



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN

VARIABILIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE)
ASOCIADAS A LICHI Y PASTOS

TESIS PROFESIONAL

Carrera:

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Presenta:

ANTONIO DE JESUS GARCIA MONTERO

No. Control: 14882218

Úrsulo Galván, Ver., Abril 2019.



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO
Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Úrsulo Galván, Ver., 04/ABRIL/2019

No. DE OFICIO: DEP /263/2019

Asunto: Autorización de Impresión

C. ANTONIO DE JESÚS GARCÍA MONTERO
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a usted para comunicarle que su trabajo titulado: **VARIABILIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS (HYMENOPTERA:FORMICIDAE) ASOCIADAS A LICHÍ Y PASTOS.** Como opción de titulación integral mediante: **TESIS PROFESIONAL** después de haber sido revisado por su Asesor y los integrantes de la Comisión de Revisión y usted haber cumplido con todas las correcciones y los requisitos indispensables, ha sido autorizada su impresión; **por lo que deberá entregar a este Departamento 01 Ejemplar encuadernado con pasta dura de color Negro y 05 CD'S.**, debiendo presentarse en formato digital atendiendo a las instrucciones para tal efecto.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
"Nuestro Esfuerzo es Progreso"

M.A. CAROLINA SAC-NICTE MÉNDEZ GONZÁLEZ
JEFA DEL DEPTO. DE DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

C.p. Archivo
CSMG/jhb

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA
Instituto Tecnológico
de Úrsulo Galván
DIVISIÓN DE ESTUDIOS
PROFESIONALES

Carretera Cardel - Chachalacas Km. 4.5, C.P.91667,
Úrsulo Galván, Ver. Teléfono: (296) 9625029 Ext. 108
www.itursulogalvan.edu.mx





SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Úrsulo Galván, Ver, 04/Abril/2019

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación integral.

M.A. CAROLINA SAC-NICTE MÉNDEZ GONZÁLEZ
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral

a) Nombre del Egresado	ANTONIO DE JESÚS GARCÍA MONTERO
b) Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
c) No. de Control	14882218
d) Nombre del proyecto	VARIABILIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) ASOCIADAS A LICHY Y PASTOS
e) Producto	TESIS

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

A T E N T A M E N T E
"Nuestro esfuerzo es progreso"

Q.C. ADRIANA E. RIVERA MEZA
JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERIAS

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA
Instituto Tecnológico
de Úrsulo Galván

 DRA. JACEL ADAME GARCÍA	 DR. FELIX DAVID MURILLO CUEVAS	 M.C. JAZMIN VILLEGAS NARVAEZ
Nombre y Firma del Directora	Nombre y Firma del Asesor	Nombre y Firma del Asesora

c. c. p. Expediente

Carretera Cardel - Chachafacas Km. 4.5, C.P. 91667.
Úrsulo Galván, Ver. Teléfono (296) 9625029 Ext. 102
www.itursulogalvan.edu.mx



AGRADECIMIENTOS

**AL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO POR EL FINANCIAMIENTO DEL PROYECTO DIVERSIDAD GENÉTICA Y
TAXONÓMICA DE HORMIGAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) EN FRAGMENTOS NATURALES DE ÁREAS
PRODUCTIVAS
CLAVE 6609.18-P**

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES A LA **DRA. JACEL ADAME GARCIA**, DIRECTORA DE TESIS, POR HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE HABER SIDO PARTE DE TAN IMPORTANTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN, ASÍ COMO AL **DR. FELIX MURILLO CUEVAS**, QUIEN FUERA PIEZA CLAVE PARA LA REALIZACIÓN DEL MISMO A LA MAESTRA **JAZMÍN VILLEGAS NARVÁEZ** POR SU APOYO Y ENTUSIASMO EN LA PRESENTE Y EL **DR. FELIPE FLORES DE LA ROSA** POR CONTRIBUIR DE IGUAL MANERA EN EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

HAGO EXTENDIDO LOS AGRADECIMIENTOS A QUIENES FORMARON PARTE DE MI NÚCLEO DE AMIGOS: **CORAZÓN, PAMELA, DENYS, FERNANDA, BERENICE, EFRAIN, VICTOR**, Y DE QUIENES ME LLEVO UN SINFÍN DE APRENDIZAJES Y ANÉCDOTAS.

A MI FAMILIA EN GENERAL POR SIEMPRE ESTAR PRESENTE EN CADA UNO DE MIS TRIUNFOS, ASÍ COMO FRACASOS Y APOYAR A MIS PADRES EN CUALQUIER MOMENTO.

Hasta hoy, es mucho el tiempo que paso desde que nací, y desde ese momento, incluso antes de que naciera, ya buscaban la manera de ofrecerme lo mejor para mi vida.

Hoy veo reflejado en mi un logro que en conjunto realizamos, un logro que sin su espíritu y dedicación de padres no pudiese haber logrado.

Porque incluso cuando creían no poder más, siempre buscaron la manera de sostener ese pilar llamado educación: Y lo lograron.

Mis reconocimientos y Agradecimientos infinitos, por tanto, que hacen y harán por nosotros.

A mis Padres

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la diversidad genética de especies de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) encontradas en áreas del Instituto Tecnológico de Ursulo Galvan como son pastos y cultivo de lichis respecto a un Acahual, sirviendo este como testigo. Se identificaron las especies de hormigas colectadas de los sitios de estudio mediante una guía taxonómica. La evaluación de la diversidad genética se realizó empleando los polimorfismos de ADN amplificado al azar (RAPD). Del total de individuos colectados en las áreas de estudio, se amplificó un total de 16 muestras. A continuación, se realizó la extracción de ADN de cada uno de los ejemplares y a partir de este, se obtuvieron los perfiles electroforéticos para cada una de las hormigas colectadas empleando 5 oligonucleótidos. Así mismo, se realizaron análisis genéticos (UPGMA) que permitieron elaborar dendrogramas donde se ubicaron las especies encontradas siendo el área de Pastos el área que menor diversidad obtuvo en comparación con Lichis y Acahual. Además, se realizó un Análisis de correspondencia (AC) en el que se determinó que la mayoría de las especies se agrupan en el Acahual esto debido a diversos factores que permiten que esta área se vea favorecida por la presencia de especies de hormigas. Los resultados de las muestras amplificadas muestran congruencia con la hipótesis implementada al ser el Acahual el área que mayor diversidad genética tuvo de hormigas respecto a lichis y pasto. Los géneros de hormigas que representan los tres sitios de estudio fueron *Oligomyrmex* y *Camponotus*. Los resultados del presente trabajo sugieren realizar evaluaciones intrapoblacionales en hormigas para poder determinar si existe variabilidad genética entre individuos de la misma población y las condiciones que están permitiendo tal condición.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
IV. OBJETIVOS	6
4.1. General.....	6
4.2. Específicos.....	6
V. HIPÓTESIS	7
VI. MARCO TEÓRICO	8
6.1. Macrofauna.....	8
6.1.1. Tipos.....	8
6.1.2. Importancia.....	9
6.2. Hormigas.....	9
6.2.1. Generalidades.....	9
6.2.2. Hábitat.....	10
6.2.3. Taxonomía.....	11
6.2.4. Morfología.....	11
6.2.5. Importancia biológica – ecológica.....	12
6.3. Marcadores moleculares	13
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	15
7.1. Área de estudio	15
7.2. Muestreo	18
7.3. Extracción de material genómico	18
7.4. Amplificación de los marcadores moleculares RAPDs.....	19
7.5. Análisis Bioinformático.....	20
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
IX. CONCLUSIONES	35
X. RECOMENDACIONES	36
XI. FUENTES DE CONSULTA	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores para amplificación de los marcadores moleculares RAPDs.....	19
Cuadro 2. Oligonucleótidos utilizados y número de bandas obtenidas de las poblaciones de hormigas.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Área de estudio, Acahual.....	15
Figura 2. Área de cultivo de Lichis.....	16
Figura 3. Área de estudio, Pastos.....	17
Figura 4. Géneros de hormigas correspondientes al área de Pastos.....	22
Figura 5. Géneros de hormigas correspondientes al área de Lichis.....	22
Figura 6. Géneros de hormigas correspondientes al área de Acahual.....	23
Figura 7. Amplificación por RAPD (cebador OPA-2).....	25
Figura 8. Amplificación por RAPD (cebador OPA-4).....	26
Figura 9. Amplificación por RAPD (cebador OPA-10).....	27
Figura 10. Amplificación por RAPD (cebador OPG-12).....	28
Figura 11. Amplificación por RAPD (cebador OPA-13).....	29
Figura 12. Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards de las muestras amplificadas.....	31
Figura 13. Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards en el área de pastos.....	32
Figura 14. Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards en el área de Lichis.....	32
Figura 15. Análisis de correspondencia entre las especies de hormigas y el área de colecta.....	33

I. INTRODUCCIÓN

Todas las especies de hormigas se agrupan en una sola familia: Formicidae, ubicada dentro de la superfamilia Vespoidea del orden Hymenoptera (Rojas, 2001). Actualmente, la familia Formicidae consta de 29 subfamilias (5 de ellas extintas), 410 géneros (289 con representantes vivos y 121 extintos) (Rabeling *et al.*, 2008); y más de 12 500 especies descritas a nivel mundial, que quizás representan la mitad de las especies de hormigas existentes (Fisher & Cover, 2007).

De acuerdo con los estudios realizados por Rojas (2001), las hormigas son insectos eusociales con gran diversidad tanto funcional como taxonómica, de los cuales se puede afirmar su éxito biológico debido a su riqueza específica, diversidad de ambientes y abundancia en la mayoría de los ecosistemas.

En este sentido, las especies indicadoras y detectoras pueden ser usadas para evaluar atributos relacionados a cambios en el hábitat y dar una noción del grado de conservación y perturbación (Tejeda-Cruz *et al.*, 2008).

Ahora bien, México destaca por poseer una gran diversidad de insectos a diferencia de otros países debido a su situación geográfica, ya que se encuentra entre la confluencia de las Regiones Neártica y Neotropical, en el caso de las hormigas sucede lo mismo, lo cual es de gran interés para la Biología y Biogeografía de estos organismos, pero dificulta la realización de trabajos de tipo taxonómico (Rodríguez-Garza, 1986).

Los cambios en la composición de la vegetación (de sistemas diversos a monocultivos), aunados a la degradación física y química del suelo, pueden

impactar en la abundancia y composición de especies (Brown *et al.* 2004) y afectar las propiedades o atributos básicos de los ecosistemas (Masera *et al.* 1999) y los bienes y servicios que éstos proveen a la humanidad (Duffy, 2002).

Aunque se han estudiado durante varias décadas a las hormigas, resulta necesario realizar estudios de diversidad genética en sitios donde se lleva a cabo cambio de uso de suelo, en el que se ha provocado la fragmentación de los hábitats naturales para el establecimiento de prácticas agropecuarias. Por lo que la presente investigación realizara un aporte relacionado a la diversidad genética de hormigas asociadas a tres usos de suelo diferentes dentro del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván que permita determinar el impacto que tienen los cultivos en relación con la diversidad de hormigas.

II. ANTECEDENTES

El recuento más reciente del número de especies de hormigas a nivel mundial alcanza más de 9,500 especies descritas pertenecientes a 296 géneros (Bolton, 1995). Se calcula que este número podría ascender a entre 15,000 y 20,000 especies, debido a que existen muchas especies por describir, principalmente de los trópicos del mundo (Holldobler & Wilson, 1990).

La diversidad de especies se concentra en 24 géneros, con más de 100 especies cada uno, que comprenden el 60% del total. Entre estos últimos, los más diversos son *Camponotus* (Formicinae) con 931 especies y *Pheidole* (Myrmicinae) con 545 (Bolton, 1995).

En ciertos agroecosistemas las comunidades de hormigas pueden ser muy diversas, como en el cacaotal estudiado por Delabie y Fowler (1990) en Brasil, donde encontraron en sólo una hectárea 225 especies, de las que 112 viven en el suelo.

El lugar con la mayor diversidad de especies se encuentra en el Parque Nacional Kinabalu, Borneo, con 524 especies en seis hectáreas de selva tropical (Bruhl *et al.*, 1998). Una riqueza semejante en el Neotrópico se encuentra en la cuenca del río Yuyapichis, Perú, con aproximadamente 500 especies (Verhaagh, 1990).

Los trabajos realizados por (Chanatásig *et al.* 2011), en el que se evaluaron monocultivos caseros y huertos de traspatio durante la época de lluvia y seca para determinar el efecto de uso de suelo sobre la mirmecofauna del ejido de Tikinmul, Campeche, permitieron evaluar la relación entre el manejo agrícola y la riqueza de especies. Los resultados obtenidos determinaron que no existe una relación directa

en la intensidad del manejo con la riqueza de las especies, aunque si se encontraron diferencias en la composición de especies.

Los primeros estudios sobre la fauna local y regional de hormigas mexicanas son los de Norton (1868) acerca de especies de Veracruz; Pergande (1894) sobre hormigas de Baja California y Sonora y Forel (1899) quien describe y enlista hormigas de varias partes de México en la Biología Central-Americana.

Como trabajos de síntesis de las hormigas de México, podemos mencionar el muy útil de MacKay y MacKay (1989) que incluye la lista de géneros del país y una clave ilustrada para su identificación; y el de Rojas (1996) que ofrece un panorama general del conocimiento del grupo y una lista preliminar de las especies registradas en el país.

El conocimiento de las especies de hormigas endémicas de México es escaso. Sin embargo, Johnson y Ward (2006) registran 47 especies de hormigas endémicas de la península de Baja California, entre las que se encuentran *Pogonomyrmex snellingi* y *Pheidole granulata*. Asimismo, Lattke (2011) describe 8 especies del género *Leptogenys*, las cuales hasta el momento son endémicas de México.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel global se han considerado a los cambios de uso de suelo como una de las mayores amenazas a la biodiversidad, ya que involucran no sólo la pérdida de cobertura vegetal sino también la disrupción de los ecosistemas naturales en fragmentos de diversos tamaños y, por tanto, la discontinuidad y aislamiento de su biodiversidad (Vitousek *et al.*, 1997).

México como el resto del mundo experimenta serios problemas ambientales, como la deforestación, la pérdida de biodiversidad, la erosión y los cambios en el uso de suelo, que atentan contra la diversidad de especies, los servicios ecosistémicos y los sistemas de conocimiento tradicional relacionados con la naturaleza (González-Espinosa *et al.*, 2007).

En este sentido, la diversidad genética es sin lugar a duda la materia prima para la evolución, ya que de ella dependen tanto la adaptación como la especiación. Los niveles altos de diversidad pueden dar la habilidad para responder, entre otras cosas, a cambios ambientales (Hedrick, 2001).

Debido a lo anterior, una de las razones más importantes para conservar la diversidad genética es el mantenimiento del potencial evolutivo de las especies pues dicha diversidad representa el reservorio de las posibles respuestas al medio (físico y biológico), posibilitando con ello su adaptación a los cambios de este (Piñero, 2008).

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Determinar la diversidad genética de hormigas asociadas a tres sitios con distinto uso de suelo acahual, pasto y cultivo de lichi.

4.2. Específicos

- Colectar e identificar morfológicamente las especies de hormigas de las diferentes áreas de estudio.
- Adecuar el método de extracción de ADN de las hormigas identificadas.
- Caracterizar molecularmente las especies de hormigas colectadas empleando marcadores moleculares RAPDs.

V. HIPÓTESIS

La diversidad genética de especies de hormigas será mayor en el área de Acahual respecto a Lichis y Pastos, esto dado a los factores extrínsecos e intrínsecos del área. Así mismo, la diversidad genética será distinta en relación con la abundancia de especies de hormigas.

VI. MARCO TEÓRICO

6.1. Macrofauna

La macrofauna está integrada por organismos pequeños que habitan en el suelo, pero fácilmente detectables, entre los que se encuentran las lombrices de tierra, las termitas, las hormigas, los milpiés, las cochinillas, las arañas, los ciempiés y otros. Ellos realizan importantes procesos y servicios ecosistémicos como son el reciclaje de nutrientes, la descomposición de la materia orgánica y la conservación de la estructura del terreno, lo que garantiza la calidad y fertilidad del medio edáfico en sistemas naturales, agrícolas y forestales (Brown *et al.*, 2001).

En este sentido, la calidad del suelo se ve reflejada por la capacidad continua de la macrofauna para mantener el crecimiento sano de las plantas y la productividad del ecosistema, lo cual depende de las características químicas, físicas y biológicas del mismo (Doran y Parkin, 1994).

6.1.1. Tipos

La fauna del suelo o edáfica está constituida por organismos que pasan toda o una parte de su vida sobre la superficie inmediata del suelo, en los troncos podridos y la hojarasca superficial y bajo la superficie de la tierra, incluyendo desde animales microscópicos hasta vertebrados de talla mediana (ej. tuzas). Para vivir en el suelo, estos organismos han tenido que adaptarse a un ambiente compacto, con baja concentración en oxígeno y luminosidad, pocos espacios abiertos, baja disponibilidad y calidad de alimentos y fluctuaciones microclimáticas que pueden llegar a ser muy fuertes (Lavelle *et al.*, 1992).

Es el grupo de organismos de mayor tamaño, entre 2 y 20 mm. Según Lavelle (1997), la macrofauna puede subdividirse en organismos epigeos (viven sobre la

superficie del suelo), endogeos (representados por las lombrices y las termitas) y los anécicos (representados por las hormigas, las cuales se alimentan principalmente de hojarasca), presentando cada categoría un papel diferente en el funcionamiento del ecosistema edáfico.

6.1.2. Importancia

De acuerdo con Jones y colaboradores (1994), algunos individuos o grupos de la macrofauna pueden actuar como ingenieros del ecosistema, al realizar cambios físicos en el suelo que controlan la disponibilidad de los recursos para otros organismos edáficos, incluyendo las plantas y sus raíces.

Con su actividad, los ingenieros crean estructuras físicas biogénicas que ejercen un efecto regulador sobre los organismos menores a través de: la competencia por los recursos, principalmente materia orgánica; la activación de la microflora edáfica, vía mutualismo y el “priming effect”, su influencia en el ciclo del carbono, así como disponibilidad de nutrientes y cambios en la actividad rizosférica, como el crecimiento de raíces y de poblaciones de organismos rizosféricos (Brown *et al.*, 2000).

De igual manera, la actividad de la macrofauna edáfica también puede aumentar o disminuir la productividad del ecosistema (Lavelle, 1997).

6.2. Hormigas

6.2.1. Generalidades

Las hormigas son uno de los grupos de animales más abundantes en ecosistemas terrestres. Ocurren en todos los hábitats desde el Polo Norte hasta la Patagonia. Junto con las termitas, son los animales más abundantes en ecosistemas de áreas tropicales. (Mackay, 1989).

Las hormigas presentan una organización completa, con estructura definida, cada casta realiza trabajo específico en la colonia, son altamente sociales y tienen disciplina militar. Se diferencian castas: exploradoras, cortadoras, cargadoras, escoteras, jardineras, soldados, machos alados, hembras aladas y reina, pudiendo variar según la especie (Vergara Castrillón, 2005).

6.2.2. Hábitat

Una característica por la cual las hormigas se han considerado como organismos exitosos y ampliamente diversos es precisamente la gran diversidad de hábitats en los que pueden desarrollarse. Aunque es posible encontrar hormigas en prácticamente cualquier hábitat, suele decirse que son organismos del suelo, sin embargo, de manera secundaria, una gran cantidad de hormigas están adaptadas a la vida arbórea viviendo en troncos, ramas, o cavidades subcorticales (Hölldobler y Wilson, 1991).

En cuanto a los ecosistemas mexicanos en los que es posible encontrar hormigas, los desiertos, bosques, selvas, zonas urbanas, campos de cultivo y prácticamente cualquier sitio alberga alguna especie de hormiga. Aunque las hormigas de las zonas tropicales mexicanas han recibido más atención, los estudios sobre hormigas realizados en las zonas desérticas, zonas urbanas y aquellas asociadas a cultivos, han permitido conocer un gran número de especies (Del Toro *et al.*, 2009).

6.2.3. Taxonomía

Pertencientes al reino Animalia, Filum Arthropoda, Clase Insecta, Familia Formicidae, Orden Hymenoptera. La familia Formicidae está representada actualmente en la región neotropical por 15 subfamilias: *Agroecomyrmecinae*, *Amblyoponinae*, *Cerapachyinae*, *Dolichoderinae*, *Ecitoninae*, *Ectatomminae*, *Formicinae*, *Heteroponerinae*, *Leptanilloidinae*, *Myrmicinae*, *Paraponerinae*, *Pierina*, *Proceratiinae*, *Pseudomyrmecinae* y la recientemente descrita *Martialinae*, que fue descubierta por Rabeling *et al.* (2008) en el Amazonas Brasileño. Fernández & Sharkey (2006), afirman que hay algo más de 11.500 especies de hormigas descritas en 21 subfamilias en el neotrópico y registradas unas 3.100 especies y 120 géneros.

6.2.4. Morfología

Las hormigas se reconocen por la presencia de la glándula metapleural, pecíolo (o pecíolo y pospecíolo) y antena acodada (en obreras y hembras). Esta combinación de caracteres separa a las hormigas de cualquier otro himenóptero. Se considera a la glándula metapleural como la sinapomorfia de Formicidae (Grimaldi *et al.*, 1997) aunque está secundariamente ausente en algunos pocos grupos (la mayoría de *Camponotini*, *Oecophylini*) (Engel-Siegel, 1984).

Baroni Urbani (1989), discute las sinapomorfias reconocibles de las hormigas, reconociendo la presencia de subcasta de obreras, escapo alargado en la antena de las obreras, presencia de glándula metapleural, y postfaringeal y constricción del primer segmento metasomal. Algunas de estas pueden sufrir reducciones en algunos taxa. Las sinapomorfias señaladas por Baroni Urbani (1989) y Baroni Urbani *et al.*, (1992), en conjunto, definen satisfactoriamente a las hormigas vivientes.

Las obreras de hormigas, como todo himenóptero Apocrita (con constricción en el abdomen o “cintura de avispa”) tienen tres partes claramente diferenciables: la cabeza, el tórax y el abdomen. El tórax incluye el primer segmento abdominal el cual se ha fusionado con el tórax en todos los himenópteros apócritos (es decir, todos los *Hymenoptera* excepto las avispas sierra, “*Symphyta*”).

El abdomen incluye el propodeo (que es el primer segmento y que se ha fusionado con el tórax), el pecíolo (usualmente separado del propodeo y el siguiente segmento abdominal por constricciones), el pospecíolo en algunos grupos (también con constricción con el pecíolo y el siguiente segmento abdominal) y el gáster (los demás segmentos abdominales).

Bolton (1994) sugirió el uso del término gáster para referirse al abdomen después del pecíolo (en aquellos grupos con un sólo segmento peciolar) o después del pospecíolo (en aquellos grupos con un segundo segmento en el pecíolo). Este término equivaldría a metasoma (por ejemplo, Michener, 2000), término que Bolton (1994) propone no usar.

6.2.5. Importancia biológica – ecológica

Las hormigas son bioindicadores de disturbio debido a su alta diversidad y abundancia, a la variedad de nichos que ocupan, a su rápida respuesta a cambios ambientales y a su identificación relativamente fácil, pudiendo ser útiles en la evaluación de respuestas bióticas frente a prácticas agrícolas como la fertilización, la fumigación y las quemas (Graham *et al.* 2008).

Además, al construir nidos subterráneos, las hormigas transportan hacia la superficie grandes cantidades de suelo. Tal es el caso de *Atta vollenweideri*, especie

que de acuerdo con las aportaciones de Bucher & Zuccardi, 1967, llega a extraer hasta 300 ton/ha en las sabanas de Argentina y *Formica exsectoides* 1.3 ton/ha/año en Norteamérica.

Cabe destacar que el transporte de suelo hacia la superficie tiene dos efectos antagónicos: por un lado, su extracción contrarresta el desarrollo de horizontes discretos en el suelo, deteniendo los procesos locales de intemperización (Wiken *et al.*, 1976) y por el otro, su acumulación en la superficie puede llevar a la formación de nuevos estratos del perfil edáfico en el largo plazo (Eldridge & Pickard, 1994).

Diversos estudios demuestran el efecto positivo de los nidos de varias especies de hormigas en el crecimiento de las plantas, debido en gran medida al enriquecimiento del suelo. En las plantas que crecen sobre los hormigueros, se ha encontrado mayor densidad de plántulas, mayor tamaño, crecimiento más rápido y mayor sobrevivencia, que en las plantas del suelo control (Dean & Yeaton, 1992).

Así mismo, de modo indirecto, las hormigas pueden incrementar significativamente la riqueza florística en algunas asociaciones vegetales, por el hecho de ciertas especies de plantas, con requerimientos edáficos muy específicos, se benefician de las condiciones del suelo enriquecido (Lewis *et al.*, 1991).

6.3. Marcadores moleculares

En la actualidad existen varias técnicas moleculares que nos permiten conocer cómo se encuentran las proporciones de genes en las poblaciones naturales de manera indirecta, como con los análisis de proteínas, o de manera directa con estudios de ADN. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su

capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y son de tipo dominante o co-dominante (Simpson, 1997).

Los RAPDs (polimorfismos de ADN amplificados al azar) son marcadores que amplifican aleatoriamente segmentos de ADN en una gran variedad de especies. Los RAPDs se basan en la probabilidad estadística de que se presenten sitios complementarios al oligonucleótido de 10 pares de bases (pb) a lo largo del genoma. El polimorfismo de las bandas entre los individuos se debe a cambios en la secuencia de los nucleótidos en los sitios de acoplamiento del oligonucleótido y por inserción o delección de los fragmentos en estos sitios (Williams *et al.*, 1990).

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en fragmentos de vegetación silvestre y áreas de producción del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván, Veracruz, México.

La vegetación silvestre es un fragmento de área sin uso agrícola con vegetación silvestre de la zona centro costera de Veracruz. Esta área se encuentra ubicada en las coordenadas 19°25'6.17"N y 96°20'53.87"O, a una elevación de 24 m. En esta área se estableció un polígono de muestreo de 1.441 hectáreas, georreferenciada con los siguientes puntos: 1) 19°25'9.51"N, 96°20'54.46"O; 2) 19°25'9.26"N, 96°20'51.40"O; 3) 19°25'1.44"N, 96°20'54.28"O; 4) 19°25'5.52"N, 96°20'55.15"O y 5) 19°25'6.70"N, 96°20'55.25"O. Ésta es una vegetación de selva baja caducifolia, relacionada a las zonas costeras donde se pueden encontrar Cocuite (*G. sepium*), Nacastle (*Enterolobium cyclocarpum*), Jilote (*Bursera simaruba*), Guácimo (*G. ulmifolia*), Huizache (*Acacia cochliacantha*), Capulín (*Karwinskia humboldtiana*), Coyol (*Acrocomia aculeata*), Guaje (*Lysiloma divaricatum*), entre otros, así como varias especies herbáceas, arbustivas, orquídeas y hongos Basidiomycota.

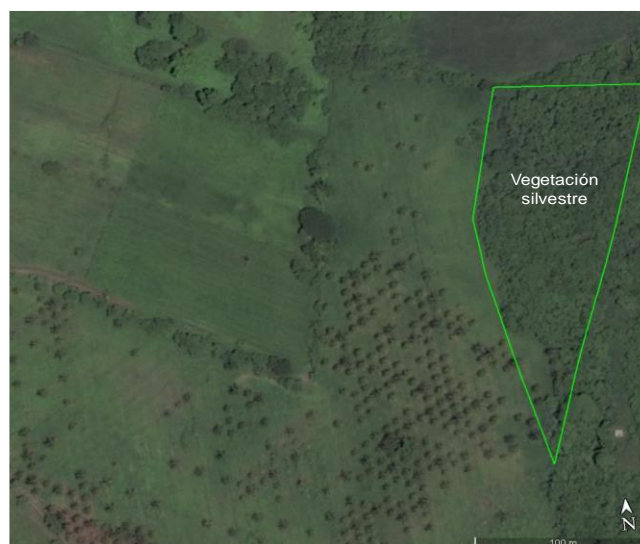


Figura 1. Área de estudio, Acahual.

El cultivo de lichi se localiza en las coordenadas $19^{\circ}24'55.91''\text{N}$ y $96^{\circ}21'13.60''\text{O}$, a una elevación 11 m. Debido al tamaño pequeño del cultivo, se consideró en su totalidad como área de muestreo, el cual es de 1.535 hectáreas. Los puntos georreferenciados que conforman el polígono de la parcela son: 1) $19^{\circ}24'58.83''\text{N}$, $96^{\circ}21'13.66''\text{O}$; 2) $19^{\circ}24'54.14''\text{N}$, $96^{\circ}21'10.60''\text{O}$; 3) $19^{\circ}24'52.72''\text{N}$, $96^{\circ}21'13.77''\text{O}$; 4) $19^{\circ}24'54.75''\text{N}$, $96^{\circ}21'15.20''\text{O}$ y 5) $19^{\circ}24'58.00''\text{N}$, $96^{\circ}21'15.50''\text{O}$.



Figura 2. Área de cultivo de Lichis.



Figura 3. Área de estudio, Pastos.

7.2. Muestreo

Se utilizaron trampas de caída para hormigas (elaboradas con envases de plástico de un litro, enterrados a ras de suelo con agua y cebador en su interior) colocadas en transectos de 100 m, dejando una distancia de 10 m entre trampas y con un arreglo de zigzag a cada lado del transecto a una distancia de 10 m.

Se colectó el interior de cada trampa de caída (identificada con un número de trampa y fecha de colocación) desenterrándola y llevándola al laboratorio para la extracción del contenido a través de un colador, las hormigas colectadas fueron colocadas en frascos de vidrio con alcohol al 70% y etiquetadas, para su posterior procesamiento.

Se colocó el interior de cada frasco con hormigas que representó una trampa o un muestreo directo en una caja Petri y bajo microscopio estereoscopio las hormigas fueron separadas y contabilizadas por morfoespecie y se colocaron nuevamente en frascos con alcohol al 70% por morfoespecies.

Así mismo, los frascos se etiquetaron con los datos del número de trampa o muestreo directo. Las morfoespecies de hormigas se identificaron a nivel género y/o especie.

Los datos de individuos por especie de hormiga fueron capturados semanalmente en una libreta de campo y posteriormente los datos se capturaron en hojas de cálculo de Microsoft Excel para su posterior arreglo y análisis.

7.3. Extracción de material genómico

Se extrajo el ADN de individuos de las distintas especies de hormigas que se capturaron siguiendo el protocolo empleado por Casquet *et. al.* (2011). Para lo cual, se tomaron dos patas de cada ejemplar, con ayuda de una pinza estéril. Como las hormigas estaban conservadas en etanol se dejaron secar brevemente para evaporar el etanol, se realizaron dos lavados con buffer TE (10 Mm Tris- Cl, pH 9.0, 1 Mm EDTA) para rehidratar los tejidos celulares. Las patas se incubaron durante 15 min a 95°C en una suspensión de Chelex100 al 5% y 5 µl de proteinasa K (20 mg/ml).

Posteriormente se incubaron las muestras a 60 °C durante 20 min y a 99 °C 5 min para inactivar la proteinasa K. La calidad y cantidad del ADN se cuantificó con un biofotómetro NanoDrop OneC (absorbancia a 260 y 280).

7.4. Amplificación de los marcadores moleculares RAPDs

Una vez que se extrajo el ADN, se realizó la amplificación de los marcadores moleculares RAPDS en un volumen final de 25 µL. Constituida por 50-100 ng de ADN, 1 U de Taq polimerasa (Gotaq flexi DNA Polymerase, Promega), 200 µM de dNTPs, 200 pM de iniciador y 1X de buffer de reacción, suplementado con 2.5 mM de MgCl₂.

Los iniciadores utilizados en las distintas reacciones fueron de 10 bases de longitud y secuencia arbitraria (Operon technology, Inc) OPA-02, OPA-04, OPA-10, OPA-13 y OPG-12 (Cuadro 1). La PCR se realizó con los siguientes ciclos térmicos: una desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, 45 ciclos bajo las siguientes condiciones desnaturalización a 94°C por 1 min, alineación a 36°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min y una extensión final a 72° por 5 min.

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores para amplificación de los marcadores moleculares RAPDs.

No.	Clave	Secuencia
1	OPA-02	5'-TGC CGA GCT G-3'
2	OPA-04	5'-AAT CGG GCT G-3'
3	OPA-10	5'-GTG ATC GCA G-3'
4	OPA-13	5'-CAG CAC CCA C-3'
5	OPG-12	5'-CAG CTC ACG A-3'

La visualización de los productos amplificados se realizó en una cámara de electroforesis horizontal, en un gel de agarosa 2.0 % (p/v). Las condiciones de electroforesis fueron de 90 V durante 1 hora en buffer TBE 0.5 X. Las bandas de ADN se visualizaron bajo luz UV después de que se tiñó el gel en 100 mL de solución 1 X TBE adicionado con 2 μ L de bromuro de etidio (10 mg mL⁻¹) durante 20 min y las bandas se visualizaron con el sistema de fotodocumentación (GelDoc BioRad®).

7.5. Análisis Bioinformático

Los datos registrados en el sistema de fotodocumentación se transformaron en una raíz binaria, donde cada combinación individuo–producto de amplificación fue codificado con “1” o “0” según el producto se encuentre presente o ausente respectivamente. A partir de esta matriz se realizó un fenograma mediante el cálculo del coeficiente de similitud de Jaccard entre individuos, tal como es establecido para especies diploides con uso de marcadores moleculares dominantes, en estudios sobre individuos sin relación genética conocida (Laurentin, 2009), y el uso del método de la media aritmética no ponderada (UPGMA).

Así mismo, se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) y se determinaron los índices de diversidad de Shannon y el análisis de correspondencia empleando el software About GenAlEx 6.503+ Ribbon®.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la colecta de especies concuerdan con las aportaciones realizadas por Lozano (2019) en el trabajo “Diversidad de hormigas forrajeras (Hymenoptera: Formicidae) como indicador de impacto ambiental en caña de azúcar y silvopastoril”, mismas que reporta géneros de hormigas tales como *Atta*, *Camponotus*, *Polyergus*, *Cheliomyrmex*, entre otras en el área de Acahual, siendo este el que mayor riqueza y diversidad tuvo a comparación de otros usos de suelo.

Los géneros *Pachycondyla*, *Ectatoma*, *Atta* y *Acropyga* (Figura 6) solo se encontraron en el área de Acahual. Mas, sin embargo, los géneros *Camponotus* y *Oligomyrmex* (Figura 4) refieren en los tres sitios de estudio.



Figura 4. Géneros de hormigas correspondiente al área de Pastos. a) *Polyergus*, b) *Oligomyrmex* y c) *Camponotus*.



Figura 5. Géneros de hormigas correspondientes al área de Lichis. a) *Cheliomyrmex*, b) *Eciton* y c) *Normamyrmex*.

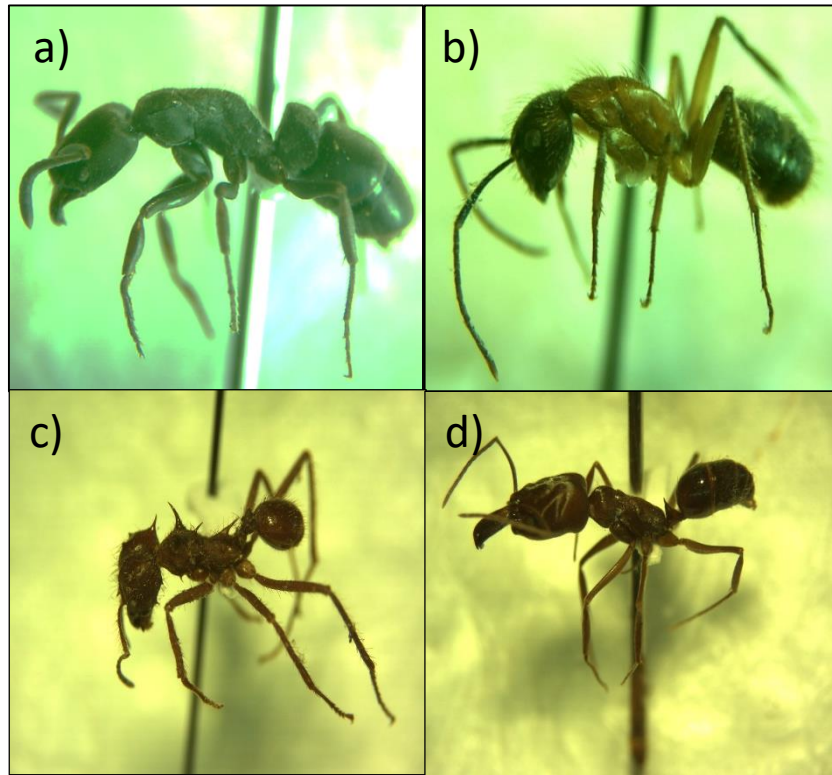


Figura 6. Géneros de hormigas correspondientes al área de Acahual. a) *Pachycondyla*, b) *Ectatoma*, c) *Atta*, d) *Acropyga*.

A partir de la colecta de hormigas de los diferentes sitios de trabajo, se realizó la amplificación de un total de 16 muestras representativas analizadas en geles de agarosa en las cuales se observaron bandas polimórficas en las amplificaciones con los iniciadores empleados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Oligonucleótidos utilizados y número de bandas obtenidas de las poblaciones de hormigas.

No.	Clave	Número de muestras amplificadas	Número total de bandas obtenidas	Número de bandas polimórficas
1	OPA-02	12	7	6
2	OPA-04	12	6	9
3	OPA-10	12	9	7
4	OPA-13	8	11	8
5	OPG-12	6	9	4

Con el iniciador OPA-02 se pudieron amplificar un total de 12 muestras siendo la especie ***Polyergus*** (Figura 4) la que mayor amplificación tuvo de acuerdo con el conteo de bandas. Así mismo, los iniciadores OPA-04 (Figura 8) y OPA-10 (Figura 9) lograron amplificar 12 muestras respectivamente, siendo en el primer caso ***Normamyrmex*** (Figura 5) la especie que representa el mayor número de bandas obtenidas y ***Cheliomyrmex*** (Figura 5) en el caso de OPA-10.

El OPA-10 fue el iniciador que logro amplificar mayor número de muestras de manera homogénea, ya que en el gel se puede apreciar un patrón adecuado de bandas obtenidas (Figura 9). El OPG-12 fue el iniciador que menos muestras amplificó (Figura 11).

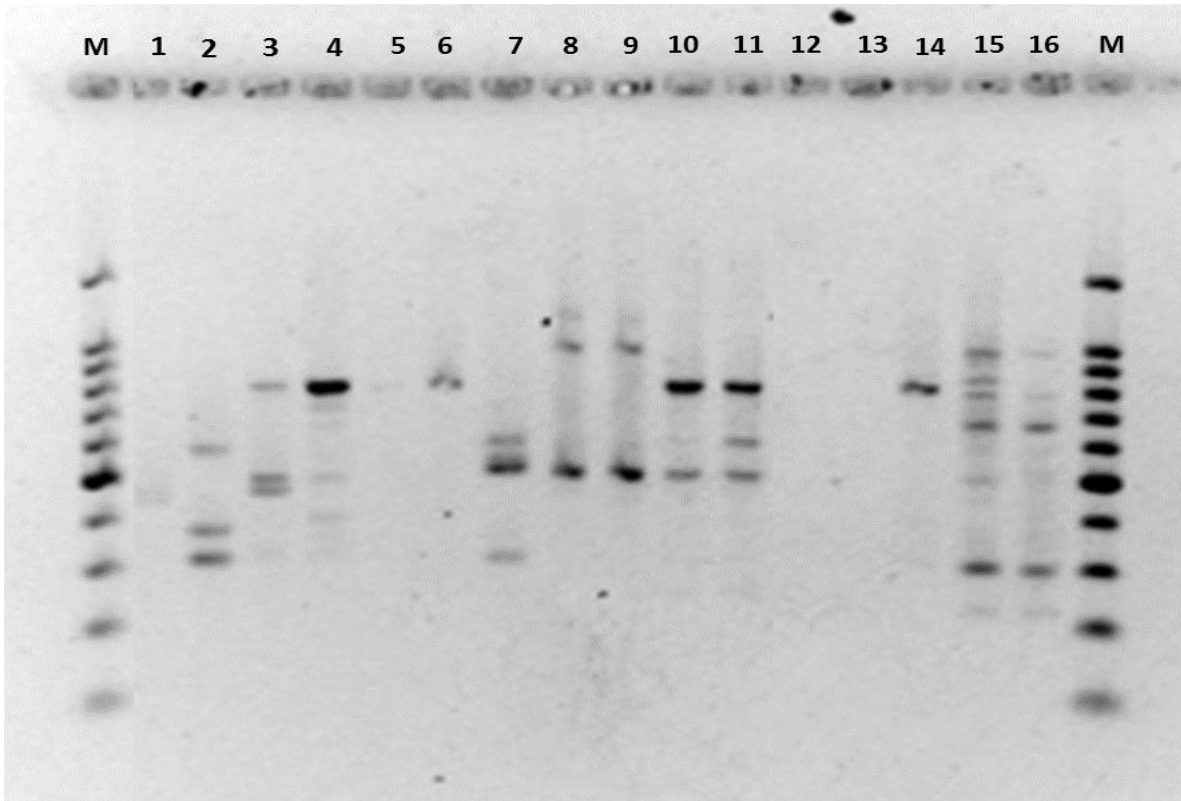


Figura 7. Amplificación por RAPD (cebador OPA-2) de ADN de 16 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8% en TBE .5x. Carriles “M” representan el marcador de peso molecular. Carril 1 y 2 *Pachycondyla*, Carril 3 y 4 *Cheliomyrmex*, Carril 5 y 6 *Camponotus*, carril 7 *Myrmecina*, carril 8 y 9 *Atta*, 10 *Oligomyrmex*, carril 11 *Acropyga*, carril 12 *Eciton*, carril 13 y 14 *Normamyrmex*, carril 15 y 16 *Polyergus*.

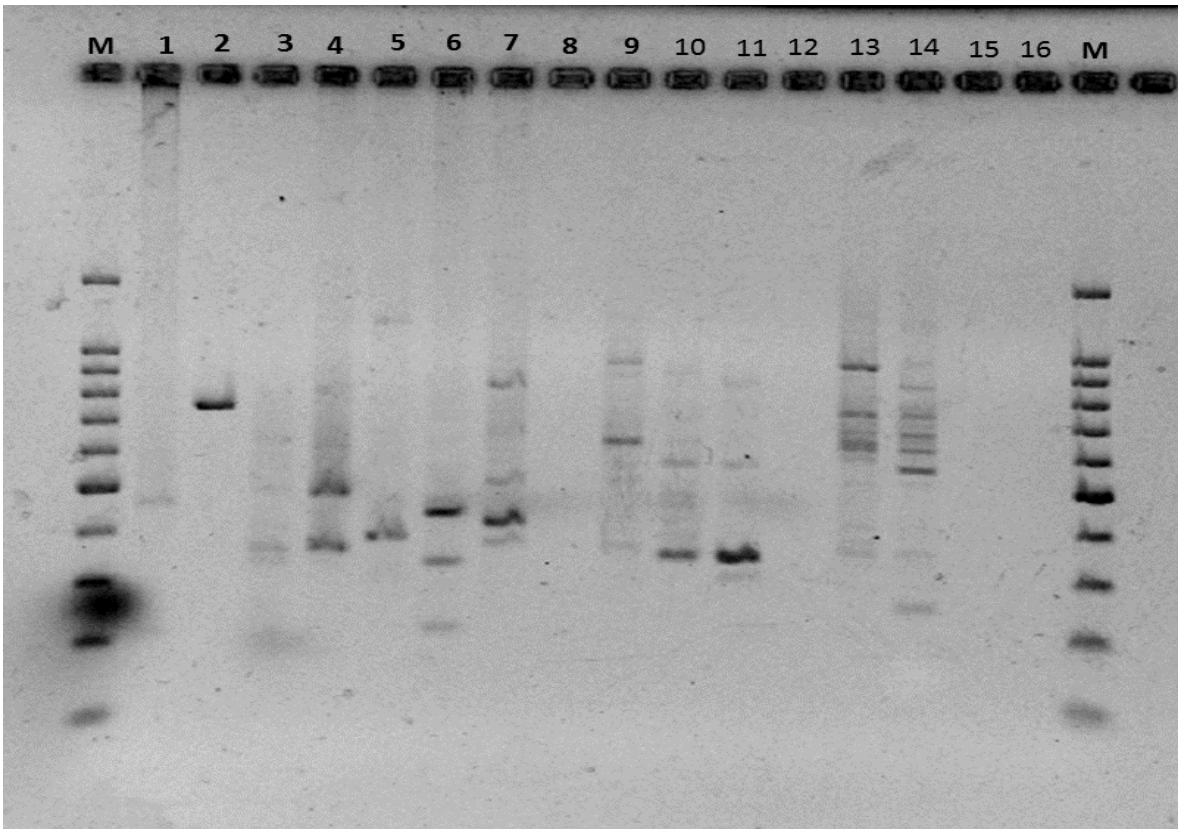


Figura 8. Amplificación por RAPD (cebador OPA-4) de ADN de 16 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8% en TBE .5x. Carriles “M” representan el marcador de peso molecular. Carril 1 y 2 *Pachycondyla*, Carril 3 y 4 *Cheliomyrmex*, Carril 5 y 6 *Camponotus*, carril 7 *Myrmecina*, carril 8 y 9 *Atta*, 10 *Oligomyrmex*, carril 11 *Acropyga*, carril 12 *Eciton*, carril 13 y 14 *Normamyrmex*, carril 15 y 16 *Polyergus*.

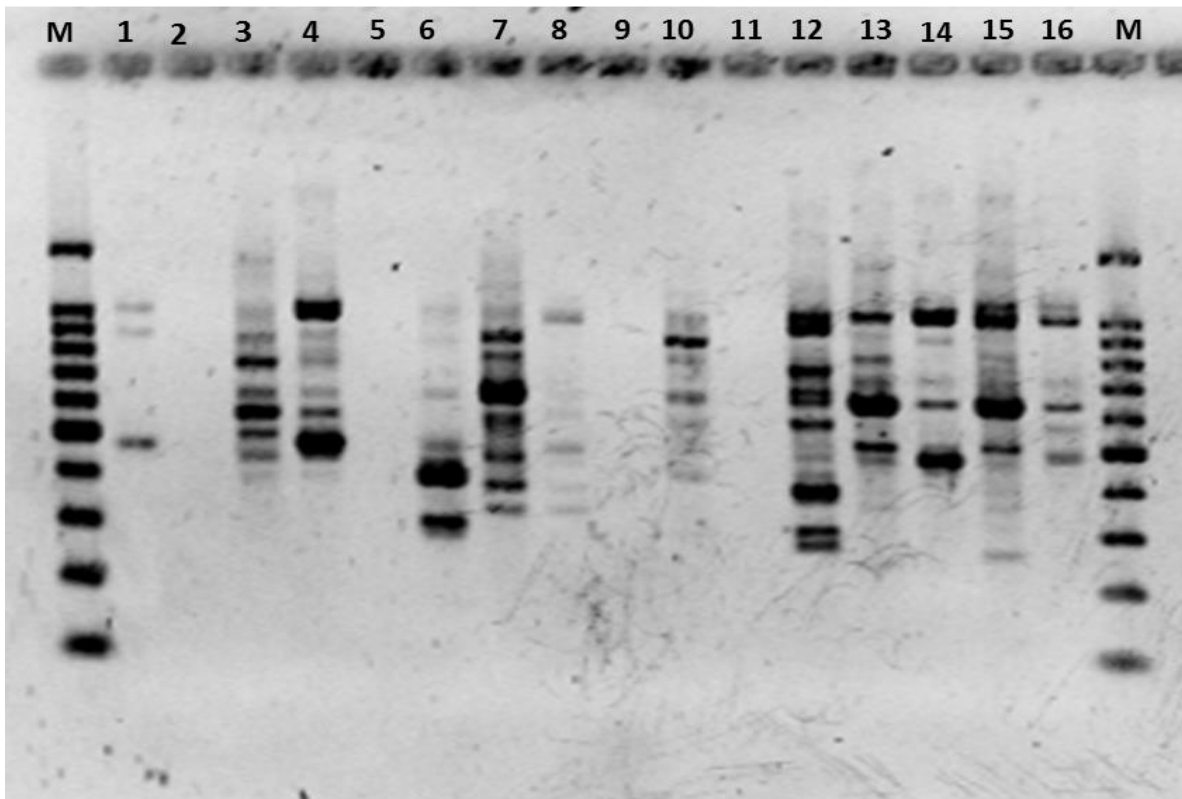


Figura 9. Amplificación por RAPD (cebador OPA-10) de ADN de 16 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8% en TBE .5x. Carriles "M" representan el marcador de peso molecular. Carril 1 y 2 *Pachycondyla*, Carril 3 y 4 *Cheliomyrmex*, Carril 5 y 6 *Camponotus*, carril 7 *Myrmecina*, carril 8 y 9 *Atta*, 10 *Oligomyrmex*, carril 11 *Acropyga*, carril 12 *Eciton*, carril 13 y 14 *Normamyrmex*, carril 15 y 16 *Polyergus*.

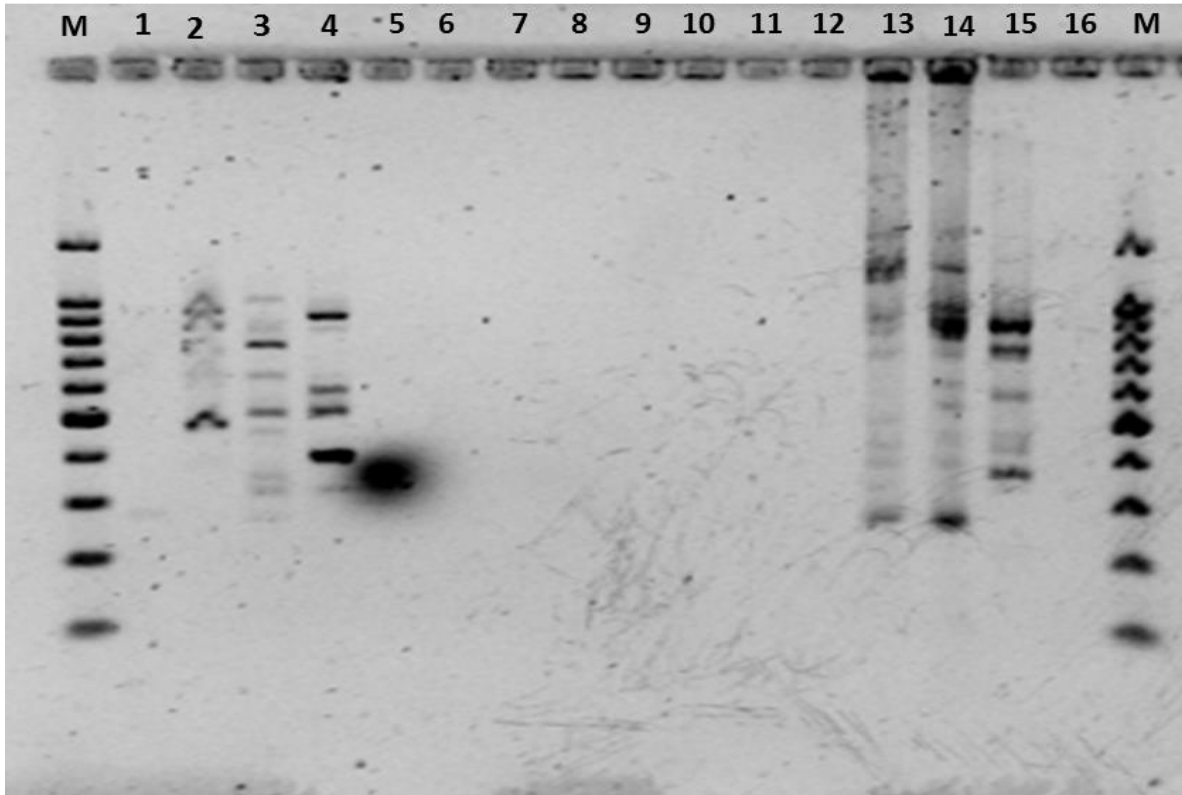


Figura 10. Amplificación por RAPD (cebador OPG-12) de ADN de 16 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8% en TBE .5x. Carriles “M” representan el marcador de peso molecular. Carril 1 y 2 *Pachycondyla*, Carril 3 y 4 *Cheliomyrmex*, Carril 5 y 6 *Camponotus*, carril 7 *Myrmecina*, carril 8 y 9 *Atta*, 10 *Oligomyrmex*, carril 11 *Acropyga*, carril 12 *Eciton*, carril 13 y 14 *Normamyrmex*, carril 15 y 16 *Polyergus*.

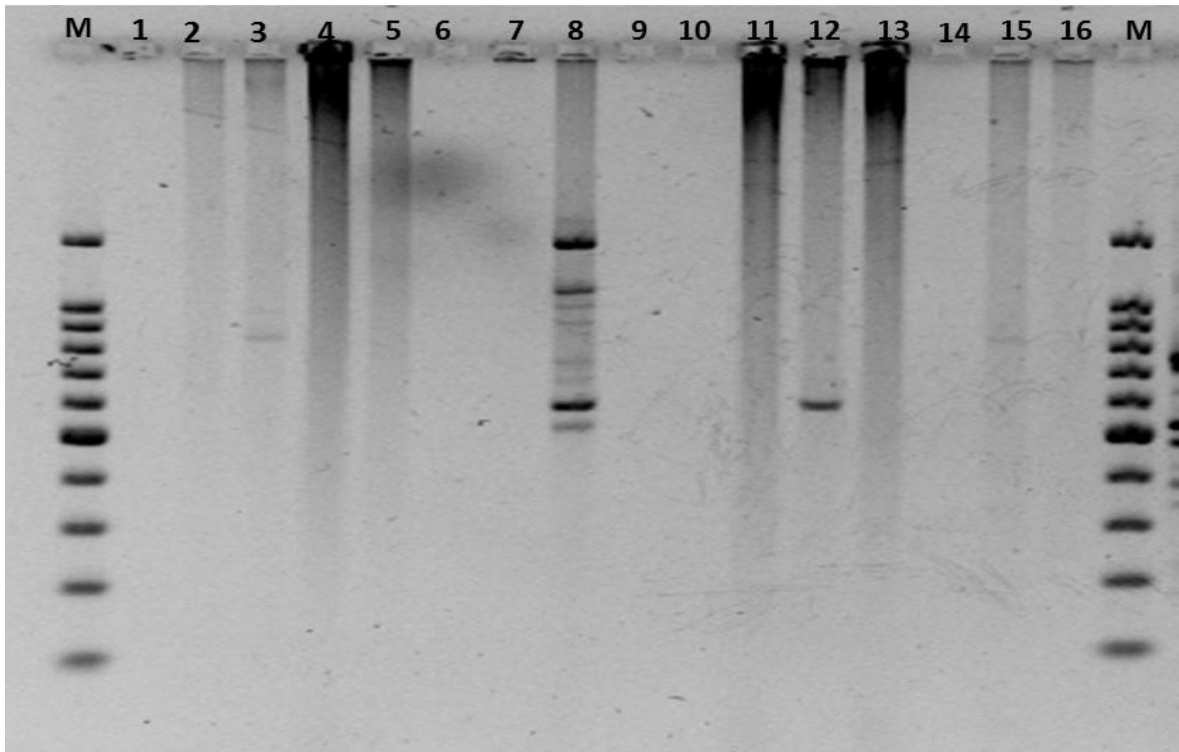


Figura 11. Amplificación por RAPD (cebador OPA-13) de ADN de 16 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8% en TBE .5x. Carriles “M” representan el marcador de peso molecular. Carril 1 y 2 *Pachycondyla*, Carril 3 y 4 *Cheliomyrmex*, Carril 5 y 6 *Camponotus*, carril 7 *Myrmecina*, carril 8 y 9 *Atta*, 10 *Oligomyrmex*, carril 11 *Acropyga*, carril 12 *Eciton*, carril 13 y 14 *Normamyrmex*, carril 15 y 16 *Polyergus*.

El dendrograma UPGMA (Figura 13) basado en la similaridad de coeficiente de Jaccard obtenido a partir de 16 muestras analizadas muestra la presencia de 6 grupos mismos que se dividen, en ciertos casos, en subgrupos respectivamente. Se pudieron identificar dos grandes grupos. El primero contiene 6 muestras amplificadas dentro de las cuales solamente los géneros *Polyergus*, *Oligomyrmex* y *Camponotus* son encontradas en los tres sitios de muestreo: Acahual, Lichis y Pastos.

El segundo grupo está representado por un total de 5 muestras amplificadas, de las cuales en su mayoría son encontradas en Acahual a excepción de *Normamyrmex* que solo se encuentra en Lichis. Por otro lado, y tomando en cuenta la variación de la composición de los sitios de muestreo Acahual, Lichis y Pastos se pudo determinar que la diversidad genética de especies de hormigas resulta diferente en los tres sitios de estudio.

En el dendrograma obtenido del área de Pastos (Figura 14) se representa variabilidad genética subdividida en dos grupos, siendo *Camponotus* el género que más alejado se encuentra el resto. Por otro lado, el dendrograma del área de Lichis (Figura 15) representa una variabilidad genética diferente a Pastos, y con especies similares al área testigo que es el Acahual, encontrándose los géneros *Camponotus* y *Atta* las que más distanciadas se encuentran.

Estudios recientes han demostrado que la abundancia y diversidad de artrópodos es mayor en policultivos forestales, agroforestales y agrícolas en comparación a sistemas de una sola especie. Una de las posibles causas por las cuales los policultivos poseen mayor abundancia y riqueza de artrópodos es que presentan más refugios y recursos para estas especies (Kelty, 2006).

Debido a que el Acahual y el cultivo de Lichis presentan estructuras similares respecto al paisaje y beneficios ecológicos que proporcionan, es posible encontrar mayor diversidad de géneros de hormigas, puesto que promueven el mantenimiento de los servicios ambientales manteniendo así un gran número de biodiversidad (Vila *et al.*, 2007)

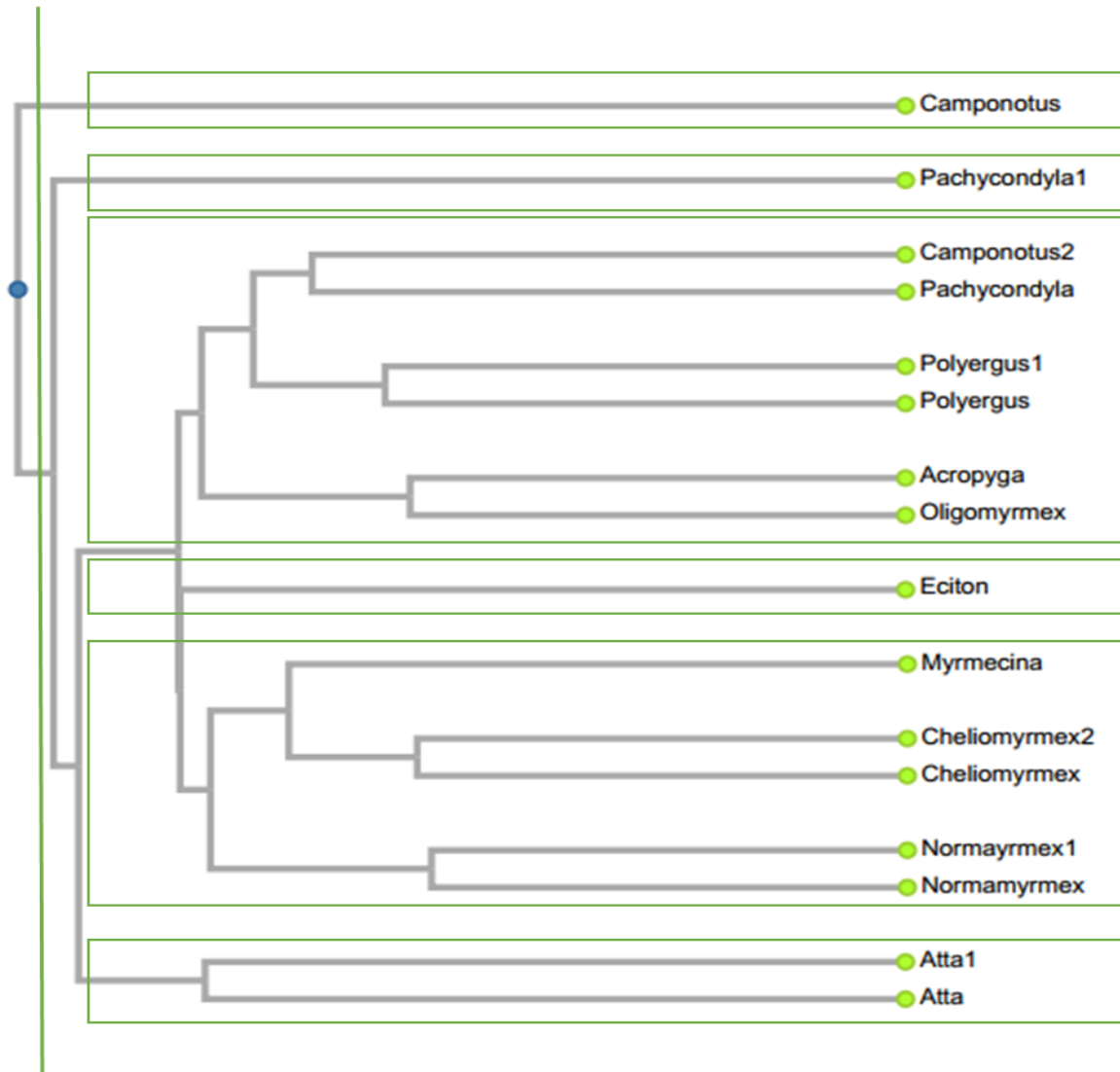


Figura 12. Dendrograma obtenido por el análisis de UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards a partir de los datos de los iniciadores OPA-OPG de individuos de hormigas procedentes de diferentes sitios de muestreo.

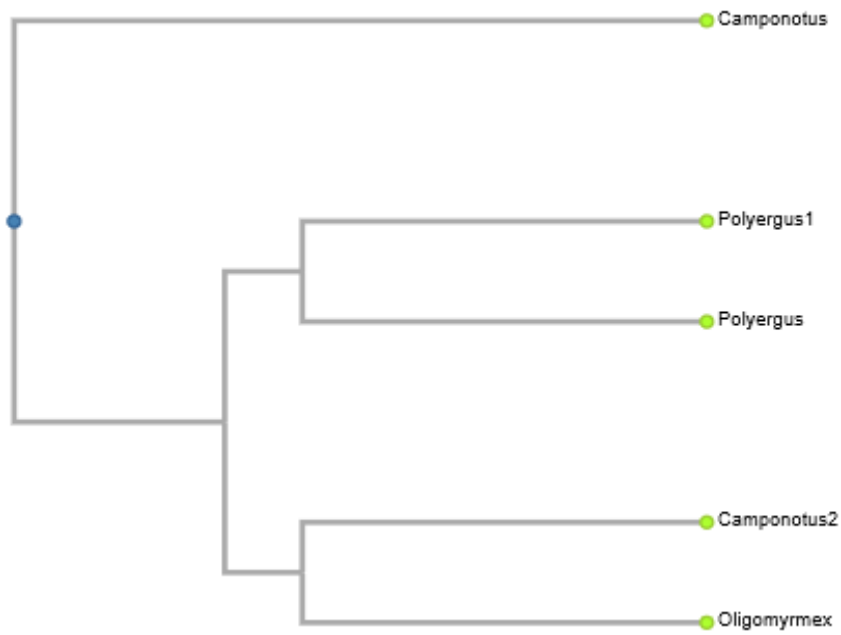


Figura 14. Dendrograma obtenido a partir del análisis UPGMA de especies de hormigas pertenecientes al área de Pastos.

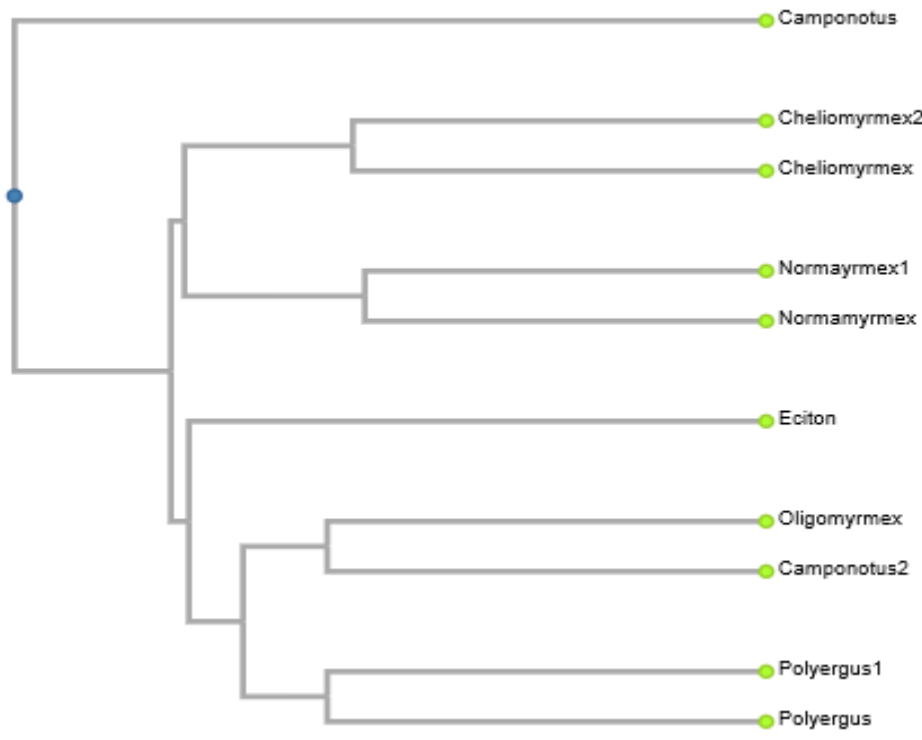


Figura 14. Dendrograma obtenido a partir del analisis UPGMA de especies de hormigas pertenecientes al área de Lichis.

El análisis de correspondencia (Figura 11), en el que se representan las especies amplificadas de los diferentes sitios de muestreo, determina una congruencia entre el dendrograma en el que se encuentran representadas todas las especies (Figura 13), logrando con ello establecer una diferencia entre las zonas y la distribución, presencia o ausencia de las especies encontradas.

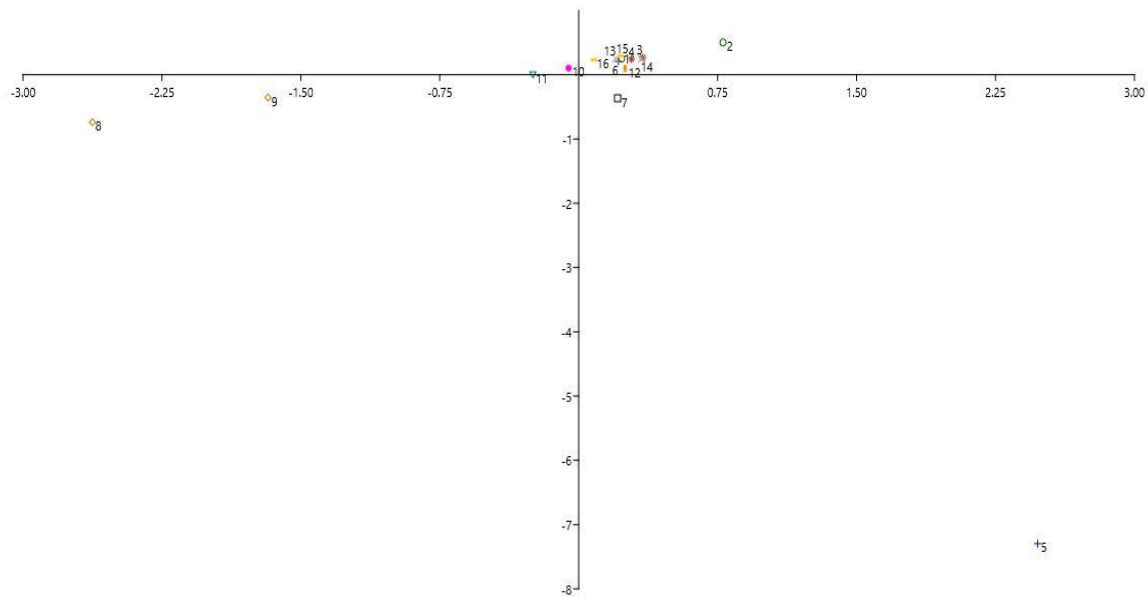


Figura 15. Análisis de correspondencia entre las especies de hormigas y el área de colecta.

Las especies se encuentran distribuidas en una sola región que es el Acahual. Esto debido a que la estructura de la vegetación y la cobertura del suelo tienen un efecto benéfico en los requerimientos de las hormigas, una mayor cobertura vegetal ofrece mayor disponibilidad de recursos alimenticios para las hormigas (Lara *et al.*, 2015). Por lo que la diversidad en el Acahual aumenta con respecto a los sitios donde solo existen los monocultivos.

Los pastizales poseen una baja biomasa y complejidad estructural (Murcia, 1995), comparados con las otras áreas, debido particularmente a la falta de cobertura vegetal y a la ausencia de hojarasca, lo que puede resultar en una menor heterogeneidad de microhábitats y una alta limitación de recursos tróficos y de anidación. Por tanto, la ausencia de diversidad de hormigas en esta área es notable puesto que existe una limitación de recursos por lo que pocas especies pueden mantenerse y obligando a otras a desplazarse.

La estructura genética de las poblaciones es afectada por diferentes factores como el modo de reproducción, flujo genético, formas de dispersión y la selección natural. Sin embargo, no se descarta que, durante el proceso de selección natural, nuevos ambientes proporcionan la presión necesaria para enriquecer a poblaciones introducidas con nuevas variantes originadas por transferencia horizontal (Liu *et al.*, 2010).

IX. CONCLUSIONES

Debido a que las poblaciones no son estáticas, sino dinámicas, es necesario seguir realizando estudios genéticos que permitan entender los cambios que ocurren a nivel población en los diferentes ecosistemas y poblaciones. Con ello se pueden hacer estimaciones que permitan realizar conclusiones acerca de los cambios que se han generado a lo largo del tiempo en los diferentes ambientes y sitios de estudio.

Debido a esto, es importante comprender la variabilidad genética de especies pues con base a ello es posible mantener el potencial evolutivo de estas y con ello dar respuestas al medio en que se desarrollan ya sea físico o biológico, entendiendo así, su adaptación a los cambios del ambiente.

X. RECOMENDACIONES

El presente trabajo de tesis aporta una herramienta inicial para estudios posteriores de diversidad genética. Dichos estudios deben realizarse de manera intrapoblacional para poder entender la variabilidad genética que han sufrido las poblaciones de especies a lo largo del tiempo y su respuesta al medio.

Se recomienda hacer estudios en diferentes épocas del año y en distintos ambientes, ya que la presencia/ausencia de especies de hormigas se ve afectada en tanto por el clima y la composición del área en que se encuentran.

XI. FUENTES DE CONSULTA

- Baroni Urbani, C. 1989. Phylogeny and behavioral evolution in ants, with a discussion of the role of behavior in evolutionary processes. *Ethology Ecology and Evolution* 1:137-168.
- Baroni Urbani, C., B. Bolton y P. S. Ward. 1992. The internal phylogeny of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Systematic Entomology* 17:301-329.
- Bolton, B. 1995. A new general catalogue of the ants of the world. Harvard University Press.
- Bolton, B. 1995a. A new general catalogue of the ants of the world. Harvard University Press, Cambridge.
- Bolton, B. 1995b. A taxonomic and zoogeographical census of the extant ant taxa (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Natural History*, 29: 1037-1056.
- Bolton, B. 1994. Identification Guide to the Ant Genera of the World. Harvard University Press.
- Bruhl, C.A., Mohamed, M. & K. E. Linsenmair. 1999. Altitudinal distribution of leaf litter ants along a transect in primary forests on Mount Kinabalu, Sabah, Malaysia. *Jour. Trop. Ecol.*, 15: 265-277.

- Bruhl, C., Gunsalam, G. & E. Linsenmair. 1998. Stratification of ants (Hymenoptera, Formicidae) in a primary rain forest in Sabah, Borneo. *Jour. Trop. Ecol.*, 14: 285-297.
- Brown, G .; C. Fragoso; I. Barois; P. Rojas; J.C. Patrón; J . Bueno; A. Moreno; P. Lavelle; V. Ordaz y C. Rodríguez. 2001. Diversidad y rol funcional de la macrofauna edáfica en los ecosistemas tropicales mexicanos. *Acta Zoológica Mexicana*, Número especial 1: 79-110.
- Brown, K. E. Giller, D.U. Hooper, O. Sala, J. Tiedje & J.A. Van Veen. 2000. Effects of global changes on above and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: implications for ecosystem functioning. *BioScience*, 50(12):1089-1098.
- Brown, G., A. G. Moreno, I. Barois, C. Fragoso, P. Rojas, B. Hernández & J. C. Patrón. 2004. Soil macrofauna in SE Mexican Pastures and the effect of conversion from native to introduced pastures. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 103: 313-327.
- Bucher, E. H., and R. B. Zuccardi. 1967. Significación de los hormigueros de *Atta vollenweideri* Forel como alteradores del suelo en la provincia de Tucumán. *Acta Zoológica Lilloana* 23:83-96.
- Chanatásig-Vaca, Cristina Isabel, Esperanza Huerta-Lwanga, Patricia Rojas-Fernández, Alejandro Ponce-Mendoza, Jorge Mendoza-Vega, Alejandro Morón-Ríos, Hans Van Der Wal, y Benito Bernardo Dzib-Castillo.

2011. Efecto del uso del suelo en las hormigas (Formicidae: Hymenoptera) de Tikinmul, Campeche, México. *Acta Zoológica Mexicana*. Vol. 27, Núm. 2. pp: 441-461.

- Delabie, J.H.C. & H.G. Fowler. 1990. Cryptic species assemblages in tropical and temperate latitudes. Pp. 695-696. In: Veeresh, G.K., B. Mallik and C.A. Viraktamath (eds.). *Social Insects and the Environment*. Proceedings of the 11th International Congress of IUSI. Bangalore, India. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. LTD. New Delhi, India. 765 pp.
- Del Toro, M. Vázquez, W.P. MacKay, P. Rojas, R. Zapata-Mata (2009). (Hymenoptera: Formicidae) de Tabasco: explorando la diversidad de la mirmecofauna en las selvas tropicales de baja altitud, pp. 1-14.
- Dean, W.R.J. & R.I. Yeaton. 1992. The importance of harvester ant *Messor capensis* nest-mounds as germination sites in the southern Karoo, South Africa. *African Journal of Ecology*. 30: 335-345.
- Doran, J.W. y Parkin, B.T. 1994. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America, Inc. Special Publication. Number 35. Madison, Wisconsin, USA.
- Duffy, J. E. 2002. Biodiversity and ecosystem function: the consumer connection. *Oikos*, 99: 201-219.

- Eldridge, D.J. & J. Pickard. 1994. Effects of ants on sandy soils in semi-arid Eastern Australia: II. Relocation of nest entrances and consequences for bioturbation. *Australian Journal of Soil Research*. 32: 323-333.
- Fernández F, Sharkey MJ. *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. Sociedad Colombiana de Entomología, 2006. Bogotá D. C.
- Fisher, B. L. & S. P. Cover. 2007. *Ants of North America: A guide to the genera*. Berkeley & Los Angeles, California.
- Fisher, B.L. 1996. Ant diversity patterns along an elevational gradient in the Réserve Naturelle Intégrale d'Andringitra, Madagascar. *Field. Zool., new series, Museum of Natural History*, 85: 93-108.
- Forel, A. 1899. Formicidae. In: *Biologia Centrali Americana, Hymenoptera.*, Vol. 3.
- Glowka, L., Burhenne-Guilmin, F. & Synge, H. 1996. Guía del Convenio sobre Diversidad Biológica. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales. *Environment Policy and Law Paper 30*, 179pp.
- González-Espinosa, M., Ramírez-Marcial, N., Camacho-Cruz, A., Holtz, S. C., Rey-Benayas, J. M., & Parra-Vázquez, M. R.(2007). Restauración de bosques en territorios indígenas de Chiapas: modelos ecológicos y estrategias de acción. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 80, 11-23.

- Graham, J. H., A. J. Krzysik, D. A. Kovacic, J. J. Duda, D. C. Freeman, J. M. Emlen, J. C. Zak, W. Russell Long, M. P. Wallace, C. Chamberlin Graham, J. N. Nutter & H. E. Balbach. 2008. Ant community composition across a gradient of disturbed military landscapes at Fort Benning, Georgia. *Southeastern Naturalist*, 7: 429-448.
- Grimaldi, D., D. Agosti y J. M. Carpenter. 1997. New and rediscovered primitive ants (Hymenoptera: Formicidae) in Cretaceous amber from New Jersey, and their phylogenetic relationships. *American Museum Novitates* 3208:1-43.
- H. Engel-Siegal. 1984. On the metapleural gland of ants. *Psyche* 91:201-223.
- Hedrick P.W. 2001. Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology & Evolution*. 16:629-636.
- Hebert, P., Ratnasingham, S., Waard, J. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 270: S96-S99.
- Hebert, P. D. N., S. Ratnasingham & J. R Dewaard. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. B* 270 (Suppl. 1): S96-S99.

- Hickerson, M. J., C. P. Meyer & C. Moritz. 2006. DNA Barcoding will often fail to discover new animal species over broad parameter space. *Syst. Biol.* 65(5): 729-739.
- Hölldobler, B. y E. O. Wilson. 1991. *The ants*. Cambridge, MA: Harvard University Press. Leston, D. A Neotropical Ant Mosaic. *Annals of the Entomological Society of America*, 7: 649-653.
- Hölldobler, B. & E. O. Wilson. 1990. *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Johnson, R.A. P.S. Ward, (2002). Biogeography and endemism of ants (Hymenoptera: Formicidae) in Baja California, Mexico: a first overview. *Journal of Biogeography*, pp. 1009-1026.
- Jones, C. G., J. H. Lawton & M. Shachak. 1994. Organism as ecosystem engineers. *Oikos*, 69:373-386.
- Kelty, M. 2006. The role of species mixtures in plantation forestry. *Forest Ecology and Management*, 233: 195-204.
- Kress, W., García-Robledo, C., Uriarte, M., Erickson, D. 2015. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 30:25-35. Lattke, J.S., (2011). Revision of the New World species of the genus *Leptogenys* Roger (Insecta: Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae).
- Lavelle, P., E. Blanchart, A. Martin, A.V. Spain & S. Martin. 1992. Impact of soil fauna on the properties of soils in the humid tropics. Pp. 157-185. En: R.

Lal & P.A. Sánchez (eds.). Myths and science of soils in the tropics. SSSA Special Publication No. 29, Madiso.

- Lavelle, P., D. Bignell, M. Lepage, V. Wolters, P. Roger, P. Ineson, O.W. Heal & S. Ghillion. 1997. Soil function in a changing world: The role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Biology*. 33: 159-193.
- Lavelle, P; Bignell, D; Lepage, M. 1997. Soil function in a changing world. The role of invertebrate ecosystems engineers. *European Journal of Soil Biology*, 33:159-193.
- Lanteri, A. 2007. Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología. *Sociedad Entomológica Argentina*. 66(3-4): 15-25.
- Lewis J.P., E.A. Franceschi & S.L. Stofella. 1991. Effects of ant hills on the floristic richness of plant communities of a large depression in the Great Chaco. *Rev. Biol. Trop.*, 39: 31-39.
- Liu YQ, Qin L, li YP, Wang H, Xia RX, Gi YH, et al. (2010). Comparative Genetic Diversity and Genetic Structure of Three Chinese Silkworm Species *Bombyxmori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), *Antheraeapernyi* Guérin-Meneville and *Samiacynthiaricini* Donovan (Lepidoptera: Saturniidae). *Neotropical Entomology*. 39 (6): 967-975.
- Mackay W. P. y E. E. Mackay. 1989. Clave de los géneros de hormigas en México (Hymenoptera: Formicidae). Pp. 1-82.

- Masera, O., M. Astier & S. López-Ridaura. 1999. Sustentabilidad y manejo de recursos naturales. El marco de evaluación MESMIS. Mundi Prensa México, SA de CV, México D.F., México. 109 pp.
- Norton, E. 1868. Notes on Mexican ants. *Amer. Nat.*, 2:57-72.
- Pergande, T. 1894. On a collection of Formicidae from Lower California and Sonora, Mexico. *Proceedings of the California Academy of Sciences*. 4:26-36.
- Peter M. Vitousek; Harold A. Mooney; Jane Lubchenco; Jerry M. Melillo *Science, New Series*, Vol. 277, No. 5325. (Jul. 25, 1997), pp. 494-499.
- Piñero, D., et al. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México, pp. 437-494.
- Rabeling C, Brown J, Verhaagh M. Newly discovered sister lineage sheds light on early ant evolution. 2008. *The National Academy of Sciences of the USA*.
- Rabeling, C., J. M. Brown & M. Verhaagh. 2008. Newly discovered sister lineage sheds light on early ant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (39): 14913-14917.

- Rodríguez-Garza, J. A. 1986. Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) de Nuevo León. Tesis, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Rojas, P. 2001. Las hormigas del suelo en México: Diversidad, Distribución: e importancia (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), Número especial (1): 189-238.
- Rojas, P. 1996. Formicidae. pp. 483-500. In: Biodiversidad de Artrópodos de México: Hacia una Síntesis de su Conocimiento. J. Llorente, A.N. García-Aldrete y E. González (Eds.). U.N.A.M.-CONABIO. 660 pp. Rojas, P. & A. Cartas. 1997. Ecitoninae (Hym. Formicidae). pp. 349-353. In: *Historia Natural de Los Tuxtlas*. E. González, R. Dirzo y R.Vogt (Eds.). U.N.A.M. -CONABIO. 647 pp.
- Tejeda-Cruz C, Mehlreter K, Sosa VJ. 2008. Indicadores ecológicos multitaxonómicos. En: Manson RH, Fernández- Ortiz V, Gallina S & Mehlreter K (eds.). *Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz Biodiversidad, manejo y conservación*. Instituto Nacional de Ecología. México. pp. 271-278.
- Teletchea F., Bernillon J., Duffraisse M, Laudet V, Hänni C. Molecular Identification of Vertebrate Species by Oligonucleotide Microarray in Food and Forensic Samples. *Journal of Applied Ecology* 2008;45(3):967-975.
- Vergara Castrillón JC. *Biología, manejo y control de la hormiga arriera*. Santiago de Cali, Gobernación Valle del Cauca. 2005; 20 pp.

- Verhaagh, M. 1990. The Formicidae of the rain forest in Panguana, Peru: the most diverse local ant fauna ever recorded. pp. 217-218. In: Veeresh, G.K., B. Mallik and C.A. Viraktamath (Eds.). Social Insects and the Environment. Proceedings of the 11th International Congress of IUSI. Bangalore, India. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. LTD. New Delhi, India.765 pp.
- Wiken, E.B., K. Broersma, L.M. Lavkulich & L. Farstad. 1976. Biosynthetic alteration in a British Columbia soil by ants (*Formica fusca* Linne). Soil Science Society of America Journal., 40:422-426.

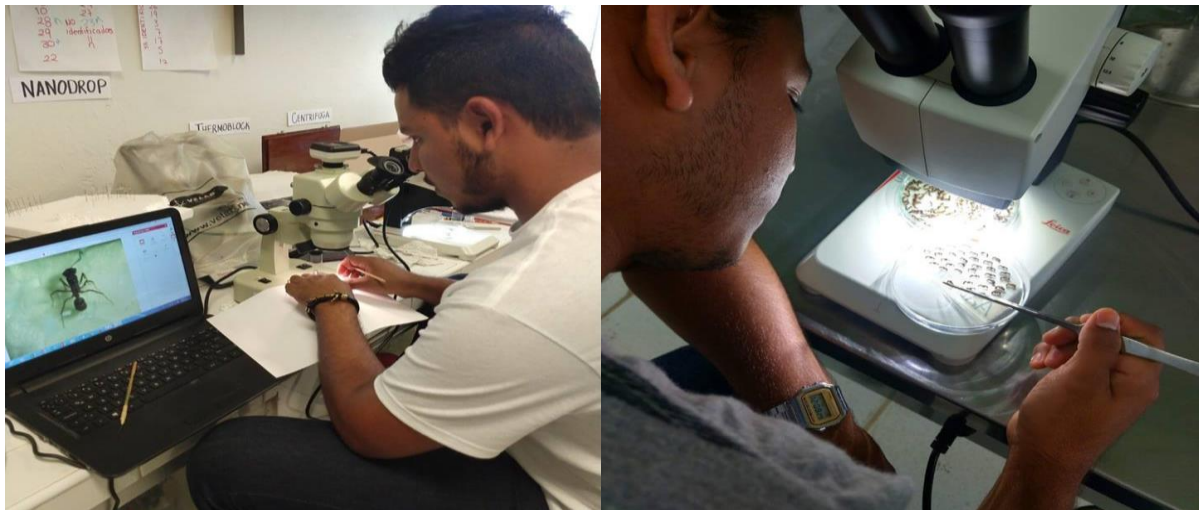
XII. ANEXOS



Colocación de trampas de caída en los diferentes sitios de estudio.



Colecta de especies de las diferentes trampas



Identificación de morfoespecies de hormigas



Proceso de extracción de ADN de hormigas



Realización de PCR de las muestras de ADN de hormigas.



Electroforesis en gel de Agarosa de las muestras de hormigas.