NATES-PARRA, and J.J.G. QUEZADA-EUÁN. 2009. Diversity, threats and conservation of native bees in the Neotropics. *Apidologie* 40: 332–346.
Available at: <http://www.apidologie.org/10.1051/apido/2009012>.
- GARCÍA, B. 1999. El Biotopo Universitario para la Conservación del Quetzal “Mario Dary Rivera”. *Mesoamericana* 4 (2):53–54.
- GARIBALDI, L.A., I. STEFFAN-DEWENTER, R. WINFREE, M.A. AIZEN, R. BOMMARCO, S.A. CUNNINGHAM, C. KREMEN, ET AL. 2013. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science* 339: 1608–1611.
Available at: <http://science.sciencemag.org/content/sci/339/6127/1608.f>

GARIBALDI, L.A., I. STEFFAN-DEWENTER, C. KREMEN, J.M. MORALES, R. BOMMARCO, S.A. CUNNINGHAM, L.G. CARVALHEIRO, ET AL. 2011. Stability of pollination services decreases with isolation from natural areas despite honey bee visits. *Ecology Letters* 14: 1062–1072.

GARRATT, M.P.D., T.D. BREEZE, N. JENNER, C. POLCE, J.C. BIESMEIJER, and S.G. POTTS. 2014. Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 184: 34–40. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.032>.

GEMMILL-HERREN, B., and A.O. OCHIENG. 2008. Role of native bees and natural habitats in eggplant (*Solanum melongena*) pollination in Kenya. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 127: 31–36.

GIRAO, L.C., A.V. LOPES, M. TABARELLI, and E.M. BRUNA. 2007. Changes in tree reproductive traits reduce functional diversity in a fragmented atlantic forest landscape. *Plos One* 2: e908.

GODFRAY, H.C.J., T. BLACQUIERE, L.M. FIELD, R.S. HAILS, G. PETROKOFISKY, S.G. POTTS, N.E. RAINE, ET AL. 2014. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281: 1–9.

GONZÁLEZ-VARO P., J., J.C. BIESMEIJER, R. BOMMARCO, S.G. POTTS, O. SCHWEIGER, H. SMITH, M. STEFFAN-DEWENTER, INGOLF SZENTGYORGY, HAJNALKA WOYCIECHOWSKI, and M. VILA. 2013. Combined effects of global

change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in Ecology & Evolution* 28: 524–530.

GOULSON, D., and W.O.H. HUGHES. 2015. Mitigating the anthropogenic spread of bee parasites to protect wild pollinators. *Biological Conservation* 191: 10–19. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2015.06.023>.

GREENLEAF, S.S., N.M. WILLIAMS, R. WINFREE, and C. KREMEN. 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153: 589–596.

GRUPO INTERINSTITUCIONAL DE MONITOREO DE BOSQUES Y USO DE LA TIERRA. 2014. Mapa de bosques y uso de la tierra 2012 y Mapa de cambios en uso de la tierra 2001- 2010 para estimación de emisiones de gases de efecto invernadero. Documento informativo. 16 pp.

HAMILTON, L.S., J.O. JUVIK, and F.N. SCATENA. 1995. Tropical Montane Cloud Forests. O. L. Lange, H. A. Mooney, and H. Remmert [eds.]. 1st edition. Springer-Verlag, New York, Inc.

HOLZSCHUH, A., J.H. DUDENHÖFFER, and T. TSCHARNTKE. 2012. Landscapes with wild bee habitats enhance pollination, fruit set and yield of sweet cherry. *Biological Conservation* 153: 101–107.

HURD, P.D., E.G. LINSLEY, and A.E. MICHELbacher. 1974. Ecology of the squash and gourd bee, *Peponapis pruinosa*, on cultivated cucurbits in California (Hymenoptera: Apoidea). Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 17.

HURD, P.D., L.E. GORTON, and W.T. W. 1971. Squash and Gourd Bees (Peponapis, Xenoglossa) and the Origin of the Cultivated Cucurbita. *Evolution* 25: 218–234.

INE, 2002. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA -INE-. Censo Nacional Agropecuario. Guatemala.

ISAC, S.A., M. BRENO, S. FERNANDO, and WALTERS. 2016. Pollination in Cucurbit Crops. In P. Mohammad [ed.]. Handbook of Cucurbits, growth, cultural practices, and physiology, 181–200. CRC press. Available at:

<http://www.crcnetbase.com/doi/10.1201/b19233-16>.

JHA, S., and J.H. VANDERMEER. 2010. Impacts of coffee agroforestry management on tropical bee communities. *Biological Conservation* 143: 1423–1431. Available at:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2010.03.017>.

JULIER, H.E., and T.H. ROULSTON. 2009. Wild bee abundance and pollination service in cultivated pumpkins: Farm management, nesting behavior and landscape effects. *Journal of Economic Entomology* 102: 563–573. Available at:

<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-65349103619&partnerID=40&md5=5b72d6409c6fb9591a632c2daba625f4>.

JULCA-OTINIANO, A., L. MENESES-FLORIÁN, R. BLAS-SERVILLANO, and S. BELLO-AMEZ. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA* 24: 49–61.

KEARNS, C.A., D.W. INOUE, N.M. WASER, C.A. KEARNS, and D.W. INOUE. 1998. endangered mutualisms: The Conservation of Plant-Pollinator Interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 83–112.

KERR, J.T., A. PINDAR, P. GALPERN, L. PACKER, S.G. POTTS, S.M. ROBERTS, P. RASMONT, ET AL. 2015. Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science* 349: 177–180.

KLATT, B.K., A. HOLZSCHUH, C. WESTPHAL, Y. CLOUGH, I. SMIT, E. PAWELZIK, and T. TSCHARNTKE. 2014. Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281: 2013-2440.

KLEIN, A.-M., B.E. VAISSIÈRE, J.H. CANE, I. STEFFAN-DEWENTER, S. A CUNNINGHAM, C. KREMEN, and T. TSCHARNTKE. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society* 274: 303–313.

KLEIJN, D., WINFREE, R., BARTOMEUS, I., CARVALHEIRO, L., HENRY, M., ISAACS, R., KLEIN, AM., KREMEN, C., ET AL. 2015. Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation *Nature Communications* 6:8

KREMEN, C., N.M. WILLIAMS, M. A. AIZEN, B. GEMMILL-HERREN, G. LEBUHN, R. MINCKLEY, L. PACKER, ET AL. 2007. Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters* 10: 299–314.

KREMEN, C., N.M. WILLIAMS, R.L. BUGG, J.P. FAY, and R.W. THORP. 2004. The area requirements of an ecosystem service: Crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7: 1109–1119.

KRISHNAN, S., C.G. KUSHALAPPA, R.U. SHAANKER, and J. GHAZOUL. 2012. Status of pollinators and their efficiency in coffee fruit set in a fragmented landscape mosaic in South India. *Basic and Applied Ecology* 13: 277–285.

LANDAVERDE-GONZÁLEZ, P., E. ENRÍQUEZ, M.A. ARIZA, T. MURRAY, R.J. PAXTON, and M. HUSEMANN. 2017. Fragmentation in the clouds? The population genetics of the native bee *Partamona bilineata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in the cloud forests of Guatemala. *Conservation Genetics* DOI 10.1007/s10592-017-0950-x

LANDAVERDE-GONZÁLEZ, P., J.J.G. QUEZADA-EUÁN, P. THEODOROU, T.E. MURRAY, M. HUSEMANN, R. AYALA, H. MOO-VALLE, et al. 2016. Sweat bees on hot chillies: provision of pollination services by native bees in traditional slash-and-burn agriculture in the Yucatán Peninsula of tropical Mexico. *Journal of Applied Ecology*. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/1365-2664.12860>.

LAU, T.C., and A. STEPHENSON. 1994. Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction* 7: 215–220.

LE CONTE, Y., M. ELLIS, and W. RITTER. 2010. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie* 41: 353–363.

LENNARTSSON, T. 2002. Extinction thresholds and disrupted plant-pollinator interactions in fragmented plant populations. *Ecology Letters* 83: 3060–3072.

LOWENSTEIN, D.M., A. S. HUSETH, and R.L. GROVES. 2012. Response of Wild Bees (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila) to Surrounding Land Cover in Wisconsin Pickling Cucumber. *Environmental Entomology* 41: 532–540. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732611>.

MACIAS-MACIAS, O., J. CHUC, P. ANCONA-XIU, O. CAUICH, and J.J.G. QUEZADA-EUÁN. 2009. Contribution of native bees and Africanized honey bees (Hymenoptera : Apoidea) to Solanaceae crop pollination in tropical México. *Journal of Applied Ecology* 133: 456–465.

MARINI, L., G. TAMBURINI, E. PETRUCCO-TOFFOLO, S.A.M. LINDSTRÖM, F. ZANETTI, G. MOSCA, and R. BOMMARCO. 2015. Crop management modifies the benefits of insect pollination in oilseed rape. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 207: 61–66.

MELÉNDEZ-RAMIREZ, V., S. MAGANA-RUEDA, V. PARRA-TABLA, R. AYALA, and G. NAVARRO. 2002. Diversity of native bee visitors of cucurbit crops (cucurbitaceae) in Yucatán, México. *Journal of Insect Conservation* 6: 135–147.

MICHENER, C. D. 2000. *The bees of the world* (Vol. 1). JHU press.

MORALES, C.L., M.P. ARBETMAN, S.A. CAMERON, and M.A. AIZEN. 2013. Rapid ecological replacement of a native bumble bee by invasive species. *Frontiers in ecology and the environment* 11: 529–534.

MOTZKE, I., A.-M. KLEIN, S. SALEH, T.C. WANGER, and T. TSCHARNTKE. 2016. Habitat management on multiple spatial scales can enhance bee pollination and crop yield in tropical homegardens. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 223: 144–151. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880916301281>.

MUÑOZ, A.A., C. CELEDON-NEGHME, L.A. CAVIERES, and M.T.K. ARROYO. 2005. Bottom-up effects of nutrient availability on flower production, pollinator visitation, and seed output in a high-Andean shrub. *Oecologia* 143: 126–135.

OLLERTON, J., R. WINFREE, and S. TARRANT. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120: 321–326.

ORDONEZ, N. 1999. Diversidad de Mamíferos Menores en Cuatro Bosques Nubosos del Núcleo de Centroamérica. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala.

PHILLIPS, B.W., and M.M. GARDINER. 2015. Use of video surveillance to measure the influences of habitat management and landscape composition on pollinator visitation and pollen deposition in pumpkin (*Cucurbita pepo*) agroecosystems. *PeerJ* 3: e1342. Available at: <https://peerj.com/articles/1342>.

PINKUS-RENDON, M.A., V. PARRA-TABLA, and V. MELÉNDEZ-RAMÍREZ. 2005. Floral resource use and interactions between *Apis mellifera* and native bees in cucurbit crops in Yucatán, México. *The Canadian Entomologist* 137: 441–449.

POTTS, S.G., J.C. BIESMEIJER, C. KREMEN, P. NEUMANN, O. SCHWEIGER, and W.E. KUNIN. 2010. Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 345–353.

R Core Team, 2014.

RECOSMO, 2007. Proyecto regional de conservación y desarrollo sostenible Sarstún-Motagua –RECOSMO-. Creación de una red ambientalista regional en Guatemala. Guatemala.

RICKETTS, T.H. 2004. Tropical forest fragments enhance pollinator activity in nearby coffee crops. *Conservation Biology* 8: 1262–1271.

RICKETTS, T.H., J. REGETZ, I. STEFFAN-DEWENTER, S. A. CUNNINGHAM, C. KREMEN, A. BOGDANSKI, B. GEMMILL-HERREN, ET AL. 2008. Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? *Ecology Letters* 11: 499–515.

ROUBIK, D.W. 1992. Ecology and natural history of tropical bees. first edit. Cambridge University Press., New York, USA.

ROUBIK, D.W., and R. VILLANUEVA-GUTIÉRREZ. 2009. Invasive Africanized honey bee impact on native solitary bees: A pollen resource and trap nest analysis. *Biological Journal of the Linnean Society* 98: 152–160.

SÁROSPATAKI, M., R. BAKOS, A. HORVÁTH, D. NEIDERT, V. HORVÁTH, D.

VASKOR, Ě. SZITA, and F. SAMU. 2016. The role of local and landscape level factors in determining bumblebee abundance and richness. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 62: 387–407.

SATURNI, F.T., R. JAFFÉ, and J.P. METZGER. 2016. Landscape structure influences bee community and coffee pollination at different spatial scales. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 235: 1–12. Available at:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016788091630500X>.

SCHUSTER, J.C., E.B. CANO, and C. CARDONA. 2000. Un Método sencillo para priorizar la conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando Passalidae (Coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zoológica Mexicana* 80: 197–209.

SEGEPLAN, 2011. Secretaría general de planificación –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Purulhá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.

SEGEPLAN, 2010. Secretaría general de planificación –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Salamá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.

SHULER, R.E., T. A I.H. ROULSTON, and G.E. FARRIS. 2005. Farming Practices Influence Wild Pollinator Populations on Squash and Pumpkin. *Journal of Economic Entomology* 98: 790–795.

TSCHARNTKE, T., A.M. KLEIN, A. KRUESS, I. STEFFAN-DEWENTER, and T. CARSTEN. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters* 8: 857–874.

VANBERGEN, A.J. 2013. Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in ecology and the environment*. doi:10.1890/120126

VANBERGEN, A.J., M.S. HEARD, T. BREEZE, S.G. POTTS, and N. HANLEY. 2014. Status and value of pollinators and pollination services. UK.

- VANGESTEL, C.A.M. 1996. Phytotoxicity of some chloroanilines and chlorophenols in relation to bioavailability in soil. *Water, Air and Soil Pollution* 88(1-2): 119-132.
- VIANA, B.F., D. BOSCOLO, E.M. NETO, L.E. LOPES, A. V. LOPES, P.A. FERREIRA, C.M. PIGOZZO, and L.M. PRIMO. 2012. How well do we understand landscape effects on pollinators and pollination services? *Journal of Pollination Ecology* 7: 31–41.
- WALTERS, S.A., and B.H. TAYLOR. 2006. Effects of Honey Bee Pollination on Pumpkin fruit and seed yield. *HortScience*, 41(2): 370-373.
- WIEN, H. 1997. The cucurbits: cucumber, melon, squash and pumpkin. In: The physiology of vegetable crops. New York: CAB International, Oxford, 345–386.
- WILLIAMS-LINERA, G. 1997. Phenology of deciduous and broadleaved-evergreen tree species in a Mexican tropical lower montane forest. *Global Ecology and Biogeography Letters* 6: 115–127.
- WILLIAMS-LINERA, G., R.H. MANSON, and E. ISUNZA. 2002. La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosques* 8: 73–89. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:La+fragmentaci?n+del+bosque+mes?filo+de+monta?a+y+patrones+de+uso+del+suelo+en+la+regi?n+oeste+de+Xalapa+,+Veracruz+,+M?xico#0>.
- WINFREE, R., R. AGUILAR, D.P. VÁZQUEZ, G. LEBUHN, and M. A. AIZEN. 2009. A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* 90: 2068–2076.

YURRITA, C.L., and M. VÁSQUEZ. 2013. Stingless Bees of Guatemala. In: VIT, P., S.R., Pedro, and D. ROUBIK. (Eds.). Pot-honey: a legacy of stingless bees. Springer New York. pp. 99-111

ZAMBRANO, G., GONZÁLES, V., HINOJOSA-DÍAZ, I., ENGEL, M. 2013. Bees visiting squash (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) in southwestern Colombia (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Melittology* 18: 1–5.

TABLAS y FIGURAS

Tabla 1. Ubicación y descripción del paisaje local de cada uno de los cultivos experimentales de *Cucurbita pepo* en el CBN.

No.	Localidad	Código	Coordenadas	Altitud (m.s.n.m)	Paisaje local alrededor de los cultivos	Bosque (%)	Hábitat Natural (%)	Vegetación secundaria (%)
1	Purulha	PU1	15°14'21.0"N 90°13'11.0"O	1559	Vegetación secundaria, agricultura y bosque.	0.03	0.12	0.08
2	Purulhá	PU2	15°14'22.39"N 90°13'46.47"O	1581	Área sub-urbana, vegetación secundaria y bosque.	0.03	0.12	0.09
3	Repollal	REP1	15°15'50.0"N 90°12'46.4"O	1970	Vegetación secundaria y bosque.	0.27	0.60	0.33
4	Panzal	PAN2	15°15'36.5"N 90°08'11.9"O	1324	Bosque y Agricultura	0.31	1	0
5	Chipacay	CH1	15°17'23.1"N 90°13'18.25.2"O	1551	Vegetación secundaria Agricultura y bosque	0.24	0.44	0.21
6	Chipacay	CH2	15°17'09.5"N 90°13'02.34"O	1699	Vegetación secundaria Agricultura y bosque.	0.11	0.50	0.39
7	Repollal	REP2	15°16'11.7"N 90°12'14.9"O	2137	Agricultura, Vegetación secundaria y Bosque.	0.20	0.49	0.29
8	Repollal	REP3	15°15'56.80"N 90°12'39.6"O	2050	Agricultura y Vegetación secundaria.	0.04	0.21	0.17
9	Unión Barrios	UB1	15°11'00.4"O 90°11'55.9"O	1622	Agricultura vegetación secundaria y bosque.	0.06	0.14	0.08
10	Unión Barrios	UB2	15°10'44.2"O 90°12'10.1"O	1629	Área urbana y agricultura.	0	0	0

Tabla 2. Eigenvectores de cada uno de los componentes principales, obtenidos de la estructura del paisaje local en los cultivos experimentales de *C. pepo*.

Componentes del paisaje	Código	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
Agricultura	AGR	0.04962	-0.61036	-0.51241	-0.07498	0.15798	0.57607
Pastizales	PAS	-0.44329	0.07158	0.05995	0.84967	0.10140	0.25012
Área Urbana	URB	-0.51861	0.20779	0.40114	-0.48672	0.15555	0.51562
Vegetación Secundaria	VEGSEC	0.36965	-0.37769	0.65200	0.14642	-0.43790	0.28708
Bosque	BOS	0.57889	0.28069	0.17755	0.11507	0.69931	0.22866
Cafetal	CAF	0.24561	0.59810	-0.34104	0.02935	-0.50967	0.45278

Tabla 3. Selección de los modelos por medio de modelos lineales generalizados para evaluar el efecto de la comunidad de abejas en la producción de *C. pepo*; así como el efecto del paisaje local y la calidad el suelo en la comunidad de abejas importantes para la producción de *C. pepo*.

Variable respuesta	Variable predictiva	Familia	Coefficiente de regresión estandarizado	Error estándar	z value	P (> t 6 DF)	
Efecto de la comunidad de abejas en la producción de frutos y semillas de <i>C. pepo</i>							
Producción de frutos	Abundancia <i>B. ephippiatus</i>	poisson	1.1716	0.3861	4.685	2.79E-06	***
	Abundancia especies dominantes	poisson	0.0670	0.0170	0.307	0.7587	
	Riqueza total	poisson	0.0524	0.2803	0.149	0.8856	
Producción de semillas	Abundancia <i>P. bilineata</i>	poisson	1.1398	0.3402	2.703	0.0069	**
	Abundancia <i>B. ephippiatus</i>	poisson	0.1582	2.8088	0.606	0.5448	
	Abundancia abejas dominantes	poisson	0.0188	0.1093	0.093	0.9256	
	Abundancia abejas silvestres	poisson	-0.4437	0.2977	-1.004	0.3154	
	Riqueza total	poisson	-0.4103	0.5632	-4.047	5.18E-05	***
Efecto del paisaje y el suelo en las abejas							
Riqueza	Proporción de pastizales	Gaussian	-0.0846	19.607	-0.308	0.7708	
	Proporción de Vegetación secundaria	Gaussian	0.6096	16.588	2.316	0.0684	.
	Proporción de bosque	Gaussian	-1.6221	47.314	-2.58	0.0494	*
	Proporción de hábitat natural	Gaussian	1.5533	17.532	2.534	0.0423	*
	Materia orgánica en el suelo	Poisson	-0.6694	0.251	-4.838	1.31E-06	***
	PH del suelo	Poisson	-0.1453	1.324	-1.108	0.2677	
	Distancia al fragmento más cercano	Poisson	0.3004	0.017	20251	0.0244	*

<i>Partamona bilineata</i>	Proporción de pastizales	Gaussian	-0.1536	138.96	-0.543	0.6067	
	Proporción de Vegetación secundaria	Gaussian	-0.8357	117.36	-3.091	0.02135	*
	Proporción de bosque	Gaussian	0.0917	148.12	0.321	0.75925	
	Componente principal 1	Gaussian	0.3749	12.05	1.473	0.1912	
	Componente principal 2	Gaussian	-0.4653	10.4	-1.831	0.1169	
	Componente principal 4	Gaussian	-0.5415	16.97	-2.13	0.0772	.
	PH del suelo	Poisson	0.3847	2.999	8.88	< 2e-16	***
	Distancia al fragmento más cercano	Poisson	0.2813	0.040	6.041	1.53E-09	***
<i>Bombus ephipiatus</i>	Proporción de pastizales	Gaussian	-0.1534	10.56	-0.535	0.6208	
	Proporción de área urbana	Gaussian	0.4120	5.62	1.316	0.2586	
	Proporción de Vegetación secundaria	Gaussian	1.2385	14.174	2.846	0.0466	*
	Proporción de bosque	Gaussian	-0.9061	17.998	-1.958	0.1219	
	Proporción de cafetales	Gaussian	0.7027	9.647	1.494	0.2094	
	Componente principal 3	Gaussian	0.0524	1.539	-1.429	0.19096	
	PH del suelo	poisson	-0.0140	0.927	-0.078	0.9375	
	Distancia al fragmento más cercano	poisson	0.4444	0.013	2.237	0.0253	*
Materia orgánica en el suelo	poisson	-0.4431	0.174	-2.378	0.0174	*	

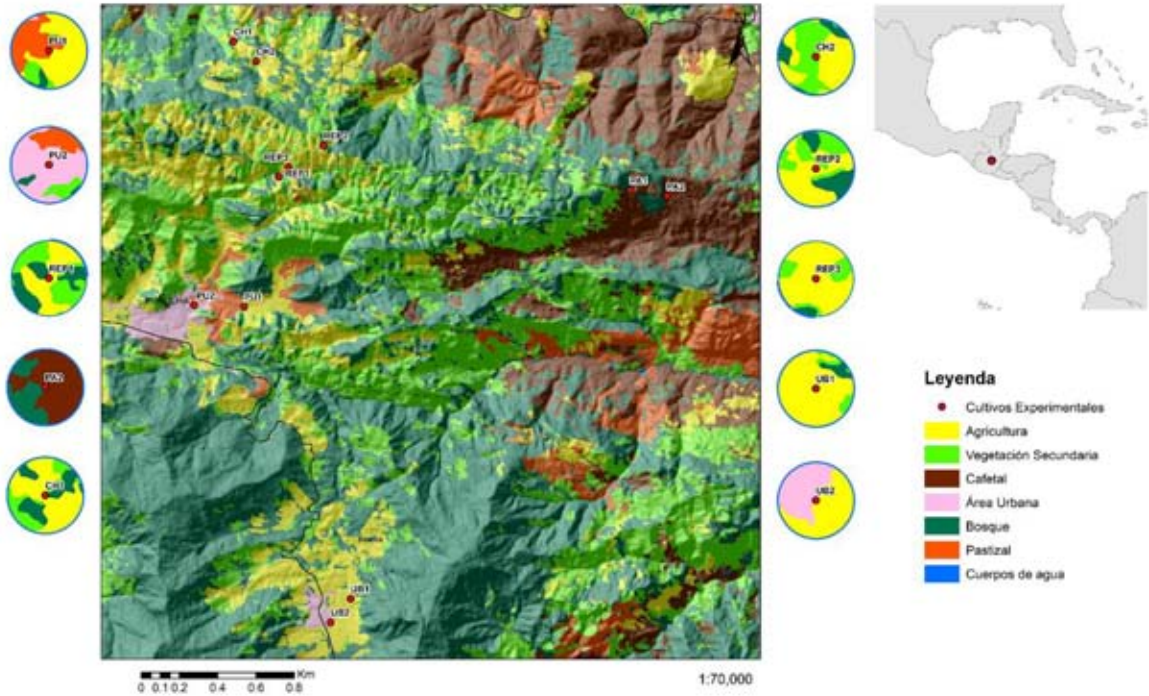


Figura 1. Sitio de estudio y ubicación de cultivos experimentales de *Cucurbita pepo* en el Corredor del Bosque nuboso, Baja Verapaz, Guatemala. Localidades: Chipacay (CH), Panzal (PA), Purulhá (PU), Repollal (RE), and Unión Barrios (UB). El número luego de la abreviación de la localidad indica el número de cultivo experimental.

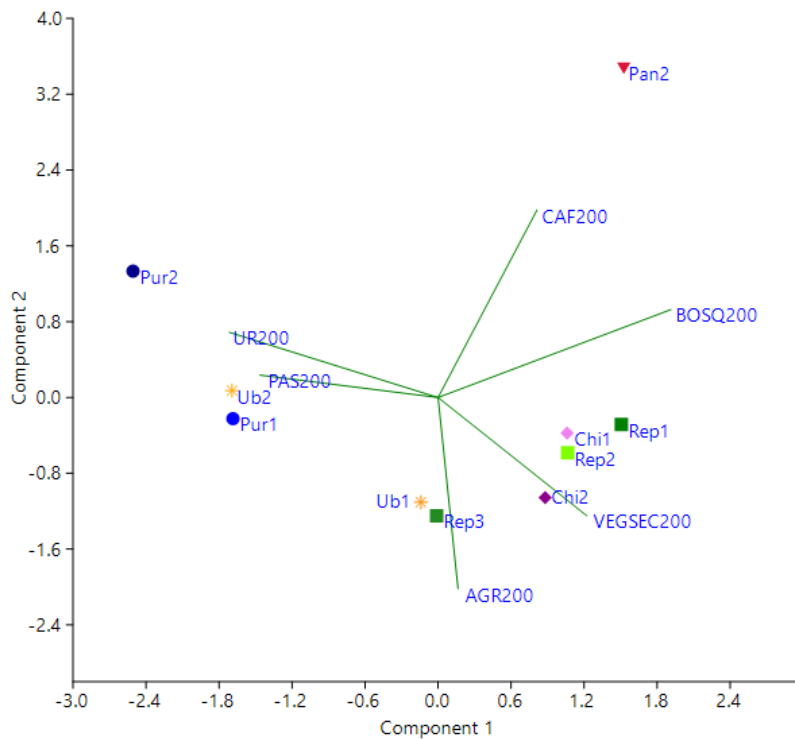


Figura 2. Representación de la heterogeneidad del paisaje a un buffer de 200 mts alrededor de cada cultivo. AGR (agricultura), VEGSEC (Vegetación secundaria), BOS (Bosque), CAF (Cafetal), PAS (Pastizal), URB (Área urbana). El componente principal 1 explica el 36.4% de la varianza y el componente principal 2 explica el 34.0% de la varianza (ambos componentes explican el 70.4 % de la varianza).

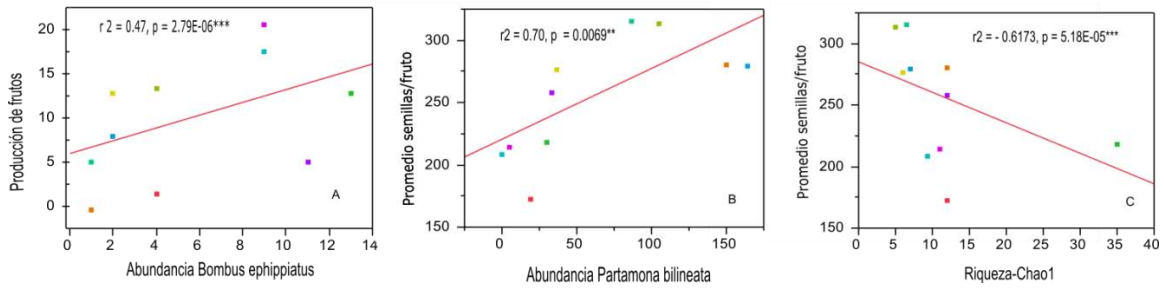


Figura 3. Efecto de riqueza total, abundancia de *Bombus ephippiatus* y *Partamona bilineata*, en la producción de frutos y semillas de *Cucurbita pepo*

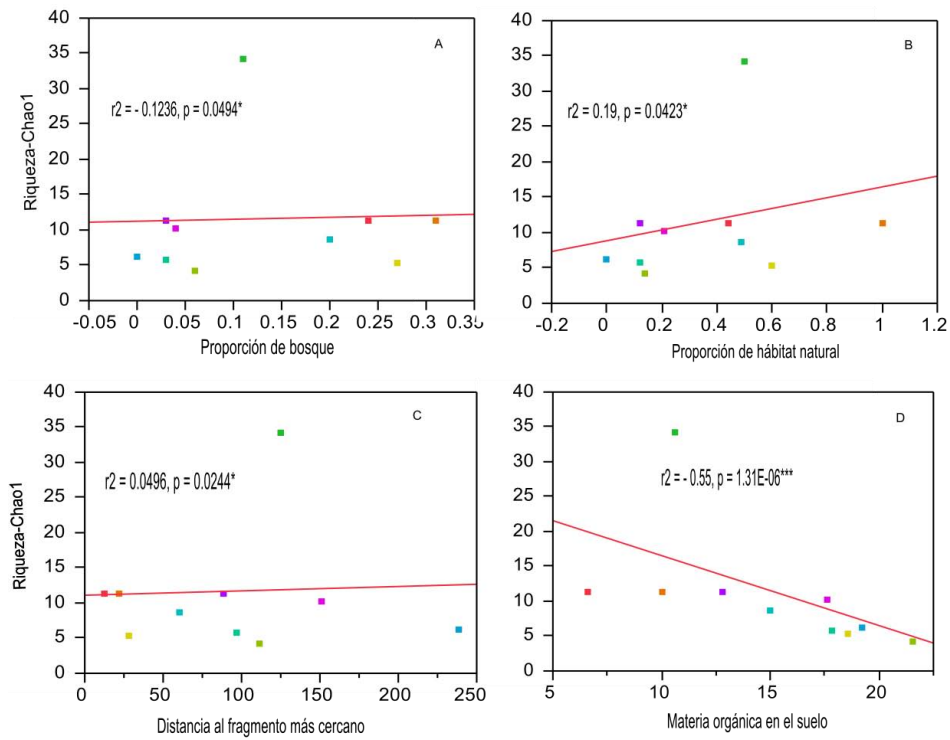


Figura 4. Efecto de la proporción de vegetación secundaria, de bosque y de hábitat natural, así como la materia orgánica en el suelo, sobre la riqueza total de abejas en los cultivos de *Cucurbita pepo*

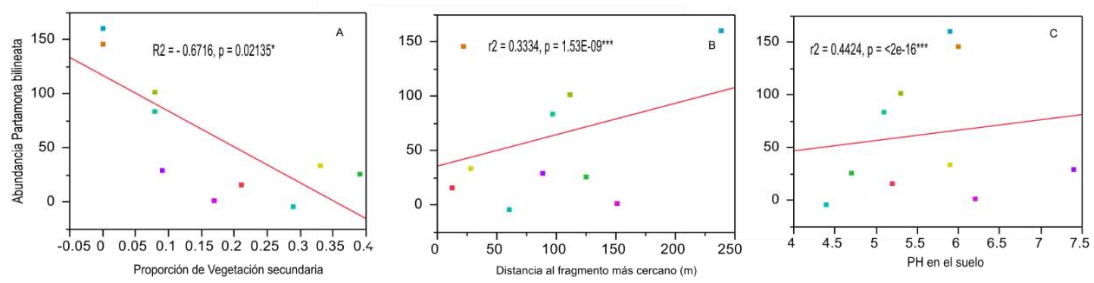


Figura 5. Efecto de la proporción de vegetación secundaria, distancia al fragmento más cercano, así como el Ph en el suelo, sobre la sobre la abundancia de *Partamona bilineata*, en los cultivos de *Cucurbita pepo*.

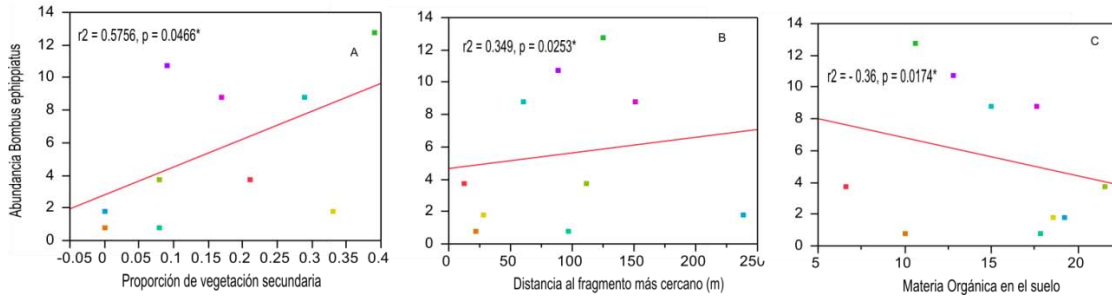


Figura 6. Efecto de la proporción de vegetación secundaria, distancia al fragmento más cercano y Materia orgánica en el suelo, sobre la abundancia de *Bombus ephippiatus* en los cultivos de *Cucurbita pepo*

Capítulo III. Population genetics of traditional landrace of *Cucurbita pepo* in the cloud forest in Baja Verapaz, Guatemala

Artículo enviado a la revista Genetic Resources and Crop Evolution

Population genetics of traditional landrace of *Cucurbita pepo* in the cloud forest in Baja Verapaz, Guatemala

E. Enríquez

Unidad para el Conocimiento, Uso y Valoración de la Biodiversidad, Centro de Estudios Conservacionistas–CECON-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

P. Landaverde

General Zoology, Institute for Biology, Martin-Luther University Halle-Wittenberg, Hoher Weg 8, 06120 Halle (Saale), Germany.

R. Lima, E. Solórzano

Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

E. Enríquez, R. Tapia-López, J. Nuñez-Farfán (author for correspondence)

Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Autónoma de México, AP 70-275 Distrito Federal 04510, México.

e-mail: farfan@unam.mx

Abstract

Little is known regarding the effect of fragmentation and human agricultural management on the genetic variation and gene flow of *Cucurbita pepo* in moderate fragmented areas in central Guatemala. Here, we aim to determine: (i) the genetic diversity and structure of *C. pepo* in the Cloud Forest Corridor -CFC- (ii) the extent of genetic admixture between commercial -CV- and traditional landraces -TL- of *C. pepo*, (iii) the effect of habitat fragmentation in the population genetics of *C. pepo* with a landscape approach, and (iv) the potential relationship between traditional management practices and genetic diversity of *C. pepo* in the CFC. We detected the existence of high level of genetic diversity ($RA=3.43$; $He=0.50$), inbreeding ($Fis=0.25$) and moderate population structure of *C. pepo* in the CFC ($Fst=0.16$). No correlation between landscape and genetics was found. Also, we found high genetic admixture between CV and TL. It seems that human practices, mainly related with seed exchange patterns, could affect genetic diversity of *C. pepo* in the CFC. *Cucurbita pepo* populations in the CFC are structured, with inbreeding, and show admixture with the commercial variety, an aspect that could affect its genetic diversity. The agricultural management influenced the population genetics of *C. pepo* in the CFC, but the landscape did not. We suggest that special efforts should be made to preserve the diversity of this important indigenous food source for Guatemalan people as well as their management practices.

Key words

Cucurbita pepo; genetic diversity; genetic admixture; Guatemala; traditional landraces; traditional knowledge.

Acknowledgments

We are grateful to Dr. Carlota Monroy and Dr. Ricardo Ayala, members of the Ph. D. Advisor Committee of E.E. for their guidance during her studies. Thanks to the administrative staff and the forest guard of the Quetzal Conservation Biotope in Baja Verapaz, Guatemala. Dr. M. Quesada kindly provided two of the microsatellite's primers used in this study (CMTp 201 and CMTp 245; project SEP-CONACYT 2009-131008). Dr. Luis Eguiarte kindly provided valuable recommendations. E.E. acknowledges the Graduate Program in Biological Sciences of the National Autonomous University of Mexico (UNAM). Financial support for this project was provided by the Science and Technology National Fund of Guatemala (FODECYT 15-2011) granted to E.E. Enríquez; and from the Laboratory of Ecological Genetics and Evolution, Institute of Ecology, National Autonomous University of Mexico UNAM.

Introduction

Defined as a landscape-scale process involving both habitat loss and isolation between habitats (Fahrig 2003), habitat fragmentation is one major drivers of ecosystem change and biodiversity loss (Ahrens and James 2016). Negative effects of habitat fragmentation on genetic variability have been found, with increasing genetic divergence of between plant populations due to increased random genetic drift and inbreeding, and reduction in gene flow (Aguilar et al. 2008). Plant species with a high degree of specialized pollination will be more vulnerable to the disruption of pollination mutualism induced by habitat fragmentation (Aguilar et al. 2006). However, given current rates of habitat fragmentation and degradation of tropical ecosystems -and their wealth of diversity-, investigation of the effects of fragmentation on tropical species diversity, which are mainly dispersed by animal, are badly needed (Young et al. 1996).

Mesoamerica is a dramatically diverse agroecological region which harbors a high concentration of crop diversity (Galluzzi and López 2014), and considered an important center of plant domestication (Vavilov 1951) and where agriculture was first practiced in the Americas (Casas et al. 2007). Therefore, domesticated plants and their wild relatives are present in this region, as a result of human and natural-driven evolution (Galluzi and López 2014). The human-driven evolution of native domesticated plants includes farming traditional practices that play a key role in shaping the genetic structure of crops (Bellon 1996). By the other side, habitat fragmentation, affect genetic diversity of populations, principally in outcrossing mating systems plants that are the animal-pollinated (Young et al.

1996). In spite their importance, native domesticated plants have not been assessed under a landscape approach integrated with human managed approach.

The wide genetic diversity of crops is still maintained in farms through the use of different landraces (Jarvis et al. 2008). High levels of genetic diversity are common in both sexually and clonally propagated crops (Mutegi et al. 2011). Farmer practices strongly affect the dynamics of genetic diversity of crops by increasing the effect of drift, selection and gene flow. The selection of small number of individuals for the next cycle of cultivation has a direct impact on genetic diversity and structure, promoting genetic drift (González-Jara et al. 2011). In addition, farmers still prefer to acquire seeds from farmers in the same community (Perales et al. 2005). Finally, farmers have an impact on pollen flow through the spatial organization of their fields; it is not rare to find several landraces mixed in one field (Barnaud et al. 2007); gene flow is thus highly influenced by the farmers' management of wild plants as well (Zizumbo-Villarreal et al. 2005). The impacts of these practices on the genetic structure may vary depending on the plants' reproductive system. Farmers' practices are influenced by agronomical considerations in addition to the traditional ecological knowledge associated with the crop concerned. This knowledge could be the most fragile component of agricultural systems and is subject to rapid change (Vigouroux et al. 2011).

Cucurbita pepo is an outcrossing and pollinator-dependent plant (Isac et al. 2016), that is native to semi-arid and temperate regions of North America. *Cucurbita pepo* was domesticated at least twice, in Mexico ca. 10,000 years ago and in the United States ca. 4000 years ago (Paris 2016). Archaeological and historical studies have revealed the

cultural importance of *C. pepo* to ancient cultures and their descendants (Turner II and Miksicek 1984; Ximenez 1972). Nowadays, *C. pepo*, corn and beans, continue to play an important role in the diet and culture of humans across Mesoamerica (Lira et al. 1998; Merrick 1995). *Cucurbita pepo* is one of the most variable species (Paris H.S et al. 2003), displaying high morphological diversity among landraces from different centers of diversity (Rios et al. 1997; Wessel-Beaver 1998). A recent investigation employing simple sequence repeats (SSRs) has shown that *C. pepo* contains by far the greatest genetic variation of the species in the genus *Cucurbita* (Gong et al. 2013). However, little is known regarding the effect of fragmentation and human agricultural management in the genetic variation and gene flow of *C. pepo* in moderately fragmented areas, as the one found in the center of Guatemala.

We conducted this study in the Cloud Forest Corridor (CFC), in Baja Verapaz, Guatemala. This site is a moderately fragmented montane cloud forest inhabited by Mayan q'eqchi people. In this study, we aim to assess (i) the genetic diversity and structure of *C. pepo* in the CFC, (ii) the extent of genetic admixture between the commercial -CV- and traditional landraces -TL- of *C. pepo*, (iii) the effect of habitat fragmentation on population genetics of *C. pepo* with landscape approach, and (iv) the potential relationship between traditional management practices and genetic diversity of *C. pepo* in the CFC.

Materials and Methods

Study site

We surveyed cultivars of *C. pepo* in the area corresponding to the CFC (RECOSMO 2007), in the center of Guatemala, Department of Baja Verapaz, in the municipalities of Salamá,

Purulhá and San Jerónimo. The CFC have 28,638.9 ha and connects the natural reserve “The quetzal conservation Biotope Mario Dary Rivera” and the biosphere reserve “Sierra de las minas” (CECON 1999). The annual mean temperature and precipitation in the study area are 18.1 °C and 2092.4 mm, respectively (García 1999; CECON 1999). The elevations range between 500 and 2,348 m a.s. l. and have slopes between 45 to 60 grades (CECON 1999). The CFC vegetation includes large tree ferns, epiphytes and a mixed canopy of temperate deciduous trees and tropical broad-leaved evergreen trees (Williams-Linera 1997). The CFC is characterized by having both high levels of endemism and biodiversity (Campbell and Vannini 1989; Ordóñez 1999; Schuster et al. 2000; RECOSMO 2007). Different groups of indigenous people live in the CFC (Q’echi and Pocomchi Mayan people). Thus, is an important area due to its high levels of natural and cultural biodiversity. In the municipality of Purulhá most inhabitants are Mayan people (92.4%), while in Salamá municipality most are Mestizo people (77.54%) (SEGEPLAN 2010; SEGEPLAN 2011; INE 2002).

Populations, plant tissue sampled and DNA extraction

Seven *C. pepo* cultivars from the CFC were selected and sampled for analysis; six were traditional landraces (TL) and one was the commercial variety (CV). Traditional landraces (TL) are the local landrace where the selected traits by the farmers are associated with traditional agriculture; and commercial variety (CV) was the landrace where the selected traits by the farmers are associated to market pressure in recent years. The CV has been brought from other regions of Guatemala (maybe Chimaltenango) and adapted to CFC almost 40 years ago.

Five *C. pepo* cultivars were collected in Purulhá [CV Repollal (RP-C), TL Repollal (RP-T), TL Orejuelo (OR-T), TL Jute (JU-T), and TL Durazno (DU-T)], and two in Salamá [TL Chilascó (CH-T) and TL Unión Barrios (UB-T)] (Table1_ESM1).

Young leaf tissue was collected from 15-37 (Mean =23.01; SD=6.12) individual plants in each cultivar. DNA extraction was carried out following the CTAB protocol (Doyle and Doyle, 1987). DNA quality and quantity were verified by electrophoresis on 1% agarose gels with 1 X TBE buffer. After staining with ethidium bromide, banding patterns were recorded with an UV transilluminator.

DNA amplification

Ten polymorphic microsatellite loci from *Cucurbita moschata* (Gong et al. 2008) (Table2_ESM1) were used to amplify *C. pepo* DNA fragments. Microsatellite reaction mixture and PCR protocols were as described by Gong et al. (2008) and modified as follow:

Standardized PCR reactions were performed using 12 µl reactions: 50-100 ng of genomic DNA, 1X PCR buffer (BioTecMol), 2.5 mM MgCl₂ (BioTecMol), 0.25 mM dNTPs (BioTecMol), 0.5 µM of each primer (fluorescent with either 6-FAM, NED, PET, VIC) and 0.25 units of TaqDNA polymerase (BioTecMol). In a thermocycler PTC-100 (MJ Research™, California, CA, USA), a touchdown PCR was done as follow: Denaturing 2 min at 95 °C. Seven cycles of 45 s denaturing at 94 °C, 45 s annealing at 50-60 °C (depending on the primer), and 60 s of elongation at 72 °C. Following 30 cycles as follow: 45 s denaturing at 94 °C, 45 s annealing at 54 °C and 60 s of elongation at 72 °C. The reactions were followed by 5 min final extension at 72 °C. The amplified microsatellite

products were visualized by electrophoresis, and sent to genotyping at the Institute of Biology, UNAM in an ABI 3500XL Sequencer.

Data analysis

We used GeneMarker software v 2.4.0 (Softgenetics LLC, State College, PA, 2002) to construct the allelic matrix per microsatellite assayed. After checking for linkage disequilibrium (LD) with the software Genepop V 1.2 (Rarmond M, Rousset F 1995), we eliminated two out of 10 microsatellite loci due to significant linkage (Table2_ESM1). Thus, eight microsatellite loci were used in subsequent analyses. Allelic frequencies of each *C. pepo* population were estimated from genotypes frequencies at each microsatellite locus. To test genotyping errors in the microsatellite data (null alleles, alleles dropout and stutter peaks) we used Micro-Checker software (Van Oosterhout et al. 2004).

Genetic diversity and structure

For each population of *C. pepo* we obtained the percentage of polymorphic loci (p^{\wedge}), mean allelic richness (AR), mean observed and expected heterozygosity (H_o , H_e , respectively), and fixation index (F) (Wright 1965), using the GenAlEx v 6.5 program (Peakall and Smouse 2012). Estimates of allelic richness (AR) and Heterozygosity (He) were used as measures of genetic variation. AR includes a correction for sampled size with rarefaction executed in PAST v.3. To determine whether differences in genetic diversity between sites exist and are not an artefact of the interlocus variability of microsatellite markers, we ran a linear mixed effect model (lme) (Crawley 2007), accounting for spatial autocorrelation (corClasses), using site as a fixed and loci as a random effect, with the package nmle (Pinheiro et al. 2016) in R v.3.1.0 (R Core Team 2015). The model was run for allelic

richness after rarefaction (AR) and for the observed heterozygosity (He) across all sites. Multiple re-sampling, changing one individual per site, was used to test the statistical support of analyses.

The distribution of genetic variation within and among populations of *C. pepo* was estimated by Wright's (1965) F-statistics (FST , FIS , FIT) and by AMOVA, following (Excoffier et al. 1992) with ARLEQUIN v 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). Statistical significant departures from zero of F , FST , FIS , and FIT were assessed using the nonparametric Wilcoxon signed rank test. Finally, to infer the number of genetic clusters and the level of admixture in *C. pepo* we used the Bayesian-based program STRUCTURE v 2.3.3 (Pritchard et al. 2000) under the admixture model (allows that everyone shows the probability to belong to), without informative priors about the sampling location. The burn-in period and the number of MCMC repetitions were set at 50,000. K was set at 1–10 and 10 iterations for each possible K tested. The number of genetic clusters (K) was obtained following Evanno et al. (2005) with Structure harvester V.0.6.94 (Earl 2012). The wright's Fst genetic distance was used to construct an UPGMA dendrogram after allowing 10,000 replicate bootstrap test, using TFPGA program version 1.3 (Miller 1997). Clustering of populations was carried out by principal coordinate analysis (PCoA) using the GenAlEx program 6.5 (Peakall and Smouse 2012).

To estimate recent migration rates among *C. pepo* populations in the CFC we used the bayesian approach implemented in BAYESASS v.1.3 (Wilson and Rannala 2003). To test for a demographic bottleneck, we used the program BOTTLENECK (Piry et al. 1999) with

1000 iterations under the assumptions of the Stepwise Mutation Model (SMM) and the Two-Phase Mutation Model (TPM, variance=20 and proportion of SMM=95%).

The extent of genetic admixture between commercial CV and TL

To test the extent of genetic admixture between TL and CV, we also use Bayesian approach with BAYESASS v.1.3 (Wilson and Rannala 2003). We performed an assignment test obtaining the number of times that everyone was assigned to each population and time states. An individual could be assigned to the same population to which it was originally classified (state=0). When an individual is assigned to a population different to which it was classified (state=2), is it considered an offspring of a migrant individual (Wilson and Rannala 2003; Faubet and Gaggiotti 2007). In this way, under no admixture between TL and CV, not different states are expected to derive from CV. BAYESASS was run for migration rate and assignment analysis for 10 million iterations, with a sampling frequency of 2,000 and a burn-in of 10%. Delta values for allele frequencies (A), migration rates (M) and inbreeding (F) were left as default.

Population genetics and fragmentation

To determine if genetic and geographic distances among populations are correlated, a Mantel test (Mantel 1967) using genetic distance (Weir's F_{ST}) and geographic distance (both log transformed) was performed with the isolation by distance software –IBDWS- v 3.23 (Jensen et al. 2005). To test for the effect of landscape (forest cover, agricultural land cover, elevation; and a geographic resistance matrix in which all pixels had the same value as a null-model) on genetic differentiation of *C. pepo* populations, we used the same

methods for isolation by resistance (IBR) and raster data files from the CFC area as described for the same region in Landaverde-González et al. (2017).

Genetic diversity and traditional management

We interviewed twenty farmers cultivating *C. pepo* cultivars (Twelve in Purulhá and nine in Salamá Municipality) (Table3_ESM1). The interviewed farmers were between 27 to 75 years old (Mean=45.2; SD=15.6); 75% of them attended elementary school and the rest had not any formal education. They had a range of dependents of 0 to 12 (Mean =5.25; SD=2.95); 92% were men; 71% were Mayan people and the rest ladino people. Twenty-eight socioeconomically and agricultural management aspects for both CV and TL of *C. pepo* were recorded through semi-structured interviews, attempting to know possible links to genetic diversity of *C. pepo* populations (Table 4_ESM1). Sixty five percent of the farmers interviewed grow TL of *C. pepo* and whereas 35% grow the CV. We found socioeconomically and agricultural management differences between them in the follow variables (Table5_ESM1): Ethnicity, reasons that motivated to plant the TL, origin of seeds, pesticides use, fertilized use, presence of pests, place for sale the fruits, quantity of seed exchange and time of own the seeds. To assess if the differences in agricultural management variables affect genetic diversity of TL and CV of *C. pepo*, percentages of ethnic group (*Eth*), origin of seeds (*Seed or*), percentage of non-organic management (*Manag*) and quantity of seed exchanged (*QSE*) were calculated with data obtained from the surveys. Then, linear mixed-effects models (lme) was made, using R v. 3.1.0 (R Core Team 2015), to test whether the different levels of agricultural management of *C. pepo* (*Eth*, *Seed or*, *Manag* and *QSE*) have an effect on genetic diversity (*AR* and *He*). We

considering *AR* and *He* as response variables, management variables as predictors and loci as random effects.

Results

Genetic diversity and structure

A total of 33 alleles were detected and 7 private alleles in three *C. pepo* populations (DU-T: 5, RP-C: 1 and OR-T: 1). Some microsatellite loci showed null alleles in some population, suggesting genotyping errors or ascertained bias (CMTm 83 in UB-T and DU-T; CMTm 188 in DU-T and JU-T; CMTm 7 in UB-T and JU-T; CMTm 132 in UB-T; CMTmC 64 in OR-T and JU-T; and CMTp 201 OR-T and DU-T). Moderate levels of genetic diversity were found for both TL and the CV of *C. pepo* in the CFC (Table 1). No significant differences with *AR* and *He* between populations were found after controlling for variation between loci with linear mixed-effect model (lme) and after re-sampling ($t = -0.13-0.22$, $P > 0.19$ accounting for correlation classes) (Fig.1_ESM1).

The *F* values (fixation index, *F*) of four *C. pepo* populations in CFC (RP-T: 0.34, CH-T: 0.42, UB-T: 0.26 and DU-T: 0.37; Table 1) were significantly different from zero ($P < 0.05$); an excess of heterozygous was detected in one population of *C. pepo* (OR-T: -0.23; Table 1). The *FIS* value estimated for *C. pepo* populations in CFC was significantly different from zero ($FIS = 0.25$, $P < 0.05$; Table 2) indicating local inbreeding or the effect of null alleles by genotyping error or ascertained bias.

Considering the scale of the study, populations of *C. pepo* in CFC are structured ($FST = 0.16$, $P < 0.05$; Table 2). AMOVA revealed that 83.44 % of total genetic variation of *C. pepo* is contained within populations and that genetic differentiations among population is

moderate (16.56 %) (Table6_ESM1). STRUCTURE Haverster (Evanno method) suggests four genetic clusters of *C. pepo* populations ($K=4$; $\Delta K=36.17$; Fig.2_ESM1) in the CFC: the first characterized by OR-T, the second by DU-T, the third by JU-T, and the fourth was composed by the four other populations, including the CV (RP-T, RP-C, UB-T and CH-T; Fig. 1). Further analysis indicated that DU-T showed the greatest difference in relation to the other populations (Table7_ESM1, Fig.3_ESM1, Fig.4_ESM1). Finally, we consistently obtained low estimates of contemporary gene flow ($< 15\%$; based in bayesian method), between sampling sites (Table8_ESM1). We observed L-shaped multi-locus distribution of allele frequencies for all studied populations, suggesting no evidence of a recent population bottleneck, except for DU-T that showed a shifted mode (Fig.5_ESM1). Moreover, we did not find a significant heterozygosity deficiency or excess in our study region (Wilcoxon test's one tail p-value for the deficiency $P = 0.320$ and excess $P = 0.727$).

The extent of genetic admixture between CV and TL

The Bayesian assignation of the individuals of each population to the next generation done by BAYESASS shows that all populations but DU-T, are admixed in the next generation (parents are state 0, the next generation is state 2). Thus, this analysis showed: 1) DU-T population is strongly differentiated populations that does not share genetic diversity with the other populations (Fig. 2, Table 9_ESM1); and 2) the genetic admixture of CV with all TL populations, except for TL of DU-T.

Population genetics and fragmentation

There was no correlation between genetic (F_{ST}) and geographic distances ($Z=22.4749$, $r = 0.0750$, $p = 0.4270$) between populations of *C. pepo* in the CFC. To test for the effect of

landscape on genetic differentiation, we did model selection of the three landscape variables (forest cover, agricultural land cover and elevation) versus the null-model of geographic distance against resistance distance. Agricultural land cover yielded the best model (AICc value= -49.08; Table 3). We found that none of the landscape predictors: geographic distance (null model), forest cover, elevation or agricultural land cover, was significant in the maximum likelihood population effects model (MLPE) of the IBR analysis (p -value = 0.19-0.96) (Fig. 3, Table10_ESM1).

Genetic diversity and traditional management

We found that 1) the mean quantity of seeds interchanges by farmers appears to positively affect H_e (QSE : $t_{44} = -2.14$, $P = 0.04$, $R^2 = 0.15$) and the proportion of local seed appears to negatively affect H_e in a very low level ($Seed\ or$: $t_{44} = -2.33$, $P = 0.02$, $R^2 = -0.004$); 2) the proportion of Mayan people and proportion of farmers that use insecticides has not significant effect on H_e (Eth : $t_{44} = 0.15$, $P = 0.88$; $Manag$: $t_{44} = -1.60$, $P = 0.12$). All management variables had no effect on AR ($Manag$: $t_{44} = 1.36$, $P = 0.18$; $Seed\ or$: $t_{44} = 1.39$, $P = 0.18$; QSE : $t_{44} = 0.42$, 0.68 ; Eth : $t_{44} = -0.82$, 0.42).

Discussion

We detected the existence of moderate levels of genetic diversity and structure of *C. pepo* populations in the CFC, but also high genetic admixture between CV and TL. On the other hand, we found no correlation between landscape variables and genetics of *C. pepo* in the CFC. Finally, we found that some aspects of traditional human management related with seed exchange patterns could affect genetic diversity in *C. pepo* in the CFC.

Genetic diversity and population structure

Levels of genetic variation of *C. pepo* in the CFC are similar to those reported for outcrossing plant species ($He = 0.65$, $Ho = 0.63$; Nybom 2004) using sequence tagged microsatellite site -STMS-; but higher than previous reports for *C. pepo* in Mexico ($A = 0.068$, $He = 0.366$; Montes-Hernández and Eguiarte 2002), and Mexico-USA ($A = 2.24$, $He = 0.068$; (Decker-Walters and Walters 1990) with isozymes. This result is not surprising since other studies reported that *C. pepo* has high morphological and ample genetic diversity in the Americas (Paris H.S et al. 2003) and by far the greatest genetic variation of the species in the genus *Cucurbita* (Gong et al. 2013). Moreover, since *C. pepo* is a monoecious plant species, cross-pollination and thus gene flow by bees to distant geographical areas is frequent (Mujaju et al. 2010; Enriquez et al. 2015). Landaverde-González et al. (2017) found no clear population structure of *Partamona bilineata*, one of the most important pollinators of *C. pepo* in the CFC (Enriquez et al. 2015), revealing the great capacity of bees to influence the gene flow of *C. pepo* throughout the CFC. Although we observed some levels of inbreeding in four populations of *C. pepo* from the CFC, only DU-T showed a recent genetic bottleneck. This level of inbreeding could be due to a reduction in the traditional practices of exchanging seeds and the low levels pollinators visits rates and in the CFC, that aid to introduce new genotypes and reduce inbreeding. These results differ from those of Montes-Hernández and Eguiarte (2002) and Kirkpatrick and Wilson (1988), who found high outcrossing rates and low inbreeding of cultivated *C. pepo* in Mexico and USA. Also, some authors (Bisognin 2002; Montes-Hernández et al. 2005) reported that, in fact, artificial selection in cultivated plants tends to reduce the heterozygosity due to inbreeding depression and genetic bottlenecks.

The genetic differentiation of *C. pepo* populations in the CFC ($F_{ST} = 0.16$) is much higher than F_{ST} s reported for three Cucurbita species in Mexico ($F_{ST} = 0.087$; Montes-Hernández and Eguiarte 2002), but lower than the average value of differentiation of cross-pollinated cultivated plants ($F_{ST} = 0.234$; Hamrick and Godt, 1997) and outcrossing plants ($F_{ST} = 0.22$; Nybom 2004). Yet, as stated, the magnitude of population differentiation in *C. pepo* in the CFC is highly influenced by DU-T, OR-T and JU-T populations, which are -each one- a differentiated genetic group. In particular, DU-T appears to be differentiated from all other *C. pepo* populations. The CH-T, RP-T, RP-C and UB-T populations constitute all of them one genetic group, probably due to high gene flow, since these villages have had an intensive trade between them. Thus, it is more likely that OR-T and JU-T retain their genetic distinctiveness as they show high genetic diversity and not inbreeding. On other hand, the population DU-T faces a risk of extinction due to isolation, genetic drift and inbreeding depression.

The extent of genetic admixture between Tl and CV

We found that all the populations appeared admixed, except the DU-T. Therefore, the CV shares genetic variation with all Tls of *C. pepo* but DU-T. These results could be related to the recent origin of the CV since this recent landrace has been gradually selected ca. 40 years ago, by farmers from the Guatemalan highlands, in response to market demands. However, this is not an improved variety so it still shares genetic variation with traditional landraces in the CFC. For this reason, this CV maintains high levels of genetic diversity and could be considered a traditional landrace with market characteristics.

Population genetic and fragmentation

We found that neither agricultural land cover nor forest cover and nor elevation appeared to significantly affect the genetic diversity of *C. pepo* in the CFC. Yet, agricultural land cover was suggested as the best model. This could be since within this raster the crops that contain *C. pepo* are included as well as the garden houses where this plant is grown. However, a specific inference regarding the effect of the landscape on the genetic diversity is not supported since no model was significant.

Traditional Knowledge and genetic diversity

The TLs are mostly associated with Q'eqchi people that still maintain traditional cultivation practices in the CFC (with low agrochemical inputs, use of ancestral local seeds and not influenced by the market pressure), as observed in our analysis. Traditional agricultural management have been associated with high crop diversity, mainly in its center of origin (Casas et al. 2007; Galluzzi and López 2014). The effect of human selection and management practices have been observed in other traditional crops as corn (Tang et al. 2010), lima beans (Martínez-Castillo et al. 2008), common beans (Zizumbo-Villarreal et al. 2005) and Chiltepín (González-Jara et al. 2011). Overall, our results suggest that traditional agriculture management (i.e., proportion of local seed origin and mean quantity of seed exchange) could have had an impact on the genetic variation of *C. pepo*.

The mean quantity of seeds interchange by farmers appears to positively affect genetic variation of *C. pepo*, perhaps by the incorporation of genes from other localities in the CFC, including genes from CVs that are also highly diverse. Exchange of seed resulted a positive significant effect increasing genetic diversity, as reported for corn landraces in the central valleys of Oaxaca (Pressoir and Berthaud 2004). On the other hand, the proportion of local

seed interchanged by farmers appears to be negatively related to the genetic variation of *C. pepo*, but at a very low level. Van Etten and de Bruin (2007) found that almost 90% of the corn seeds sown by farmers from western highland of Guatemala are local (the same farmer, the same neighborhood or the same community). Moreover, some studies in the same area have demonstrated that maize seed exchange is mainly local in scope (Johannessen et al. 1970; Johannessen 1982). This low gene flow due to the exchange of local seeds and farmers' practices of growing few individuals of *C. pepo* for the next harvest cycle -which increases the effect of genetic drift- have serious implications for the maintenance of genetic diversity of *C. pepo* in the CFC. González-Jara et al. (2011) consider an important threat to genetic diversity the bottlenecks brought about by isolation and low number of cultivation origins.

Abandonment of seed selection practices and preservation made by traditional farmers in the CFC, as observed in our study, anticipates not only the loss of genetic diversity but the loss of whole local landraces of *C. pepo*. Our results suggest that traditional agriculture management in DU-T, OR-T and JU-T populations could differ notably from the rest of populations in the CFC. Hence, we urge special attention to rescue the DU-T population, bottlenecked and highly differentiated.

Our results highlight three important facts: 1) The TL of *C. pepo* still have adequate levels of genetic diversity in the study area; 2) All TL populations, except DU-T, show strong genetic admixture with CV; 3) the landscape variables in the CFC do not appear to affect genetic diversity of *C. pepo*; and 4) human management practices of seed exchange could have some effect on the genetic diversity of *C. pepo* in the CFC. The TL may constitute

potential source of genes for tolerance to biotic and abiotic stresses, and they are the result of combined action of artificial selection by farmers in agricultural systems with low inputs and natural selection due to diverse environmental conditions (Barbieri et al., 2014). For these reasons, it is necessary to establish a conservation program for the collection, assessment and characterization of crop diversity and traditional practices associated, to preserve genetic diversity of *C. pepo* in the communities of the CFC. Finally, we should promote a market that values agricultural biodiversity (i.e., organic, eco-friendly, healthy and linked to solidary fair trade) (Barbieri et al. 2014) to support the growing of TL in the CFC in Baja Verapaz, and promoting ancestral practices as a method for maintain high diversity of local crops.

References

- Aguilar R, Ashworth L, Galetto L, Aizen MA (2006) Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: Review and synthesis through a meta-analysis. *Ecol Lett* 9:968–980. doi: 10.1111/j.1461-0248.2006.00927.x
- Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, et al (2008) Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Mol Ecol* 17:5177–5188. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03971.x
- Ahrens CW, James EA (2016) Conserving the small milkwort, *Comesperma polygaloides*, a vulnerable subshrub in a fragmented landscape. *Conserv Genet* 17:891–901. doi: 10.1007/s10592-016-0830-9

- Barbieri RL, Gomes JCC, Alercia A, Padulosi S (2014) Agricultural biodiversity in southern Brazil: Integrating efforts for conservation and use of neglected and underutilized species. *Sustain* 6:741–757. doi: 10.3390/su6020741
- Barnaud A, Deu M, Garine E, et al (2007) Local genetic diversity of sorghum in a village in northern Cameroon: Structure and dynamics of landraces. *Theor Appl Genet* 114:237–248. doi: 10.1007/s00122-006-0426-8
- Bellon MR (1996) The dynamics of crop infraspecific diversity: A conceptual framework at the farmer level 1. *Econ Bot* 50:26–39. doi: 10.1007/BF02862110
- Bisognin DA (2002) Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciência Rural* 32:715–723. doi: 10.1590/S0103-84782002000400028
- Campbell JA, Vannini JP (1989) Distribution of amphibians and reptiles in Guatemala and Belize. *Proc West Found Vertebr Zool* 4:1–21.
- Casas A, Otero-Arnaiz A, Pérez-Negrón E, Valiente-Banuet A (2007) In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Ann Bot* 100:1101–1115. doi: 10.1093/aob/mcm126
- CECON (1999) Plan maestro Biotopo Universitario “Mario Dary Rivera” para la conservación del Quetzal 2,000-2004. Ciudad de Guatemala
- Crawley MJ (2007) *Mixed-Effects Models*. In: R Book. John Wiley & Sons, Ltd.
- Decker-Walters DS, Walters TW (1990) Genealogy and gene flow among annual domesticated species of Cucurbita. *Can J Bot* 68:782–789. doi: 10.1139/b90-104

- Doyle J, Doyle J. (1987) A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem Bull* 19: 11-15.
- Earl DA (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4 (2):359-361.
- Enriquez E, Ayala R, Gonzalez VH, Nunez-Farfan J (2015) Alpha and beta diversity of bees and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest. *Pan-Pac Entomol* 91:211–222.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour* 10:564–567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479–491. doi: 10.1007/s00424-009-0730-7
- Fahrig L (2003) Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515. doi: DOI 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419
- Faubet P, Waples RS, Gaggiotti OE (2007) Evaluating the performance of a multilocus Bayesian method for the estimation of migration rates. *Mol Ecol* 16:1149-66.

- García B (1999) El Biotopo Universitario para la Conservación del Quetzal “Mario Dary Rivera”.
Mesoamericana 4 (2):53–54.
- Galluzzi G, López I (2014) Conservation and use of genetic resources of underutilized crops in the Americas-A continental analysis. *Sustain* 6:980–1017. doi: 10.3390/su6020980
- Gong L, Pachner M, Kalai K, Lelley T (2008) SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita moschata* and its synteny with *Cucurbita pepo*. *Genome* 51:878–887. doi: 10.1139/G08-072
- Gong L, Paris HS, Stift G, Lelley T (2013) Genetic relationships and evolution in *Cucurbita* as viewed with simple sequence repeat polymorphisms: the centrality of *C. okeechobeensis*. *Genet Resour Crop Evol* 60:1531–1546. doi: 10.1007/s10722-012-9940-5
- González-Jara P, Moreno-Letelier A, Fraile A, et al (2011) Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annum* var. *glabriusculum*. *PLoS ONE* 6(12): e28715. doi: 10.1371/journal.pone.0028715
- Hamrick JL, Godt MJW (1997) Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop sci* 37(1): 26-30.
- Instituto Nacional de Estadística -INE- (2002) Censo Nacional Agropecuario. Guatemala.
- Isac SA, Breno M, Fernando S, Walters (2016) Pollination in Cucurbit Crops. In: Mohammad P (ed) *Handbook of Cucurbits, growth, cultural practices, and physiology*. CRC press, pp 181–200
- Jarvis DI, Brown AHD, Cuong PH, et al (2008) A global perspective of the richness and evenness of traditional crop-variety diversity maintained by farming communities. *Proc Natl Acad Sci* 105:5326–5331. doi: 10.1073/pnas.0800607105

- Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service. *BMC. Genetics* 6:13.
- Johannessen CL (1982) Domestication process of maize continues in Guatemala. *Econ Bot* 36:84–99. doi: 10.1007/BF02858703
- Johannessen CL, Wilson MR, Davenport WA (1970) The Domestication of Maize: Process or Event? *Geogr Rev* 60:393–413.
- Kirkpatrick KJ, Wilson HD (1988) Interspecific Gene Flow in Cucurbita: *C. texana* vs. *C. pepo*. *Am J Bot* 75:519. doi: 10.2307/2444217
- Landaverde-González P, Enríquez E, Ariza MA, et al (2017) Fragmentation in the clouds? The population genetics of the native bee *Partamona bilineata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in the cloud forests of Guatemala. *Conserv Genet* 0:0. doi: 10.1007/s10592-017-0950-x
- Lira R, Rodriguez-Jimenez C, Alvarado JL, et al (1998) Diversidad e importancia de la familia Cucurbitaceae en México. *Acta Bot Mex* 42:43–77.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209-220.
- Martínez-Castillo J, Colunga-García MP, Zizumbo-Villarreal D (2008) Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. *Genet Resour Crop Evol* 55:1065–1077. doi: 10.1007/s10722-008-9314-1
- Merrick LC (1995) Squashes, pumpkins and gourds: Cucurbita (Cucurbitaceae). In: Smartl J, Simmonds NW (eds) *Evolution of Crop Plants*, 2nd ed. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK, pp 95-105.

- Miller MP (1997) Tools for population genetic analyses (TFPGA) V. 1.3. Northern Arizona University, USA.
- Montes-Hernández S, Merrick LC, Eguiarte LE (2005) Maintenance of squash (*Cucurbita* spp.) landrace diversity by farmers' activities in Mexico. *Genet Resour Crop Evol* 52:697–707. doi: 10.1007/s10722-003-6018-4
- Mujaju C, Sehic J, Werlemark G, et al (2010) Genetic diversity in watermelon (*Citrullus lanatus*) landraces from Zimbabwe revealed by RAPD and SSR markers. *Hereditas* 147:142–153. doi: 10.1111/j.1601-5223.2010.02165.x
- Mutegi E, Sagnard F, Semagn K, et al (2011) Genetic structure and relationships within and between cultivated and wild sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in Kenya as revealed by microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 122:989–1004. doi: 10.1007/s00122-010-1504-5
- Nybom H (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Mol Ecol* 13:1143–1155. doi: 10.1111/j.1365-294X.2004.02141.x
- Ordóñez N (1999) Diversidad de Mamíferos Menores en Cuatro Bosques Nubosos del Núcleo de Centroamérica. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Paris HS (2016) Germplasm enhancement of *Cucurbita pepo* (pumpkin, squash, gourd: Cucurbitaceae): progress and challenges. *Euphytica* 208:415–438. doi: 10.1007/s10681-015-1605-y

- Paris H.S, Yonash N., Portnoy V., et al (2003) Assessment of genetic relationships in Cucurbita pepo (Cucurbitaceae) using DNA markers. *Theor Appl Genet* 971–978. doi: 10.1007/s00122-002-1157-0
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539.
- Perales HR, Benz BF, Brush SB (2005) Maize diversity and ethnolinguistic diversity in Chiapas, Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:949–954. doi: 10.1073/pnas.0408701102
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D (2016) R-CORE-TEAM: nlme: Linear and nonlinear mixed effects models. R package version, 3-1.
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999) Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *J Hered* 90:502–503.
- Pressoir G, Berthaud J (2004) Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity* 92: 88–94.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.
- Rarmond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered* 86: 248-249.
- RECOSMO (2007). Proyecto Región de Conservación y Desarrollo Sostenible Sarstún-Motagua – RECOSMO-. Creación de una red ambientalista regional en Guatemala. Guatemala.

- Rios H, Fernandez A, Batista O (1997). Cuban pumpkin genetic variability under low input conditions. *Rep Cucurbit Genet Coop* 20: 48-49.
- Montes-Hernández S, Eguiarte L (2002) Genetic Structure and Indirect Estimates of gene flow in three taxa of Cucurbita (Cucurbitaceae) in Western México. *Am J Bot* 89:1156–1163.
- Schuster JC, Cano EB, Cardona C (2000) Un método sencillo para priorizar la conservación de los bosques nubosos de Guatemala, usando passalidae (coleoptera) como organismos indicadores. *Acta Zool Mex* 80:197–209.
- SEGEPLAN (2011) Secretaría General de Planificación –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Purulhá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.
- SEGEPLAN (2010) Secretaría General de Planificación –SEGEPLAN-. Plan de Desarrollo Municipal del Municipio de Salamá, Baja Verapaz, Guatemala 2011-2015.
- Softgenetics LLC, State College PA (2002). Gene Marker user Manual.
- Tang H, Sezen U, Paterson AH (2010) Domestication and plant genomes. *Curr Opin Plant Biol* 13:160–166. doi: 10.1016/j.pbi.2009.10.008
- Team R C (2015) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria.
- Turner II BL, Miksicek CH (1984) Economic plant species associated with prehistorical agriculture in the maya lowlands. *Econ Bot* 38:179–193.
- Van Etten J, de Bruin S (2007) Regional and local maize seed exchange and replacement in the western highlands of Guatemala. *Plant Genet Resour* 5:57–70. doi: doi:10.1017/S147926210767230X

- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4:535–538.
- Vavilov NI (1951) The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Chron Bot* 13: 1–16.
- Vigouroux Y, Barnaud A, Scarcelli N, Thuillet AC (2011) Biodiversity, evolution and adaptation of cultivated crops. *C. R. Biologies* 334:450–457. doi: 10.1016/j.crv.2011.03.003
- Wessel-Beaver L (1998) Pumpkin breeding with a tropical twist. *The Cucurbit Network News* 5: 2-3.
- Williams-Linera G (1997) Phenology of deciduous and broadleaved-evergreen tree species in a Mexican tropical lower montane forest. *Glob Ecol Biogeogr Lett* 6:115–127. doi: 10.2307/2997568
- Wilson G, Rannala B (2003) Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163:1177-1191.
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Ximenez F (1967) *Historia Natural del Reino de Guatemala*. Editorial José de Pineda Ibarra.
- Young A, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends Ecol Evol* 11:413–418.

Zizumbo-Villarreal D, Colunga-García MP, Payró E, et al (2005) Population structure and evolutionary dynamics of wild-weedy-domesticated complexes of common bean in a Mesoamerican region. *Crop Sci* 45:1073–1083. doi: 10.2135/cropsci2004.0304

Table 1. Average values of genetic variation (SD) of populations of *Cucurbita pepo* from the cloud forest corridor in Baja Verapaz, Guatemala, and information of human management by farmers interviewed. N, mean number of individuals/locus/population; AR, mean number of different alleles/population; p^{\wedge} , percentage of polymorphic loci; H_e , mean expected heterozygosity; and F , mean fixation index. *Eth*, proportion of Maya people in each locality; *Seed or*, proportion of local (same community or near communities in the same *departamento*) seeds; *Manag*, proportion of farmers that use insecticides; QSE, mean quantity of seeds exchanges per farmer.

Code	<i>C. pepo</i> population ♦	N	p^{\wedge}	AR	H_e (SD)	F (SD)	Eth	Seed or	Manag	QSE
RP-T	Repollal (TL)	31.9	1	3.5	0.52 (0.16)	0.34 (0.32)*	100	100	0	510.27
RP-C	Repollal (CV)	13.5	1	3.2	0.47 (0.21)	0.18 (0.40)	14.29	28.58	81.82	1417.5
CH-T	Chilascó (TL)	22.2	1	3.8	0.51 (0.12)	0.42 (0.34)*	0	100	0	566
UB-T	Unión Barrios (TL)	27.8	1	3.4	0.53 (0.13)	0.26 (0.26)*	0	40	80	831.4
OR-T	Orejuelo (TL)	25.6	0.9	2.9	0.45 (0.24)	-0.23 (0.55)	100	100	0	0
DU-T	Durazno (TL)	22	1	3.8	0.54 (0.16)	0.37 (0.37)*	100	100	0	227
JU-T	Jute (TL)	18.1	1	3.4	0.46 (0.18)	0.32 (0.46)	100	100	100	28

Table 2. Wright's F statistics of *Cucurbita pepo* populations from the CFC in Baja Verapaz, Guatemala. Standard deviations (SD) and confidence intervals at 95% (IC) in parentheses.

	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Mean	0.25*	0.52*	0.16*
S.D.	0.26	0.24	0.079
CI (95%)	(0.47, 0.03)	(0.71, 0.32)	(0.23, 0.093)

Table 3. Model selection summary of isolation by resistance models (IBR), showing maximum likelihood population effects model (MLPE) regressions using *Fst* as response variable and the different resistance distances as predictors. Geographic distance was used as null-model rasters, where all pixels had the same value (Jaffé et al. 2015). The sample-size corrected Akaike information criterion (AICc) is provided for each model along with $\Delta AICc$ and the weight of each model. Best models ($\Delta AICc < 2$) are highlighted by *; in bold, the model with the best fit.

	DF	AICc	Delta_AICc	AICcWt	Cum.Wt
Agricultural land cover	3	-49.08	0*	0.44	0.44
Forest cover	3	-47.5	1.58	0.2	0.64
Elevation	3	-47.41	1.67	0.19	0.83
Null model	3	-47.16	1.93	0.17	1

FIGURES

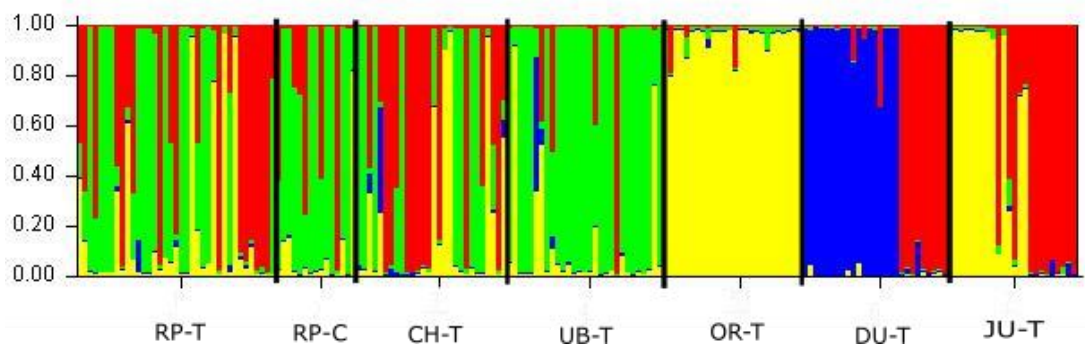


Figure 1. Probabilities of individual assignment to each of the four genetic groups ($K = 4$, indicated by colors) of seven populations of *Cucurbita pepo* in the CFC. Population name are labeled below according to Table 1.

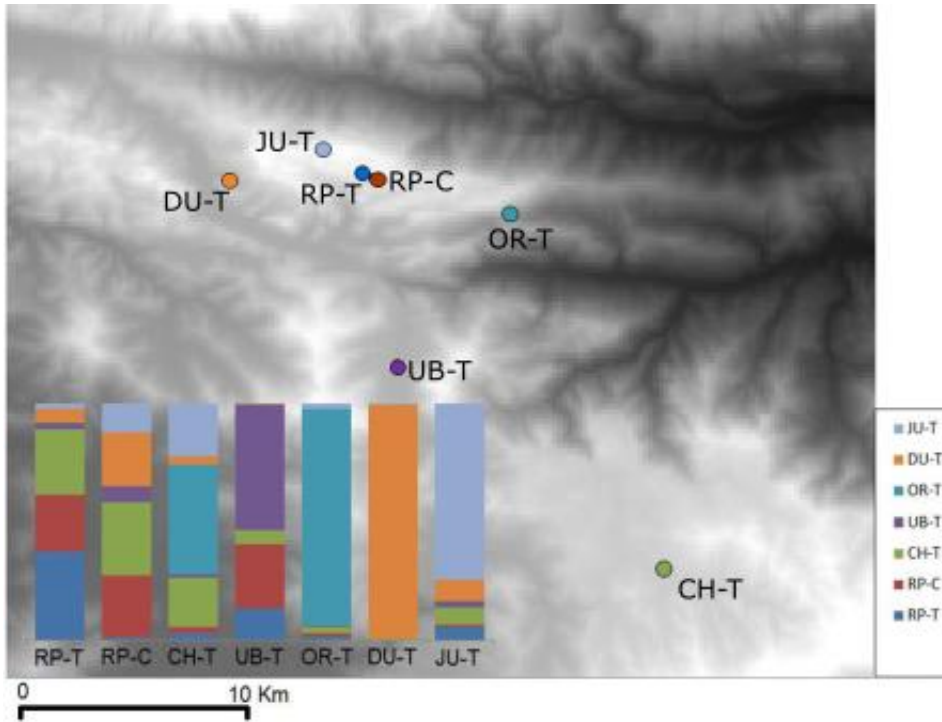


Figure 2. Assignment of individual to each population, showing the degree of admixture within the traditional landraces and the degree of introgression of the commercial variety within the traditional landraces. The colors represent the original population of each individual. The bars correspond to each of the populations analyzed and the colors within them the proportion of individuals with the identity of the ancestral hypothesized origin. The map corresponds to a Digital Elevation Model (DEM) in which the elevated areas are represented in white and low areas in black.

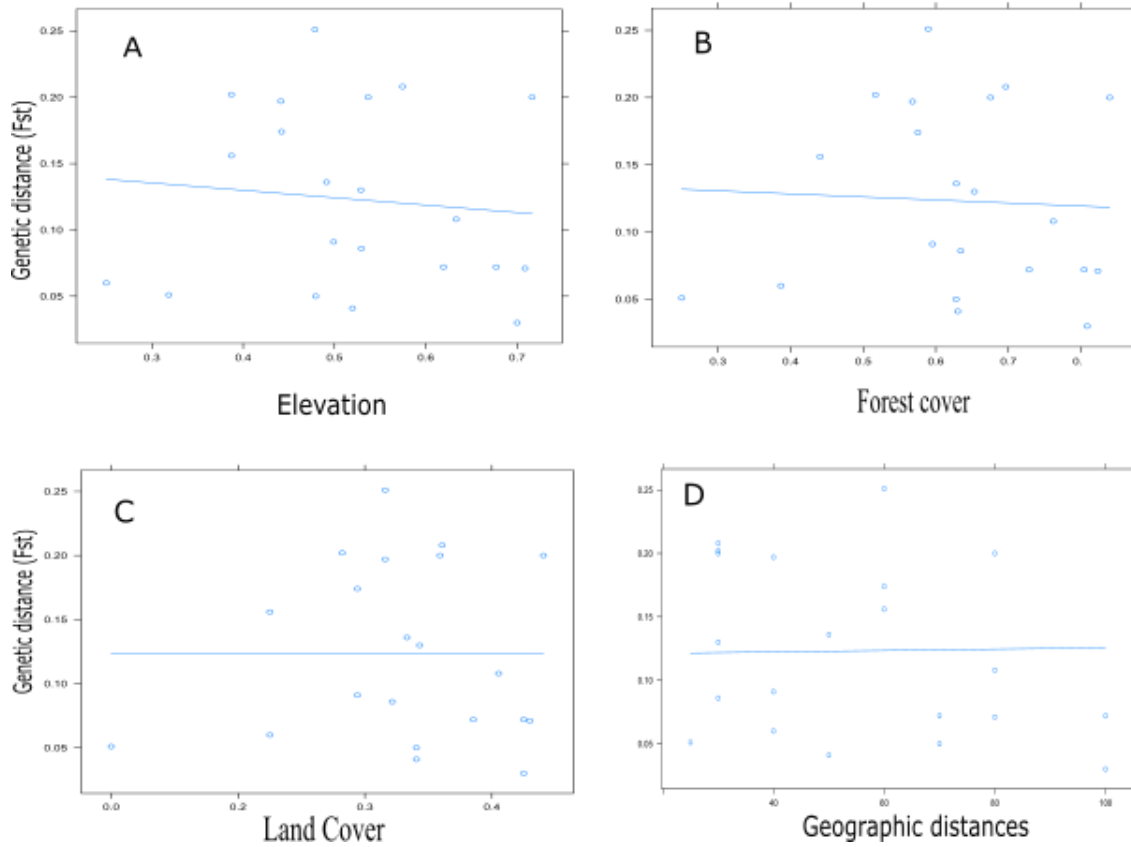


Figure 3. Correlations between the inter-individual genetic pairwise relatedness distance metric (LR, Lynch and Ritland 1999). (A) elevation resistance distance, (B) forest cover resistance distance, (C) land cover resistance distance, and D) null model by geographic distance resistance in the CFC.

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL 1_ESM1

Table 1. Sampled populations of *Cucurbita pepo* in the Cloud Forest Corridor (CFC), with information of the type of landrace, number of individuals collected and geographical location.

No.	Locality (Code)	Landrace	N	Latitude N/Longitude W		Altitude (m a.s.l.)
1	Repollal (RP-T)	Traditional	37	15.26678611	-90.21763889	2118
2	Repollal (RP-C)	Commercial	15	15.26544444	-90.21333333	2021
3	Chilascó (CH-T)	Traditional	28	15.10522778	-90.09450000	1880
4	Unión Barrios (UB-T)	Traditional	29	15.18888611	-90.20353611	1619
5	Orejuelo (OR-T)	Traditional	26	15.24971667	-90.15755833	1396
6	Durazno (DU-T)	Traditional	27	15.26547778	-90.27281667	1601
7	Jute (JU-T)	Traditional	24	15.27681667	-90.23488333	2226

Table 2. Microsatellite loci used in *Cucurbita pepo* cultivars from the CFC. After testing for Linkage disequilibrium (LD), two pairs of primers were linked (CMTm 65-CMTm 252 and CMTp 201-CMTp 245). One primer from each pair was removed from the subsequent analyses (*).

Locus name ¹	No. Alleles	Motif repeat	Primer sequences (5' - 3')	Tm	Allele size
CMTm7	5	(CT) ₃₀	F: AACCAAACCTCCGGCAAGA	59	152
			R: GTTCTCTCCGTTCCAGGATGG		
CMTm39	5	(TTTC) ₆	F: ATCTTTGTGCTTCTAACCTTTTTC	57	153
			R: TAAAGCTCGAAAAAGCAACC		
CMTm65 *	6	(CT) ₁₀	F: GAACTTCGTGTGTGCGTGTC	60	97
			R: TTGCTGGAACCTCCTCTCGT		
CMTm83	5	(AG) ₁₉	F: GGCATTTCTGAGAACAGCTT	57	111
			R: ACGTTAGTTATGCTATTTTGTAGGC		
CMTm132	7	(Ct) ₉	F: TTCGAGTTTAATCCCTCTTCG	59	107
			R: CCATTTCTTTTTCCTCTCG		
CMTm188	6	(AG) ₈	F: ACTGAGAGGCCCTGAATTGT	58	158
			R: CCCCCTCTTAGTCTTAATATTCTCA		
CMTm252	7	(CT) ₅₊₈	F: CCCATTCCCATTCTTTCT	60	101
			R: CAAATTCGATCGGCTTTACAC		
CMTmC 64	6	(TC) ₁₄	F: AAACGTTCTGCAATCAAGGA R: CAAGCTTGTGTACAATAGGATAAGG	58	94
CMTp 201	8	(CT) ₁₈₊₇	F: AGGAGTGGTGGGCTAATACG	59	110
			R: TGAAATTGAGGGAGGGAGAG		
CMTp 245 *	5	(GCG) ₉	F: AGGTAAGTGCACCCAGCTA	60	134
			R: CCCATCTCTCAAGCTCATCC		

Notes: microsatellites used according with Gong *et al.* (2008)

Table 3. Villages, number of farmers interviewed, and geographic location in the CFC.

No.	Village	Municipality	n	Lat N	Long WO
1	Chilascó	Salamá	2	15.119033	90.116933
2	Cuchilla del Nogal	Salamá	1	15.21885	90.21213
3	Niño perdido	Salamá	1	15.114996	90.18833
4	Unión Barrios	Salamá	5	15.18648	90.20232
5	Durarzo	Purulha	2	15.265477	90.272816
6	Ebenezer	Purulha	1	15.266433	90.236233
7	Encuentros	Purulha	1	15.24635	90.23719
8	Orejuelo	Purulha	1	15 14.421	90 11.874
9	Purulha	Purulha	1	15.23879	90.24012
10	Repollal	Purulha	5	15.259555	90.220325

Table 4. Distinct aspects of traditional knowledge assessed during interviews with farmers, and their potential relationship with genetic diversity of *Cucurbita pepo* in the CFC.

Categories	Aspect of interview	Why this aspect is important for genetic diversity of <i>C. pepo</i>
Traditional practices	<ul style="list-style-type: none"> - Ethnic origin - sowing of corn-related pumpkin - Use of pesticides and fertilizers in <i>C. pepo</i> cultures. - Number of pumpkin species usually grown. - Reasons to grow traditional landraces of <i>C. pepo</i> - Time having and selecting <i>C. pepo</i> 	Traditional practices can provide genetic diversity to traditional landraces
local adaptation and genetic flow	<ul style="list-style-type: none"> - Amount of <i>C. pepo</i> seeds exchanged, geographic area of seed origin and reasons to exchange. - Origin of <i>C. pepo</i> seeds used to growing last year. - Soil tillage before sowing <i>C. pepo</i> 	<p><i>C. pepo</i> seeds exchange determines the quantity of migrants that provide new genes into the gene pool of the metapopulation and prevents population differentiation.</p> <p>Seed origin is important can introduce new genes with local adaptation and/or promote introgression if these genes are very differentiated.</p> <p>Since <i>C. pepo</i> is pollinated by specialist bees that nest in the ground, soil tillage may prevent bee nesting, thus affecting pollination.</p>
Introgression	<ul style="list-style-type: none"> - Commercial varieties of <i>C. pepo</i> that are used to grow and culture size. - Sowing two varieties of <i>C. pepo</i> and hybridization observations. 	The displacement of traditional landraces by commercial varieties or GMO, favor the loss of genetic diversity, which is known as introgression due to hybridization.
Bottleneck	<ul style="list-style-type: none"> - Size of traditional landraces of <i>C. pepo</i> cultures. - Amount of fruits kept for sowing the following year. 	The population size of traditional landraces of <i>C. pepo</i> and the amount of fruits selected for sowing, determines possible bottlenecks.

Table 5. Contingence analysis showing significant differences related to human management and socio-economical characteristics (qualitative data) among farmers that grow traditional landraces and the commercial variety *C. pepo* (1 to 8 aspects). Kruskal-Wallis analyses showing significant differences related to human management and socio-economical characteristics (quantitative, non-parametric data) among farmers that grow traditional landraces and commercial variety of *C. pepo* (9 to 11 aspects).

No.	Description of response variables	N	D.F.	χ^2	P
1	Ethnic group (Ladino or Q'eqchi people)	20	1	5.495	0.0191*
2	Reasons that motivated to grow traditional or commercial <i>C. pepo</i>	20	3	16.232	0.0010*
3	Provenance of sowing seeds of <i>C. pepo</i>	15	2	8.638	0.0133*
4	Origin of <i>C. pepo</i> seeds used for sowing the last year	18	2	8.532	0.014*
5	Usage of pesticides during the growing of <i>C. pepo</i>	18	2	11.688	0.0029*
6	Usage of fertilizers during the growing of <i>C. pepo</i>	17	1	5.13	0.0235*
7	Presence of plagues during the development of <i>C. pepo</i>	17	1	6.491	0.0108*
8	Place where the fruits of <i>C. pepo</i> are sold	11	2	11	0.0041*
9	Amount of <i>C. pepo</i> seeds that are usually exchanged	11	1	5.2381	0.0221*
10	Time of own the <i>C. pepo</i> seeds	18	1	5.6193	0.0178*
11	Time to select <i>C. pepo</i> seeds	18	1	7.3697	0.0066*

Table 6. Analysis of molecular variance (AMOVA) of populations of *Cucurbita pepo* in Baja Verapaz, Guatemala.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance component	% variation explained
Among populations	6	159.4	0.46	16.56
Within populations	365	846.66	2.32	83.44
Total	371	1006.1	2.78	100

Notes: $\alpha=0.05$, $p<0.05$

Table 7. Pair-wise F_{ST} estimates among populations of *Cucurbita pepo*. Codes of populations as in Table 1.

	RP-T	RP-C	CH-T	UB-T	OR-T	DU-T	JU-T
RP-T	0						
RP-C	0.051*	0					
CH-T	0.030*	0.072*	0				
UB-T	0.041*	0.050*	0.072*	0			
OR-T	0.091*	0.174*	0.108*	0.136*	0		
DU-T	0.197*	0.251*	0.200*	0.200*	0.208*	0	
JU-T	0.060*	0.156*	0.071*	0.130*	0.086*	0.202*	0

$p < 0.05$ (*)

Table 8. Contemporary migration rates among populations of *Cucurbita pepo* obtained with BAYESASS. Migration rates (below diagonal) and standard deviation (above diagonal). Values in the diagonal represent the number of non-migrants per population.

	RP-T	RP-C	CH-T	UB-T	OR-T	DU-T	JU-T
RP-T	92.2	0.00627	0.00788	0.0328	0.00848	0.00488	0.0147
RP-C	0.37	69.4	0.0165	0.0612	0.01393	0.0135	0.0148
CH-T	0.37	1.29	83.6	0.0456	0.0129	0.00724	0.0214
UB-T	5.081	14.8	3.05	95.1	0.00672	0.00712	0.0143
OR-T	0.6	1.055	0.936	0.402	98.7	0.00475	0.0048
DU-T	0.2976	1.034	0.458	0.404	0.203	88.4	0.0265
JU-T	0.913	1.09	1.71	0.933	0.224	2.16	95.9

Table 9. Assignment of individuals of *C. pepo* to different population in different states. Highlighted rows (grey) show the proportion of introgression between the commercial variety (CV) and traditional landraces (TL) as observed in figure 2.

*****		ASSIGNMENT				SUMMARIES				*****	
Results		POPULATION		RP-T:		State		times			
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	Time	0	is	49571	0.67
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	Time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	Time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	Time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	Time	1	is	115	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	Time	2	is	178	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	513	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	1799	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	11262	0.15
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	5800	0.08
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	61	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	671	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	1	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	2415	0.03
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	1614	0.02
population		RP-C:									
# for	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	7979	0.27

# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	4725	0.16
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	2353	0.08
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	276	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	601	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	9462	0.32
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	4193	0.14
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	14	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	163	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	129	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	105	0.00

population CH-T:											
# for	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	15147	0.27
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	12219	0.22
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	3883	0.07
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	1318	0.02
# of	Times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	12764	0.23
# of	Times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	0	0.00

# of	Times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	4888	0.09
# of	Times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	900	0.02
# of	Times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	443	0.01
# of	Times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	502	0.01
# of	Times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	36	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	255	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	2247	0.04
# of	Times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	1398	0.02

population		UB-T:									
# for	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	1822	0.03
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	955	0.02
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	0	0.00
# of	Times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	1064	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	134	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	554	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	146	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	51869	0.89
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	17	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	78	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00

# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	47	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	3	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	1154	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	157	0.00

population OR-T:

# for	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	41	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	122	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	5	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	34	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	25799	0.50
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	3	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	15	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	25913	0.50
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	5	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	63	0.00

population DU-T:

# for	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	5248	0.10
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	543	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	3120	0.06
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	576	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	1990	0.04
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	296	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	58	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	41	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	71	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	7	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	37656	0.70
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	4092	0.08
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	302	0.01

population JU-T:											
# for	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	1	is	973	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-T	At	time	2	is	753	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	1	is	874	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	RP-C	At	time	2	is	878	0.02
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	0	is	0	0.00

# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	1	is	3607	0.08
# of	times	Assigned	to	Pop	CH-T	At	time	2	is	7739	0.16
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	1	is	27	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	UB-T	At	time	2	is	119	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	1	is	125	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	OR-T	At	time	2	is	429	0.01
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	0	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	1	is	52	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	DU-T	At	time	2	is	75	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	0	is	32349	0.67
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	1	is	0	0.00
# of	times	Assigned	to	Pop	JU-T	At	time	2	is	0	0.00

Table 10. Summary of the maximum likelihood population effects model (MLPE), testing the pairwise *Fst* and different land use types for *Cucurbita pepo*. None of the correlations were significant ($P > 0.05$).

Predictor	Estimate	SE	d. f.	r²	T	P
Geographic distance	-8.47*10 ⁻⁴	6.20*10 ⁻⁴	19	0.0398	-1.352	0.1921
Forest cover	-3.18*10 ⁻⁴	6.60*10 ⁻⁴	19	-0.669	-0.0399	0.6352
Land cover	5.04*10 ⁻⁵	-1.06*10 ⁻³	19	0.048	0.048	0.9624
Elevation	-2.29*10 ⁻⁵	4.07*10 ⁻⁵	19	-0.711	-0.563	0.58

Figure 1. Average allelic richness (AR) and expected heterozygosity (He) of populations of *Cucurbita pepo*. We tested for differences in allelic richness between populations after controlling for loci variance with a linear mixed model. No significant difference was observed. The names of the sites correspond to table 1.

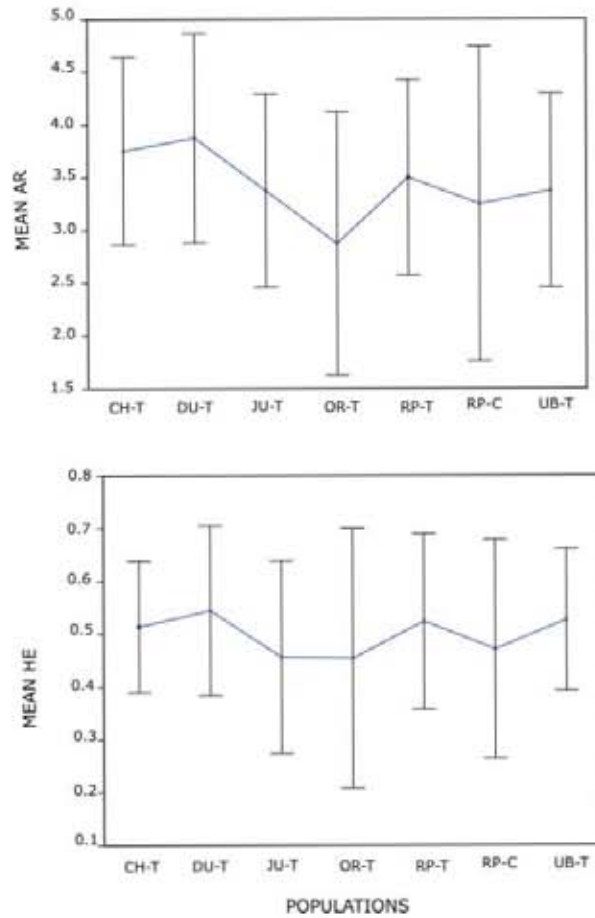


Figure 2. Number of genetic clusters (K) obtained following Evanno et al. (2005) with Structure harvester V.0.6.94 (Earl AD, 2012).

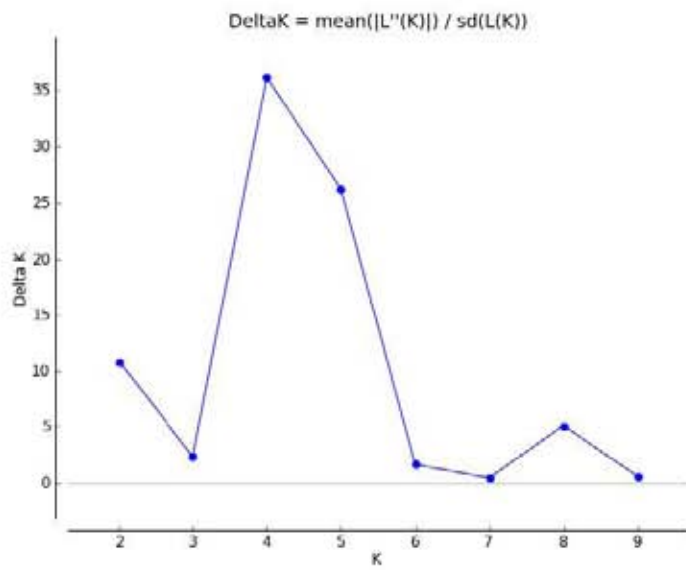


Figure 3. Dendrogram of seven *Cucurbita pepo* populations by unweighted pair grouping method of averages (UPGMA) cluster analysis using *Fst* of microsatellite data. The nodes indicate the distance between each population or between each node. The values in parenthesis indicate the proportion of replicates by bootstraps with 10.000 iterations.

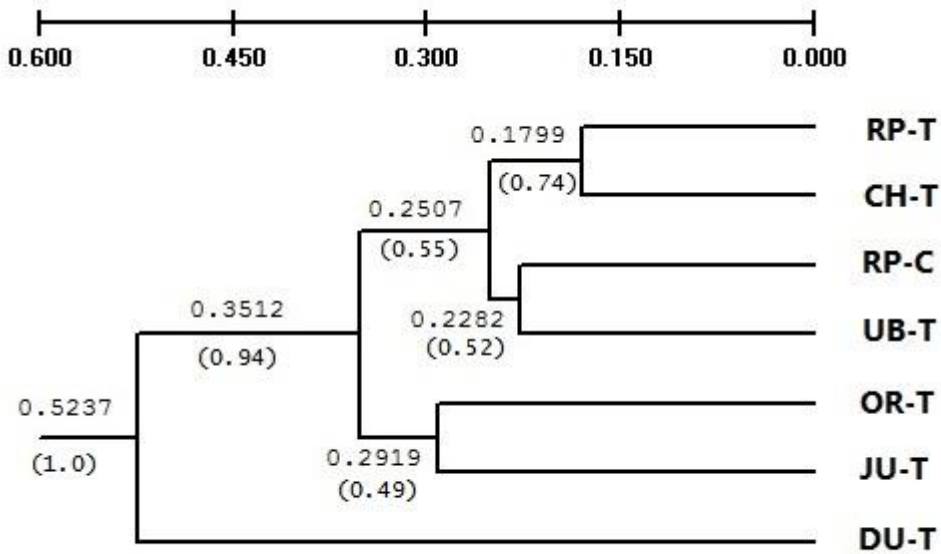


Figure 4. Principal Coordinate Analysis (PCoA) of seven *Cucurbita pepo* populations based on covariance matrix of microsatellite data. The first axis explained 27.44% of variation and the second 22.92% of variation (both axes explained 50.36% of total variation).

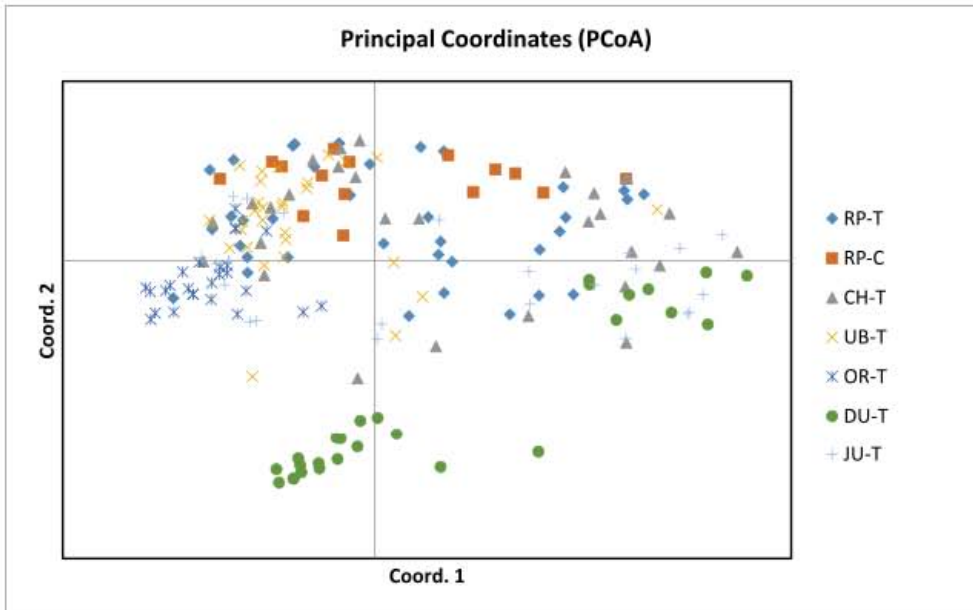
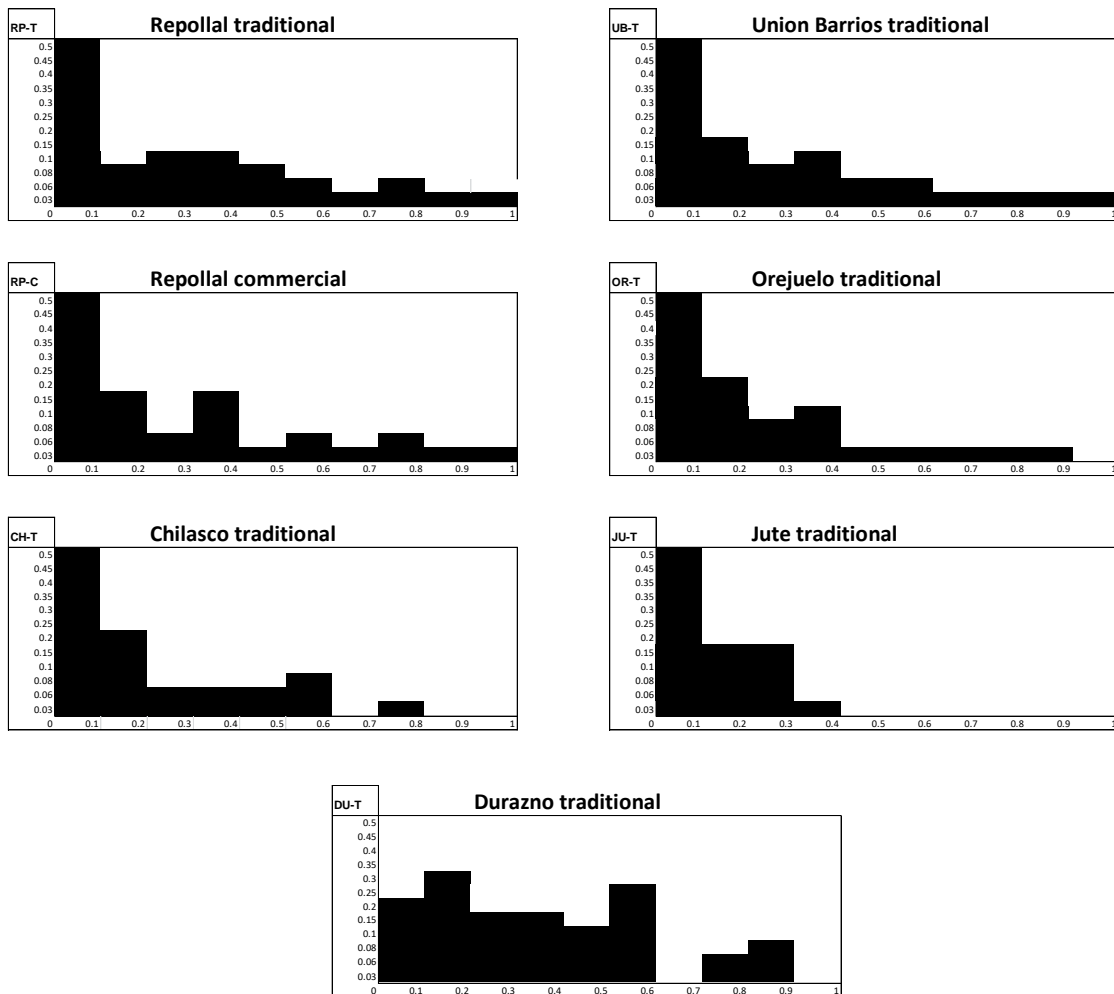


Figure 5. Multi-locus distribution of allele frequencies for all studied populations. The plots of *Cucurbita pepo* population show L-shaped distributions expected when no recent bottleneck event has occurred, with the exception of population Durazno (DU-T). BOTTLENECK (Cornuet and Luikart 1996) further confirmed the absence of heterozygote excess, another indicator of a bottleneck event, as well as the absence of heterozygote deficiency for most of the populations.



Discusión general

Los polinizadores eficientes en cuanto a la producción de frutos y semillas de *Cucurbita pepo*, mediante experimentos de exclusión, fueron: La abeja introducida, *Apis mellifera*, la abeja nativa sin aguijón, *Partamona bilineata* y el abejorro nativo *Bombus ephippiatus*. Sin embargo, solo *P. bilineata* y *B. ephippiatus* mostraron correlacionarse con la producción de frutos y semillas, de los cultivos de *C. pepo* evaluados, en el Corredor del Bosque Nuboso -CBN-, tomando un papel preponderante en la polinización de *C. pepo*. Por otro lado, el ensamble de especies de abejas visitantes florales de *C. pepo* en el Corredor del Bosque Nuboso -CBN- es muy distinto entre localidades, con poco recambio de especies. Los hábitats naturales en el paisaje local -alrededor de los cultivos de *C. pepo*-, incrementan la riqueza de especies de comunidad de abejas. Sin embargo, esta riqueza no se relaciona con la producción de *C. pepo*, en el CBN. La abundancia de *P. bilineata* no está asociada a los hábitats naturales, mostrando ser una especie de abeja resiliente e importante para proveer el servicio de polinización en el CBN. Por otro lado, la variación genética y el flujo génico de *C. pepo* no se correlaciona con la estructura del paisaje del CBN, sino más bien, con los patrones de intercambio de semillas, asociados al manejo agrícola tradicional.

Composición de la comunidad de abejas visitantes florales de C. pepo y su eficiencia en la polinización: La riqueza de especies de visitantes florales de *C. pepo* en el CBN es similar a la reportada para Norte y Sudamérica, pero difiere en composición de especies. La abeja solitaria, oligoléctica de Cucurbitáceas, de género *Peponapis*, fue más bien rara en el CBN; sin embargo, es muy abundante en Norte y Suramérica (Meléndez-Ramírez et al., 2002;

Krug et al., 2010; Adamson et al., 2012; Julier and Roulston, 2009; Zambrano et al., 2013). *B. ephippiatus*, *P. bilineata* y *A. mellifera* son polinizadores eficientes de *C. pepo*, al luego de los experimentos de exclusión de polinizadores, en el CBN. Sin embargo, se cree que *P. bilineata* y *A. mellifera* podrían adquirir una mayor importancia como polinizadores debido a su abundancia en el CBN (80% de la abundancia total). Se ha reportado que estas últimas dos especies de abejas sociales son polinizadores eficientes de calabaza y de otras especies de plantas nativas (Sampson & Cane, 2000; Gross, 2001; Machado & Sazima, 2008; Neves & Viana, 2011; Meléndez-Ramirez, et al. 2002). La enorme variación en composición de especies de abejas entre localidades podría estar asociada a las diferencias en composición florística, tamaño y estado de conservación de la vegetación que rodea los cultivos experimentales (e.g., Klein et al., 2003; Kremen, 2004; Murray et al., 2012). Así mismo, se observó un escaso recambio de especies entre localidades (diversidad beta baja), muy probablemente debido al sistema de montañas que caracteriza al CBN. Por esta razón los esfuerzos de conservación deberían ser dirigidos a preservar los sitios de alta diversidad (diversidad alfa; Murray et al., 2012), asociados con baja alteración del paisaje. El mantenimiento de la riqueza y abundancia de abejas en el CBN es de suma importancia dado su rol como polinizadores, tanto de plantas silvestres como cultivos productivos en la región, como *C. pepo*.

Efecto de la estructura del paisaje local del CBN en la comunidad de abejas y el servicio de polinización en C. pepo: En los cultivos experimentales, aún se conserva el 36.2% de los hábitats naturales y un 46.7% de agricultura; los pastizales y áreas urbanas se encuentran en menor proporción. Por lo que el paisaje local de *C. pepo* cuenta con sitios heterogéneos que favorecen la diversidad de abejas en el CBN. Se observó una fuerte respuesta de las abejas,

que polinizan *C. pepo*, a una escala local del paisaje, en el CBN, por lo que los cambios a esta escala podrían comprometer el servicio de polinización en el sitio de estudio (Benjamin et al., 2014). La polinización de *Cuburbita pepo* está asociada principalmente a *P. bilineata* y *B. ephippiatus*, que se correlaciona positivamente con el número de semillas y el número de frutos, respectivamente. Sin embargo, la presencia de *P. bilineata* en los cultivos de *C. pepo* no es favorecida por los hábitats naturales. Probablemente porque estos últimos proveen a *P. bilineata* de recursos para alimentación y anidación, afectando su abundancia como visitante floral de *C. pepo*. *P. bilineata* es uno de los meliponinos que no necesitan el bosque para anidar y presenta poblaciones con flujo génico constante (Landaverde-González et al., 2017), lo que la hace una especie resiliente e importante para proveer el servicio de polinización en el CBN. Por otro lado, *B. ephippiatus* es un polinizador eficiente, necesitando de 4-8 visitas para lograr un óptimo en el set de frutos (*Apis mellifera* necesita al menos 12 visitas; Isac et al., 2016). Además, esta especie tiene amplios rangos de distribución debido a su tamaño (Greenleaf et al., 2007); y está muy bien adaptado a climas templados. Por las razones anteriores, se cree que no existe ningún efecto de la lejanía a las masas boscosas en la abundancia de *B. ephippiatus*. Por último, la riqueza se correlaciona negativamente con la producción de semillas de *C. pepo*, probablemente por el fenómeno de homogenización, con predominancia de las abejas generalistas (Tschardt et al., 2005). Kleijn et al. (2005) observó que la abundancia de especies dominantes son las responsables de la producción de frutos en varios cultivos, apoyando nuestros resultados. Una disminución de la proporción de bosque y la lejanía al mismo, parecen favorecer la riqueza de especies de abejas en el CBN. Sin embargo, los hábitats naturales y heterogéneos les favorecen, probablemente porque les brindan diversos sitios de anidamiento; y un

suplemento continuo y diverso de plantas alimenticias a lo largo del año (Dramstad & Fry, 1995), asegurando la permanencia de una comunidad con gran diversidad de abejas, caracterizada por distintos hábitos alimenticios, tamaños y sociabilidad. Aunque la riqueza de especies no tiene ninguna importancia en la producción de *C. pepo* en el CBN, indudablemente son polinizadores eficientes de otras especies de plantas silvestres y cultivadas en el CBN. Es importante recalcar que *A. mellifera* no tiene ningún efecto en la producción de *C. pepo*. Esto ha sido reportado anteriormente por Garibaldi et al. (2013), quienes reportan que los insectos silvestres polinizan los cultivos de forma más efectiva que *A. mellifera*.

Efecto de la estructura del paisaje y el manejo tradicional en la genética poblacional de C. pepo en el CBN: *C. pepo* presentó altos niveles de variación genética en el CBN. Esta especie ha presentado una alta diversidad morfológica y genética en la América (Paris H.S et al., 2003; Gong et al., 2013); lo cual se explica porque es una especie monoica, de polinización cruzada y con flujo génico mediado por abejas (Mujaju et al., 2010; Enríquez et al., 2015). Cuatro poblaciones presentaron endogamia, lo cual podría estar relacionado con deficiencia de polinizadores, aislamiento y poco intercambio de semillas entre las localidades del CBN. La diferenciación genética de las poblaciones de *C. pepo* es moderada ($F_{st} = 0.16$), impulsado principalmente por DU-T, OR-T y JU-T, que conforman tres grupos genéticos diferenciados entre ellos. Pero principalmente por DU-T, altamente diferenciada del resto de poblaciones de *C. pepo*. También se pudo observar que solo el DU-T mostró la existencia de un posible cuello de botella reciente, sugiriendo así, que el DU-T tiene un riesgo de extinción por aislamiento, deriva génica y depresión por endogamia. El resto de poblaciones de *C. pepo* conforman un solo grupo genético, con alto

flujo génico, gracias al intercambio comercial entre estas localidades. Por otro lado, las variedades tradicionales -TL- se encuentran mezcladas genéticamente con la variedad comercial -CV-, con excepción del DU-T. Esto se debe, probablemente, a que la CV se originó de una TL de manera reciente (40 años) (Azurdía, 2014) debido a exigencias de mercado.

Por otro lado, no se encontró ninguna relación de la composición de la estructura del paisaje del CBN en la variación genética de *C. pepo*; pero sí con las prácticas agrícolas tradicionales de los pobladores de esa región. Donde, las TL son mayormente asociadas con los agricultores Maya Q'eqchi, que aún mantienen sus prácticas de cultivo tradicional en el CBN. Esta agricultura tradicional ha sido asociada a la alta diversidad en cultivos, principalmente en su centro de origen (Casas et al., 2007; Galluzzi & López, 2014). La cantidad de semillas que intercambian los agricultores está asociado a una alta variación genética de *C. pepo*. Esto último se explica debido a la incorporación de genes de otras localidades del CBN, incluyendo los de las CV, que son muy diversas genéticamente. Este fenómeno también ha sido reportado para el Valle de Oaxaca, México (Pressoir & Berthaud, 2004). Así mismo, la proporción de semillas intercambiadas por los agricultores, de forma local, está relacionado negativamente, aunque en menor grado, con la variación genética de *C. pepo*. El intercambio de semillas locales es una práctica común en Guatemala, la cual ha sido reportada en Maíz (Van Etten & de Bruin, 2007; Johannessen et al., 1970; Johannessen, 1982). Este flujo génico bajo y restringido, sumado a la práctica de sembrar pocos individuos para el siguiente ciclo de cosecha, conlleva serias implicaciones para el mantenimiento de la diversidad genética de *C. pepo* en el CBN (González-Jara et al., 2011). Por lo anterior, se considera que el abandono de la práctica de selección se

semillas y de la conservación tradicional realizada por los agricultores en el CBN, como se observó en este estudio, anticipa no solo la pérdida de diversidad genética de las variedades tradicionales de *C. pepo*, sino del acervo genético de *C. pepo* en su conjunto. Nuestros resultados sugieren que el manejo agrícola tradicional en las poblaciones de DU-T, OR-T y JU-T pueden diferir notablemente del resto de poblaciones en el CBN. Por lo tanto, es urgente una especial atención en el rescate de la población de DU-T, altamente diferenciada y con cuello de botella.

Los resultados del presente estudio resaltan la importancia de preservar la diversidad de especies de abejas en el corredor del bosque nuboso -CBN-, en Baja Verapaz Guatemala, dado su rol como polinizadores de muchas plantas silvestres. No menos importante, es su rol sobre la producción en plantas cultivadas, como el caso de *C. pepo*. Esta planta es una fuente de ingresos para los agricultores de esta región y está fuertemente arraigada a su cultura. También se resalta la importancia de preservar los hábitats naturales heterogéneos, en los alrededores de los cultivos en los sistemas agrícolas en el CBN, para preservar la riqueza de especies. También es importante resaltar la importancia de *P. bilineata* como un polinizador clave para salvaguardar la producción de *C. pepo*; y en todo el ecosistema del CBN, por su resiliencia a la pérdida de los hábitats naturales. Por último, nuestros resultados resaltan la importancia del manejo agrícola tradicional de los pobladores del CBN en la genética poblacional de *C. pepo*; más que el efecto que pueda tener la estructura del paisaje. Se destaca también, la presencia de variedades tradicionales de *C. pepo* en el CBN, producto de la acción combinada de la selección artificial por los agricultores en sistemas tradicionales y la selección natural debida a las condiciones ambientales locales. Sin embargo, estas variedades afrontan una amenaza debido a la disminución de las

prácticas agrícolas tradicionales en el CBN. Se espera que la información generada contribuya a crear estrategias para la conservación del servicio de polinización en el bosque de niebla, en áreas moderadamente fragmentadas como el CBN; y que también beneficien a sus sistemas agrícolas asociados. Así mismo, se espera que los datos generados, sean de utilidad para el establecimiento de programas de conservación para la colección, investigación y caracterización de la diversidad de cultivos nativos y las prácticas tradicionales asociadas. Así como, contribuir a la preservación de las variedades tradicionales de *C. pepo* y las prácticas tradicionales asociadas, por medio de la promoción de mercados que promuevan la biodiversidad agrícola (la agricultura orgánica, eco-amigable, saludable y ligada al comercio justo).

Conclusiones generales

27 especies conforman la comunidad de abejas visitantes florales de *C. pepo*, en el CBN. El ensamble de especies es muy variable entre las localidades, con una baja diversidad beta, por lo que los esfuerzos de conservación se deben enfocar en los sitios de mayor diversidad, que generalmente están asociados a sitios con mayor cantidad de hábitat naturales.

Las abejas nativas *Partamona bilineata* y *Bombus ephippiatus* son importantes para la producción de frutos y semillas de *C. pepo* en el CBN. Sin embargo, *P. bilineata* no es favorecida por los hábitats naturales, lo que la hace una especie resiliente e importante para proveer el servicio de polinización en el CBN, ante la pérdida acelerada de los hábitats naturales.

Los hábitats naturales heterogéneos a nivel local, favorecen la riqueza de especies de comunidad de abejas visitantes florales de *C. pepo*. A pesar que esta riqueza de especies de

abejas no se asocia con la polinización de *C. pepo*, son importantes para la polinización de otras plantas silvestres del CBN.

La variación genética y el flujo génico de *C. pepo* no está relacionada con la estructura del paisaje del CBN, más bien, está relacionada con los patrones de intercambio de semillas, asociados al manejo agrícola tradicional.

A pesar que *C. pepo* presenta una moderada variación genética, cuatro de sus poblaciones se encuentran estructuradas y con endogamia; y el resto de poblaciones se encuentran mezcladas con las variedades comerciales, lo cual podría afectar su diversidad genética en un futuro.

Recomendaciones generales

Futuros estudios, deben enfocarse en investigar la composición de especies, redes de interacción de abejas nativas y la dependencia de la polinización, en otras especies de plantas cultivadas y silvestres en el CBN. De esta manera, se podrá entender la dinámica de la polinización y la resiliencia de este servicio ecosistémico a la alteración del paisaje. Así mismo, se debe investigar el efecto de la estructura del paisaje a una mayor escala en el CBN, lo que nos permitirá conocer la respuesta de los polinizadores de mayor tamaño al paisaje, los cuales favorecen el flujo génico de las poblaciones de plantas a lo largo del paisaje. Por último, evaluar otros sistemas agrícolas tradicionales altamente dependientes de la polinización, incluyendo los aspectos relacionados con el manejo agrícola tradicional para conocer las fuerzas naturales y antropogénica que modelan su diversidad genética a lo largo del paisaje. Por último, evaluar el efecto de la estructura del paisaje en la diversidad

genética y flujo génico de algunos polinizadores importantes en el CBN y su efecto como agentes polinizadores.

Referencias

ADAMSON, N.L., T.H. ROULSTON, R.D. FELL and D.E. MULLINS. 2012. From April to August—Wild bees pollinating crops through the growing season in Virginia, USA. *Environmental Entomology* 41(4):813–821.

AZURDIA, C. 2014. Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados. Cucurbitas (Cucurbitas spp.). C. Azurdia [ed.]. Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Guatemala.

BROSI, B.J., G.C. DAILY, P.R. EHRLICH, S.E., and N. MAR. 2010. Bee Community Shifts with Landscape Context in a Tropical Countryside. *Ecological Society of America* 17: 418–430.

CANE, J.H., and J.A. PAYNE. 1993. Regional, annual, and seasonal variation in pollinator guilds: intrinsic traits of bees (Hymenoptera: Apoidea) underlie their patterns of abundance at *Vaccinium ashei* (Ericaceae). *Annals of the Entomological Society of America* 86 (5): 577-588.

CASAS, A., A. OTERO-ARNAIZ, E. PÉREZ-NEGRÓN, and A. VALIENTE-BANUET. 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Annals of Botany* 100: 1101–1115.

- DRAMSTAD, W., and G. FRY. 1995. Foraging activity of bumblebees (*Bombus*) in relation to flower resources on arable land. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 53: 123–135.
- ENRIQUEZ, E., R. AYALA, V.H. GONZALEZ, and J. NUNEZ-FARFAN. 2015. Alpha and beta diversity of bees and their pollination role on *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae) in the Guatemalan cloud forest. *Pan-Pacific Entomologist* 91: 211–222.
- VAN ETTEN, J., and S. DE BRUIN. 2007. Regional and local maize seed exchange and replacement in the western highlands of Guatemala. *Plant Genetic Resources* 5: 57–70. Available at: <http://dx.doi.org/10.1017/S147926210767230X>.
- GALLUZZI, G., and I. LÓPEZ. 2014. Conservation and use of genetic resources of underutilized crops in the Americas-A continental analysis. *Sustainability* (Switzerland) 6: 980–1017.
- GARIBALDI, L.A., I. STEFFAN-DEWENTER, R. WINFREE, M.A. AIZEN, R. BOMMARCO, S.A. CUNNINGHAM, C. KREMEN, ET AL. 2013. Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science* 339: 1608–1611. Available at: <http://science.sciencemag.org/content/sci/339/6127/1608.f>
- GONG, L., H.S. PARIS, G. STIFT, and T. LELLEY. 2013. Genetic relationships and evolution in *Cucurbita* as viewed with simple sequence repeat polymorphisms: the centrality of *C. okeechobeensis*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 1531–1546.

- GONZÁLEZ-JARA, P., A. MORENO-LETELIER, A. FRAILE, D. PIÑERO, and F. GARCÍA-ARENAL. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annum* var. *glabriusculum*. *PLoS ONE* 6(12): e28715.
- GREENLEAF, S.S., N.M. WILLIAMS, R. WINFREE, and C. KREMEN. 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153: 589–596.
- GROSS, C.L. 2001. The effect of introduced honeybees on native bee visitation and fruit-set in *Dillwynia juniperina* (Fabaceae) in a fragmented ecosystem. *Biological Conservation* 102(1): 89–95.
- ISAC, S.A., M. BRENO, S. FERNANDO, and WALTERS. 2016. Pollination in Cucurbit Crops. In P. Mohammad [ed.]. *Handbook of Cucurbits, growth, cultural practices, and physiology*, 181–200. CRC press. Available at: <http://www.crcnetbase.com/doi/10.1201/b19233-16>.
- JOHANNESSEN, C.L. 1982. Domestication process of maize continues in Guatemala. *Economic Botany* 36: 84–99.
- JOHANNESSEN, C.L., M.R. WILSON, and W.A. DAVENPORT. 1970. The Domestication of Maize: Process or Event? *Geographical Review* 60: 393–413.
- JULIER, H.E., and T.H. ROULSTON. 2009. Wild bee abundance and pollination service in cultivated pumpkins: Farm management, nesting behavior and landscape effects. *Journal of Economic Entomology* 102: 563–573. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-65349103619&partnerID=40&md5=5b72d6409c6fb9591a632c2daba625f4>.

- KLEIN, A.M., I. STEFFAN-DEWENTER, and T. TSCHARNTKE. 2003. Pollination of *Coffea canephora* in relation to local and regional agroforestry management. *Journal of Applied Ecology* 40(5):837–845.
- KLEIJN, D., WINFREE, R., BARTOMEUS, I., CARVALHEIRO, L., HENRY, M., ISAACS, R., KLEIN, AM., KREMEN, C., ET AL. 2015. Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications* 6:8
- KREMEN C., N.M. WILLIAMS, R.L. BUGG, J.P. FAY, and R.W. THORP. 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters* 7(11):1109–1119.
- KRUG, C., I. ALVES-DOS-SANTOS, and J. CANE. 2010. Visiting bees of Cucurbita flowers (Cucurbitaceae) with emphasis on the presence of *Peponapis fervens* Smith (Eucerini-Apidae) – Santa Catarina, southern Brazil. *Oecologia Australis* 14(1):128–139.
- LANDAVERDE-GONZÁLEZ, P., E. ENRÍQUEZ, M.A. ARIZA, T. MURRAY, R.J. PAXTON, and M. HUSEMANN. 2017. Fragmentation in the clouds? The population genetics of the native bee *Partamona bilineata* (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) in the cloud forests of Guatemala. *Conservation Genetics DOI* 10.1007/s10592-017-0950-x
- MACHADO, I.C.S. and M. SAZIMA. 2008. Pollination and breeding system of *Melochia tomentosa* L. (Malvales), a keystone floral resource in the Caatinga: the role of *Apis mellifera* and autochthonous pollinators in fruit set. *Flora* 203(6):484–490.

- MELÉNDEZ-RAMÍREZ, V., S. MAGANA-RUEDA, V. PARRA-TABLA, R. AYALA, and G. NAVARRO. 2002. Diversity of native bee visitors of cucurbit crops (Cucurbitaceae) in Yucatán, México. *Journal of Insect Conservation* 6: 135–147.
- MUJAJU, C., J. SEHIC, G. WERLEMARK, L. GARKAVA-GUSTAVSSON, M. FATIH, and H. NYBOM. 2010. Genetic diversity in watermelon (*Citrullus lanatus*) landraces from Zimbabwe revealed by RAPD and SSR markers. *Hereditas* 147: 142–153.
- MURRAY, T.E., U. FITZPATRICK, A. BYRNE, R. FEALY, M.J.F. BROWN and R.J. PAXTON. 2012. Local-scale factors structure wild bee communities in protected areas. *Journal of Applied Ecology* 49(5):998–1008.
- NEVES, E.L. and B.F. VIANA. 2011. Pollination efficiency of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae) on the monoecious plants *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. and *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) in a semi-arid Caatinga area, northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 71(1):107–113.
- PARIS H.S, YONASH N., PORTNOY V., MOZES-DAUBE N., TZURI G., and KATZIR. 2003. Assessment of genetic relationships in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae) using DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* 971–978.
- PRESSOIR, G., J. BERTHUD. 2004. Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity* 92: 88–94.

- SAMPSON, B.J., and J.H. CANE. 2000. Pollination efficiency of three bee (Hymenoptera: Apoidea) species visiting rabbiteye blueberry. *Journal of Economic Entomology* 93(6):1726–1731.
- TSCHARNTKE, T., A.M. KLEIN, A. KRUESS, I. STEFFAN-DEWENTER, and T. CARSTEN. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters* 8: 857–874.
- VAN ETTEN J., S. DE BRUIN. 2007. Regional and local maize seed exchange and replacement in the western highlands of Guatemala. *Plant Genetics and Resources* 5:57–70. doi: doi:10.1017/S147926210767230X
- WESTPHAL, C., I. STEFFAN-DEWENTER, and T. TSCHARNTKE. 2003. Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters* 6: 961–965.
- WINFREE, R., R. AGUILAR, D.P. VÁZQUEZ, G. LEBUHN, and M. A. AIZEN. 2009. A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology* 90: 2068–2076.
- WINFREE, R., T. GRISWOLD, and C. KREMEN. 2007. Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conservation Biology* 21: 213–223.
- ZAMBRANO, G., V.H. González, I. Hinojosa-Díaz, and M.S. Engel. 2013. Bees visiting squash (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) in southwestern Colombia (Hymenoptera: Apoidea). *Journal of Melittology* 18:1–5.