

Research Paper

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

Javad Nazemi-Rafie<sup>1</sup>, Mehdi Modaber<sup>2</sup> and Taghi Ghasemi<sup>3</sup>

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 ( $CV1 = 28.74\%$  and  $CV2 = 47.20\%$ ). In addition, in the CVA of residual data, the first and second components included 83.06



% of all variation ( $CV1 = 31.46\%$  and  $CV2 = 51.60\%$ ). 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 Balochistan. 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 (Procrustes data) در تمایز و روابط بین جمعیت‌های زنبور عسل *Apis florea*

جواد ناظمی رفیع<sup>۱</sup>، مهدی مدبر<sup>۲</sup> و تقی قاسمی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، (نویسنده مسوول: j.nazemi@uok.ac.ir)

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۳

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۹  
صفحه ۱۲۶ تا ۱۳۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** زنبورهای عسل نقش مهمی در گرده افشانی گیاهان دارند. *Apis florea* Fabricius در طول دو قرن گذشته توصیف شده‌است. *A. florea* در ویتنام، جنوب شرقی چین، هند، نپال، جنوب تایلند، 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 ساوانا در غرب تغییر می‌کند. همچنین به سمت غرب، آب و هوای مناطق پراکنش این گونه از گرمسیری به نیمه‌گرمسیری استپی تا نیمه بیابانی تغییر می‌کند. علاوه بر داده‌های مولکولی، از داده‌های مورفومتریک نیز برای مطالعه زنبورهای عسل استفاده شده است. تحلیل‌های مورفومتریک ابزارهای انعطاف‌پذیری هستند که توسط محققان در مناطق مختلف جهان استفاده می‌شوند. روش مورفومتریک هندسی از لندمارک‌هایی استفاده می‌کند که می‌توانند دقیقاً روی محل اتصال رگبال‌ها قرار گیرند. برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* از روش مورفومتریک هندسی استفاده شده است. همچنین، روش مورفومتریک سنتی یا استاندارد برای بررسی جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان به کار رفته است. مختصات لندمارک‌ها اثرات موقعیت، جهت و اندازه شکل‌ها را حذف می‌کنند. داده‌های مربوط به شکل‌ها با استفاده از روش مورفومتریک هندسی به مختصات پروکراست تبدیل می‌شوند. تجزیه و تحلیل رگرسیون بین اندازه مرکزی و مختصات پروکراست داده‌های جدیدی را به نام 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* استفاده نکرده است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر 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 شدند و در تجزیه و تحلیل‌های آینده به مختصات پروکراست تبدیل شدند. سپس، فواصل ماهالانویس به دست آمد. رگرسیون بین داده‌های پروکراست و اندازه‌های مرکزی محاسبه شد و آزمون آلومتری انجام شد. مختصات باقی‌مانده (داده‌های باقی‌مانده) پس از حذف اثر اندازه (تصحیح اندازه) از متغیرهای شکلی محاسبه شدند. داده‌های باقی‌مانده و پروکراست در نرم‌افزار PAST v.3.19 وارد شدند و جمعیت‌های *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 و جفتی داده‌های پروکراست و باقی‌مانده مورد آزمون قرار گرفت. 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 ( $S2 = 0.0000622$ ) مشاهده شد. همچنین، کمترین تغییرات در محل اتصال رگبال‌های Cu و am-cu1 لندمارک ۸ مشاهده شد ( $S2 = 0.000109$ ). در CVA داده‌های پروکراست، مؤلفه‌های اول و دوم ۷۵/۹۴ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند ( $CV1 = 28/74$  و  $CV2 = 47/20$ ). همچنین در CVA داده‌های باقی‌مانده، مؤلفه‌های اول و دوم ۸۳/۰۶ درصد از کل تغییرات را به خود اختصاص دادند ( $CV1 = 31/46$  و  $CV2 = 51/60$ ). 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 متمایز شدند. علاوه بر این، نمونه‌های عمان همپوشانی نسبی با نمونه‌های جنوب هند داشتند. داده‌های پروکراست و داده‌های باقیمانده، جمعیت‌های تایلند و ویتنام را از سایر جمعیت‌ها متمایز کردند. تجزیه و تحلیل کلاستر برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف انجام شد. کلاستر به دست آمده از داده‌های پروکراست نشان داد که سریلانکا به جمعیت‌های ایران (به جز نمونه‌های کرمان) نزدیک‌تر بود. همچنین، جمعیت‌های سودان و پاکستان در یک گروه طبقه‌بندی شدند. پاکستان در همسایگی ایران قرار دارد و کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت پاکستان ارتباط نزدیک‌تری را با اکثر جمعیت‌های ایران داشت. همچنین، سریلانکا جزیره‌ای در اقیانوس هند است که در جنوب شبه قاره هند واقع شده است. کلاستر به دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت سریلانکا رابطه نزدیک‌تری با جمعیت *A. florea* در جنوب هند داشت و جمعیت سودان از سایر جمعیت‌ها متمایز 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 نزدیک‌تر جمعیت‌های *A. florea* پاکستان و سریلانکا را به ترتیب با جمعیت‌های ایران و جنوب هند نشان دادند.

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

## مقدمه

(Hepburn & Radloff, 2011a) گزارش شده‌اند. علاوه بر این، برخی از محققان گونه‌های دیگری از زنبور عسل را پیشنهاد کرده‌اند. Lo et al. (2010) دو زیرگونه از زنبورهای

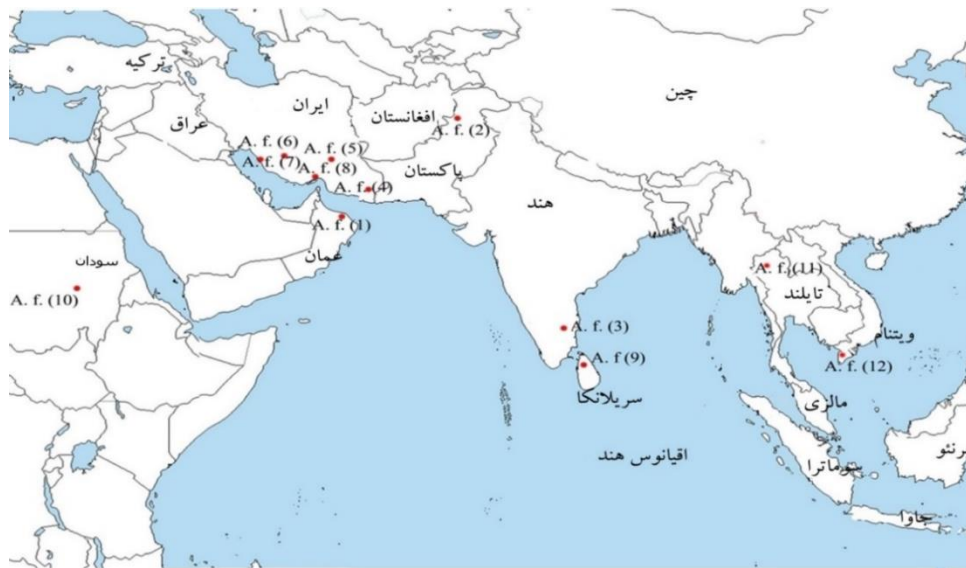
زنبورهای عسل نقش مهمی در گرده افشانی گیاهان دارند (Aslan et al., 2013). نه گونه زنبور عسل (*Apis spp*) توسط

عسل آسیایی (*Apis cerana*) را به‌عنوان گونه‌های معتبر در نظر گرفتند. *Apis florea* Fabricius در طول دو قرن گذشته توصیف شده‌است (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 ساوانا در غرب تغییر می‌کند. به‌علاوه، این گونه به‌سمت غرب، در مناطق آب و هوایی استوایی، نیمه گرمسیری استپی 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 مرفومتريک نیز در مطالعه زنبورهای عسل استفاده شده است. تحلیل‌های مرفومتريک ابزارهای انعطاف‌پذیری هستند که توسط محققان در مناطق مختلف جهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Tofilski, 2008). روش مرفومتريک هندسی از لندهمارک‌هایی<sup>۱</sup> استفاده می‌کند که می‌تواند دقیقاً روی محل اتصال رگبال‌ها قرار گیرند. روش مرفومتريک هندسی اثرات موقعیت، جهت و اندازه شکل‌ها را حذف می‌کند. با استفاده از روش مرفومتريک هندسی، داده‌های مرتبط با شکل‌ها به مختصات پروکراست تبدیل می‌شوند (Dryden & Mardia, 1998; Zelditch et al., 2004). مختصات پروکراست در تحلیل‌های آماری چندمتغیره استفاده می‌شوند (Klingenberg, 2011). برای ارزیابی آزمون آلومتری در مرفومتريک 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 قابل‌توجهی 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).

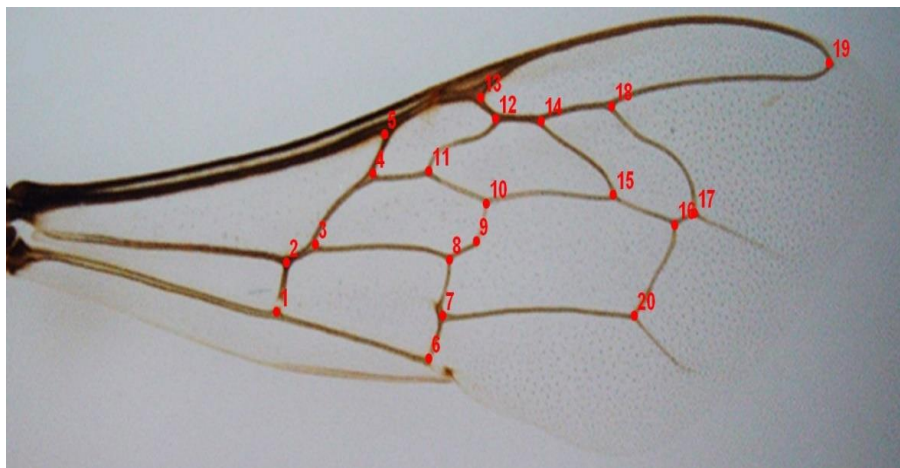
از روش مرفومتريک هندسی برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده شده‌است (Kandemir et al., 2009; Özkan et al., 2018). علاوه بر این، روش مرفومتريک سنتی یا استاندارد نیز در مطالعه جمعیت‌های مختلف *A. florea* استفاده شده است (Ruttner, 1988; Mogga and Ruttner, 1988; Tahmasebi et al., 2002; Chaiyawong et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

### 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 TpsUtil V. 1.64 (Rohlf, 2013)، فایل tps ساخته شد. سپس فایل tps در نرم‌افزار tpsDig V. 2.18 (Rohlf, 2016) مورد استفاده قرار گرفت. ۲۰ لندهمارک در محل اتصال رگبال‌ها قرار گرفت (شکل ۲). داده‌های خام به‌دست آمده از لندهمارک‌ها در نرم‌افزار MorphoJ V. 1.06d (Klingenberg, 2011) وارد و به مختصات پروکراست تبدیل شدند. سپس، فواصل مالهالانوبیس<sup>۲</sup> به‌دست آمدند. رگرسیون بین داده‌های پروکراست و اندازه‌های مرکزی محاسبه شد و آزمون آلومتری 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 تجزیه و تحلیل متغیر کانونی<sup>۱</sup> (CVA) مقایسه شدند (Hammer & Harper, 2006). همچنین، تجزیه و تحلیل کلاستر داده‌های باقیمانده و پروکراست با استفاده از نرم‌افزار 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 لندهمارک‌های بال‌های جلویی جمعیت‌های *A. florea* محاسبه شوند.



شکل ۱- نقشه پراکنش جمعیت‌های *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 لندمارک‌ها در محل اتصال رگ‌بال‌های بال *Apis florea*  
Figure 2. The landmark positions of forewings of *Apis florea*

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری جمعیت‌های زنبور عسل *Apis florea*

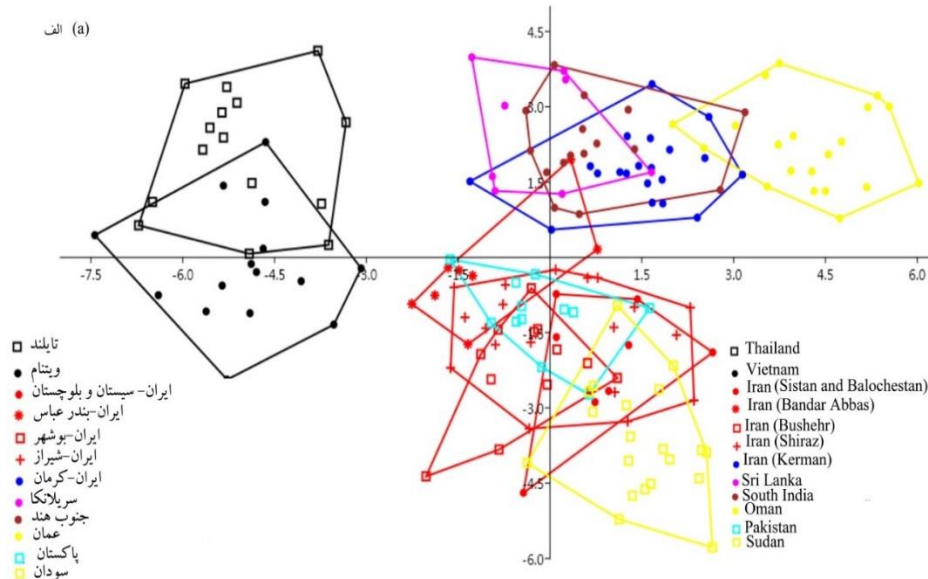
Table 1. The specimens details of the populations of *Apis florea*.

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)	سريلانكا Sri Lanka (Anuradhapura)	8°18N	80°24E
A. f. (10)	سودان (خارطوم) Sudan (Khartoum)	15°33N	32°30E
A. f. (11)	تایلند Thailand (Chiang Mai)	18°47N	99°00E
A. f. (12)	ویتنام Vietnam (Uminh)	9°20N	104°54E

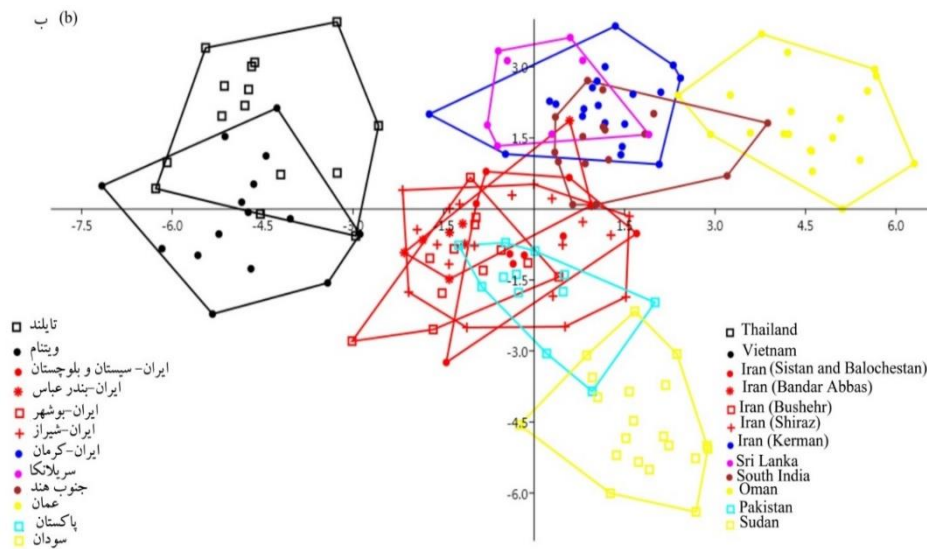
داده‌های پروکراست و باقی‌مانده نشان دادند ( $p < 0.001$ ). مختصات لندمارک‌های بال‌های جلو روی هم قرار گرفتند و تغییرات بین جمعیت‌ها به دست آمدند. بیشترین تغییرات در محل اتصال رگ‌بال‌های R و Rs، لندمارک ۱۹ ( $S2 = 0.000622$ ) مشاهده شد. همچنین کمترین تغییرات در محل اتصال رگ‌بال‌های Cu و m-cu۱، لندمارک ۸ مشاهده شد ( $S2 = 0.000109$ ).

### نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل چندمتغیره (MANOVA) و مقایسه‌های جفتی<sup>۲</sup> 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)



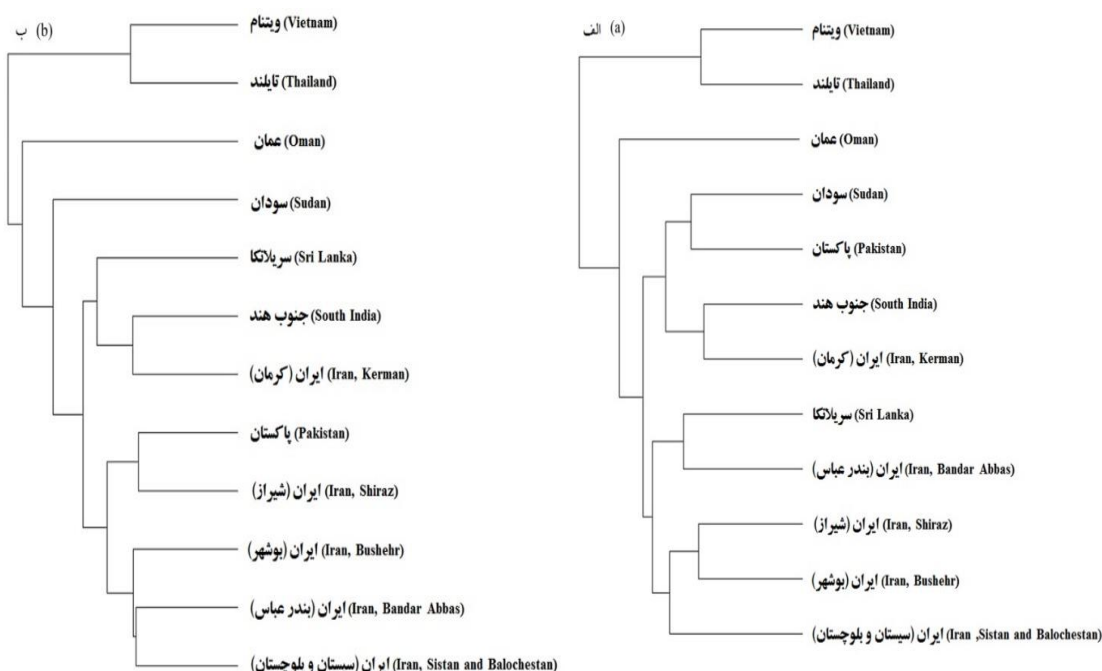
ادامه شکل ۳- الگوی مقایسه تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) جمعیت‌های *Apis florea* بر اساس داده‌های پروکراست (الف) و باقی‌مانده (ب)

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

تجزیه و تحلیل کلاستر برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف انجام شد. کلاستر به‌دست آمده از داده‌های پروکراست 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 به‌دست آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت پاکستان به جمعیت‌های ایران (به‌جز نمونه‌های کرمان) نزدیک‌تر بود. جمعیت سریلانکا رابطه نزدیک‌تری را با هند نشان داد و جمعیت سودان از سایر جمعیت‌ها متمایز شد (شکل ۴، ب).

جمعیت‌های مناطق مختلف با استفاده از تجزیه و تحلیل متغیر کانونی (CVA) مقایسه شدند. در CVA داده‌های پروکراست (مختصات پروکراست)، مؤلفه‌های اول و دوم ۷۵/۹۴ درصد از کل تغییرات را به‌خود اختصاص دادند ( $CV1 = 28/74$  درصد و  $CV2 = 47/20$  درصد). علاوه بر این، در CVA داده‌های باقی‌مانده، مؤلفه‌های اول و دوم ۸۳/۰۶ درصد از کل تغییرات را به‌خود اختصاص دادند ( $CV1 = 31/46$  و  $CV2 = 51/60$ ). نتایج CVA داده‌های پروکراست 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 (شکل ۳، الف). نتایج CVA داده‌های باقی‌مانده 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 در صورتی 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 مرفومتريک هندسی و با روش پیرامون<sup>۱</sup> مورد مقایسه قرار گرفتند (Özkan *et al.*, 2018). یافته‌های آن‌ها حاکی از تمایز جمعیت بندرعباس (هرمزگان) از جمعیت بوشهر بودند. مرفومتريک هندسی مبتنی بر روش پیرامون، استفاده محدودتری نسبت به مرفومتريک هندسی مبتنی بر روش لندمارک<sup>۲</sup> دارد زیرا دقت این روش کمتر است (Zelditch *et al.*, 2004). انتقاد اصلی بر مرفومتريک هندسی مبتنی بر روش پیرامون، همولوگ نبودن نقاط لندمارک‌ها 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 به‌دست 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. پاکستان در مرز ایران قرار دارد. هپبورن و همکاران (Hepburn *et al.*, 2005) چندین جمعیت *A. florea* را در مناطق مختلف جهان با استفاده از مرفومتريک استاندارد مورد مطالعه قرار دادند به طوری که تجزیه و تحلیل کلاستر،

فواصل ماه‌لانوویس داده‌های پروکراست و باقی‌مانده در بین جمعیت‌های *A. florea* مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که فواصل ماه‌لانوویس داده‌های پروکراست بین جمعیت‌های پاکستان و ایران از ۵/۶۱ تا ۷/۹۴ متغیر بودند (جدول ۲). همچنین، فواصل ماه‌لانوویس داده‌های باقی‌مانده بین جمعیت‌های پاکستان و ایران از ۴/۹۶ تا ۶/۶۸ متغیر 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 مرفومتريک هندسی، از مختصات پروکراست برای مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده کرده‌اند. اکثر محققان از مرفومتريک سنتی یا استاندارد برای مطالعه جمعیت‌های *A. florea* در مناطق مختلف جهان استفاده کرده‌اند. تحقیقات علمی کمی از روش مرفومتريک هندسی در مقایسه جمعیت‌های *A. florea* استفاده کرده‌اند. کاندمیر و همکاران (Kandemir *et al.*, 2009) روش مرفومتريک هندسی مبتنی بر لندمارک 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 کلاستر استفاده کردند و جمعیت‌های مختلف *A. florea* را با استفاده از مرفومتريک استاندارد مورد مقایسه قرار دادند. نتایج آن‌ها جمعیت ایران را به‌طور 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) 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 به‌دست آمده از داده‌های باقیمانده، فاصله کمتری را بین جمعیت‌های *A. florea* در ایران و پاکستان (۴/۹۶ تا ۶/۶۸) در مقایسه با داده‌های پروکراست (۵/۶۱ تا ۷/۹۴) نشان دادند. بنابراین، به‌دلیل نزدیکی پاکستان به ایران، یافته‌های داده‌های باقی‌مانده نسبت به داده‌های پروکراست قابل اعتمادتر بودند.

جدول ۲- مقایسه فواصل ماهالانوبیس بین جمعیت‌های *Apis florea* براساس داده‌های پروکراست

Table 2. Comparison of mahalanobis distances among populations of *Apis florea* based on Procrustes data

	ایران (سیستان و بلوچستان) Iran (Sistan and Blochestan)	ایران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	ایران (بوشهر) Iran (Bushehr)	ایران (کرمان) Iran (Kerman)	ایران (شیراز) Iran (Shiraz)
ایران (بندرعباس) 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)	5.51	6.84	5.83	6.97	
عمان (Oman)	8.31	7.61	7.86	6.55	7.14
پاکستان (Pakistan)	7.94	6.67	6.26	5.77	5.61
جنوب هند (South India)	8.21	7.36	8.17	5.63	5.92
سریلانکا (Sri Lanka)	7.37	6.32	6.97	6.80	6.43
سودان (Sudan)	8.06	7.05	6.72	7.28	6.10
تایلند (Thailand)	9.68	7.05	7.90	8.66	7.61
ویتنام (Vietnam)	8.87	7.09	7.41	7.82	7.49

ادامه جدول ۲- مقایسه فواصل ماهالانوبیس بین جمعیت‌های *Apis florea* براساس داده‌های پروکراست

Continued 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)						
عمان (Oman)						
پاکستان (Pakistan)	7.54					
جنوب هند (South India)	6.95	5.41				
سریلانکا (Sri Lanka)	6.83	7.19	5.68			
سودان (Sudan)	7.76	4.84	7.19	8.39		
تایلند (Thailand)	9.77	7.42	7.48	6.80	9.35	
ویتنام (Vietnam)	10.18	6.74	8.24	8.13	8.49	5.68

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	سريلانكا Sri Lanka	سودان Sudan	تايلند Thailand
ايران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)						
ايران (بوشهر) Iran (Bushehr)						
ايران (كرمان) Iran (Kerman)						
ايران (شيراز) Iran (Shiraz)						
عمان (Oman)						
پاکستان (Pakistan)	7.55					
جنوب هند (South India)	6.82	5.36				
سريلانكا (Sri Lanka)	6.79	7.20	5.64			
سودان (Sudan)	7.77	4.95	7.13	8.39		
تايلند (Thailand)	9.58	7.21	7.54	6.73	9.30	
ويتنام (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

	ايران (سيستان و بلوچستان) Iran (Sistan and Blochestan)	ايران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	ايران (بوشهر) Iran (Bushehr)	ايران (كرمان) Iran (Kerman)	ايران (شيراز) Iran (Shiraz)
ايران (بندر عباس) Iran (Bandar Abbas)	5.49				
ايران (بوشهر) Iran (Bushehr)	5.39	5.69			
ايران (كرمان) Iran (Kerman)	7.79	7.37	6.95		
ايران (شيراز) Iran (Shiraz)	5.48	6.24	5.91	6.95	
عمان (Oman)	7.08	7.65	7.36	6.61	6.95
پاکستان (Pakistan)	6.35	6.68	5.31	5.47	4.96
جنوب هند (South India)	5.88	7.36	7.01	5.008	4.86
سريلانكا (Sri Lanka)	5.34	6.37	6.01	6.57	5.86
سودان (Sudan)	6.57	7.18	6.02	7.36	5.87
تايلند (Thailand)	7.08	6.80	5.91	7.53	5.88
ويتنام (Vietnam)	7.31	7.09	6.48	7.47	6.87

تجزیه و تحلیل کلاستر به‌دست‌آمده از داده‌های پروکراست نشان داد که جمعیت سريلانکا به جمعیت‌های ايران نزديک‌تر بود. بنابراین، داده‌های باقی‌مانده نتایج قابل اعتمادتر و منطقی‌تری را نسبت به داده‌های پروکراست نشان دادند. یافته‌های ساير محققان نشان دادند که جمعیت سريلانکا به جمعیت جنوب هند (*A. florea*) نزديک‌تر 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؛ به‌طوری‌که نتایج کلاستر منتج از داده‌های باقی‌مانده، ارتباط نزديک‌تر جمعیت‌های *A. florea* پاکستان و سريلانکا را به‌ترتیب با جمعیت‌های ايران و جنوب هند نشان دادند.

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

در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل کلاستر به‌دست آمده از داده‌های پروکراست و باقیمانده، جمعیت عمان را از ساير مناطق متمایز کرد. یافته‌های هپبورن و همکاران (Hepburn *et al.*, 2005) نشان دادند که عمان و هند با استفاده از مرفومتریکی 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. به‌علاوه، تجزیه و تحلیل کلاستر به‌دست آمده از داده‌های پروکراست، سودان را با پاکستان گروه‌بندی کرد. در این مطالعه، CVA و تجزیه و تحلیل کلاستر به‌دست آمده از داده‌های باقی‌مانده، سودان را از مناطق دیگر متمایز کرد. بنابراین، داده‌های باقی‌مانده توانایی بیشتری را نسبت به داده‌های پروکراست در تمایز جمعیت سودان از جمعیت‌های دیگر نشان دادند.

سريلانکا جزیره‌ای در اقیانوس هند است که در جنوب شبه قاره هند واقع شده است. کوتاه‌ترین فاصله بین سريلانکا و هند تنها ۵۴/۸ کیلومتر است. در پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل کلاستر به‌دست‌آمده از داده‌های باقی‌مانده نشان داد که جمعیت *A. florea* سريلانکا به جنوب هند نزديک‌تر 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.L., & 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. Wiley-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. *Molecular 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

- 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., Akhouni, 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/20.1001.1.24763594.1381.6.2.15.4>
- 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