

## SOPAS DE DIVERSIDAD PARA EL ANÁLISIS Y MONITOREO DE ARTROPOFAUNA EN AMBIENTES ANTROPIZADOS

Javier Pérez-López<sup>1,3</sup>  
Valeria Vázquez-Barrios<sup>1,3</sup>  
Melania Vega<sup>1,3</sup>  
Pamela Rodríguez,<sup>2,3</sup>  
Denise Arroyo-Lambaer<sup>3</sup>  
Valeria Alavez<sup>3</sup>  
Ana Wegier<sup>3\*</sup>

- <sup>1</sup> Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- <sup>2</sup> Universidad Simón Bolívar.
- <sup>3</sup> Lab. Genética de la Conservación, Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- \* Autor para correspondencia: [awegier@st.ib.unam.mx](mailto:awegier@st.ib.unam.mx)

## Resumen

Las sopas de la diversidad son una herramienta novedosa que permite analizar gran cantidad de muestras de manera rápida. Partiendo de un buen diseño de muestreo se puede realizar el monitoreo a largo plazo de los procesos de antropización usando a la artropofauna como indicador en ambientes agrícolas, aunque se puede utilizar con muchos otros objetivos. Las comunidades de artrópodos tienen funciones importantes en los ecosistemas (ocupan el 90% de las especies). La fragmentación o los disturbios que puedan existir en su hábitat tienen consecuencias en sus interacciones tróficas y en sus funciones en el ecosistema (polinización, interacción presa-depredador y control biológico, descomposición y la relación planta-herbívoro). Describimos un conjunto de trampas pasivas y activas complementarias para obtener suficiente información que puede ser procesada en una sola muestra de “sopa de diversidad”, así como el protocolo para la extracción de DNA, secuenciación y análisis de los datos. Esperando que esto contribuya al monitoreo y mitigación de efectos antropogénicos.

## Introducción

En este capítulo se propone el uso de sopas de biodiversidad (*metabarcoding*) como una nueva estrategia para el monitoreo a largo plazo de organismos asociados al agroecosistema. Este método permite evaluar el impacto de los procesos de antropización en organismos sensibles a cambios mínimos en los recursos disponibles, condiciones microambientales o en las interacciones bióticas que sostienen (Begon *et al.*, 2006). Por lo anterior y por su alta diversidad taxonómica, alta tasa de mutación y adaptación favorecidas por un corto tiempo generacional, los artrópodos son considerados un buen modelo de estudio (Nair, 2007; Hendrickx *et al.*, 2007; Price *et al.*, 2011).

Dentro del agroecosistema podemos identificar efectos de la antropización (o domesticación) a nivel de paisaje (entendido como la suma de entidades físicas, ecológicas y geológicas que integran los patrones ecosistémicos [Naveh y Liberman, 2013]), en las plantas que se producen en un cultivo y en el tipo de manejo (Peña-Cortés *et al.*, 2006). El estudio integral de la comunidad de

artrópodos con los métodos tradicionales, desde la captura de organismos con técnicas pasivas o activas y su posterior identificación taxonómica, puede estar condicionado por la disponibilidad de taxónomos expertos para cada grupo, aunado a la dificultad que implica la identificación de especies crípticas y de organismos en estadios inmaduros. En comparación, el *metabarcoding* además de proporcionar información sobre la diversidad y composición de la comunidad de artrópodos, reduce el tiempo del análisis de datos y aporta información inaccesible por métodos tradicionales (Lewandowski *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2012).

En este sentido, los resultados permiten hacer un análisis integral, ya que es frecuente que la evaluación de los procesos de antropización se realicen de forma parcial y cualitativa porque difícilmente se consideran todos los factores (presencia de distintas especies y las interacciones en las que se involucran) que influyen en el comportamiento del sistema (Martínez-Dueñas, 2010). Sin embargo, no es el único objetivo que puede emplearse a través del uso de *metabarcoding*, pues es usado para identificar tasas de parasitismo de *Thaumetopoea processionea* (Kitson *et al.*, 2015), conocer la dieta de *Sialia mexicana* y murciélagos insectívoros (Jedlicka *et al.*, 2017) y definir linajes evolutivos y sub-linajes (Zeale *et al.*, 2011; Techer *et al.*, 2017) entre otros ejemplos.

### *Influencia de los procesos de antropización (domesticación de las plantas y el paisaje) sobre la comunidad de artrópodos*

#### Domesticación del paisaje

La antropización o domesticación del paisaje es un proceso continuo (Clement, 2014). En los sistemas agrícolas, el paisaje se modifica al remover la cobertura vegetal original para introducir especies de interés y cambiar su abundancia (Norton *et al.*, 2013). El resultado de lo anterior es la homogeneización de éste, en consecuencia, se reduce el nicho ecológico de algunas especies y favorece la dominancia de otras (Herzon y O'Hara, 2007).

El manejo agrícola en los cultivos convencionales engloba la fertilización del suelo, la eliminación de malezas y plagas, además de la implementación de maquinaria y desarrollos biotecnológicos como los organismos genéticamente modificados (OGM); factores que contribuyen al cambio de la composición y la diversidad de la comunidad de artrópodos asociados (Staller, 2006; Armbrecht *et al.*, 2008). Esto se debe a que

se alteran las interacciones bióticas, la disponibilidad de biomasa y las condiciones microclimáticas (Sosa y Almada, 2014). Para ejemplificar lo anterior podemos citar el caso del maíz genéticamente modificado (GM) y su efecto sobre las redes tróficas de los coleópteros. Al comparar el número de interacciones formadas alrededor de maíz GM y no GM se encontró que la segunda tiene mayor número de conexiones y solidez, a consecuencia de la alta conectividad entre los nodos (Pálinkás *et al.*, 2017).

### Domesticación de las plantas

Durante el proceso de domesticación en un cultivo se seleccionan rasgos morfológicos, fisiológicos y genéticos dependiendo de los requerimientos humanos, este conjunto de cambios se conoce como síndrome de domesticación. Por ejemplo, la sincronía en la maduración de las plantas, incremento o decremento de metabolitos secundarios, latencia de las semillas, modificaciones anatómicas, arquitectura vegetal y ciclos de vida (Diamond, 2002; Gepts, 2010; Chen *et al.*, 2015a).

Dado que ciertas modificaciones anatómicas y fisiológicas están involucradas con la interacción directa con los herbívoros, si estos disminuyen debido al proceso de domesticación, se favorece el tamaño poblacional de aquellas especies que encuentran más atractivas las plantas modificadas. Además, si disminuyen las barreras físicas que protegen la planta de ser devorada o parasitada (tricomas, espinas) y por otro lado crece la producción de metabolitos secundarios, aumentará el éxito reproductivo de los artrópodos en función del número de puestas por unidad de tiempo (Bautista *et al.*, 2012).

Asimismo, se ha observado que la selección artificial tiende a simplificar la arquitectura vegetal, al reducir el número de ramas en cultivos anuales (Doust, 2007), esto modifica la disponibilidad de nichos, reduciendo la riqueza y cambiando la composición de la artropofauna asociada (Chen *et al.*, 2015b). Whitham (1981) explica que cambios en el tamaño de las hojas y ramas de árboles del género *Populus* afecta dramáticamente el comportamiento de asentamiento y el éxito reproductivo de los áfidos *Pemphigus* (Prokopy, 1983).

### Descripción y complementariedad de técnicas de muestreo de artrópodos

La caracterización del ensamblaje de la comunidad de artrópodos implica la aplicación de diversas técnicas dada la alta diversidad de especies y hábitats en donde se distribuyen. Las técnicas de colecta mayormente empleadas se clasifican en activas

o directas y pasivas o indirectas (figura 1) (Steyskal *et al.*, 1986). Las colectas activas se refieren a la búsqueda directa de los organismos en su ambiente, distribución o hábitat, por lo que requieren la participación activa del colector en todo momento (Wilson *et al.*, 2008), asimismo se debe disponer de información básica sobre los grupos a coleccionar, como su ciclo de vida, hábitos alimenticios y/o distribución geográfica. Por otro lado, las colectas pasivas consisten en la captura de los organismos aplicando atrayentes visuales (Wang *et al.*, 2017), químicos (Weber *et al.*, 2005; Broughton y Harrison, 2012) u hormonales (Suckling *et al.*, 2005; El-Sayed *et al.*, 2011).

#### Técnicas de colecta de artrópodos

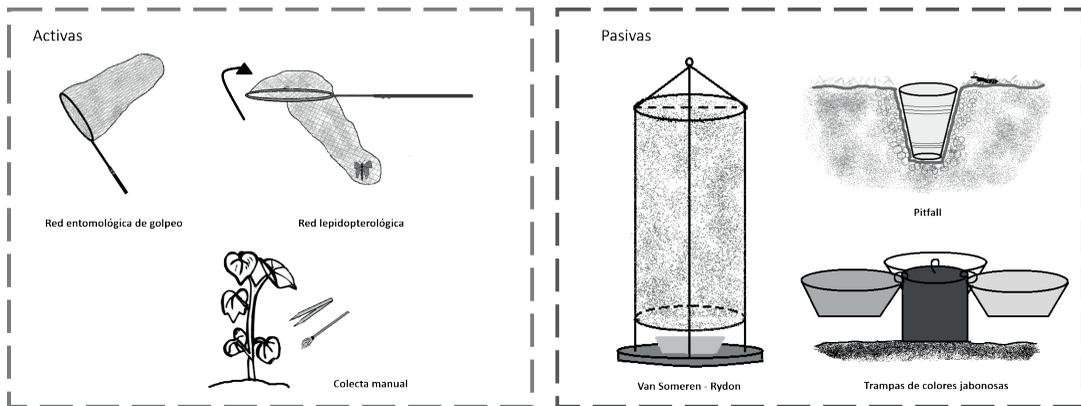


Figura 1. Principales técnicas de muestreo para artrópodos: activas 1) Red entomológica de golpeo; 2) Red lepidopterológica; 3) colecta manuales y pasivas; 4) trampa Van Someren-Rydon; 5) Pitfall (de caída) y 6) trampas de colores jabonosas, los colores que se emplean son amarillo, azul y blanco.

Tanto las técnicas de colecta activas como las pasivas han sido evaluadas en diferentes estudios que sugieren aplicar más de una de estas técnicas debido a su complementariedad en la captura de ejemplares (Wilson *et al.*, 2008; Devigne y De Biseau, 2014; Gullan y Cranston, 2014; Moreira *et al.*, 2016). La complementariedad se define

como la similitud de dos o más muestras con base en las especies, géneros o familias de artrópodos exclusivas de cada una, con relación al total de ejemplares capturados (Samways *et al.*, 2010). En la actualidad hay gran variedad de diseños de trampas, además de una nutrida literatura sobre su uso y desarrollo (Murray y Mantle, 2010). A continuación se describen las principales técnicas de muestreo de artrópodos asociados a agroecosistemas, seleccionadas por su simplicidad y eficacia:

#### a) *Técnicas de colecta activa*

Red entomológica de golpeo. Se utiliza principalmente para capturar organismos asociados a la vegetación (Evans *et al.*, 1983). Se recomiendan redes de diámetro mayor para los insectos grandes y de vuelo rápido. La tasa de captura depende de las habilidades del colector y es una práctica típicamente diurna, limitando de esta manera la captura de organismos nocturnos (Bartholomew y Prowell, 2005; Roulston *et al.*, 2007).

Red lepidopterológica. Técnica dirigida principalmente a mariposas diurnas, razón por la cual es considerada como complementaria a la trampa Van Someren-Rydon. El colector debe mover con la mayor velocidad posible la red hacia el insecto cuando esté posado sobre la vegetación, flores, frutos o en vuelo, inmediatamente después es necesario girar la red para evitar su escape (Gibb y Oseto, 2006).

Colecta manual. Técnica dirigida a los artrópodos de un estadio del ciclo de vida particular (huevos, pupas o larvas) asociados a estructuras específicas (*e.g.* tallos, hojas, flores y frutos). La colecta se realiza con pinzas de relojero y pinceles. Es una técnica complementaria a la red de golpeo, puesto que se capturan artrópodos que están fuertemente adheridos, que se ocultan, desarrollan o refugian dentro de la planta (Wilson y Room, 1982).

#### b) *Técnicas de colecta pasiva*

Trampas Van Someren-Rydon. Técnica dirigida principalmente a mariposas polinizadoras y frugívoras atraídas por el cebo (mezcla fermentada de plátano macho, piña, cerveza y ron). Éste debe prepararse con al menos una semana de anticipación para asegurar la fermentación del compuesto y obtener mejores resultados (Shuey, 1997).

Trampas Pitfall. Recipientes sin tapa enterrados a nivel del suelo que contienen alcohol al 70% a un tercio de su capacidad y que en ocasiones se emplea atún, excre-

mento o miel como atractivos. Técnica cuyo principio se basa en interrumpir la locomoción de los organismos deambulatorios que al caer dentro de la trampa no pueden escapar (Brown y Matthews, 2016). A pesar de que esta técnica permite la colecta permanente de artrópodos, es necesario realizar revisiones periódicas a los contenedores (cada 24 o 48 horas), ya que el contacto directo con el ambiente tiende a evaporar el alcohol y/o sufrir inundaciones durante la temporada de lluvia, facilitando de esta manera la descomposición de los ejemplares (Brown y Matthews, 2016).

Trampas de colores jabonosas. Recipientes de colores brillantes (*i.e.* amarillo, blanco y azul) cuyo contenido es una solución de agua y jabón líquido (75/25). Técnica que se fundamenta en la respuesta al color de artrópodos polinizadores o visitantes florales (Heneberg y Bogusch, 2014). Cuando los insectos se posan sobre los recipientes de colores, la solución acuosa rompe la tensión superficial provocando el hundimiento de los mismos. El uso de trampas jabonosas reduce el sesgo del muestreo asociado con las habilidades de observación y redeo de los colectores (Roulston *et al.*, 2007).

Los ejemplares colectados con redes lepidopterológicas y trampas Van Someren-Rydon se sacrifican en cámaras letales con acetato de etilo o por presión digital en el tórax para posteriormente ser almacenados en sobres de papel glassine (Andrade *et al.*, 2013). Mientras que los organismos de las trampas de colores, pitfall, redeo y colecta manual se preservan en una solución alcohol al 70%.

Las trampas antes descritas suelen emplearse para caracterizar comunidades de artrópodos en agroecosistemas, sin embargo, otras técnicas pueden utilizarse en función del ambiente que se busca estudiar. Por ejemplo, los embudos de Berlese están diseñados para la captura de microartrópodos edáficos (Bano y Roy, 2016; Sandler *et al.*, 2010); con las trampas de luz es posible colectar organismos nocturnos con fototropismo positivo (Sharma *et al.*, 2017); mientras que con los aspiradores entomológicos se captura manualmente micro y meso artrópodos asociados a tallos y hojas (Gibb y Oseto, 2006).

### Sopas de diversidad y la taxonomía molecular

La identificación taxonómica de los individuos colectados mediante las técnicas anteriormente descritas puede resultar tardado a consecuencia de la abundancia de ejemplares colectados y las dificultades que representa clasificar individuos inmaduros, mutilados o crípticos. Para resolver estos conflictos, las herramientas moleculares pueden aportar mayor precisión en la identificación de los organismos, suelen ser

más rápidas y con el avance tecnológico se ha logrado reducir los costos económicos (Yu *et al.*, 2012). Además, permiten obtener la identificación independientemente de la posibilidad de contactar a los taxónomos expertos en cada grupo ya que el método incluye la comparación de los resultados obtenidos con bases de datos genómicos que se han formado a través de varios estudios; un ejemplo de estas bases de datos se encuentra contenida en el National Center for Biotechnology (Brandon-Mong *et al.*, 2015; Arribas *et al.*, 2016).

Con el fin de hacer más efectivo el análisis molecular y homogeneizar los métodos y calidad de datos surge el proyecto *DNA barcoding* (<http://www.barcodeoflife.org/>), con el objetivo de estandarizar protocolos internacionales para identificar la mayor cantidad de especies del mundo. En el caso de las que pertenecen al reino animal se emplea como marcador molecular el *citocromo c oxidasa I*, para las plantas se utilizan *matK*, *rbcL*, *rpoC1*, *rpoB4R*, *atpF-atpH*, *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, para los hongos se ocupan principalmente segmentos ITS (Ratnasingam y Hebert, 2007; CBOL Plant Working Group, 2009; Seifert, 2009) y para bacterias se emplean 16S, los grupos de rRNA-I, -VII, -IX, -XII, -XV y -XX (Lebonah *et al.*, 2014). La secuencia obtenida del individuo colectado se ingresa a la base de datos que fue específicamente creada para este proyecto, BOLD Systems (<http://www.barcodinglife.com/>) que además de contener la información genética se complementa con la información del espécimen (colección de procedencia, datos de colecta, fotografías, mapa con puntos de colecta) y el protocolo de laboratorio.

A pesar de estas facilidades que proporciona el *DNA barcoding*, éste también tiene limitantes si lo que se busca son los análisis de diversidad biológica, por lo que se desarrollaron las técnicas de *DNA metabarcoding* que permiten identificar múltiples especies a partir de una sola muestra que contenga a los organismos enteros, partes de los mismos o muestras ambientales que contengan ADN (suelo, agua, heces). Al igual que en el *DNA barcoding*, las secuencias resultantes se comparan con una base de referencia y se siguen métodos similares de extracción con la diferencia de que hay una reducción en el número de reacciones de PCR empleadas (Taberlet *et al.*, 2012). El conjunto de secuencias de ADN que se obtienen puede ser analizado como una aproximación de la diversidad colectada en la muestra (Coissac *et al.*, 2012), además, es posible calcular diversidad alfa y beta (Yu *et al.*, 2012).

## Método

El método general para emplear la sopa de diversidad como herramienta para el monitoreo o evaluación de ambientes antropizados se describe en la figura 2. Sin embargo, se debe considerar: 1) que la técnica y materiales para moler concuerden con la cantidad de muestra final, recordando que todos los ejemplares colectados conformarán una sola colección de muestras provenientes de técnicas de captura complementarias que representarán en su conjunto a la comunidad de artrópodos; 2) los reactivos empleados en la extracción deben ser suficientes para cubrir la biomasa total de todos los insectos. En la tabla 1 se describe un protocolo exitoso que supone una muestra compuesta del contenido de varias trampas activas y pasivas (aproximadamente por 500 artrópodos), y 3) al realizar la identificación molecular es posible que los organismos colectados no se encuentren en las bases de referencia internacionales, por lo que es necesario construir una base de datos propia a partir de la extracción individual de cada morfoespecie colectada en cada muestra; de lo contrario se trabajará a nivel de OTU (unidades taxonómicas operativas, por sus siglas en inglés) y con los niveles taxonómicos superiores.

Para iniciar la extracción de ADN de las sopas de diversidad es necesario colocar el contenido de las diversas trampas de la misma unidad experimental en el mismo contenedor y calcular el número de artrópodos, así como su peso. El protocolo sugerido fue estandarizado para muestras con 500 artrópodos de peso promedio de 200 mg, por lo que es posible que en caso de contar con muestras de mayor volumen o peso se debe fragmentar en partes similares para poder realizar varias extracciones de ADN simultáneas. Después de realizar las extracciones de ADN simultáneas (sólo en casos de muestras grandes), los fragmentos se almacenan por separado. Para secuenciar la muestra se debe homogenizar el ADN en los tubos de los fragmentos y se colocan 50 microlitros de cada fragmento en un tubo nuevo, se homogeniza nuevamente antes de preparar la muestra con los requerimientos del proveedor y sistema elegido para la secuenciación.

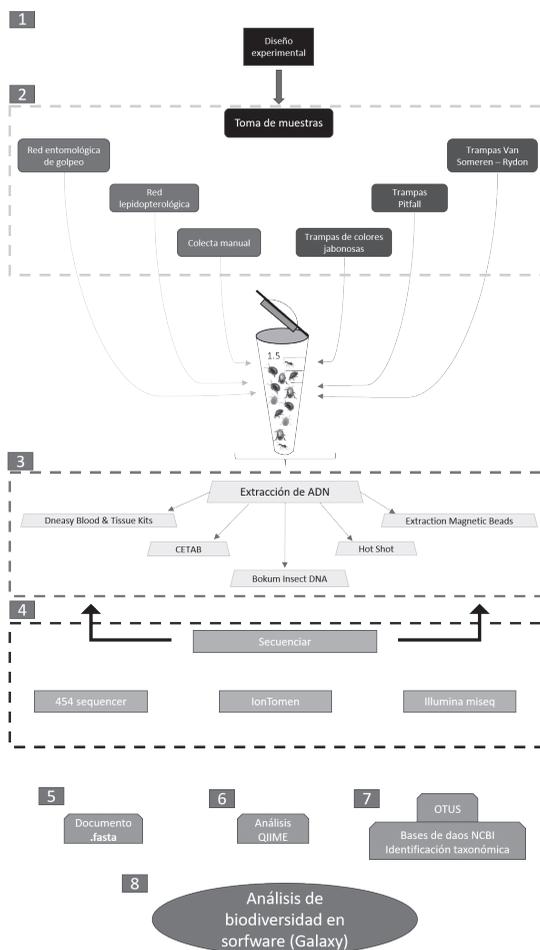


Figura 2. Método para realizar un monitoreo a largo plazo de la comunidad de artrópodos asociados a agroecosistemas por medio de *metabarcoding*. 1) Diseño de recolecta de muestras; 2) todos los artrópodos colectados se depositan en una sola muestra que es molida con nitrógeno líquido; 3) se extrae el ADN de la muestra; 4) se secuenciar el ADN; 5) Se obtiene un documento *.fasta*; 6) se analiza con el software QIIME; 7) se obtienen los OTUS y se realiza la identificación taxonómica con ayuda de las bases de datos de NCBI; 8) construcción de curvas de rarefacción para conocer si el esfuerzo de muestreo fue el adecuado; 9) se realizan los análisis de diversidad (usualmente en R con el paquete *vegan*, y 10) cuando el monitoreo es sistemático se repite el método por lo menos una vez al año para observar los cambios de la comunidad.

Tabla 1. Protocolo para la extracción de ADN de sopas de la diversidad (500 artrópodos aproximadamente por muestra).

---

Procotolo

---

- I. Pulverizar la muestra en un mortero estéril de 500 ml con nitrógeno líquido y transferir a un tubo de 15 ml.
- II. Agregar 3750µl de buffer CTAB y 7.5µl de mercaptoetanol a cada tubo.
  - III. Agregar 20µl de proteinasa K e incubar 1 hora a 65° C.
  - IV. Agregar un volumen de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), mezclar con vortex y centrifugar a 5000 rpm por 15 minutos.
    - V. Recuperar la fase acuosa y transferir a un tubo nuevo.
    - VI. Agregar dos volúmenes de isopropanol frío e incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
      - VII. Centrifugar a 5000 rpm por 15 minutos.
  - VIII. Desechar el sobrenadante y lavar el pellet 2 veces con 1ml de etanol al 70%.
    - IX. Resuspender en 250µl de ddH<sub>2</sub>O y almacenar a -20 C.

---

## Discusión

La estrategia de muestreo es crucial para el monitoreo de los cambios en la diversidad a gran escala temporal y espacial. El *metabarcoding* proporciona gran cantidad de datos necesarios para medir las respuestas a la antropización en escala local y de paisaje. Una ventaja de esta herramienta es que los costos de *metabarcoding* incrementan por muestra, mientras que los de la clasificación taxonómica estándar aumentan por espécimen colectado; de manera que los censos tradicionalmente se li-

mitan a tasas indicadores. En este sentido, el *metabarcoding* busca alejarse de los organismos indicadores y persigue una medición directa de la diversidad total. Por ello, es un método capaz de monitorear de forma rápida, confiable, económica y verificable por un tercero. Con base en los resultados que brinda el *metabarcoding*, es posible realizar curvas de rarefacción con lo que podemos conocer si el diseño del muestreo fue el indicado, en cuanto al esfuerzo realizado.

Es importante mencionar que el *metabarcoding* es un método nuevo que se desarrolla rápidamente, e innegablemente está sujeto a errores y pérdida de información. Por lo que la mayoría de las investigaciones en torno al *metabarcoding* han sido para comparar la técnica contra censos de biodiversidad estándares, además de desarrollar metodologías más eficientes y confiables que aprovechen los avances tecnológicos en la extracción y análisis de secuencias de ADN (Ji *et al.*, 2013). Otro enfoque de estas investigaciones es idear nuevas formas de extraer ADN de muestras difíciles de procesar (agua, suelo, polen, heces, organismos incompletos, parásitos). A la fecha hemos revisado cuatro estudios que lo utilizan como estrategia para el monitoreo de la diversidad, mientras que tres estudios se enfocan en el desarrollo de nuevas estrategias de extracción de ADN y análisis estadísticos.

Finalmente es preciso mencionar que el uso de este método es sumamente flexible ante los objetivos de nuestras investigaciones, por ejemplo, conocer los cambios espaciotemporales de comunidades (artrópodos, hongos, bacterias, ADN ambiental) entre diversos sitios y poder contribuir en el desarrollo de técnicas y metodologías para la conservación de la biodiversidad y de los suelos en los agroecosistemas.

## Conclusión

Las sopas de la diversidad son un método novedoso del que aún hay pocas investigaciones publicadas, la mayoría de ellas son sobre la técnica. En nuestra experiencia ofrece buenos resultados y es una gran alternativa para la rápida generación de información de línea base para el monitoreo a largo plazo de los procesos en ambientes antropizados y en general para el estudio de la biodiversidad. Sus alcances dependen de los diseños experimentales en los que se integre su uso.

## Agradecimientos

Agradecemos el apoyo financiero a los proyectos PAPIIT IV200117, CONACYT-PN247672 y CONABIO “Programa de conservación de las poblaciones silvestres del género *Gossypium* en México: tercera etapa”. Así como al Posgrado en Ciencias Biológicas y las becas CONACYT por contribuir en la formación de J P-L (609346), V V-B (47771) y MV (435586). Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología del Instituto de Biología, con el apoyo técnico de la MC Andrea Jiménez Marín.

## Literatura citada

- Andrade-C., M. G., Henao Bañol, E. R., Triviño, P. (2013). Técnicas y procesamiento para la recolección, preservación y montaje de Mariposas en estudios de biodiversidad y conservación. (Lepidoptera: Hesperioidea-Papilionoidea). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*. 37 (144), 311-325.
- Armbrecht, I., Chacón, P., Gallego, M. C. y Rivera, L. (2008). Efecto de la tecnificación del cultivo de café sobre las hormigas cazadoras de Risaralda. En Jiménez, E., Fernández, F., Arias, T. M. y Lozano-Zambrano, F. H. (Eds.), *Sistemática, biogeografía y conservación de las hormigas cazadoras de Colombia* (pp. 479-495). Bogotá D. C. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- Arribas, P., Andújar, C., Hopkins, K., Shepherd, M. y Vogler, A. P. (2016). Metabarcoding and mitochondrial metagenomics of endogean arthropods to unveil the mesofauna of the soil. *Methods in Ecology and Evolution*, 7, 1071-1081.
- Bano, R. y Roy, S. (2016). Extraction of Soil Microarthropods: A low cost Berlese-Tullgren funnels extractor. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 2, 14-17.
- Bartholomew, C. S. y Prowell, D. (2005). Pan compared to malaise trapping for bees (Hymenoptera: Apoidea) in a longleaf pine savanna. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 78, 390-392.
- Bautista, A., Parra, F. y Espinosa-García, F. (2012). Efectos de la domesticación de plantas en la diversidad fitoquímica. En Rojas, J. y Malo, E. (Eds.), *Temas selectos en ecología química de insectos* (pp. 253-267). El Colegio de la Frontera Sur, México.
- Begon, M., Townsend, C. R. y Harper, J. L. (2006). *Ecology: From individuals to ecosystems*. Malden, MA.: Blackwell Publishing. 750 pp.
- Brandon-Mong, G. J., Gan, H. M., Sing, K. W., Lee, P. S., Lim, P. E. y Wilson, J. J. (2015). DNA metabarcoding of insects and allies: an evaluation of primers and pipelines. *Bulletin of Entomological Research*, 105, 717-727.
- Broughton, S. y Harrison, J. (2012). Evaluation of monitoring methods for thrips and the effect of trap colour and semiochemicals on sticky trap capture of thrips (Thysanoptera) and beneficial insects (Syrphidae, Hemerobiidae) in deciduous fruit trees in Western Australia. *Crop Protection*, 42, 156-163.

- Brown, G. R. y Matthews, I. M. (2016). A review of extensive variation in the design of pitfall traps and a proposal for a standard pitfall trap design for monitoring ground-active arthropod biodiversity. *Ecology and Evolution*, 6, 3953-3964.
- Clement, C. R. (2014). Landscape domestication and archaeology. En C. E. Smith (Ed.), *Encyclopedia of global archaeology* (pp. 4388-4394). Nueva York: Springer New York.
- Coissac, E., Riaz, T. y Puillandre, N. (2012). Bioinformatic challenges for DNA metabarcoding of plants and animals. *Molecular Ecology*, 21, 1834-1847.
- Chen, Y. H., Gols, R. y Benrey, B. (2015a). Crop domestication and its impact on naturally selected trophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 60, 35-58.
- Chen, Y. H., Gols, R., Stratton, C. A., Brevik, K. A. y Benrey, B. (2015b). Complex tritrophic interactions in response to crop domestication: predictions from the wild. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 157, 40-59.
- Devigne, C. y De Biseau, J. (2014). Urban ecology: comparison of the effectiveness of five traps commonly used to study the biodiversity of flying insects. *Biodiversity Journal*, 5, 165-174.
- Diamond, J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, 418, 700-707.
- Doust, A. (2007). Architectural evolution and its implications for domestication in grasses. *Annals of Botany*, 100, 941-950.
- El-Sayed, A. M., Mitchell, V. J., Manning, L.-A. M. y Suckling, D. M. (2011). New sex pheromone blend for the Lightbrown apple moth, *Epiphyas postvittana*. *Journal of Chemical Ecology*, 37, 640.
- Evans E. W., Rogers, R. A. y Opfermann, D. J. (1983). Sampling grasshoppers (*Orthoptera: Acrididae*) on burned and unburned tallgrass prairie: night trapping vs. sweeping. *Environmental Entomology*, 12, 1449-1454.
- Gepts, P. (2010). Crop Domestication as a Long-Term Selection Experiment. *Plant Breeding Reviews*, 24, 1-44.
- Gibb, T. J. y Oseto, C. Y. (2006). *Arthropod collection and identification-Laboratory and field techniques*. Academic Press, Elsevier. 311 pp.
- Group, C. P. W., Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., Bank, M. van der, Chase, M. W., Cowan, R. S., Erickson, D. L., Fazekas, A. J., Graham, S. W., James, K. E., Kim, K.-J., Kress, W. J., Schneider, H., AlphenStahl, J. van, Barrett, S. C. H., Berg, C. van den, Bogarin, D., Burgess, K. S.,

- Cameron, K. M., Carine, M., Chacón, J., Clark, A., Clarkson, J. J., Conrad, F., Devey, D. S., Ford, C. S., Hedderson, T. A. J., Hollingsworth, M. L., Husband, B. C., Kelly, L. J., Kesanakurti, P. R., Kim, J. S., Kim, Y.-D., Lahaye, R., Lee, H.-L., Long, D. G., Madriñán, S., Maurin, O., Meusnier, I., Newmaster, S. G., Park, C.-W., Percy, D. M., Petersen, G., Richardson, J. E., Salazar, G. A., Savolainen, V. Seberg, O., Wilkinson, M. J., Yi D.-K. y Little, D. P. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*, 12794-12797.
- Gols, R., Bullock, J. M., Dicke, M., Bukovinszky, T. y Harvey, J. A. (2011). Smelling the wood from the trees: non-linear parasitoid responses to volatile attractants produced by wild and cultivated cabbage. *Journal of Chemical Ecology*, *37*, 795.
- Gouinguéné, S., Degen, T. y T. Turlings, C. J. (2001). Variability in herbivore-induced odour emissions among maize cultivars and their wild ancestors (teosinte). *Chemoecology*, *11*, 9-16.
- Gullan, P. J. y Cranston, P. S. (2014). *The insects: an outline of entomology*. Londres: Chapman & Hall. 475 pp.
- Hamer, K. C., Hill, J. K., Benedick, S., Mustaffa, N., Chey, V. K. y Maryati, M. (2005). Diversity and ecology of carrion- and fruit-feeding butterflies in Bornean rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, *22*, 25-33.
- Hendrickx, F., Maelfait, J.-P., Wingerden, W. van, Schweiger, O., Speelmans, M., Aviron, S., Augenstein, I., Billeter, R., Bailey, D., Bukacek, R., Burel, F., Diekötter, T. I. M., Dirksen, J., Herzog, F., Liira, J., Roubalova, M., Vandomme, V. y Bugter, R. O. B. (2007). How landscape structure, land-use intensity and habitat diversity affect components of total arthropod diversity in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology*, *44*, 340-351.
- Heneberg, P., y Bogusch, P. (2014). To enrich or not to enrich? Are there any benefits of using multiple colors of pan traps when sampling aculeate Hymenoptera? *Journal of Insect Conservation*, *18*, 1123-1136.
- Herzon, I. y O'Hara, R. B. (2007). Effects of landscape complexity on farmland birds in the Baltic States. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *118*, 297-306.
- Jedlicka, J. A., Vo, A.-T. E. y Almeida, R. P. P. (2016). Molecular scatology and high-throughput sequencing reveal predominately herbivorous insects in the diets of adult and nestling Western Bluebirds (*Sialia mexicana*) in California vineyards. *The Auk*, *134*, 116-127.

- Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S. M., Edwards, D. P., Tang, Y., Nakamura, A., Kitching, R., Dolman, P. M., Woodcock, P., Edwards, F. A., Larsen, T. H., Hsu, W. W., Benedick, S., Hamer, K. C., Wilcove, D. S., Bruce, C., Wang, X., Levi, T., Lott, M., Emerson, B. C. e Yu, D. W. (2013). Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecology Letters*, pp. 1245-1257.
- Kitson, J. J. N., Hahn, C., Sands, R. J., Straw, N. A., Evans, D. M. y Lunt, D. H. (2015). Nested metabarcode tagging: a robust tool for studying species interactions in ecology and evolution. *BIOR*, XIV.
- Lebonah, D., Dileep, A., Chandrasekhar, K., Sreevani, S., Sreedevi, B., y Kumari, P. (2014). DNA barcoding on bacteria: a review. *Advances in Biology*, 2014, 1-9.
- Lewandowski, A. S., Noss, R. F. y Parsons, D. R. (2010). The effectiveness of surrogate taxa for the representation of biodiversity. *Conservation Biology*, 24, 1367-1377.
- Martínez-Dueñas, W. (2010). INRA-Índice integrado relativo de antropización: propuesta técnica-conceptual y aplicación. *Rev. IntropIca*, 5, 45-54.
- Moreira, E. F., Santos, R. L. d. S., Penna, U. L. Ángel-Coca, C., Oliveira, F. F. de y Viana, B. F. (2016). Are pan traps colors complementary to sample community of potential pollinator insects? *Journal of Insect Conservation*, 20, 583-596.
- Murray, S. U. y Mantle, B. (2010). *Methods for collecting, preserving and studying insects and other terrestrial arthropods*, 83 pp.
- Nair, K. (2007). *Tropical forest insects pests: ecology, impact, and management*. Cambridge: Cambridge University Press, 404 pp.
- Naveh, Z. y Lieberman, A. S. (2013). Landscape ecology: theory and application. *Springer Science & Business Media*, 3-9 pp.
- Norton, D. A., Reid, N. y Young, L. (2013). Ultimate drivers of native biodiversity change in agricultural systems. *F1000Research*, 2, 214.
- Obermaier, E., Heisswolf, A., Poethke, H. J., Randlkofer, B. y Meiners, T. (2008). Plant architecture and vegetation structure: two ways for insect herbivores to escape parasitism. *European Journal of Entomology*, 105, 233-240.
- Pálinkás, Z., Kiss, J., Zalai, M., Szénási, Á., Dorner, Z., North, S., Woodward, G. y Balog, A. (2017). Effects of genetically modified maize events expressing Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F, and CP4 EPSPS proteins on arthropod complex food webs. *Ecology and Evolution*, 7, 2286-2293.
- Peña-Cortés, F., Gutiérrez, P., Rebolledo, G., Escalona, M., Hauenstein, E., Bertrán, C., Schlatter, R. y Tapia, J. (2006). Determinación del nivel de antropización de hume-

- dales como criterio para la planificación ecológica de la cuenca del lago Budi, IX Región de La Araucanía, Chile. *Revista de Geografía Norte Grande*, vol. 2, 75-91.
- Price, P., Denno, R., Eubanks, M., Finke, D. y Kaplan, I. (2011). *Insect ecology: behavior, populations and communities*. Cambridge University Press. U.K. 801 pp.
- Prokopy, R. J. y Owens, E. D. (1983). Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 28, 337-364.
- Ratnasingham, S. y Hebert, P. D. N. (2007). Bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355-364.
- Roulston, T. H., Smith, S. A. y Brewster, A. L. (2007). A comparison of pan trap and intensive net sampling techniques for documenting a bee (Hymenoptera: Apiformes) fauna. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 80, 179-181.
- Samways, M., McGeoch, M. A. y New, T. (2010). *Insect Conservation: A Handbook of Approaches and Methods*. Oxford: Oxford University Press. 439 pp.
- Sandler, R. V., Falco, L. B., Ciocco, C. di, Luca, R. de y Coviella, C. E. (2010). Eficiencia del embudo Berlese-Tullgren para extracción de artrópodos edáficos en suelos argiudoles típicos de la provincia de Buenos Aires. *Ciencia del Suelo*, 28, 1-7.
- Seifert, K. A. (2009). Progress towards DNA barcoding of fungi. *Molecular Ecology Resources*, 9, 83-89.
- Sharma, A. K., Mandloi, R. y Pachori, R. (2017). Study on biodiversity of phototactic harmful insect fauna collected in light trap in chickpea (*Cicer arietinum* Linn.) ecosystem. *International Journal of Agriculture Sciences*, 9, 4037-4040.
- Shuey, J. A. (1997). An optimized portable bait trap for quantitative sampling of butterflies. *Tropical Lepidoptera*, 8, 1-4.
- Sosa, M. A. y Almada, M. S. (2014). Diversity of arthropods communities in transgenic cotton varieties in Santa Fe province, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 113, 147-156
- Staller, J. E. (2006). La domesticación de paisajes: ¿Cuáles son los componentes primarios del Formativo? Estudios Atacameños. *Arqueología y Antropología Surandinas*, 43-57.
- Steyskal, G. C., Murphy, W. L. y Hoover, E. M. (1986). *Insects and mites: techniques for collection and preservation*. U. S. Department of agriculture, miscellaneous publication no. 1443 pp.
- Suckling, D. M., Gibb, A. R., Burnip, G. M., Snelling, C., Ruitter, J. de, Langford, G. y El-Sayed, A. M. (2005). Optimization of pheromone lure and trap characteristics

- for currant clearwing, *Synanthedon tipuliformis*. *Journal of Chemical Ecology*, *31*, 393-406.
- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C. y Willerslev, E. (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, *21*, 2045-2050.
- Techer, M. A., Clémencet, J., Simiand, C., Preaduth, S., Azali, H. A., Reynaud, B. y Hélène, D. (2017). Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands. *BMC Genetics*, *18*, 53.
- Wang, M., Lu, X., Ding, S., Ren, J., Bian, Z. y Xu, Z. (2017). Pollinator diversity in different habitats of the agricultural landscape in the middle and lower reaches of the Yellow River based on the three-color pan trap method. *Acta Ecologica Sinica*, *37*, 148-155.
- Weber, D. C., Robbins, P. S. y Averill, A. L. (2005). *Hoplia equina* (Coleoptera: Scarabaeidae) and Nontarget Capture Using 2-Tetradecanone-Baited Traps. *Environmental Entomology*, *34*, 158-163.
- Whitham, T. G. (1981). Individual trees as heterogeneous environments: adaptation to herbivory or epigenetic noise? En Denno, R. F. y H. Dingle (Eds.), *Insect and life history patterns: habitat and geographic variation* (pp. 9-27). Nueva York: Springer-Verlag,
- Wilson, J. S., Griswold, T. y Messinger, O. J. (2008). Sampling bee communities (Hymenoptera: Apiformes) in a desert landscape: are pan traps sufficient? *Journal of the Kansas Entomological Society*, *81*, 288-300.
- Wilson, L. T. y Room, P. M. (1982). The relative efficiency and reliability of three methods for sampling arthropods in australian cotton fields. *Australian Journal of Entomology*, *21*, 175-181.
- Yu, D. W., Ji, Y., Emerson, B. C., Wang, X., Ye, C., Yang, C. y Ding, Z. (2012). Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, *3*, 613-623.
- Zeale, M. R. K., Butlin, R. K., Barker, G. L. A., Lees, D. C. y Jones, G. (2011). Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. *Molecular Ecology Resources*, *11*, 236-244.

