

Research Paper

Residual Data Reveals Greater Efficacy than Procrustes Data in Differentiation and Relationships Between the Populations of *Apis florea*

Javad Nazemi-Rafie¹, Mehdi Modaber² and Taghi Ghasemi³

1- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran, (Corresponding author: j.nazemi@uok.ac.ir)

2- M.Sc. Graduated, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan

3- M.Sc. Graduated, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan

Received: 16 April 2024

Revised: 09 July 2024

Accepted: 03 August 2024

Extended Abstract

Background: Honeybees have an important role in the pollination of plants. *Apis florea* Fabricius, 1787, has been described over the last two centuries. *A. florea* is distributed in Vietnam, south-eastern China, India, Nepal, southern Thailand, Sri Lanka, Sudan, southern Iran, Pakistan, Saudi Arabia, and Oman. The climatic zones of *A. florea* change from tropical rainforest in the east to savannah in the west. Furthermore, westwards, the climatic zones change from tropical to subtropical steppe and semi-desert. Morphometric data were used in addition to analyses of molecular data to study the honeybees. Morphometric analyses are flexible tools employed by users in different areas of the world. The geometric morphometric method uses landmarks that can be located precisely on the vein junctions of wings. The geometric morphometric method has been used to compare the populations of *A. florea*. In addition, traditional or standard morphometric methods have been used to study the populations of *A. florea* in various areas of the world. The landmark configurations eliminate the effects of position, orientation, and size of shapes. Data on shapes are converted into Procrustes coordinates using the geometric morphometric method. Regression analysis between centroid size and Procrustes coordinates creates new data on the residuals, which can be applied in other analyses. No published research has utilized residual coordinates (residual data) to compare the populations of *A. florea*. Therefore, the current research aimed to compare the performance efficacy of residual and Procrustes coordinates in differentiation and relationships among the populations of *A. florea* in various areas of the world.

Methods: Samples of the *A. florea* honeybee species were prepared from their distributed areas. The right forewings of honeybees were used to study the relationships among the various populations. Eighty samples were selected from each area. A tps file was built by importing the right forewing pictures into TpsUtil V. 1.64 software. Then, the tps file was loaded into tpsDig V. 2.18. Twenty landmarks were digitized in the vein junctions of the forewings. This was followed by the raw data obtained from landmarks, loaded into the MorphoJ software V. 1.06d, and converted into Procrustes coordinates for use in future analyses, followed by analyzing the Procrustes coordinates. Mahalanobis distances and canonical variates were obtained using permutation tests. The regression between Procrustes data and centroid sizes was calculated, and an allometry test was performed afterward. The residual coordinates (residual data) were obtained after the removal of the size effect (size correction) from shape variables. The residual and Procrustes data were imported into PAST software v.3.19, and the populations of *A. florea* were compared using Canonical Variate Analysis (CVA). Moreover, clusters were drawn with the residual and Procrustes data using SAS v.8 software.

Results: Multivariate (MANOVA) and pair-wise analyses of residual and Procrustes data were tested for the populations of *A. florea*. The Procrustes and residual data of the populations showed statistically significant differences using MANOVA ($p < 0.001$). Moreover, the tested pairwise comparisons indicated that all populations were significantly different in Procrustes and residual data ($p < 0.001$). The landmark configurations of forewings were superimposed, and variations were obtained between the populations. The highest variation was found in the vein junction of R and Rs, landmark 19 ($S_2 = 0.0000622$). The lowest variation was observed in the vein junction of Cu and 1m-cu, landmark 8 ($S_2 = 0.0000109$). The populations of various areas were compared using Canonical Variate Analysis (CVA). In the CVA of Procrustes data (Procrustes coordinates), the first and second components included 75.94% of all variation ($CV_1 = 28.74\%$ and $CV_2 = 47.20\%$). In addition, in the CVA of residual data, the first and second components included 83.06



% of all variation ($CV_1 = 31.46\%$ and $CV_2 = 51.60\%$). The CVA results of Procrustes data showed that the Pakistan samples overlapped with the Iranian samples, except for the Kerman population. Sudan samples overlapped with the Iranian samples of Bushehr, Shiraz, and Sistan and Baluchestan. Additionally, Oman samples showed partial overlapping with South India and Kerman (Iran). The CVA results of residual data showed that the Pakistan samples overlapped with the Iranian samples, except for the Kerman population. Sudan samples were differentiated from Iranian samples. In addition, the Oman samples showed partial overlapping with South India. Both Procrustes and residual data differentiated the populations of Thailand and Vietnam from the other populations. Cluster analysis was used to compare the populations of *A. florea* in various areas. The cluster derived from Procrustes data indicated that Sri Lanka was closer to the populations of Iran, except for the Kerman samples. Furthermore, the Sudan and Pakistan populations were categorized under one group. In addition, the cluster derived from the residual data indicated that the Pakistan population was closer to the populations of Iran, except for the Kerman samples. The Sri Lankan population indicated a closer relationship with India, and the Sudanese population was differentiated from the other populations.

Conclusions: The recent findings showed that residual data revealed greater efficacy than Procrustes data in differentiation and relationships between the populations of *A. florea*. The results of the derived cluster from residual data indicated closer relationships of *A. florea* populations from Pakistan and Sri Lanka with Iran and South India, respectively.

Keywords: *Apis florea*, Geometric morphometric, Procrustes data, Residual data

How to Cite This Article: Nazemi-Rafie, J., Modaber, M., & Ghasemi, T. (2025). Residual Data Reveals Greater Efficacy than Procrustes Data in Differentiation and Relationships Between the Populations of *Apis florea*. *Res Anim Prod*, 16(2), 126-137. DOI: 10.61882/rap.2024.1480

مقاله پژوهشی

کارایی بیشتر داده‌های باقیمانده (residual data) نسبت به داده‌های پروکراست *Apis florea* در تمایز و روابط بین جمعیت‌های زنبور عسل (Procrustes data)

جواد ناظمی رفیع^۱, مهدی مدبر^۲ و تقی قاسمی^۳

- ۱- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، (نویسنده مسؤول) j.nazemi@uok.ac.ir
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۹
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۸
صفحه ۱۲۶ تا ۱۳۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: زنبورهای عسل نقش مهمی در گرده افسانی گیاهان دارند. *Apis florea* Fabricius در طول دو قرن گذشته توصیف شده است. *A. florea* در ویتنام، جنوب شرقی چین، هند، بنال، جنوب ایران، سریلانکا، سودان، جنوب ایران، پاکستان، عربستان سعودی و عمان پراکنده شده است. آب و هوای مناطق پراکنش *A. florea* از جنگل‌های بارانی استوایی در شرق تا سواوانا در غرب تغییر می‌کند. همچنین به سمت غرب، آب و هوای مناطق پراکنش این گونه از گرسیزی به نیمه گرسیزی استی تا بیمه بیانی تغییر می‌کند. علاوه بر داده‌های مولکولی، از داده‌های مرفومتریک نیز برای مطالعه زنبورهای عسل استفاده شده است. تحلیل‌های مرفومتریک ابزارهای انعطاف‌پذیری هستند که توسط محققان در مناطق مختلف جهان استفاده می‌شوند. روش مرفومتریک هندسی از لندمارک‌هایی استفاده می‌کند که می‌توانند دقیقاً روی محل اتصال رگبال‌ها قرار گیرند. برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف شده است. همچنین، روش مرفومتریک سنتی یا استاندارد برای بررسی جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان به کار رفته است. مختصات لندمارک‌ها اثرات موقعتی، جهت و اندازه شکل‌ها را حذف می‌کنند. داده‌های مربوط به شکل‌ها با استفاده از روش مرفومتریک هندسی به مختصات پروکراست تبدیل می‌شوند. تجزیه و تحلیل رگرسیون بین اندام‌ها وارد نرم‌افزار MorphoJ V. 1.06d شدن و در تجزیه و تحلیل‌های آینده به مختصات پروکراست تبدیل شدن. سپس، فواصل ماهالات‌نویس به دست آمد. رگرسیون بین داده‌های پروکراست و اندام‌های مرکزی مختصات پروکراست داده‌های باقی‌مانده ایجاد می‌کند که می‌تواند در تجزیه و تحلیل‌های دیگر مورد استفاده قرار گیرد. تاکنون هیچ تحقیقی از مختصات باقی‌مانده (داده‌های باقی‌مانده) برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف شده است. بنابراین، هدف پژوهش خاصر مقایسه کارایی عملکرد مختصات باقی‌مانده و پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان بوده است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های گونه زنبور عسل *A. florea* از مناطق پراکنش آن‌ها تهیه شدند. بال‌های جلویی واقع در سمت راست زنبورهای عسل برای بررسی روابط بین جمعیت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. از هر منطقه ۸۰ نمونه انتخاب شد. ۲۰ لندمارک در محل اتصال رگبال‌ها قرار گرفت. داده‌های خام به دست آمده از لندمارک‌ها وارد نرم‌افزار MorphoJ V. 1.06d شدن و در تجزیه و تحلیل‌های آینده به مختصات پروکراست تبدیل شدن. سپس، فواصل ماهالات‌نویس به دست آمد. رگرسیون بین اندام‌های پروکراست و اندام‌های مرکزی مختصات پروکراست داده‌های باقی‌مانده شدن. مختصات باقی‌مانده (داده‌های باقی‌مانده) پس از حذف اثر اندازه (تصحیح اندازه) از متغیرهای شکلی مخصوصه شدند. داده‌های باقی‌مانده و پروکراست در نرم‌افزار PAST v.3.19 وارد شدن و *A. florea* با استفاده از تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) مقایسه شدند. همچنین، تجزیه و تحلیل کلاستر داده‌های باقیمانده و پروکراست با استفاده از نرم‌افزار SAS v.8 انجام شد.

یافته‌ها: آنالیز چندمتغیره داده‌های پروکراست و باقی‌مانده تفاوت معنی‌داری را بین جمعیت‌ها نشان داد ($P < 0.001$). همچنین، با استفاده از داده‌های پروکراست و باقی‌مانده، مقایسه‌های جفتی بین تمام جمعیت‌ها مورد آزمون قرار گرفت و بین تمام جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.001$). مختصات لندمارک‌های بال‌های جلو روی هم قرار گرفتند و تغییرات بین جمعیت‌ها به دست آمدند. بیشترین تغییرات در محل اتصال رگبال‌های R و RS لندمارک ۱۹ (S2 = ۰/۰۰۰۶۴۲) مشاهده شد. همچنین، کمترین تغییرات در محل اتصال رگبال‌های C1 و CII لندمارک ۸ مشاهده شد (S2 = ۰/۰۰۰۱۰۹). در CVA داده‌های پروکراست، مؤلفه‌های اول و دوم ۷۵/۹۴ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند (CV1 = ۴۷/۲۰ و CV2 = ۲۸/۷۴). همچنین در CVA داده‌های باقی‌مانده، مؤلفه‌های اول و دوم ۸۳/۰۶ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند (CV1 = ۳۱/۴۶ و CV2 = ۵۱/۶۰). نتایج CVA داده‌های پروکراست نشان دادند که نمونه‌های پاکستان با نمونه‌های ایران (به جز جمعیت کرمان) همپوشانی داشتند. نمونه‌های سودان با نمونه‌های ایرانی بوشهر، شیراز و سیستان و بلوچستان همپوشانی داشتند. علاوه بر این، نمونه‌های عمان همپوشانی نسبی با نمونه‌های جنوب هند و کرمان (ایران) نشان دادند. نتایج CVA داده‌های باقی‌مانده نشان دادند که نمونه‌های پاکستان به جز جمعیت کرمان با نمونه‌های ایرانی همپوشانی داشتند. نمونه‌های سودان از نمونه‌های ایران تمایز شدند. علاوه بر این، نمونه‌های عمان همپوشانی نسبی با نمونه‌های جنوب هند داشتند. داده‌های پروکراست و داده‌های باقیمانده، جمعیت‌های تایلند و ویتنام از سایر جمعیت‌های تایلند و ویتنام در جنوب شبه قاره هند واقع شده است. کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت سریلانکا را از جمعیت *A. florea* در جنوب هند داشت و جمعیت سودان از سایر جمعیت‌ها تمایز شد.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج این آزمایش نشان دادند که داده‌های باقی‌مانده کارایی بیشتری را نسبت به داده‌های پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *Apis florea* داشتند؛ به طوری که نتایج کلاستر منتج از داده‌های باقی‌مانده، ارتباط نزدیک‌تری ایران قرار دارد و کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت پاکستان ارتباط نزدیک‌تری را از کثیر جمعیت‌های ایران داشت. همچنین، سریلانکا جزیره‌ای در آقیانوس هند است که در جنوب شبه قاره هند واقع شده است. کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت سریلانکا را از جمعیت *A. florea* در جنوب هند داشت و جمعیت سودان از سایر جمعیت‌ها تمایز شد.

نتیجه‌گیری کلی: نتایج این آزمایش نشان دادند که داده‌های باقی‌مانده بیشتری را نسبت به داده‌های پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *Apis florea* داشتند؛ به طوری که نتایج کلاستر منتج از داده‌های باقی‌مانده، ارتباط نزدیک‌تر جمعیت‌های *Apis florea* پاکستان و سریلانکا را به ترتیب با جمعیت‌های ایران و جنوب هند نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: داده‌های باقی‌مانده، داده‌های پروکراست، مرفومتریک هندسی، *Apis florea*

مقدمه
زنبورهای عسل نقش مهمی در گرده افسانی گیاهان دارند

این، برخی از محققان گونه‌های دیگری از زنبور عسل را پیشنهاد کرده‌اند. *Lo et al.* (2010) دو زیرگونه از زنبورهای

مقدمه
زنبورهای عسل نقش مهمی در گرده افسانی گیاهان دارند
ن. گونه زنبور عسل (*Apis spp.*) (Aslan et al., 2013) توسط

ستنی یا استاندارد برای مطالعه جمعیت‌های *A. florea* در نقاط مختلف جهان استفاده کردند. روش مرفوتمتریک هندسی در تعداد کمی از تحقیقات منتشرشده مرتبط با جمعیت‌های *A. florea* به کار رفته است. همچنین، تمام مطالعات علمی مرتبط با مرفوتمتریک هندسی گونه *A. florea* از مختصات پروکراست برای مقایسه جمعیت‌ها استفاده کردند. تاکنون از مختصات باقی‌مانده (داده‌های باقی‌مانده) برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده نشده است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر مقایسه کارایی عملکرد مختصات باقی‌مانده و پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان بود.

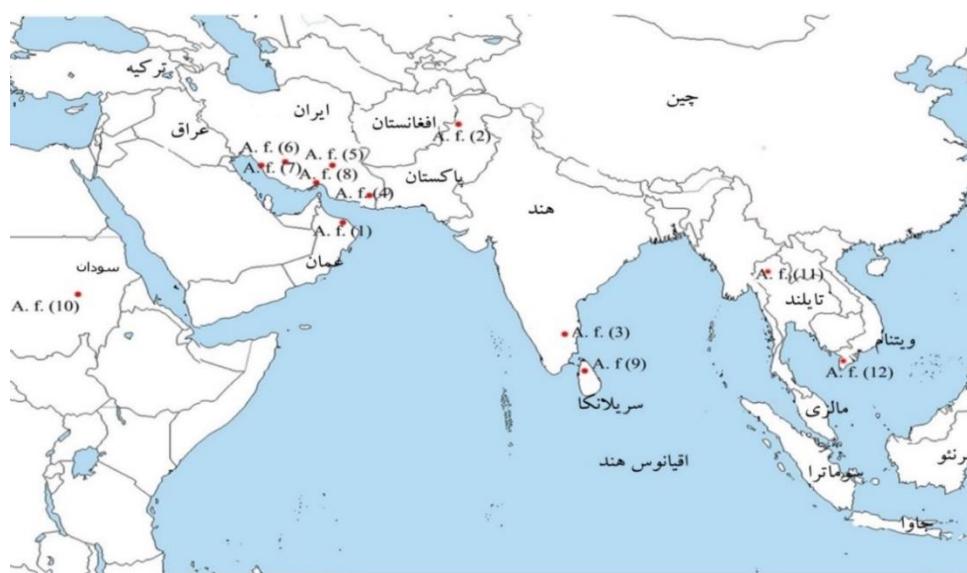
مواد و روش‌ها

نمونه‌های گونه زنبور عسل *A. florea* از مناطق مختلف پراکنش آن‌ها تهیه شد (جدول ۱، شکل ۱). بال‌های جلویی سمت راست زنبورهای عسل برای بررسی روابط بین جمعیت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. از هر منطقه ۸۰ نمونه انتخاب شدند. با وارد کردن تصاویر بال در نرم‌افزار سپس فایل tps در نرم‌افزار TpsUtil V. 1.64 (Rohlf, 2013) tpsDig V. 2.18 (Rohlf, 2016) مورد استفاده قرار گرفت. ۲۰ لندمارک در محل اتصال رگبال‌ها در نرم‌افزار MorphoJ V. 1.06d (Klingenberg, 2011) قرار گرفت (شکل ۲). داده‌های خام بدست آمده از لندمارک‌ها وارد و به مختصات پروکراست تبدیل شدند. سپس، فواصل ماهالانوبیس^۲ بدست آمدند. رگرسیون بین داده‌های پروکراست و اندازه‌های مرکزی محاسبه شد و آزمون آلموتري انجام شد. پس از حذف اثر اندازه (تصحیح اندازه) از متغیرهای شکلی، مختصات باقی‌مانده (داده‌های باقی‌مانده) محاسبه شدند. داده‌های باقی‌مانده و پروکراست در نرم‌افزار PAST v.3.19 وارد شدند و جمعیت‌های *A. florea* با استفاده از SAS v.8 انجام شد. سپس، تجزیه و تحلیل چندمتغیره (MANOVA) داده‌های باقیمانده و پروکراست با نرم‌افزار PAST انجام شد (Hammer & Harper, 2006). فایل‌های tps به نرم‌افزار tpsRelw 1.45 (Rohlf, 2007) وارد شدند تا تغییرات بین لندمارک‌های بال‌های جلویی جمعیت‌های *A. florea* محاسبه شوند.

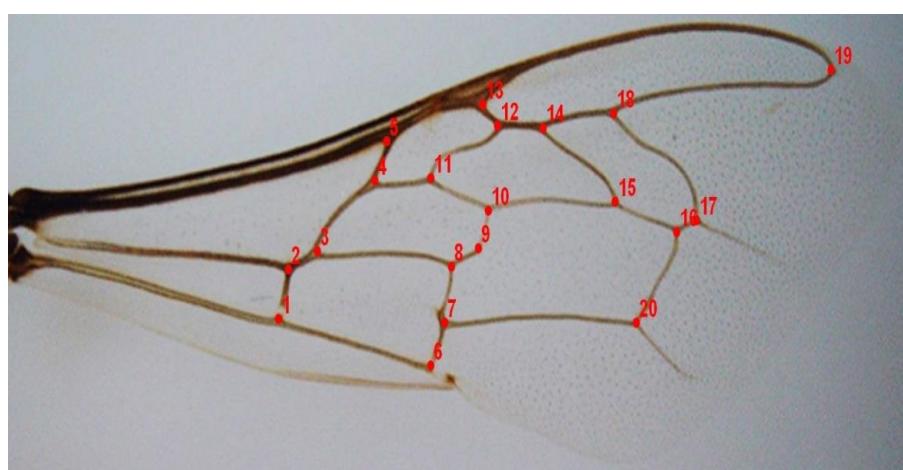
عسل آسیایی (*Apis cerana*) را به عنوان گونه‌های معتبر در نظر گرفتند. *Apis florea* Fabricius در طول دو قرن گذشته توصیف شده است (Engel, 1999). گونه *A. florea* در ویتنام، جنوب شرقی چین، هند، نپال، جنوب تایلند، سریلانکا، سودان، جنوب ایران، پاکستان، عربستان سعودی و عمان پراکنده شده است (Maa 1953; Hepburn & Radloff, 2011a). مناطق آب و هوایی *A. florea* از جنگلهای بارانی استوایی در شرق تا سواوانا در غرب تغییر می‌کند. به علاوه، این گونه به سمت غرب، در مناطق آب و هوایی استوایی، نیمه گرمسیری استی و نیمه بیابانی پراکنده شده است (Hepburn, 2006).

علاوه بر داده‌های مولکولی (Mohammadi et al., 2018; Soltani et al., 2019; Rahimi et al., 2023) از داده‌های مرفوتمتریک نیز در مطالعه زنبورهای عسل استفاده شده است. تحلیل‌های مرفوتمتریک ابزارهای انعطاف‌پذیری هستند که توسط محققان در مناطق مختلف جهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Tofilski, 2008). روش مرفوتمتریک هندسی از لندمارک‌هایی^۱ استفاده می‌کند که می‌توانند دقیقاً روی محل اتصال رگبال‌ها قرار گیرند. روش مرفوتمتریک هندسی اثرات موقعیت، جهت و اندازه شکل‌ها را حذف می‌کند. با استفاده از روش مرفوتمتریک هندسی، داده‌های مرتبط با شکل‌ها به Dryden & Mardia (1998; Zelditch et al., 2004) مختصات پروکراست در تحلیل‌های آماری چندمتغیره استفاده می‌شوند (Klingenberg, 2011). برای ارزیابی آزمون آلومتری در مرفوتمتریک هندسی می‌توان از رگرسیون بین مختصات پروکراست و اندازه مرکزی استفاده کرد. رگرسیون بین متغیرهای شکلی (مختصات پروکراست) و اندازه مرکزی برای حذف تأثیر اندازه (تصحیح اندازه) از مختصات پروکراست به کار می‌رود. اگر تفاوت قابل توجهی بین اندازه مرکزی و مختصات پروکراست وجود داشته باشد، اثر اندازه را می‌توان از مختصات پروکراست حذف کرد (تصحیح اندازه). بنابراین، رگرسیون، داده‌های باقی‌مانده را ایجاد می‌کند که می‌تواند در تجزیه و تحلیل‌های آینده مورد استفاده قرار گیرد (Klingenberg, 2011).

از روش مرفوتمتریک هندسی برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده شده است (Kandemir et al., 2009; Özkan et al., 2018). علاوه بر این، روش مرفوتمتریک سنتی یا استاندارد نیز در مطالعه جمعیت‌های مختلف *A. florea* استفاده شده است (Ruttner, 1988; Mogga and Ruttner, 1988; Tahmasebi et al., 2002; Chaiyawong et al., 2004; Hepburn et al., 2005; Özkan et al., 2009; Haddad et al., 2009; AL-Kahtan and Taha, 2014;



شکل ۱- نقشه پراکنش جمیعت‌های *Apis florea* در بخش‌های مختلف جهان
Figure 1. The distribution map of the populations of *Apis florea* (A. f.) in different areas of the world



شکل ۲- محل قرارگیری لندهارک‌ها در محل اتصال رگ‌بال‌های بال *Apis florea*
Figure 2. The landmark positions of forewings of *Apis florea*

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری جمعیت‌های زنبور عسل

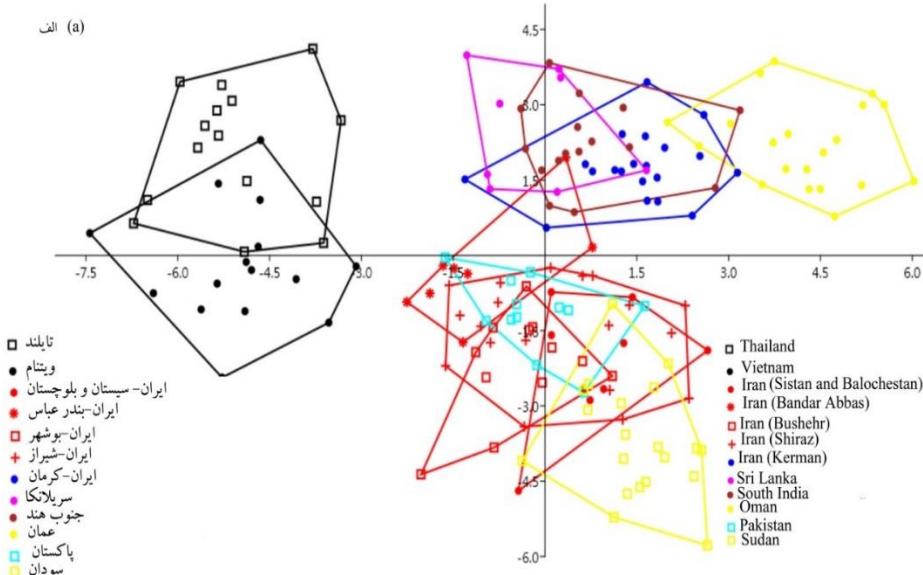
Table 1. The specimens details of the populations of *Apis florea*.

مشخصات Sample ID	نواحی Locations	طول و عرض جغرافیایی GPS references	
		عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude
A. f. (1)	عمان (مسقط) Oman (Digal and Qurm)	23°53N	56°54E
A. f. (2)	پاکستان (پشاور) Pakistan (Peshawar)	33°56N	71°32E
A. f. (3)	جنوب هند South India (Yarakapadi, Coorg)	12°18N	78°38E
A. f. (4)	ایران (سیستان و بلوچستان) Iran (Sistan and Balochestan, Iranshahr)	27°11 N	60°41 E
A. f. (5)	ایران (کرمان، بم) Iran (Kerman, Bam)	29°6' N	58°21 E
A. f. (6)	ایران (فارس، شیراز) Iran (Fars, Shiraz)	29°36 N	52°32 E
A. f. (7)	ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)	28°55 N	50°51 E
A. f. (8)	ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	27°11 N	56°16 E
A. f. (9)	سریلانکا Sri Lanka (Anuradhapura)	8°18N	80°24E
A. f. (10)	سودان (خارطوم) Sudan (Khartoum)	15°33N	32°30E
A. f. (11)	تاپلند Thailand (Chiang Mai)	18°47N	99°00E
A. f. (12)	ویتنام Vietnam (Uminh)	9°20N	104°54E

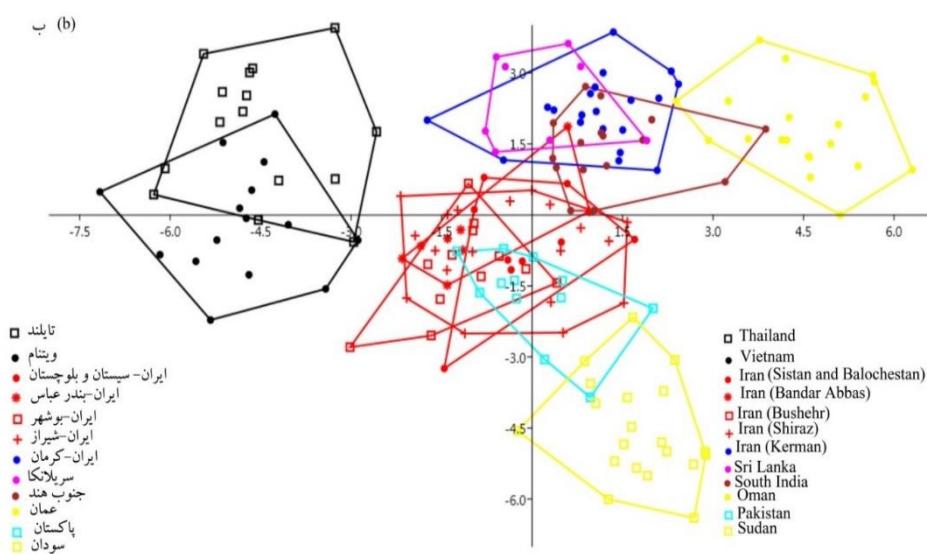
داده‌های پروکراست و باقیمانده نشان دادند ($p < 0.001$). مختصات لنمارک‌های بال‌های جلو روی هم فرارگرفتند و تغییرات بین جمعیت‌ها به دست آمدند. بیشترین تغییرات در محل اتصال رگ‌بال‌های R و m-cu1 (S2 = 0.000622) مشاهده شد. همچنین کمترین تغییرات در محل اتصال رگ‌بال‌های Cu و m-cu1 (S2 = 0.000109) مشاهده شد (S2 = 0.000109).

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل چندمتغیره (MANOVA) و مقایسه‌های جفتی^۲ بین داده‌های باقیمانده و پروکراست جمعیت‌های *A. florea* انجام شد. نتایج MANOVA داده‌های پروکراست و داده‌های باقیمانده، تفاوت معنی‌داری را در بین جمعیت‌ها نشان دادند ($p < 0.001$). علاوه بر این، مقایسه‌های جفتی بین جمعیت‌ها انجام شدند و همه جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری را در



شکل ۳- الگوی مقایسه تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) جمعیت‌های *Apis florea* بر اساس داده‌های پروکراست (الف) و باقیمانده (ب)
Figure 3. Schematic patterns of Canonical Variate Analysis (CVA) of the populations of *Apis florea* based on Procrustes (a) and residual data (b)



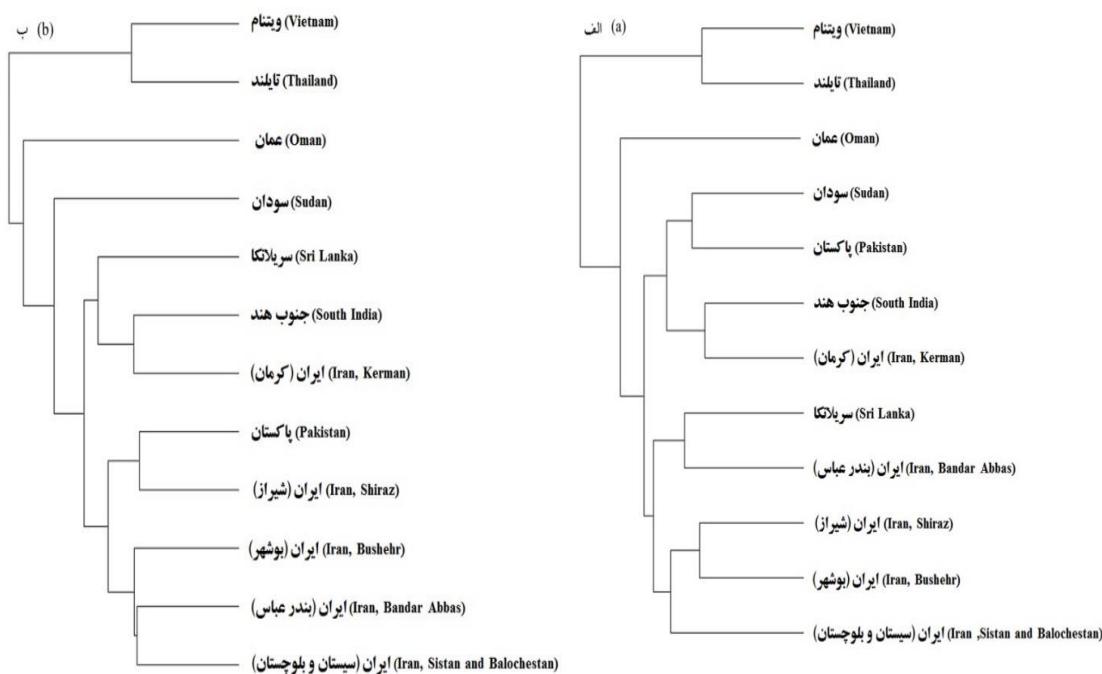
ادامه شکل ۳- الگوی مقایسه تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) جمعیت‌های *Apis florea* بر اساس داده‌های پروکراتست (الف) و باقی‌مانده (ب)

Continued of Figure 3. Schematic patterns of Canonical Variate Analysis (CVA) of the populations of *Apis florea* based on Procrustes (a) and residual data (b)

همپوشانی داشتند. نمونه‌های سودان از نمونه‌های ایرانی تمایز شدند. همچنین، نمونه‌های عمان همپوشانی نسبی با نمونه‌های جنوب هند داشتند (شکل ۳، ب). داده‌های پروکراتست و باقی‌مانده، جمعیت‌های تایلند و ویتنام را از سایر جمعیت‌ها تمایز کردند (شکل ۳، الف و ب).

تجزیه و تحلیل کلاستر برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف انجام شد. کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراتست نشان داد که سریلانکا به جمعیت‌های ایران (به‌جز نمونه‌های کرمان) نزدیک‌تر بود. علاوه بر این، جمعیت‌های سودان و پاکستان در یک گروه طبقه‌بندی شدند (شکل ۴، الف). همچنین، کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمیت پاکستان به جمعیت‌های ایران (به‌جز نمونه‌های کرمان) نزدیک‌تر بود. جمعیت سریلانکا رابطه نزدیکتری را با هند نشان داد و جمعیت سودان از سایر جمعیت‌ها تمایز شد (شکل ۴، ب).

جمعیت‌های مناطق مختلف با استفاده از تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) مقایسه شدند. در CVA داده‌های پروکراتست (مختصات پروکراتست)، مؤلفه‌های اول و دوم درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند ($CV1 = 28/74$ درصد و $CV2 = 27/74$ درصد). علاوه بر این، در CVA داده‌های باقی‌مانده، مؤلفه‌های اول و دوم $83/106$ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند ($CV1 = 51/106$ و $CV2 = 31/106$). نتایج داده‌های پروکراتست نشان دادند که نمونه‌های پاکستان با نمونه‌های ایران (به‌جز جمعیت کرمان) همپوشانی داشتند. نمونه‌های سودان با نمونه‌های ایرانی بوشهر، شیراز و سیستان و بلوچستان همپوشانی داشتند. علاوه بر این، نمونه‌های عمان همپوشانی نسبی با نمونه‌های جنوب هند و کرمان (ایران) نشان دادند که نمونه‌های پاکستان با نمونه‌های ایرانی (به‌جز جمعیت کرمان)



شکل ۴- نتایج تجزیه و تحلیل کلاستر جمعیت‌های *Apis florea* براساس داده‌های پروکراست (الف) و باقی‌مانده (ب)
Figure 4. The results of cluster analysis among populations of *Apis florea* using Procrustes data (a) and residual data (b)

نتایج گمراه کننده‌ای شود. پژوهش کاندمیر و همکاران (Kandemir *et al.*, 2009) تنها چهار جمعیت را مورد مطالعه قرار داد درصورتی که در تحقیق حاضر، تعداد مناطق نمونه‌برداری و تعداد نمونه‌ها بیشتر از تحقیق کاندمیر و همکاران (Kandemir *et al.*, 2009) بود و همین موضوع شکاف بین نواحی نمونه‌برداری را پر کرد و دقت مطالعه جمعیت‌های مختلف *A. florea* را افزایش داد (Hepburn *et al.*, 2005; Hepburn & Radloff, 2011a & 2011b).

جمعیت‌های *A. florea* در ایران با مرقومتریک هندسی و با روش پیرامون^۱ مورد مقایسه قرار گرفتند (Özkan *et al.*, 2018). یافته‌های آن‌ها حاکی از تمایز جمعیت بندرعباس (هرمزگان) از جمعیت بوشهر بودند. مرقومتریک هندسی مبتنی بر روش پیرامون، استفاده محدودتری نسبت به مرقومتریک هندسی مبتنی بر روش لنمارک^۲ دارد زیرا دقت این روش کمتر است (Zelditch *et al.*, 2004). انتقاد اصلی بر مرقومتریک هندسی مبتنی بر روش پیرامون، همولوگ نبودن نقاط لنمارک‌ها در بین نمونه‌های مورد مقایسه است که همین موضوع دقت و تفسیر نتایج را با مشکل مواجه می‌کند (Bookstein *et al.*, 1982).

در مطالعه حاضر، کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراست نشان داد که سریلانکا به جمعیت‌های ایرانی نزدیک‌تر بود. در صورتی که کلاستر حاصل از داده‌های باقیمانده نشان داد که پاکستان به جمعیت‌های ایرانی نزدیک‌تر بود. از این قرار دارد. هپبورن و همکاران (Hepborn *et al.*, 2005) چندین جمعیت *A. florea* را در مناطق مختلف جهان با استفاده از مرقومتریک استاندارد مورد مطالعه قرار دادند به طوری که تجزیه و تحلیل کلاستر،

فواصل ماهالانوبیس داده‌های پروکراست و باقی‌مانده در بین جمعیت‌های *A. florea* مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که فواصل ماهالانوبیس داده‌های پروکراست بین جمعیت‌های پاکستان و ایران از ۵/۶۱ تا ۷/۹۴ متریغ بودند (جدول ۲). همچنین، فواصل ماهالانوبیس داده‌های باقی‌مانده بین جمعیت‌های پاکستان و ایران از ۴/۹۶ تا ۶/۶۸ متریغ بودند (جدول ۳).

هدف از این تحقیق، مقایسه کارایی و عملکرد داده‌های باقیمانده و پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان بود. همچنین، تمام تحقیقات منتشرشده مرقومتریک هندسی، از مختصات پروکراست برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده کردند. اکثر محققان از مرقومتریک سنتی یا استاندارد برای مطالعه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان استفاده کردند. تحقیقات علمی کمی از روش مرقومتریک هندسی در مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده کردند. کاندمیر و همکاران (Kandemir *et al.*, 2009) روش مرقومتریک هندسی مبتنی بر لنمارک را بر روی چهار جمعیت *A. florea* در ایران استفاده کردند. یافته‌های آن‌ها نشان دادند که نمونه‌های بندرعباس (هرمزگان) با نمونه‌های جمعیت بوشهر همپوشانی نداشتند. یافته‌های تحقیق حاضر نشان دادند که با استفاده از داده‌های پروکراست، بندرعباس تا حدودی با نمونه‌های جمعیت بوشهر همپوشانی داشت. همچنین با استفاده از داده‌های باقیمانده، نمونه‌های بندرعباس با نمونه‌های بوشهر همپوشانی داشتند که با نتایج کاندمیر و همکاران (Kandemir *et al.*, 2009) متفاوت است. تعداد و اندازه نمونه از اهمیت بالایی برخوردار است زیرا تعداد کم نمونه‌ها می‌تواند باعث ایجاد

حداد و همکاران (Haddad *et al.*, 2009) از تجزیه و تحلیل کلاسستر استفاده کردند و جمعیت‌های مختلف *A. florea* را با استفاده از مروفوتیریک استاندارد مورد مقایسه قرار دادند. نتایج آن‌ها جمعیت ایران را به طور کامل از سایر مناطق دنیا متمایز کردند که با داده‌های پروکراست و باقی‌مانده در یافته‌های حاضر همخوانی ندارد زیرا حداد و همکاران (Haddad *et al.*, 2009) در از زوایای رگبال‌های بال و خصوصیات مرتبط با اندازه در نمونه‌های ایران، پاکستان و سریلانکا استفاده نکردند.

جمعیت‌های ایران و پاکستان را با هم گروه‌بندی کرد که با نتایج داده‌های باقی‌مانده مطالعه حاضر مطابقت دارد. علاوه بر این، فاصله ماهالانوبیس بین داده‌های پروکراست و باقی‌مانده مورد مقایسه قرار گرفت. فواصل ماهالانوبیس بدست آمده از داده‌های باقیمانده، فاصله کمتری را بین جمعیت‌های *A. florea* در ایران و پاکستان (۴/۶۸ تا ۴/۹۶) در مقایسه با داده‌های پروکراست (۵/۶۱ تا ۷/۹۴) نشان دادند. بنابراین، به دلیل نزدیکی پاکستان به ایران، یافته‌های داده‌های باقی‌مانده نسبت به داده‌های پروکراست قبل اعتمادتر بودند.

جدول ۲- مقایسه فواصل ماهالانوبیس بین جمعیت‌های *Apis florea* براساس داده‌های پروکراستTable 2. Comparison of mahalanobis distances among populations of *Apis florea* based on Procrustes data

	ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	ایران (سیستان و بلوچستان) Iran (Sistan and Baluchestan)	ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)	ایران (کرمان) Iran (Kerman)	ایران (شیراز) Iran (Shiraz)	ایران (شیراز) Iran (Shiraz)
ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	7.26						
ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)		5.53		6.61			
ایران (کرمان) Iran (Kerman)			7.88	7.67	6.89		
ایران (شیراز) Iran (Shiraz)				6.84	5.83	6.97	
(Oman)					7.86	6.55	7.14
عمان (Oman)		8.31		7.61			
(Pakistan)			7.94	6.67	6.26	5.77	5.61
پاکستان (Pakistan)				7.36	8.17	5.63	5.92
(South India)		8.21					
(Sri Lanka)			7.37	6.32	6.97	6.80	6.43
سریلانکا (Sri Lanka)							
(Sudan)		8.06		7.05	6.72	7.28	6.10
سودان (Sudan)							
(Thailand)		9.68		7.05	7.90	8.66	7.61
تایلند (Thailand)							
(Vietnam)		8.87		7.09	7.41	7.82	7.49
ویتنام (Vietnam)							

ادامه جدول ۲- مقایسه فواصل ماهالانوبیس بین جمعیت‌های *Apis florea* براساس داده‌های پروکراستContinued of Table 2. Comparison of mahalanobis distances among populations of *Apis florea* based on Procrustes data

	عمان (Oman)	پاکستان (Pakistan)	جنوب هند (South India)	سریلانکا (Sri Lanka)	سودان (Sudan)	تایلند (Thailand)
ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)						
ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)						
ایران (کرمان) Iran (Kerman)						
ایران (شیراز) Iran (Shiraz)						
(Oman)						
عمان (Oman)						
(Pakistan)						
پاکستان (Pakistan)	7.54					
(South India)	6.95	5.41				
(Sri Lanka)	6.83	7.19	5.68			
سریلانکا (Sri Lanka)						
(Sudan)	7.76	4.84	7.19	8.39		
سودان (Sudan)						
(Thailand)	9.77	7.42	7.48	6.80	9.35	
تایلند (Thailand)						
(Vietnam)	10.18	6.74	8.24	8.13	8.49	5.68
ویتنام (Vietnam)						

جدول ۳- مقایسه فواصل ماهالانویس بین جمعیت‌های *Apis florea* بر اساس داده‌های باقی‌مانده
Table 3. Comparison of mahalanobis distances among populations of *Apis florea* based on residual data

	عمان Oman	پاکستان Pakistan	جنوب هند South India	سریلانکا Sri Lanka	سودان Sudan	تایلند Thailand
ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)						
ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)						
ایران (کرمان) Iran (Kerman)						
ایران (شیراز) Iran (Shiraz)						
(Oman) (Oman)						
(Pakistan) (Pakistan)	7.55					
(South India) (South India)	6.82	5.36				
(Sri Lanka) (Sri Lanka)	6.79	7.20	5.64			
(Sudan) (Sudan)	7.77	4.95	7.13	8.39		
(Thailand) (Thailand)	9.58	7.21	7.54	6.73	9.30	
(Vietnam) (Vietnam)	10.18	6.73	8.24	8.16	8.57	5.47

ادامه جدول ۳- مقایسه فواصل ماهالانویس بین جمعیت‌های *Apis florea* بر اساس داده‌های باقی‌مانده
Continued of Table 3. Comparison of mahalanobis distances among populations of *Apis florea* based on residual data

	ایران (سیستان و بلوچستان) Iran (Sistan and Baluchestan)	ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)	ایران (کرمان) Iran (Kerman)	ایران (شیراز) Iran (Shiraz)
ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	5.49				
ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)	5.39	5.69			
ایران (کرمان) Iran (Kerman)	7.79	7.37	6.95		
ایران (شیراز) Iran (Shiraz)	5.48	6.24	5.91	6.95	
(Oman) (Oman)	7.08	7.65	7.36	6.61	6.95
(Pakistan) (Pakistan)	6.35	6.68	5.31	5.47	4.96
(South India) (South India)	5.88	7.36	7.01	5.008	4.86
(Sri Lanka) (Sri Lanka)	5.34	6.37	6.01	6.57	5.86
(Sudan) (Sudan)	6.57	7.18	6.02	7.36	5.87
(Thailand) (Thailand)	7.08	6.80	5.91	7.53	5.88
(Vietnam) (Vietnam)	7.31	7.09	6.48	7.47	6.87

تجزیه و تحلیل کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراست نشان داد که جمعیت سریلانکا به جمعیت‌های ایران نزدیک‌تر بود. بنابراین، داده‌های باقی‌مانده نتایج قابل اعتمادتر و منطقی‌تری را نسبت به داده‌های پروکراست نشان دادند. یافته‌های سایر محققان نشان دادند که جمعیت سریلانکا به جمعیت جنوب هند (*A. florea*) نزدیک‌تر بود که با نتایج داده‌های باقی‌مانده مطالعه حاضر مطابقت دارد (Hepburn et al., 2005; Hepburn & Radloff, 2011a & 2011b).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان دادند که داده‌های باقی‌مانده کارایی بیشتری را نسبت به داده‌های پروکراست در تمایز و روابط بین جمعیت‌های *Apis florea* داشتند؛ به طوری که نتایج کلاستر منتج از داده‌های باقی‌مانده، ارتباط نزدیک‌تر جمعیت‌های پاکستان و سریلانکا را به ترتیب با جمعیت‌های ایران و جنوب هند نشان دادند.

تشکر و قدردانی: به این وسیله از گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان به واسطه فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌گردد.

در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراست و باقی‌مانده، جمعیت عمان را از سایر مناطق متمايز کرد. یافته‌های هپبورن و همکاران (Hepburn et al., 2005) نشان دادند که عمان و هند با استفاده از مرقومتریک استاندارد با هم گروه‌بندی شدند که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت ندارد. داده‌های پروکراست تحقیق حاضر با استفاده از تجزیه و تحلیل متغیرهای کانونی (CVA) نشان دادند که جمعیت سودان تا حدی با برخی از جمعیت‌های ایرانی *A. florea* همپوشانی داشت. به علاوه، تجزیه و تحلیل کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراست، سودان را با پاکستان گروه‌بندی کرد. در این مطالعه، CVA و تجزیه و تحلیل کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده، سودان را از مناطق دیگر متمايز کرد. بنابراین، داده‌های باقی‌مانده توانایی بیشتری را نسبت به داده‌های پروکراست در تمایز جمعیت سودان از جمعیت‌های دیگر نشان دادند.

سریلانکا جزیره‌ای در اقیانوس هند است که در جنوب شبه قاره هند واقع شده است. کوتاه‌ترین فاصله بین سریلانکا و هند تنها ۵۴/۸ کیلومتر است. در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت *A. florea* سریلانکا به جنوب هند نزدیک بود، در حالی که

References

- Al-Etbyl, A., Abdel-Qader, A., & Al-Saad, L. (2022). First Record and Morphology Study of Red Dwarf Honey Bees *Apis Florea* Fabricius (1787) in Basra Province, Al-Qadisiyah. *Journal for Agriculture Sciences*, 12(2), 79-86. <https://doi.org/10.33794/qjas.2022.134438.1056>
- AL-Kahtan, S., & Taha, E. (2014). Morphometric Studies on Dwarf Honey bee *Apis florea* F. Workers in Saudi Arabia. *Journal of Apicultural Science*, 58, 127-134.
- Aslan, C.E., Zavaleta, E.S., Tershy, B., & Croll, D. (2013). Mutualism disruption threatens global plant biodiversity: a systematic review. *PLoS ONE*, 8(6), 1-11. e66993. doi: org/ 10. 1371/ journal. pone. 00669 93
- Bookstein, F.L., Strauss, R.E., Humphries, J.M., Chernoff, B., Elder, R.L., & Smith, G.R. (1982). A comment upon the uses of Fourier methods in systematics. *Systematic Zoology*, 31, 85–92. <https://doi.org/10.2307/2413416>
- Chaiyawong, T., Deowanish, S., Wongsiri, S., Sylvester, H.A., Rinderer, T.E., & de Guzman, L. (2004). Multivariate morphometric study of *Apis florea* in Thailand. *Journal of Apicultural Research*, 43, 123–127. <https://doi.org/10.1080/00218839.2004.11101122>
- Dryden, I.I., & Mardia, K.V. (1998). Statistical shape analysis. Wiley, Chichester. Felsenstein J (1985) Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist*, 125, 1–15.
- Engel, M.S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; Apis). *Journal of Hymenoptera Research*, 8, 165–196.
- Haddad, N., Fuchs, S., Hepburn, H.R., & Radloff, S. (2009). *Apis florea* in Jordan: source of the founder population. *Apidologie*, 40, 508–512. <https://doi.org/10.1051/apido/2009011>
- Hammer, O., & Harper, D.A.T. (2006). Paleontological data analysis. Willey-Blackwell, Oxford
- Hepburn, H.R. (2006). Absconding, migration and swarming in honeybees: An ecological and evolutionary perspective. In: Kipyatkov VE (ed) Life cycles in social insects – behaviour, ecology and evolution. St. Petersburg University Press, St. Petersburg, 121–136.
- Hepburn, H.R., & Radloff, S.E. (2011a). Biogeography of the dwarf honeybees, *Apis andreniformis* and *Apis florea*. *Apidologie*, 42, 293–300. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0024-x>
- Hepburn, H.R., & Radloff, S.E. (2011b). Honeybees of Asia. Springer, New York
- Hepburn, H.R., Radloff, S.E., Otis, G.W., Fuchs, S., Verma, L.R., Tan, K., Chaiyawong, T., Tahmasebi, G., & Wongsiri, S. (2005). *Apis florea*: morphometrics, classification and biogeography. *Apidologie*, 36, 359–376. <https://doi.org/10.1051/apido:2005023>
- Kandemir, I., Moradi, M.G., Ozden, B., & Ozkan, A. (2009). Wing geometry as a tool for studying the population structure of dwarf honey bees (*Apis florea* Fabricis 1876) in Iran. *Journal of Apicultural Research*, 48(4), 238–246. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.4.03>
- Klingenberg, C.P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometric. *Molecule Ecology Resources*, 11(2), 353–357. <https://doi.org/10.1111/j. 1755-0998.2010.02924.x>
- Lo, N., Gloag, R., Anderson, D.G., & Oldroyd, B.P. (2010). A molecular phylogeny of the genus *Apis* suggests that the Giant Honey Bee of the Philippines, *A. breviligula* Maa, and the Plains Honey Bee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species. *Systematic Entomology*, 35, 226–233. <https://doi.org/10.1111/j. 1365- 3113. 2009. 00504.x>
- Maa, T.C. (1953). An inquiry into the systematics of the tribus Apidini or honey bees (Hym.). *Treubia*, 21, 525–640.
- Mogga, J., & Ruttner, F. (1988). *Apis florea* in Africa: source of the founder population. *Bee World*, 69, 100–103. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1988.11098960>
- Mohammadi, P., Nazemi Rafie, J., & Rostamzadeh, J. (2018). Evaluation of Phylogenetic Characteristics of Iranian Honeybee (*Apis mellifera meda*) Populations based on Mitochondrial ND Gene. *Research on Animal Production*, 9(21), 93-104. [In Persian]
- Özkan, A., Gharleko, M., Özden, B., & Kandemir, I. (2009). Multivariate Morphometric Study on *Apis florea* Distributed in Iran. *Journal of Turkish Zoology*, 33, 93-102. <https://doi.org/10.3906/zoo-0806-6>
- Özkan, A., Moradi, M.G., Deliklitaş, O., Uçan, A., & Kandemir, I. (2018). Discrimination of dwarf honey bee (*Apis florea*, Fabricius 1876) populations in Iran using elliptic Fourier wing cell shape analysis. *Journal of Apicultural Research*, 57 (2), 95–202. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1412675>
- Rahimi, A., Tahmasebi, G., Bahmani, H.R., Salehi, S., Zare, B., Parsanaseb, A., & Rokhzad, B. (2023). Comparative Evaluation of Performance for Improved Iranian Honey Bee queens (*Apis mellifera meda* Skorikov 1929) in the Climate Conditions of Kurdistan Province. *Research on Animal Production*, 14(39), 102-111. [In Persian]
- Rohlf, F.J. (2007). tpsRelw, version 1.45. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York, USA.
- Rohlf, F.J. (2013). TpsUtil version 1.64. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook
- Rohlf, F.J. (2016). tps Dig2 version 2.17. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, pp 106–117.
- Ruttner, F. (1988). Biogeography and Taxonomy of Honeybees. Spring, Berlin Heidelberg

۱۳۷ کارایی بیشتر داده‌های باقیمانده (residual data) نسبت به داده‌های پروکراست (Procrustes data)

- Soltani, H., Nazemi Rafie, J., & Harighi, B. (2019). Differentiation of Iranian Honeybees (*Apis mellifera meda*) from Commercial Honeybee Subspecies using ND1 and ND5 Genes. *Research on Animal Production*, 12 (31), 157-168. [In Persian]
- Tahmasebi, G., Ebadi, R., Tajabadi, N., Alkhouandi, M., & Faraji, S. (2002). The effects of geographical and climatic conditions on the morphological variation and separation of Iranian small honeybee (*Apis florea* F.) populations. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 6, 169–176. <https://doi.org/10.1001.1.24763594.1381.6.2.15.4>
- Tofilski, A. (2008). Using geometric morphometrics and standard morphometry to discriminate three honeybee subspecies. *Apidologie*, 39, 558–563. <https://doi.org/10.1051/apido:2008037>
- Zelditch, M.L., Swiderski D.L., Sheets, H.D., & Fink, W.L. (2004). Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. Elsevier, San Diego