



**SEP**

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván

# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN

DIVERSIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS  
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) ASOCIADAS A  
CULTIVOS SILVOPASTORIL, CITRICOS Y CAÑA

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:  
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Presenta:

DENYS SAMUEL ALEMAN OCHOA

No. Control: 14882304

Úrsulo Galván, Ver., Mayo de 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., 30/ABRIL/2019

No. DE OFICIO: DEP /327/2019

Asunto: Autorización de Impresión

C. DENYS SAMUEL ALEMAN OCHOA  
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a usted para comunicarle que su trabajo titulado: **DIVERSIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS (HYMENOPTERA:FORMICIDAE) ASOCIADOS A CULTIVOS SILVOPASTORIL,CÍTRICOS Y CAÑA.**, 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

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

C.p. Archivo  
CSMG/jhb

Carretera Cardel – Chachalacas Km. 4.5, C.P.91667,  
Úrsulo-Galván, Ver. Teléfono (296) 9625029 Ext. 108  
[www.itursulogalvan.edu.mx](http://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, 10/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	DENYS SAMUEL ALEMÁN OCHOA
b) Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
c) No. de Control	14882304
d) Nombre del proyecto	DIVERSIDAD GENÉTICA DE HORMIGAS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) ASOCIADAS A CULTIVOS SILVOPASTORIL, CITRICOS Y CAÑA.
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



SECRETARIA DE  
EDUCACION PÚBLICA  
Instituto Tecnológico  
de Úrsulo Galván

 DRA. JACEL ADAME GARCÍA	 DR. FÉLIX 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 - Chachalacas 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**

**A la Dra. Jacel Adame García por darme su confianza para ser parte de este proyecto, por motivarnos a siempre dar lo máximo para alcázar nuestras metas y por permitirme ser parte de su equipo de trabajo. Todo esto no hubiera sido posible sin su apoyo, motivación y cariño.**

**Al Dr. Felix David Murillo Cuevas por sus asesorías y enseñanzas durante este proyecto y gran parte de la carrera.**

**A la Mtra. Jazmín Villegas Narvárez y al Dr. Felipe Flores de la Rosa por ser parte de este trabajo.**

**A Efrain, Berenice, Victor y Marleny por sus consejos y apoyo durante las interminables horas de trabajo en el laboratorio.**

**A mis amigos Antonio, Corazón, Fernanda y Pamela por todos estos cuatro años de risas, bromas, discusiones y aventuras, sin duda estos años de universidad no hubieran sido tan placenteros sin su compañía.**

## DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres y a mi hermano!

Ya que gracias a todo su esfuerzo, paciencia y motivación permitieron que cumpliera un sueño más, el apoyo que me han brindado han formado bases de gran importancia para ser la persona que soy el día de hoy.

A Vianey Rosales Rivera!

Por ser una gran motivación para salir adelante, por creer en mí y estar a mí lado en cada momento difícil cuando pensaba que las cosas no podían ser posibles.

A Leah, la futuro integrante de la familia!

Este es el primer paso y el comienzo de todo el esfuerzo que hare por ti.

## RESUMEN

Se evaluó la diversidad genética de especies de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) encontradas en áreas del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván como son cítricos y cultivo de caña respecto a un cultivo silvopasoril como testigo. Se identificaron las especies de hormigas colectadas de los sitios de estudio mediante la guía taxonómica de Mackay y Mackay (2014). 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. Posteriormente, se realizó una 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 6 oligonucleótidos. Así mismo, se realizaron análisis genéticos (UPGMA) que permitieron elaborar dendrogramas donde se ubicaron las especies encontradas siendo el área de caña y el área de silvopastoril que menor diversidad obtuvo en comparación con cítrico. Además, se realizó un Análisis de correspondencia (AC) en el que se determinó que la mayoría de las especies se agrupan en el cítrico 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 rechazan la hipótesis ya que el área de cítrico muestra mayor diversidad genética y no el área de silvopastoril. Los resultados de las muestras amplificadas rechazan la hipótesis ya que el área de cítrico muestra mayor diversidad genética y no el área de silvopastoril. 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

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	3
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	5
<b>IV. OBJETIVO</b> .....	6
4.1 General .....	6
4.2. Específicos .....	6
<b>V. HIPÓTESIS</b> .....	7
<b>VI. MARCO TEÓRICO</b> .....	8
6.1 Macrofauna edáfica .....	8
6.2 Artrópodos .....	8
6.3 Hormigas .....	10
6.3.1 Generalidades e importancia de hormigas .....	10
6.3.2 Hábitat .....	12
6.3.3 Taxonomía y morfología .....	12
6.4 Cultivos .....	13
6.4.1 Silvopastoril .....	13
6.4.2 Cítrico .....	14
6.4.3 Caña de azúcar .....	14
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	15
7.1 Área de estudio .....	15
7.2 Colecta de hormigas .....	17
7.3 Extracción de ADN .....	18
7.4 Amplificación de los marcadores moleculares RAPD .....	19
7.5 Análisis bioinformático .....	20
<b>VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	21
<b>IX. CONCLUSIONES</b> .....	32
<b>X. RECOMENDACIONES</b> .....	33
<b>XI. FUENTES DE CONSULTA</b> .....	34

## **INDICE 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.....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Área de silvopastoril.....	15
Figura 2.	Área de cítricos.....	16
Figura 3.	Área de caña.....	17
Figura 4.	Géneros de hormigas correspondientes al área de cítricos.....	21
Figura 5.	Géneros de hormigas correspondientes al área silvopastoril.....	21
Figura 6.	Géneros de hormigas correspondientes al área de Caña.....	22
Figura 7.	Amplificación por RAPD (cebador OPA-3) .....	23
Figura 8.	Amplificación por RAPD (cebador OPA-4) .....	24
Figura 9.	Amplificación por RAPD (cebador OPA-12) .....	24
Figura 10.	Amplificación por RAPD (cebador OPA-10) .....	25
Figura 11.	Amplificación por RAPD (cebador OPG-10) .....	25
Figura 12.	Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards de las muestras amplificadas.....	27
Figura 13.	Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards en el área de cirico.....	28

Figura 14. Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards en el área de Caña..... 29

Figura 15. Dendrograma mediante el análisis UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards en el área de Silvopasoril..... 29

Figura 16. Análisis de correspondencia entre las especies de hormigas y el área de colecta..... 30

## I. INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo grandes extensiones del planeta han sido transformados por el hombre para sistemas productivos (Carrol, 1990), más del 60% son utilizados para producción alimenticia convertidos en monocultivos y policultivos (Mcneely y Scherr, 2003), estos cambios de composición vegetal tienen como consecuencia la degradación tanto físicas y químicas del suelo de igual forma la alteración de la biodiversidad, es decir la variabilidad de todos los organismos vivos, estos sistemas proveen hábitat para diversos tipos de especies, los cuales, entre más biodiversidad presenten más procesos ecológicos se realizaran en estos espacios (Saborío, 2016).

Dentro de estos se encuentra la macrofauna edáfica, la cual agrupa invertebrados mayores de 2 mm. Estos organismos son importantes en la transformación de las propiedades del suelo, entre ellos se encuentran las lombrices de tierra, las termitas y las hormigas (Cabrera, 2012).

Estas últimas son consideradas de gran importancia ya que fungen como bioindicadoras de la calidad del hábitat y desempeñan un papel importante en el ecosistema dependiendo de la identidad de las especies. Su éxito ecológico y evolutivo es multifactorial, derivado de modificaciones sociales como la división de labores dentro de la colonia y el trabajo cooperativo (Guzman, *et al.*, 2010).

Las hormigas están consideradas uno de los grupos más exitosos en los ecosistemas terrestres, con más de 12,000 especies descritas. A lo largo del tiempo se han realizado trabajos de identificación morfológica de estos insectos haciendo más tardado este proceso por el gran número de especies que existen (Guzmán, *et al.*, 2010).

Por lo que el objetivo de este trabajo es determinar la diversidad genética de hormigas que habitan en los cultivos silvopastoril, caña y pastos del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván para determinar si esta diversidad se encuentra asociada a los recursos disponibles, así como al tipo de hábitat en el que estas especies se desarrollan.

## II. ANTECEDENTES

Las hormigas son un grupo de insectos que constituye una gran diversidad biológica, estos insectos cumplen una importante función en todos los ecosistemas, conforman alrededor del 15% de la biomasa animal (Villareal *et al.*, 2006).

Según el Bolton (1995) el conteo de especies de hormigas a nivel mundial es de 9, 500 especies. 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)

Según Guzmán y colaboradores (2010), mencionan que a lo largo del tiempo se han realizado trabajos de identificación de estos insectos a nivel morfológico con ayuda de guías taxonómicas, siendo demasiado tardado este proceso ya que se han identificado más de 12,000 especies diferentes debido a que las hormigas son consideradas uno de los insectos con mayor éxito en el ecosistema terrestre.

La región Neotropical está ocupada por un gran número de subfamilias de los formícidos, principalmente por las especies: *Agroecomyrmecinae*, *Amblyoponinae*, *Cerapachyinae*, *Dolichoderinae*, *Ecitoninae*, *Ectatomminae*, *Formicinae*, *Heteroponerinae*, *Leptanilloidinae*, *Myrmicinae*, *Paraponerinae*, *Ponerinae*, *Proceratiinae*, *Pseudomyrmecinae* (Díaz *et al.*, 2009).

Barbera y colaboradores (2004), realizaron estudios de diversidad de especies de hormigas en sistemas agroforestales de café orgánicos y convencionales en donde se encontraron estas especies en ambos sistemas: *Solenopsis geminata*, *Pheidole*

*radoszkowskii*, *Pheidole cocciphaga*, *Tapinoma paratrachina*, *Wasmannia auropunctata*, *Solenopsis picea*, *Monomorium florícola*, *Brachymyrmex sp.*, *Rogeria tonduzi*, *Camponotus novogranadensis*, *Pheidole simonsi*, *Azteca sp.*, *Forelius sp.*, *Odontomachus chelifer*, *Gnamptogenis striatula*, *Cardiocondyla sp.*, *Ectatomma*, *Pachycondyla obscuricornis*, *Crematogaster curvispinosus*.

De igual forma Cardona y colaboradores (2008) Realizaron un trabajo de identificación de estos insectos encontrando 22 especies diferentes en un ecosistema de bosque seco en Colombia.

En México se han realizado estudio de hormigas como bioindicadoras y se realizó una comparación de la mirmecofauna encontrada en monocultivos de cedro y huertos de Tikinmul en el cual las especies dominantes son *Selenopsis* y *Dorymyrmex* (Fernández, 2011). Se han elaborado síntesis de diversidad taxonómica funcional de hormigas en México obteniendo como resultado un total de 407 especies (Rojas, 2001)

En la región centro del estado de Veracruz, en el municipio de Úrsulo Galván se ha reportado el efecto del uso de suelo con caña de azúcar y pasto sobre la fauna de artrópodos edáficos, indicando que los suelos con pasto afectan más que el suelo con caña de azúcar, y que los suelos con vegetación silvestre tienen mayor diversidad de fauna edáfica (Murillo *et al.*, 2019).

En México las comunidades del suelo más ricas en especies son las de selvas altas y medianas (MacKay *et al.*, 1991, Cartas, 1993) aunque también algunos pastizales inducidos de los trópicos húmedos albergan una buena diversidad (Quiroz & Valenzuela, 1995).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las hormigas son uno de los insectos con mayor éxito dentro de la macrofauna de los ecosistemas, ya que por su comportamiento social y adaptación al medio ambiente se han utilizado como bioindicadores, también son uno de los principales organismos de propagación de semillas y uno de los principales factores que intervienen en la modificación del suelo.

México tiene una gran diversidad de especies de la familia de formícidos, tomando en cuenta que presenta una gran diversidad de ecosistema, sin embargo, a lo largo del tiempo se han realizado muy pocos estudios de hormigas en nuestro país.

El inventario de la diversidad faunística está incompleto para la familia Formicidae ya que estos se han realizado de forma tradicionalmente por métodos taxonómicos y las técnicas moleculares se han utilizado muy poco para estas investigaciones, de modo que la información sobre la diversidad genética de estos insectos es muy escasa y es de gran importancia tomando en cuenta los constantes cambios en su ecosistema ocasionados por las actividades agrícolas ya que estos factores pueden alterar su variabilidad genética entre las especies de este género.

## **IV. OBJETIVO**

### 4.1 General

Determinar la diversidad genética de hormigas asociadas a los sistemas silvopastoril, caña y cítricos ubicados en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván.

### 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 hormigas asociadas al cultivo silvopastoril es más elevada comparada a los monocultivos de caña y cítrico debido a que habitan en un espacio donde se encuentran un gran número de especies vegetales.

## VI. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Macrofauna edáfica

La macrofauna está conformada por los organismos más sobresalientes del suelo, pertenecen a distintos Filos, Clases y Órdenes, operan en escalas de tiempo y espacio más amplias que los individuos más pequeños, estos conforman una gran variedad de individuos con tamaños y estrategias adaptativas que los diferencia a cada uno, especialmente en su desarrollo con el ecosistema y su modo de alimentación, esto explica la forma en que pueden influir en los procesos que se llevan diferentes grupos taxonómicos (Bignell *et al.*, 2008).

Los organismos que constituyen la macrofauna edáfica se detectan por su actividad, ya que determinan y tienen efecto en los procesos de suelo tales como la fertilización y estructuración del suelo, control de insectos, enfermedades y el desarrollo de las plantas”, estos principalmente artrópodos, arácnidos, moluscos, lombrices, Isópteros, colémbolos, miriápodos (Curry, 1987; Curry y Good, 1992; Linden *et al.*, 1994).

### 6.2 Artrópodos

Los artrópodos son el grupo más diverso y abundante de animales. Las 750 000 especies descritas representan más del triple del resto de especies animales juntas, esto gracias a su gran diversa forma de adaptación que les ha permitido colonizar diversos hábitats desde su aparición en el Precámbrico (Sánchez, 2018).

Los artrópodos constituyen una de las grandes divisiones del reino animal, subdividida en diversas clases, algunas de las cuales cuentan con gran número de géneros y especies (Sánchez, 2018).

Se les denomina de esta manera ya que todo el cuerpo el que está formado por varios segmentos unidos entre sí por medio de articulaciones y a pesar de su variedad los artrópodos poseen en común características morfológicas y fisiológicas tales como, la presencia de apéndices articulados que muestran una plasticidad evolutiva enorme y que han dado lugar a las estructuras más diversas (patas, antenas), branquias, pulmones, mandíbulas, quelíceros, etc (Sánchez, 2018).

Presencia de un esqueleto externo o exoesqueleto quitinoso que mudan periódicamente. Dado que diversos filos pseudocelomados también mudan la cutícula, algunos autores relacionan los artrópodos con los nemátodos y grupos afines, en un clado llamado ecdisozoos (Sánchez, 2018).

Cuerpo constituido por segmentos repetitivos, fenómeno conocido como metamería, con lo que el cuerpo aparece construido por módulos repetidos a lo largo del eje antero-posterior. La segmentación va acompañada de regionalización o tagmatización, con división del cuerpo en dos o tres regiones en la mayoría de los casos (Sánchez, 2018).

## 6.3 Hormigas

### 6.3.1 Generalidades e importancia de hormigas

El orden Hymenoptera ocupa el tercer puesto, existen más de 150.000 especies incluidas en 373 géneros identificados (Agosti y Johnson, 2000). Son uno de los grupos de insectos con mayor diversidad específica y ecológica, cumplen funciones importantes en todos los ecosistemas y constituyen alrededor del 15% de la biomasa animal total (Villareal *et al.*, 2006).

Son un grupo de insectos sociales de gran diversidad tanto taxonómicos como funcionales (Wilson, 1971). Estos animales tienen una gran variedad de hábitos alimenticios, los autores mencionan que son los primeros artrópodos sociales con hábitos depredadores que habitan en el suelo y su éxito es gracias a estos (Bardgett, 2005).

Los grupos que conforman la macrofauna del suelo frecuentemente son propuestos como indicadores de la calidad biológica del suelo, debido a la importancia de su rol en los procesos biológicos del ecosistema y su sensibilidad ante los cambios en las condiciones ambientales. Estos organismos también influyen de una forma significativa en las propiedades físicas y químicas del suelo (Bignell *et al.*, 2012). También desempeñan un papel importante como la propagación de semillas, polinización, descomposición de materia orgánica (Brussard *et al.*, 1997).

Estos insectos son adecuados para ser usado como indicador biológico y son utilizados de esta forma en gran parte del planeta con este fin (Andersen, 1997).

De igual forma son ideales para dar seguimiento a los cambios en el medio ambiente, ya que muchas especies tienen baja tolerancia a estos cambios, y tienen una respuesta rápidamente a los cambios de su medio ambiente (Kaspary y Majer, 2000).

Las principales características que presentan estos insectos como bioindicadores, de diversidad biológica y de cambios ambientales en el ecosistema, estas presentan alta diversidad, son abundante en la mayoría del hábitat terrestre, son fáciles de capturar y de monitorear; tienen una relación muy estrecha con otros organismos, principalmente con los vegetales ya que en estos pueden encontrar suministros de comida o resguardo (Alonso, 2000).

Además, las hormigas tienen una relación directa con plantas vasculares, de tal forma que al variar la estructura de la vegetación también cambiara la composición de especies de hormigas o su abundancia. Así mismo se las puede utilizar como indicadores por ser muy importantes en los ecosistemas, porque están involucrados en los niveles tróficos, son predadoras y presas, detritívoras, mutualistas, forrajeras, etc. (Alonso, 2000).

### 6.3.2 Hábitat

Estos insectos se encuentran en la mayor parte del mundo desde los bosques de las hasta montañas hasta los ambientes más extremos como los polos, habitan en la mayoría de todos los ecosistemas, desde el subsuelo hasta la copa de los árboles, estos insectos son habitantes del suelo por excelencia ya que la mayoría de las especies viven en nidos subterráneos, en madera en estado de descomposición que se encuentra en el suelo o en hojarasca (Maschwitz *et al.*, 1970).

Muchas especies de esos insectos se han adaptado secundariamente a vivir en los árboles sin embargo estos individuos mantiene una estrecha relación con el suelo para realizar ciertas actividades (Maschwitz *et al.*, 1970).

### 6.3.3 Taxonomía y morfología

La hormiga pertenece al Reino: Animalia; Filo: Arthropoda; Clase: Insecta; Orden: Hymenoptera y Familia: Formicidae (Cuezzo, 1998).

Los formícidos como todos los insectos tienen un exoesqueleto quitinoso dividido en cabeza, tórax y abdomen, su sistema circulatorio es abierto y su sistema está compuesto por tráqueas, son poliformicas en tamaño ya que se diferencia los machos de las hembras y tienen una diferencia significativa con las reinas (Contreras, 2013).

En sus segmentos las hormigas tienen funciones dependiendo la parte de su cuerpo. En la cabeza tienen varios sistemas sensoriales, tienen ojos compuestos, antenas

sensoriales con las que pueden captar feromonas químicas e identificar a las hormigas de su colonia, además, cuentan con mandíbulas que le sirven como herramientas de defensa y para tomar transportar su alimento al hormiguero (Contreras, 2013).

En el tórax cuenta con seis patas articuladas, en las reinas jóvenes y los machos de la mayoría de las especies se insertan en el tórax las cuatro alas con las que realizan vuelos nupciales antes de aparearse, también se encuentran la mayoría de los órganos internos (Contreras, 2013).

En las reinas poseen u ovopositor y las obreras estériles suelen tenerlo modificado para formar un aguijón con el que defender el nido o retener a sus presas.

## 6.4 Cultivos

### 6.4.1 Silvopastoril

Los cultivos silvopasoriles, son sistemas de uso de la tierra en donde existen al menos dos clases de especies de plantas (Saborío, 2016). De igual manera coexisten en la misma unidad productiva la ganadería y la actividad forestal, aprovechando las interacciones positivas y minimizando las negativas que se establecen entre los componentes animal, vegetal y suelo (Carranza y Ledesma, 2009).

#### 6.4.2 Cítrico

El cultivo de limón persa o también conocido como Lima Tahití o Tahití Lime en inglés, es de origen desconocido, el cultivo de cítricos presenta determinadas necesidades, en referencia a las condiciones de suelo y clima en las cuales se desarrolla y produce mejor, estas plantas son de condiciones tropicales y fruto abundante (Venegas, 2002).

#### 6.4.3 Caña de azúcar

El cultivo de caña de azúcar es una de las actividades agrícolas de mayor importancia económica en México tiene una gran extensión agroecológica, cada una de ellas posee características fisiográficas, climáticas y edáficos particulares, pero también cuenta con factores limitantes complejos los que genera diferentes condiciones y aptitudes para este cultivo (Aguilar *et al.*, 2013).

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en un área silvopastoril del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván la cual se encuentra ubicada en las coordenadas 19°25'7.94"N y 96°21'9.43"O, a una elevación de 11 m. En esta área se estableció un polígono de muestreo de 1.081 hectáreas, georreferenciada con los siguientes puntos: 1) 19°25'9.78"N, 96°21'9.94"O; 2) 19°25'9.81"N, 96°21'7.58"O; 3) 19°25'6.98"N, 96°21'6.97"O y 4) 19°25'6.15"N, 96°21'12.23"O. Esta área cuenta con cultivos como Morera (*Morus alba*), Colorín (*Erythrina americana*), Bambú (*Bambusa vulgaris*), Guácimo (*Guazuma ulmifolia*), Mulato (*Bursera simaruba*) y Cocuite (*Gliricidia sepium*) (Figura 1).



Figura 1. Ubicación de las áreas de muestreo en pasto, silvopastoril y vegetación natural en el interior de los terrenos del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván.

El cultivo de limón Persa se encuentra ubicado en las coordenadas  $19^{\circ}24'52.13''\text{N}$  y  $96^{\circ}20'58.19''\text{O}$ , a una elevación de 22 m. En este cultivo se estableció un polígono de muestreo de 2.254 hectáreas, georreferenciado con los siguientes puntos: 1)  $19^{\circ}24'52.27''\text{N}$ ,  $96^{\circ}21'2.43''\text{O}$ ; 2)  $19^{\circ}24'50.08''\text{N}$ ,  $96^{\circ}21'0.72''\text{O}$ ; 3)  $19^{\circ}24'50.34''\text{N}$ ,  $96^{\circ}20'59.85''\text{O}$ ; 4)  $19^{\circ}24'49.90''\text{N}$ ,  $96^{\circ}20'54.24''\text{O}$  y 5)  $19^{\circ}24'54.89''\text{N}$ ,  $96^{\circ}20'55.99''\text{O}$  (Figura 2).



Figura 2. Ubicación de las áreas de muestro en el cultivo de limón Persa en el interior de los terrenos del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván

Y por último el cultivo de caña de azúcar ubicado en las coordenadas 19°24'50.27"N y 96°21'24.64"O, a una elevación de 11 m, con un polígono de muestreo de 2.03 hectáreas (Figura 3).



Figura 3. Ubicación de las áreas de muestreo en el cultivo de caña de azúcar en el interior de los terrenos del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván.

## 7.2 Colecta de hormigas

Se utilizaron trampas de caída para hormigas (elaboradas con envases de plástico de un litro, enterrados a ras de suelo con agua en el interior) colocadas en transectos de 100 m. Las trampas se colocaron una semana si una semana no, teniendo dos semanas de muestreo por mes y dos meses de muestreo. Las semanas en las que no se pusieron las trampas se utilizaron para el procesamiento de las muestras. Se colectó el interior de cada trampa (identificadas con un número de trampa y fecha de colocación) desenterrándolas y llevándolas al laboratorio para la extracción del

contenido a través de una coladora, las hormigas colectadas fueron colocadas en frascos de vidrio con alcohol al 70% etiquetadas, para su posterior procesamiento.

También se realizó un muestreo directo para la colecta de hormigas con hábito arbóreo que se encontraban sobre las plantas, para esto se muestrearon diez plantas por área de muestreo, revisando desde el tallo hasta el follaje, se colectaron con pinceles de forma directa o con técnica de golpeo, estas fueron almacenadas en frascos con alcohol al 70% y fueron llevadas al laboratorio. Cada frasco con hormigas que represento una trampa o un muestreo directo fueron vaciados en una caja de Petri y bajo estereoscopio las hormigas fueron separadas y contabilizadas por morfoespecie y se colocaron nuevamente en frascos con alcohol a 70% por morfoespecie y cada frasco se etiquetó con los datos del número de trampa o muestreo directo.

### 7.3 Extracción de ADN

Para el análisis de diversidad genética se extrajo el ADN de individuos de las distintas especies de hormigas que se capturaron, para la cual se tomaron dos patatas, medio cuerpo o cuerpo entero dependiendo el tamaño del ejemplar, con ayuda de una pinza estéril. Como las hormigas se conservaron en etanol, se dejó secar brevemente para evaporar el etanol, se realizaron varios lavados con buffer TE (10 mM Tris Cl, pH 9.0, 1 mM EDTA) para rehidratar los tejidos celulares. Las muestras se incubaron durante 15 minutos a 95 °C en una suspensión de Chelex 100® al 5% y 5µl de proteinasa K (20mg/ml). Finalmente se incubaron las muestras a 60 °C durante 20 minutos y a 99°C 5 minutos para inactivar la proteinasa K. La calidad y cantidad del ADN se cuantificaron con un biofotómetro NanoDrop OneC® (absorbancia a 260 y 280).

#### 7.4 Amplificación de los marcadores moleculares RAPD

Una vez que se extrajo el ADN, se realizaron las amplificaciones de los marcadores moleculares RAPDS, se realizaron en un volumen final de 25  $\mu$ L. Constituida por 50-100 ng de ADN; 1 U de Taq polimerasa (Gotaq flexi DNA Polymerase, Promega), 200  $\mu$ M de dNTPs, 200 pM de iniciador y 1X de buffer de reacción, suplementado con 2.5 mM de MgCl<sub>2</sub>.

Los iniciadores que se utilizaron fueron de 10 bases (OPA-02, OPA-03, OPA-04, OPA-10, OPA-12Y OPG10) (Cuadro 1). La PCR se realizó con los siguientes ciclos térmicos: un ciclo a 94°C por 2 min, 45 ciclos bajo las siguientes condiciones 94°C por 1 min, alineación a 36°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min y finalmente una extensión a 72° por 5 minutos.

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-03	5'-AGT CAG CCA C-3'
3	OPA-04	5'-AAT CGG GCT G-3'
4	OPA-10	5'-GTG ATC GCA G-3'
5	OPA-12	5'-TCG GCG ATA G-3'
6	OPG-10	5'-AGG GCC GTC T-3'

Las visualizaciones de los productos amplificados se realizaron en una cámara de electroforesis horizontal, en un gel de agarosa 1.0 % (p/v). Las condiciones de electroforesis fueron de 90 V durante 1 hora en buffer TBE 0.5 X. Las bandas de ADN fueron visualizadas bajo luz UV después de que se tiñó el gel en una solución de bromuro de etidio. Las imágenes se registraron en un sistema de fotodocumentación.

## 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 fueron codificados con 1 o 0 interpretado como presencia o ausencia respectivamente.

A partir de esta matriz se realizó un dendrograma 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 realizado en la página web DendroUPGMA: A dendrogram construction utility (<http://genomes.urv.cat/UPGMA/>).

Por otra parte, 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 GenAEx 6.503+ Ribbon®.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El dato obtenido en la colecta de los individuos concuerda con Lozano-Salamanca (2019) quien reporta los géneros de hormigas *Pachycondyla*, *Cheliomyrmex* sp., *Camponotus atriceps* y *Oligomyrmex* sp. por mencionar algunas, siendo el cultivo silvopastoril y el sitio de cítricos de acuerdo a los aportes realizados por Aburto-Pérez (2019) los que mayor diversidad tuvieron a comparación de otros sitios de suelo.



Figura 4. Especies de hormigas pertenecientes a cultivo de cítrico a) *Pachycondyla harpax*, b) *Cheliomyrmex* sp. y c) *Camponotus* sp.

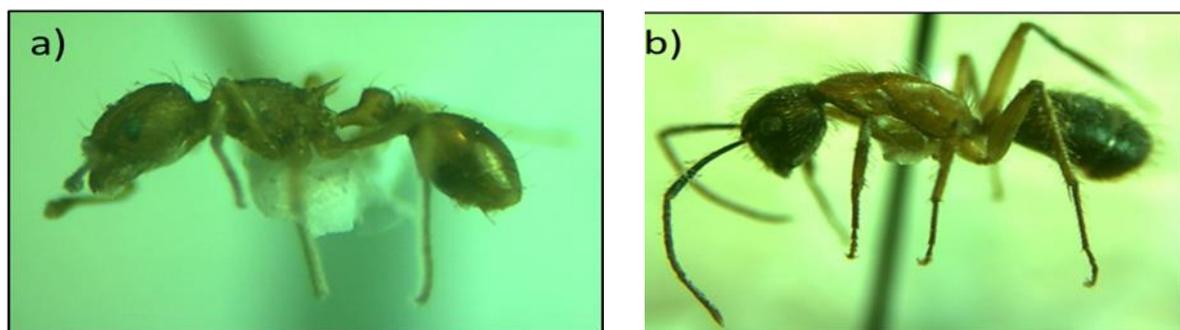


Figura 5. Hormigas del género a) *Camponotus atriceps* y b) *Oligomyrmex* sp. pertenecen al sitio de silvopastoril.

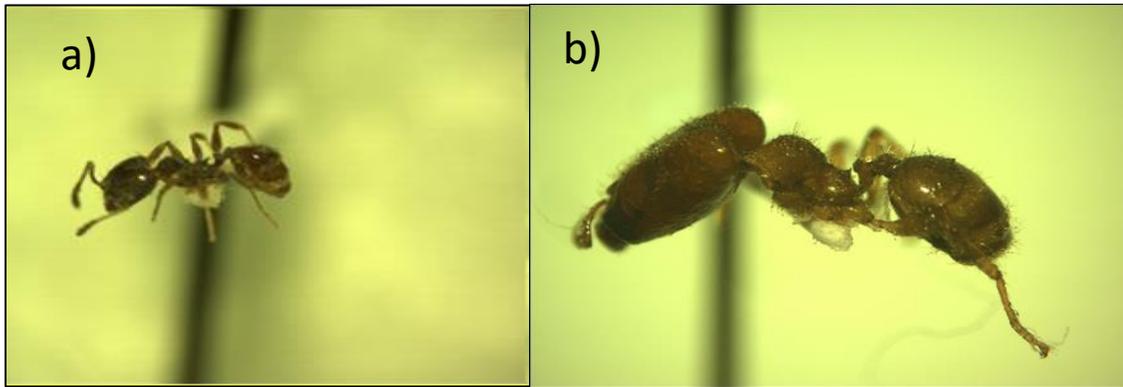


Figura 6. Hormigas correspondientes a caña de azúcar a) *Myrmecia* sp.y b) *Pheidole megacephala*.

A partir de los individuos colectados de los diferentes sitios de trabajo, se realizaron las amplificaciones de un total de 16 muestras representativas y se analizaron en geles de agarosa en las cuales se pudieron observar 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	11	13	4
2	OPA-03	9	9	4
3	OPA-04	11	8	2
4	OPA-10	14	12	2
5	OPA-12	10	9	0
6	OPG-10	3	5	0

Los resultados obtenidos en los geles de agarosa muestran que el iniciador OPA-10 (Figura 10) logró amplificar un total de 14 de 17 muestras, siendo la muestra de la hormiga del género *Selenopsis* sp. identificada con el numero No. 24 la de mayor amplificación de acuerdo al conteo de bandas, seguido del iniciador OPA-04 (Figura 8) que logro amplificar 11 muestras siendo la hormiga del género *Polyergus* sp. identificada con el No. 29 la muestra con mayor amplificación. El iniciador OPG-10 (Figura 11) fue el iniciador que menos muestras amplificó.

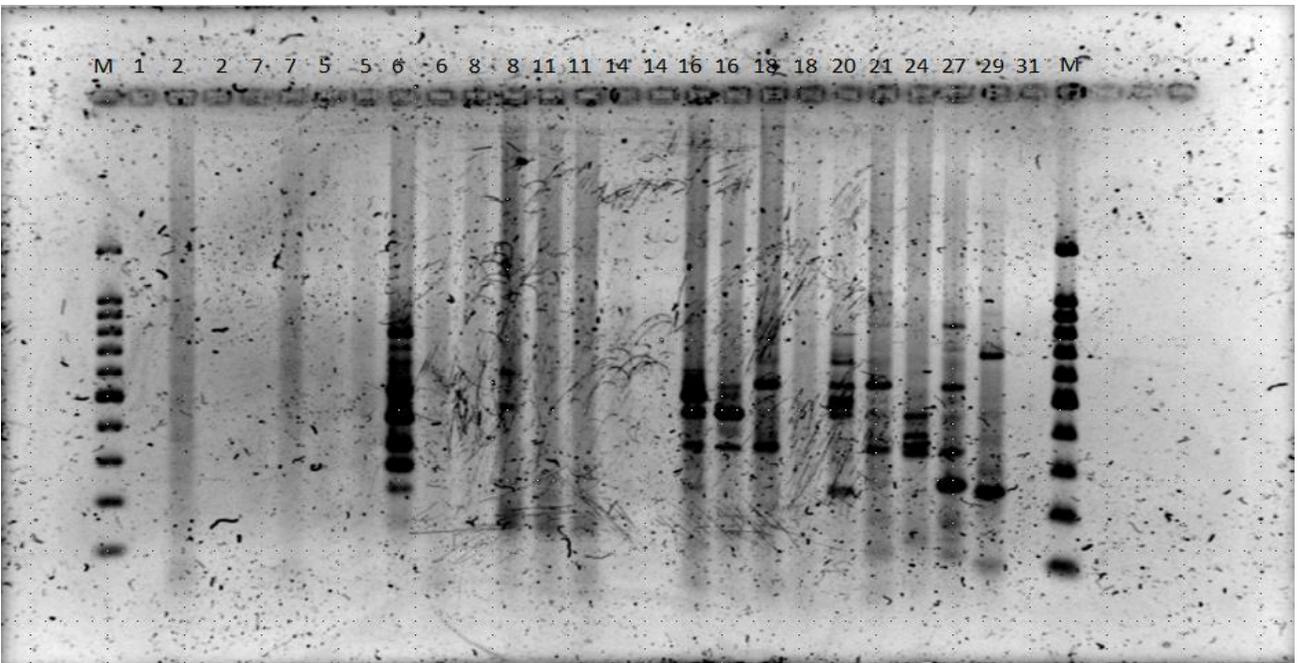


Figura 7. Amplificación por RAPD (iniciador OPA-03) de ADN de 25 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8%.

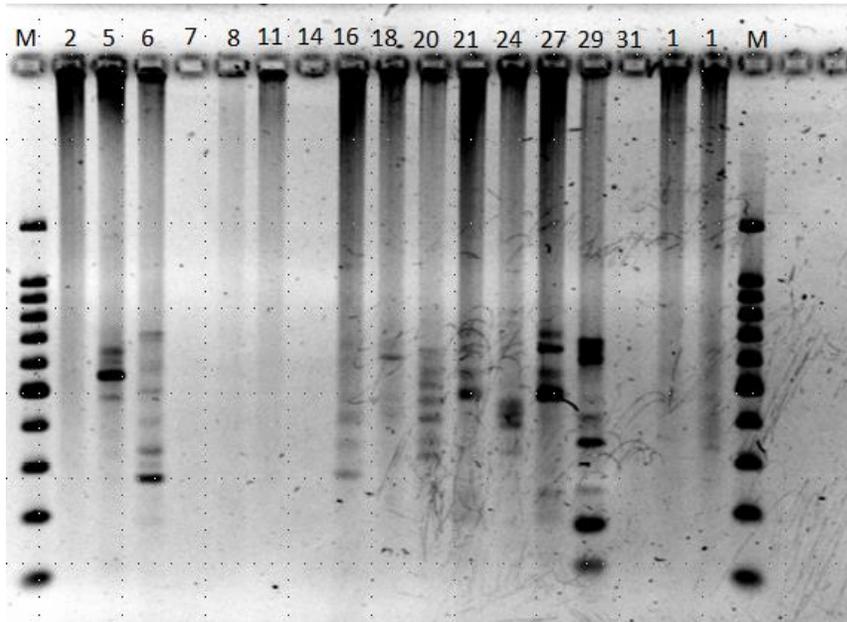


Figura 8. Amplificación por RAPD (iniciador OPA-04) de ADN de 17 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8%.

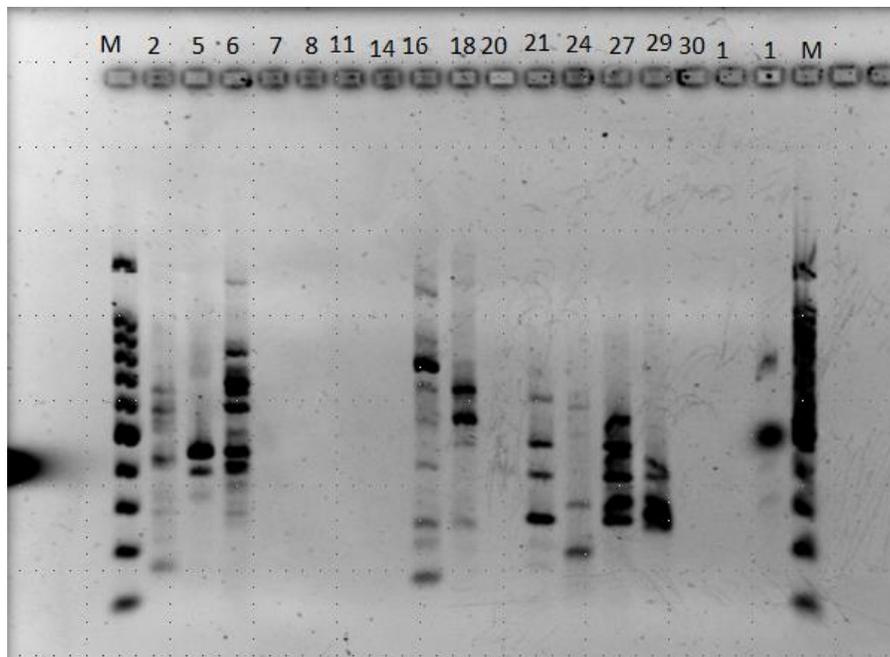


Figura 9. Amplificación por RAPD (iniciador OPA-12) de ADN de 17 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8%.

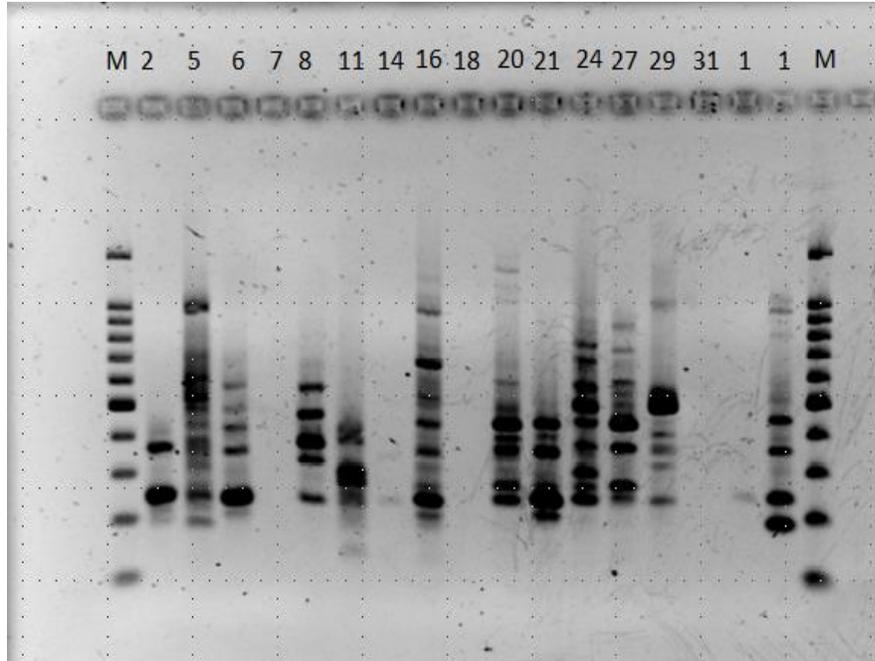


Figura 10. Amplificación por RAPD (iniciador OPA-10) de ADN de 17 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8%.

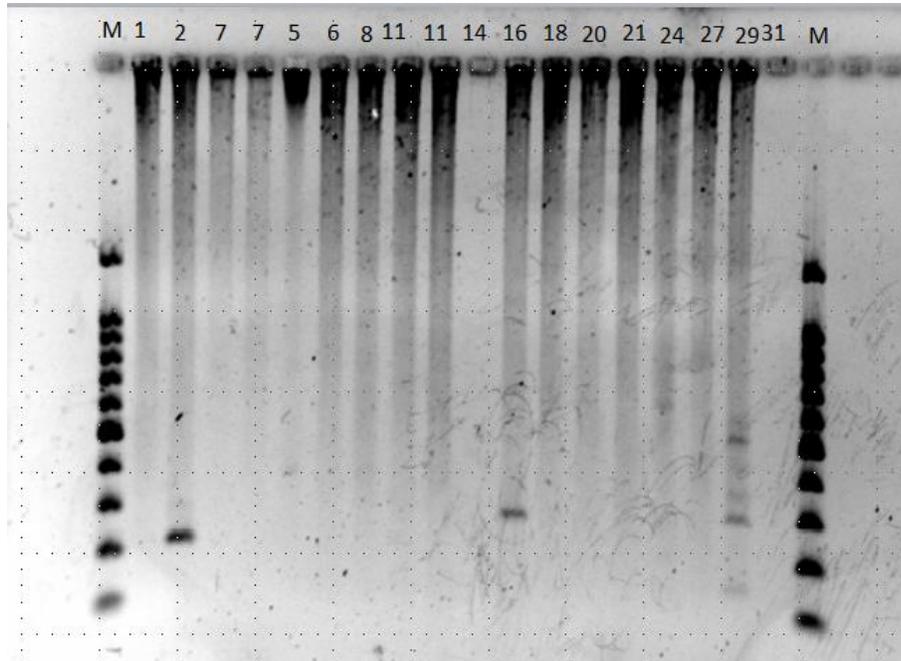


Figura 11. Amplificación por RAPD (cebador OPG-10) de ADN de 19 muestras de hormigas, visualizadas en electroforesis en gel de agarosa al 1.8%

El dendrograma obtenido de los análisis de variación en programa UPGMA (Figura 12) basado en la similitud de coeficiente de Jaccard obtenido a partir de 16 muestras analizadas muestra la presencia de 7 grupos, de estos se dividen en subgrupos respectivamente. Se pudieron identificar tres grupos. El primero contiene 4 muestras amplificadas dentro de las cuales solamente los géneros *Oligomyrmex* y *Myrmecia* se encuentran en los tres sitios de muestreo silvopastoril, cítricos y caña.

El segundo grupo está representado por un total de 3 muestras amplificadas, de las cuales el género *Poylergus* se encuentran solo en cultivo de cítrico y las muestras identificadas por morfoespecie uno y dos, ambas se encuentran en el cultivo silvopastoril. Tomando en cuenta los resultados de este grupo la variabilidad genética de estas hormigas resulta diferente entre estos sitios tomando en cuenta la variación de composición de éstos, en comparación del último y tercer gran grupo, en este se puede observar que está compuesta por 5 muestras amplificadas las cuales los cinco géneros solo se encuentran en el cultivo de cítrico

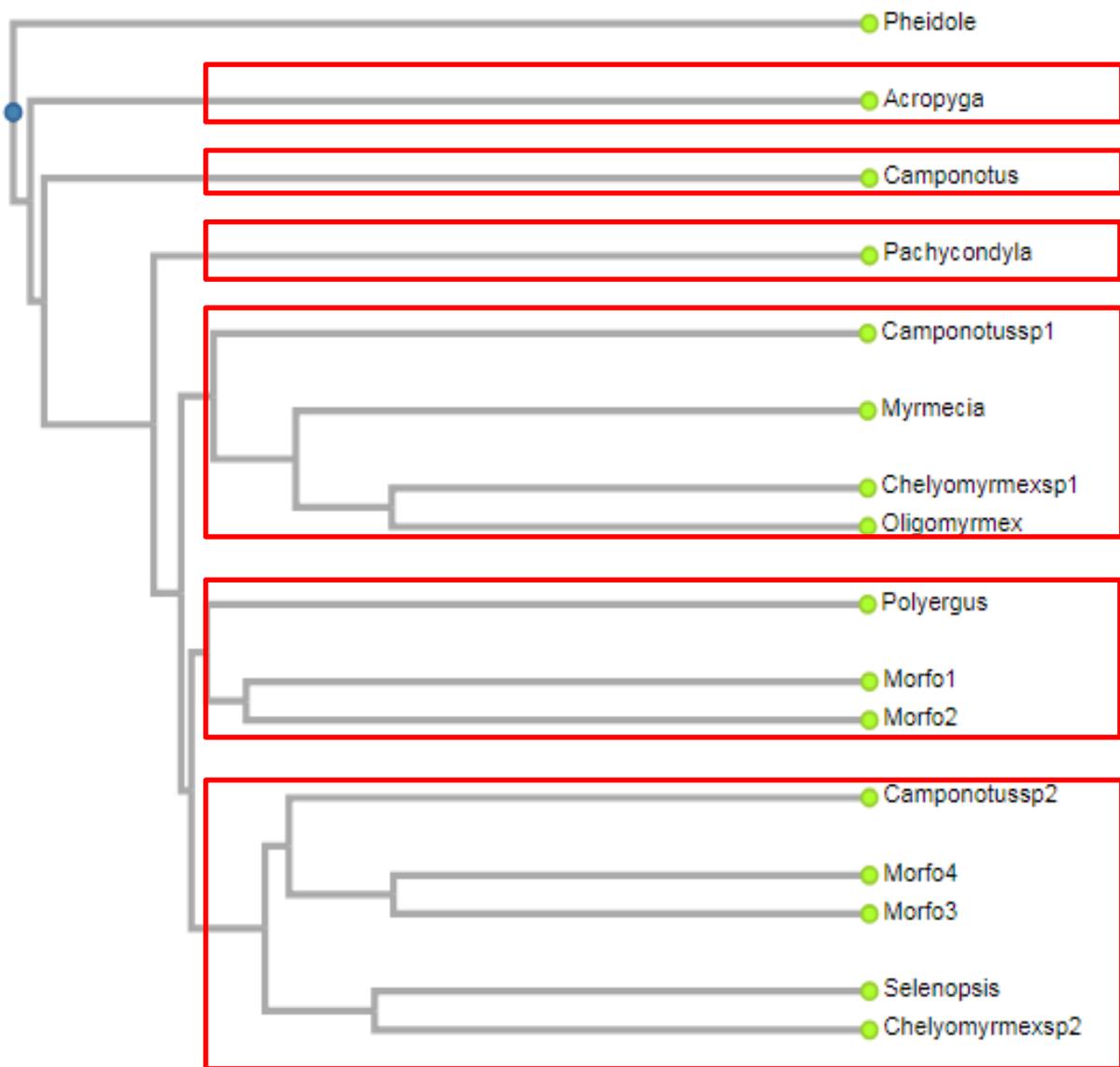


Figura 12. Dendrograma obtenido por el análisis de UPGMA según el coeficiente de Similitud de Jaccards a partir de los datos de los iniciadores OPA-OPG de individuos de hormigas procedentes de los cultivos de silvopastoril, cítrico y caña.

Para el sitio de cultivo de cítrico en el dendrograma que se obtuvo (Figura 13) se presenta una diversidad genética dividida en tres subgrupos siendo el género *Camponotus* el más alejado del resto. Por otro lado el dendrograma de área de caña (Figura 14) representa una diversidad genética diferente a la del cultivo de cítrico y presentando la mayor cantidad de géneros similares al área testigo que es el cultivo silvopasoril, concluyendo que el género *Camponotus* sp. es el que se encuentra a mayor distancia de las demás especies.

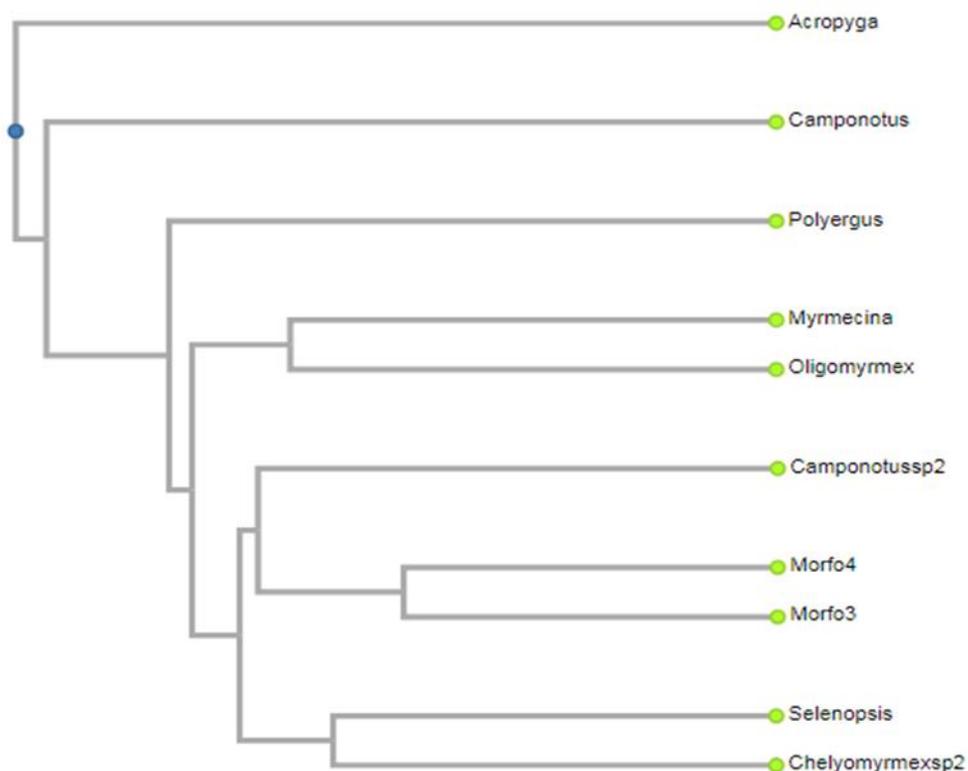


Figura 13. Dendrograma obtenido a partir del análisis UPGMA de especies de hormigas pertenecientes al área de cítricos.

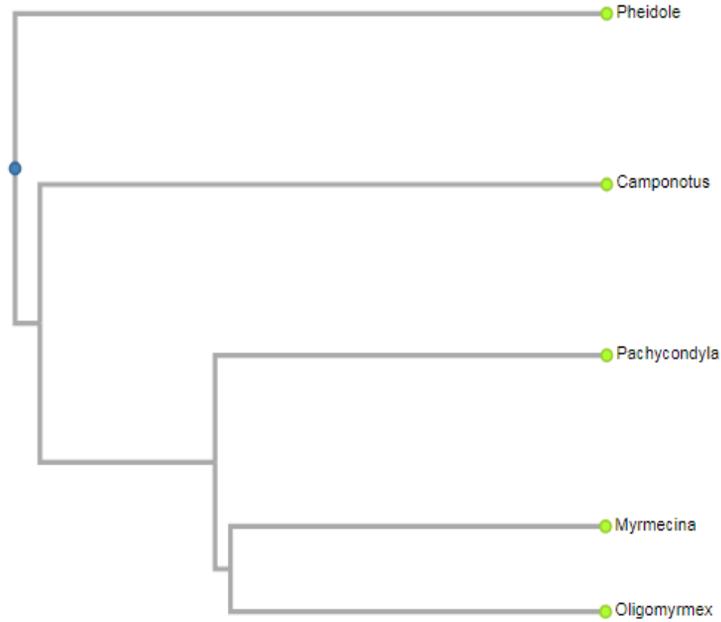


Figura 14. Dendrograma obtenido a partir del análisis UPGMA de especies de hormigas pertenecientes al área de caña.



Figura 15. Dendrograma obtenido a partir del análisis UPGMA de especies de hormigas pertenecientes al área de Silvopastoril.

El análisis de correspondencia (Figura 16), 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 12), logrando con ello establecer una diferencia entre las zonas y la distribución, presencia o ausencia de las especies encontradas.

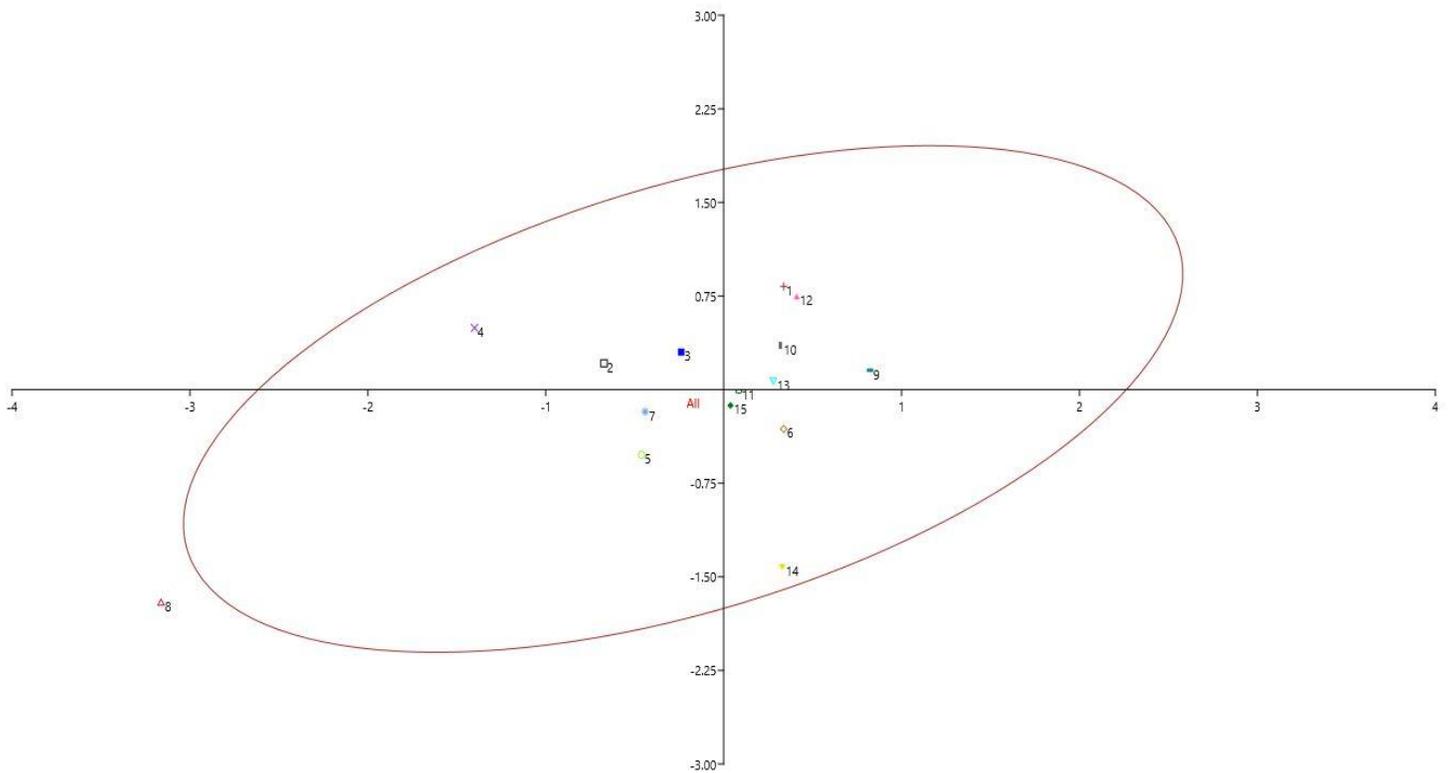


Figura 16. Análisis de correspondencia entre las especies de hormigas y el área de colecta.

Los resultados obtenidos en los análisis de correspondencia podemos apreciar que las especies se encuentran distribuidas mayormente en tres regiones del plano, pero claramente se puede observar que la mayoría de las especies tiende a concentrarse en el cultivo de cítrico, ya que las especies como *Selenopsis* sp., *Camponous* sp., *Chelyomyrex* sp., *Myrmecia* sp., *Camponotus* sp., *morfoespecie* 3 y 4 solo se encuentran en este sitio. Flatt y Weisser (2000) mencionan que en los cultivos de cítricos se encuentran áfidos, cochinillas u otros productores de melaza. Las hormigas utilizan esta miel como fuente de azúcar y nutrientes. Pero a su misma vez pueden convertirse indirectamente en plagas, ya que ofrecen protección a los hemípteros productores de melaza (Pekas *et al.*, 2009).

El resto de las especies que se encuentran dispersas en el plano y se mantienen a distancia del grupo antes mencionados son las que se encuentran en los sitios de muestro de caña de azúcar y silvopastoril, estas se ubican de esta forma ya que tienen relación con ambos sitios. Hormigas como *Oligomyrmex* sp. y *Pachycondila* sp. se encuentran en ambos sitios. Saborío (2016) dice que en áreas agroforestales existe mayor flujo de especies debido a la gran diversidad de vegetales que se encuentran en este sitio, además que tiene los requerimientos necesarios y los recursos alimenticios para las hormigas como materia orgánica y hojarasca. A pesar de que los monocultivos como la caña de azúcar tienen mayor degradación física y química del suelo (Brown *et al.*, 2004) estas especies lograron adaptarse a estas condiciones encontrando los recursos necesarios para poder resistir en este sitio.

## **IX. CONCLUSIONES**

La variabilidad genética de hormigas se presenta mayormente en el uso de suelo de cítrico, a pesar de que las condiciones en el sitio de silvopastoral sean mejores para contener una mayor diversidad que los demás cultivos ya que este contiene gran diversidad vegetal y mejores condiciones de suelo.

La diversidad genética encontrada en los sitios de silvopastoral y caña de azúcar es parecida, esto se puede definir por las condiciones de los usos de suelo en los que se encontraron ya que ambos tienen en común una gran cantidad de hojarasca para las hormigas, esto también demuestra la capacidad de adaptación de estos individuos al permanecer en áreas perturbadas o en constante erosión del suelo como lo son los monocultivos.

## **X. RECOMENDACIONES**

Se recomienda seguir realizando estudios a nivel molecular de individuos que se encuentren en sistemas agrícolas para tener información sobre la diversidad genética de estos individuos. De igual manera mantener la diversidad vegetal o realizar parcelas diversificadas que mantengan la diversidad biológica y sean benéficos para los organismos que se encuentren dentro de ellas

## XI. FUENTES DE CONSULTA

- Aguilar Rivera, N., Olvera Vargas, L. A., & Galindo Mendoza, G. (2013). Evaluación de aptitud de tierras al cultivo de caña de azúcar en la Huasteca potosina, México, por técnicas geomáticas. *Revista de Geografía Norte Grande*, (55), 141-156.
- Alonso, L. (2000). Ants as Indicators of Diversity, p. 80-88. In D. Agosti, J. Mayer, L. Alonso and T. Schultz (eds.). *Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian Institution press, London, 1215pp.
- Andersen, A.N. (1997). Using Ants as bioindicators: Multiscale Issues in Ant Community Ecology. *Conservation Ecology* [on line] 1(1): 8. Sitio Web: <http://www.consecol.org/vol1/iss1/art8/>.
- Barbera, N., Hanson, P., Longino, J. T., Carballo, M., Melo, E. D., & Hilje Quirós, L. (2004). Diversidad de especies de hormigas en un gradiente de cafetales orgánicos y convencionales.
- Bardgett, R., Yeates, G., Y Anderson, J. (2005). Patterns and determinants of soil biological diversity. In: *Biological Diversity and Function in Soil* (eds. R.D. Bardgett, M.B. Usher, and D.W. Hopkins), Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bignell, D., Constantino, R., Csuzdi, C., Karyanto, A., Konaté, S., Louzada, J., Susilo, F-X., Tondoh, J., Zanetti, R. (2012). Macrofauna. En: Moreira MS, JeroenHuisin E, Bignell D, editores. *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo*. Instituto Nacional de Ecología. pp. 91-92
- Bolton, B. (1995). *A new general catalogue of the ants of the world*. Harvard University Press.

- Brown, G., Moreno, A.G., Barois, I., Fragoso, C., Rojas, P., Hernández, B. y. Patrón, J.C. (2004). Soil macrofauna in SE Mexican Pastures and the effect of conversion from native to introduced pastures. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 103: 313-327. Doi: 10.1016/j.agee.2003.12.006
- Brussard, L., V. Behand- Pileter, D. Bignel, V. Brown, W. Didden, P. Folgrait, C. Fragoso, D. Freckman, V.S.R. Gupta, S.T. Hattori, D.L. Hawksworth, C. Klopatek, P. Lavallo, D. Malloch, J. Rusek, B. Söderström, J. Tiedje y R. Virginia. (1997). Biodiversiti and ecosystem functioning in soil. *Ambio*, 2;563-570.
- Cabrera, G. (2012). La macrofauna edáfica como indicador biológico del estado de conservación/perturbación del suelo. Resultados obtenidos en Cuba. *Pastos y Forrajes*, 35(4), 346-363.
- Cartas, C.A, (1993). Aspectos ecológicos de la formicofauna {Hymenoptera: Formicidae) del volcán san Martin Pajapan, Veracruz. Tesis Profesional. Facultad de Biología, Universidad Veracruzana. 78 pp.
- Carranza, C. A., & Ledesma, M. (2009). Bases para el manejo de sistemas silvopastoriles. In *Anales XIII Congreso Forestal Mundial. FAO* (pp. 18-23).
- Carrol, C.R. (1990). La interferencia entre áreas naturales y agroecosisemas. *Aroecoloy*, pp. 365-388
- Contreras, R. (2013). Generalidades sobre las hormigas: [Laguía2000.com;https://biologia.laguia2000.com/zoologia/generalidades-sobre-las-hormigas](https://biologia.laguia2000.com/zoologia/generalidades-sobre-las-hormigas)
- Cuezzo, F. (1998). Formicidae, 452-462 p. In J. Morrone y S. Coscarón (eds.). *Biodiversidad de artrópodos argentinos*. Ediciones Sur. Buenos Aires. Argentina. 594pp.
- Curry, j. p. (1987a). the invertebrate fauna of grassland and its influence on productivity. i. the composition of the fauna. *grass and forage science* 42, 103-120.

- Curry, J. P. (1987b). the invertebrate fauna of grassland and its influence on productivity. ii. factors affecting the abundance and composition of the fauna. *grass and forage science* 42, 197-212.
- Curry, J. P., y Good, J. A. (1992). soil faunal degradation and restoration. *advances in soil science* 17, 171-215.
- Díaz, J. P., Molano, C., & Gaviria, J. (2009). Diversidad genérica de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) en ambientes de bosque seco de los Montes de María, Sucre, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 1(2), 279-285
- Fernández F. (2003). *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá-, Colombia. XXVI + 398 p.
- Flatt, T. and Weisser, W.W. (2000). The effects of mutualistic ants on aphids life history traits. *Ecology*, 81: 3522-3529.
- Guzmán-Mendoza, R., Castaño-Meneses, G., & Herrera-Fuentes, M. D. C. (2010). Variación espacial y temporal de la diversidad de hormigas en el Jardín Botánico del valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. *Revista mexicana de biodiversidad*, 81(2), 427-435.
- Hölldobler, B. & E. O. Wilson. (1990). *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Kaspari, M. y Majer, J. (2000). Using ants to monitor environmental change, p. 89-98. In D. Agosti, J. Mayer, L. Alonso and T. Schultz (eds.). *Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian institution pres, London, 1215pp.

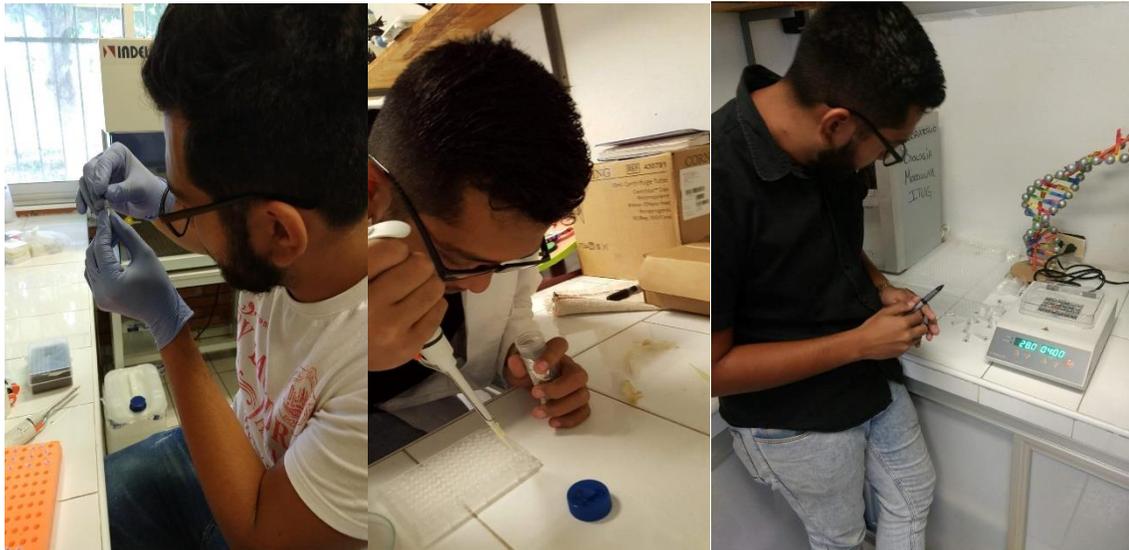
- Linden, D. R., Hendrix, P. F., Coleman, D. C., y Van Vilet, P. C. (1994). Faunal indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment. *ssa.special publication no. 35*, 91-106.
- Mackay, W. P., E. Mackay, J. P. Perez, L. I. Valdez y P. Vielma. (1985). Las hormigas del estado de Chihuahua, México: El género *Pogonomyrmex*. *Sociobiology*. 11:39-54.
- MacKay, W.P. & R.S. Anderson. (1991). New distributional records for the ant genus *Ponera* (Hymenoptera. Formicidae) in North America. *J.N.Y. Entomol. Soc.* 99:696-699
- Maschwitz, U. K. Koob & H. Schildknecht. (1970). Ein Beitrag zur Funktion der Metathoracaldrüse der Ameisen. *J. Insect Physiol.*, 16:387- 404.
- Mcnnelly J.A., & Scherr S.J. (2003). *Ecoagricultura: Estrategias para alimentar al mundo y salvar la biodiversidad salvaje*. Island press, Washington D.C.
- Murillo-Cuevas, F. D., J. Adame-García, H. Cabrera-Mireles y J. A. Fernández Viveros. (2019). Fauna y microflora edáfica asociada a diferentes usos de suelo. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (16): 23-33.
- Pekas, A., Tena, A., Aguilar, A. & García-Marí, F. (2011). Spatio-temporal patterns and interactions with honeydew-producing Hemiptera of ants in a Mediterranean citrus orchard. *Agricultural and Forest Entomology*, 13(1): 89–97.
- Quiroz, L. & J. Valenzuela. (1995). A comparison of ground ant communities in a tropical rainforest and adjacent grassland in los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. *Southwest. Entomol.*, 20:203-213
- Rojas Fernández, P. (2001). Las hormigas del suelo en México: diversidad, distribución e importancia (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (Es1).

- Saborío, M. F. C. (2016). Agroforestería y biodiversidad: la importancia de los sistemas agroforestales en la conservación de especies. *Biocenosis*, 30(1-2).
- Sánchez Díaz, G. (2018). Evaluación de la macrofauna del suelo en cuatro diferentes sistemas de uso, en el distrito las piedras, provincia de tambopata, departamento Madre de Dios.
- Vanegas, M. D. J. (2002). *Guía Técnica Cultivo del Limón Pérsico*. Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura (IICA).
- Villareal, H.; Alvarez, M.; Cordoba, F.; Fagua, G.; Gast, F.; Mendoza, H.; Ospina, M.; Umaña. (2006). Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, Bogotá, Colombia.
- Wilson, E. O. (1971). *The insects societies*. The Belknap press of Harvard University Press. pp. 548.

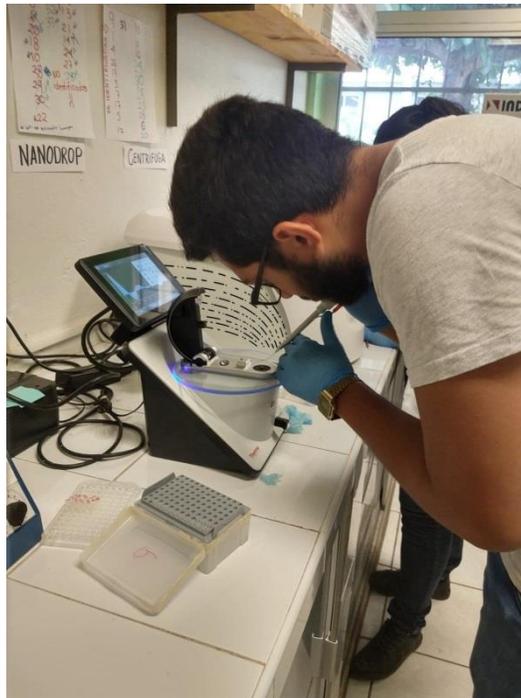
## ANEXOS



### Proceso de muestreo y colecta de hormigas



### Proceso de extracción de DNA



Lectura de calidad de DNA



Amplificación de muestras realizadas por técnica de pcr



Materiales y muestras para técnica de electroforesis



Equipo de trabajo de proyecto de hormigas