



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**DESARROLLO DE HERRAMIENTAS MOLECULARES
PARA LA IDENTIFICACIÓN DIAGNÓSTICA DE
MICROARTRÓPODOS Y NEMÁTODOS
DEL SUELO DE PUEBLA Y VERACRUZ, MÉXICO**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

Judith Anahí Salazar Santana

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Hugo Harlan Mejía Madrid



Facultad de Ciencias
UNAM

2016

México, .D.F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DATOS DEL JURADO

Datos del alumno:

Salazar Santana
Judith Anahí
46229116
jass@ciencias.unam.mx
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
305074278

Datos del tutor:

Dr. Hugo H.
Mejía Madrid

Datos del sinodal 1:

Dr. José Guadalupe
Palacios Vargas

Datos del sinodal 2:

Dra. Blanca Estela
Mejía Recamier

Datos del sinodal 3:

Dr. Arturo
García Gómez

Datos del sinodal 4:

M. C. Fabiola
Ramírez Corona

Datos del trabajo escrito

Desarrollo de herramientas moleculares
para la identificación diagnóstica de
microartrópodos y nemátodos del suelo
de Puebla y Veracruz, México.

113 p.

2016

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Agradezco a las siguientes personas e instituciones, ya que con su apoyo fue posible realizar este trabajo:

A la DGAPA, por su apoyo a través del proyecto PAPIIT IA202713-2 “Desarrollo de herramientas moleculares para la identificación diagnóstica de microartrópodos y nemátodos del suelo del centro de México” a cargo del Dr. Hugo H. Mejía Madrid.

Al Dr. Hugo H. Mejía Madrid por su apoyo en la adquisición de la beca PAPIIT y por su asistencia en el trabajo de biología molecular, al igual que en la identificación de nemátodos.

Al Dr. José Guadalupe Palacios Vargas por las facilidades y el apoyo brindado en mi estancia en el Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos de la Facultad de Ciencias, además de su ayuda y disponibilidad en la identificación taxonómica de las especies de colémbolos.

A la M. en C. Fabiola Ramírez Corona por el préstamo de las instalaciones del Taller de Sistemática y Biogeografía de la Facultad de Ciencias, además de brindarme asistencia técnica y académica, así como la capacitación y estandarización de los protocolos de biología molecular.

A la Dra. Blanca Estela Mejía Recamier quién me proporcionó asistencia técnica en el montaje de ácaros y colémbolos y realizó la identificación taxonómica de ácaros Mesostigmados y Prostigmados, así como al M. en C. Ricardo Iglesias Mendoza quién identificó los ácaros Cryptostigmata y me instruyó en el montaje de los mismos.

Al Dr. Arturo García Gómez y al P. de Biól. Isaac Cruz Leal, por la asistencia académica otorgada en la identificación taxonómica de las familias, géneros y especies de colémbolos.

Al Dr. Josué Orlando Ramírez Jarquín por la asistencia técnica en las herramientas moleculares.

A la Dra. María Edith Ponce Márquez quién me asesoró en la toma de las fotografías de nemátodos en el microscopio óptico Nikon Eclipse E400 con cámara digital, en las instalaciones del laboratorio de Protistas y Algas de la Facultad de Ciencias.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco al M. C. Jorge Alberto Cruz Bastida y al M. C. Rodrigo José Jiménez Sandoval por sus comentarios, interés y ayuda para la organización y corrección de este trabajo.

Agradezco a la Lic. Blanca Angélica Romero Ramírez por la asistencia en la toma fotográfica de ácaros y colémbolos.

Agradezco al C. Julio César Santana Castro y a su familia, así como a la empresa que dirigen, Ontario S.A de C.V por la manufactura de las laminillas de Cobb.

Agradezco al C. Oscar Santana Castro y a su familia por el préstamo de equipo y apoyo en el comienzo de mi carrera.

Agradezco a todos mis compañeros del laboratorio por enseñarme cada día algo y por no dejarme nunca sola en el bajo mundo del suelo: Richi, Arturo, Dra. Blanquita, Dr. Palacios, Dra. Gabi, Dra. Alicia, Hugo, Monse, Dany, Carmen, Elsa, Ángela, Isaac, Elihú, Fer, May, María, Gabi.

Agradezco a mis amigos por estar cerca de mí en distintas etapas ya que han llenado mi vida de sorpresas. Sin ningún orden jerárquico enlisto sus nombres, en el que cada uno de ustedes tiene mi más sincero cariño y mi más grande admiración: Varela, Luismi, Gustavo, Rod, Li gusano, Lupita, Getse, Maravilla, Bety, Samu, Fercho, Gris, Lidia G., Héctor, Dani, Evelyn, Ojos, Andrea, Maga, Lynna, Efra, Nef, Amilcar, Tete, Eri, Lau, Andrea, Gabicha, Jalil, Eli, Miriam, Cupo, Lucia Platanae, Pau, Emanuel, Chucho, Héctor, Oscarova, Markos, Lí Dinorín, Melie, Josy, Leobardo, Angie, Mar, Julio, Rosa, Alfredo, Chio, Atza, Fabian, Naye, Isela, Licha, Eligio, Rosmarinus, Everardo, Robert, Gaby y Angélica.

DEDICATORIA

Dedico el esfuerzo de este trabajo a mi mamá; *Irene Santana Castro* por ser la persona que nos ha entregado su vida a mis hermanos y a mí, enseñándonos el valor de la vida y del trabajo, además de que siempre ha sido y será
MI ÁNGEL DE LA GUARDA.

Dedico la pasión de este trabajo a mi papá; *Rubén Salazar Álvarez* por ser la persona que ha crecido junto con sus hijos y que me ha mostrado la emoción de la vida en cada día, además de ser mi mejor consejero y
MI NATURALISTA FAVORITO.

Dedico la constancia de este trabajo a mi hermana: *Itz'ia Ireli Salazar Santana* por ser la persona que siempre me ha enseñado, entre tantas cosas a buscar la libertad y por tener la alegría y el amor para mí, en todo momento.

Dedico el aprendizaje obtenido en este trabajo a mi hermano; *Rubén Alan Salazar Santana* por ser la persona que me hizo detenerme en la infancia por un poco más y ahora es quien me induce a seguir aprendiendo.

Dedico la tolerancia y el amor de este trabajo a; *Claudia Estefanía Varela Álvarez*, por enseñarme las miles de posibilidades que tiene la vida, por divertirnos, disfrutar el tiempo juntas e intentar crecer cada día más.

Dedico la confianza que me brindaron para poder concluir este trabajo a; *Agripina Islas García, Luis Miguel Vázquez Ruíz, y Fernando Ruíz Gaspar*, quienes me consideraron parte de su familia y me brindaron su amistad y generosidad.

Dedico la aventura que fue realizar esta tesis a; *Fabiola Ramírez Corona* quien le dio un giro a mi vida, brindándome la oportunidad de acercarme a la investigación y además, me hizo crecer al compartirme su conocimiento y experiencia de vida.

Y dedico la espera para concluir este trabajo a *Reyna, Luna, Sara, Paulina, Nandi, Emilio, Nayla, Peter, Ninguís y Frida* porque siempre esperaron mi regreso durante estos largos años, mostrándome que han sido unos magníficos e inolvidables amigos.

A

*Mis padres, Rubén e Irene
Y a mis abuelos, Pedro y Martha.*

Por ser ejemplares.

RESUMEN

Con el fin de obtener información sobre la mesofauna edáfica en diferentes zonas de Puebla y Veracruz, se llevó a cabo un estudio dividido en tres fases, las cuales son: 1) Caracterización de la mesofauna a partir de marcadores nucleares del rDNA; 2) Identificación taxonómica de las réplicas de los géneros secuenciados, como un comparativo entre ambas herramientas (molecular y morfológica) y el establecimiento de los géneros más abundantes de microartrópodos; 3) Contabilización de la abundancia y estimación de la densidad de la mesofauna, con la finalidad de elucidar sobre la salud de los suelos colectados. Para llevar a cabo el estudio, se eligieron en cada estado de la República dos localidades, una con manejo agrícola y otra sin disturbio antrópico aparente, se colectaron veinte muestras para cada sitio, en mayo 2013 y junio 2014. El desarrollo de las herramientas moleculares, consistió en extracciones de DNA, amplificación mediante PCR de los marcadores 18S (ácaros) y 28S (nemátodos y colémbolos) y secuenciación. Con esto se obtuvo la amplificación de 53 secuencias de DNA, de las cuales 22 fueron de nemátodos, 13 de colémbolos y 17 de ácaros, las secuencias obtenidas fueron comparadas en la base de datos GenBank de NCBI y de este modo se determinaron las MOTU's. También se describió a través de árboles de Máxima Verosimilitud la correspondencia taxonómica de 6 MOTU's cuyos géneros se distribuyeron en Puebla y Veracruz. Los filogramas mostraron que dichas MOTU's presentan distancias que las relacionan cercanamente. El análisis realizado sobre la composición de nemátodos, colémbolos y ácaros, muestra que la densidad de dichos grupos taxonómicos es menor en suelos con manejo agrícola en relación a los que no presentan alteración antrópica aparente. Para el análisis de la estructura de nemátodos, se encontró que en todas las localidades existe una estabilidad ecológica media, siendo más estables las comunidades edáficas procedentes de los cultivos agrícolas, que las comunidades sin disturbio aparente, probablemente debido a las condiciones ambientales menos fluctuantes. En el caso de los microartrópodos se identificaron 74 géneros de colémbolos y ácaros, que pueden servir de base para futuros estudios. Se concluye que este trabajo resalta la conjunción entre las herramientas moleculares y la taxonomía, además de otras herramientas que ayudan en el estudio de los diversos grupos de la mesofauna.

ÍNDICE

	Página
I. Introducción	1
I.1 El suelo	1
I.1.1 La fracción biológica del suelo	1
I.1.2 El suelo como reservorio de vida	2
I.1.3 La mesofauna y su papel dentro del ecosistema	2
I.2 Grupos predominantes de la Mesofauna	3
I.2.1 Nematoda Cobb, 1932	3
I.2.2 Collembola Lubbock, 1870	4
I.2.3 Acari Leach, 1817	5
I.3 Biotecnología para conocer la biodiversidad	7
I.3.1 Marcadores moleculares	7
I.3.2 Reacción en cadena de la polimerasa, PCR	8
I.3.3 Electroforesis	8
I.3.4 BLAST	8
I.3.5 Código de barras	8
I.3.5.1 Empleo de MOTU's	9
I.3.5.2 Ventajas y desventajas del código de barras	9
I.4 Bioevaluación	10
I.4.1 Uso de suelo	10
I.4.2 Indicadores biológicos	11
I.4.3 Salud del suelo	12
I.4.4 Índice de madurez	12
II. ANTECEDENTES	13
II.1 Estudios con aproximación a las herramientas moleculares	13
II.1.1 Nemátodos	13
II.1.2 Colémbolos	14
II.1.3 Ácaros	14
II.2 Evaluación de la salud del suelo en México	15
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	17
V. MATERIAL Y MÉTODO	18
V.1 Sitios de estudio	18
V.1.1 Puebla	19
V.1.2 Veracruz	19
V.2 Muestreo	20
V.3 Herramientas Moleculares	21
V.3.1 Extracción de DNA	21
V.3.2 Reacciones de PCR	21
V.3.2.1 Marcadores Moleculares	22
V.3.3 Electroforesis	23
V.3.4 Secuenciación de fragmentos de DNA	23
V.4 Herramientas Bioinformáticas	23

V.4.1 Análisis de secuencias.....	23
V.4.2 Definición de MOTU's.....	24
V.4.3 Exactitud de la secuenciación.....	24
V.5 Técnicas de extracción de mesofauna edáfica.....	24
V.5.1 Embudo de Berlese-Tullgren.....	24
V.5.2 Tamizado por embudo de Baermann.....	25
V.5.3 Deshidratación, aclarado y montaje.....	25
V.5.4 Cuantificación.....	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
VI.1 Desarrollo de herramientas moleculares.....	27
VI.1.1 MOTU's - Comparación de similitud respecto a GenBank -.....	27
VI.1.2 MOTU's -Identificación taxonómica en comparación con GenBank-.....	28
VI.1.3 Caracterización molecular de nemátodos.....	30
VI.1.4 Caracterización molecular de colémbolos.....	32
VI.1.5 Caracterización molecular de ácaros.....	34
VI.1.6 Análisis de Máxima Verosimilitud.....	36
VI.1.7 Nemátodos.....	36
VI.1.8 Colémbolos.....	38
VI.1.9 Ácaros.....	39
VI.1.10 Mesofauna.....	40
VI.2 Diagnóstico sobre la salud del suelo.....	42
VI.2.1 Factores ambientales.....	42
VI.2.2 Características ecológicas de la mesofauna.....	44
VI.2.2.1 Abundancia y densidad de nemátodos.....	44
VI.2.2.2 Abundancia y densidad de colémbolos.....	50
VI.2.2.3 Abundancia y densidad de ácaros.....	61
VI.2.2.4 Correlación: abundancia de mesofauna - factores ambientales.....	65
VI.2.2.5 Composición de nemátodos.....	67
VI.2.3 Presencia de microartrópodos e identificación taxonómica.....	70
VI.2.3.1 Colémbolos.....	70
VI.2.3.2 Ácaros.....	71
VII. CONCLUSIONES.....	73
APÉNDICES.....	75
LISTA DE REFERENCIAS.....	88

Lista de figuras

Página

Figura 1. Representación de las localidades muestreadas en Puebla y Veracruz.....	18
Figura 2. Número de secuencias según el porcentaje de identidad respecto a GenBank.....	27
Figura 3. Árbol de Máxima Verosimilitud para nemátodos a partir del marcador 28S.....	37
Figura 4. Árbol de Máxima Verosimilitud para colémbolos a partir del marcador 28S.....	38
Figura 5. Árbol de Máxima Verosimilitud para ácaros a partir del marcador 18S.....	39
Figura 6. Árbol de Máxima Verosimilitud de la mesofauna, construido a partir de marcadores nucleares: 28S (nemátodos y colémbolos) y 18S (ácaros).....	41
Figura 7. Registro de temperatura en los dos años de colecta.....	42
Figura 8. Registro de humedad relativa en las diferentes localidades.....	42
Figura 9. Registro de dióxido de carbono atmosférico circundante al suelo.....	42
Figura 10. Abundancia de las familias de nemátodos en Atlixco, Puebla.....	44
Figura 11. Abundancia de las familias de nemátodos en Izúcar y Tepexco, Puebla.....	44
Figura 12. Abundancias de las familias de nemátodos en “La Soledad”, Veracruz.....	45
Figura 13. Abundancia de las familias de nemátodos en “El Clarín”, Veracruz.....	45
Figura 14. Densidad de nemátodos a partir de las familias encontradas.....	46
Figura 15. Abundancia de colémbolos en Atlixco, Puebla.....	50
Figura 16. Abundancia de colémbolos Izúcar-Tepexco, Puebla.....	50
Figura 17. Abundancia de colémbolos “La Soledad”, Veracruz.....	51
Figura 18. Abundancia de colémbolos “El Clarín”, Veracruz.....	51
Figura 19. Densidad de colémbolos para cada localidad en 2013 y 2014.....	52
Figura 20. Abundancia de ácaros en Atlixco, Puebla.....	61
Figura 21. Abundancia de ácaros en Izúcar-Tepexco, Puebla.....	61
Figura 22. Abundancia de ácaros en “La Soledad”, Veracruz.....	62
Figura 23. Abundancia de ácaros en “El Clarín”, Veracruz.....	62
Figura 24. Densidad de los principales grupos de ácaros en 2013 y 2014.....	63
Figura 25. Relación “factores ambientales - densidad de mesofauna”.....	66

Lista de tablas**Página**

Tabla 1. Generalidades de los sitios de estudio en el estado de Puebla.....	19
Tabla 2. Generalidades de los sitios de estudio en el estado de Veracruz.....	20
Tabla 3. Parámetros ambientales de las localidades muestreadas en 2013 y 2014.....	21
Tabla 4. Primers o cebadores para los marcadores 18S y 28S rDNA en nemátodos.....	22
Tabla 5. Primers o cebadores para los marcadores 28S rDNA utilizados en colémbolos.....	22
Tabla 6. Primers o cebadores utilizados en ácaros para la amplificación del 18S rDNA.....	23
Tabla 7. Secuencias e identificación taxonómica de la mesofauna.....	29
Tabla 8. Nemátodos. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.....	30
Tabla 9. Colémbolos. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.....	32
Tabla 10. Ácaros. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.....	34
Tabla 11. Correlación de los factores ambientales y la abundancia de la mesofauna.....	65
Tabla 12. Morfotipo, familia, género, comportamiento trófico y valor c-p de nemátodos.....	67
Tabla 13. Valores para el Índice de madurez y sus diferentes adaptaciones.....	68
Tabla 14. Identificación taxonómica de colémbolos.....	70
Tabla 15. Identificación taxonómica de ácaros.....	71

Lista de apéndices

Página

Apéndice 1. Sitios de muestreo.....	75
Apéndice 2. Información sobre las secuencias de DNA obtenidas.....	79
Apéndice 3. Evidencia fotográfica de la mesofauna bajo estudio.....	85

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool, *tr.* Herramienta básica de búsqueda de alineamiento local.

DNA: Deoxyribonucleic acid, *tr.* Ácido Desoxirribonucleico.

GenBank: Base de Datos Genéticos de la NCBI (National Center for Biotechnology Information).

INEGI: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática.

LSU: Large subunit (28S), *tr.* Subunidad grande, molécula 28S del rDNA.

ML: Maximum Likelihood, *tr.* Máxima Verosimilitud

MOS: Materia Orgánica del Suelo.

MOTU: Molecular Operational Taxonomic Unit, *tr.* Unidades Taxonómicas Operacionales Moleculares.

NCBI: National Center for Biotechnology Information, *tr.* Centro Nacional para la Información Biotecnológica.

OTU: Operational Taxonomic Units, *tr.* Unidades taxonómicas operacionales.

PCR: Polymerase Chain Reaction, *tr.* Reacción en Cadena de la Polimerasa.

rDNA: Ribosomal Deoxyribonucleic Acid, *tr.* Ácido Desoxirribonucleico Ribosomal.

RNA: Ribonucleic Acid, *tr.* Ácido ribonucleico.

SSU: Small subunit (18S), *tr.* Subunidad pequeña, molécula 18S del rDNA.

TBE: Solución tampón compuesto por: Tris, Borato y Ácido Etilendiaminotetraacético.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 El suelo

El suelo se refiere a la parte superficial de la corteza terrestre que cubre únicamente las áreas continentales (Cabrera *et al.*, 1996). Particularmente se han generado otras definiciones: Terzaghi (1943) mecánicamente delimitó al suelo, como un conglomerado de partículas unidas por fuerzas cohesivas de baja potencia, asimismo Sposito (2008) químicamente lo definió como un medio poroso capaz de intercambiar materia y energía. Por otro lado, autores como Volke-Sepúlveda (2005), Bernal-Rojas (2006), Huerta-Cantera (2010), entre otros, mantienen el razonamiento de Dokuchaev quien concibió al suelo como un cuerpo natural (Kiryushin, 2006), cuya estructura tridimensional no consolidada es resultado de la interacción dinámica entre el estrato subterráneo del suelo (roca madre) y la atmósfera (clima, relieve y biota) a través del tiempo.

El suelo está compuesto de cinco elementos (materia mineral, materia orgánica, agua, aire y seres vivos) que conforman la totalidad del espacio edáfico. Estos elementos se encuentran en los tres estados de la materia, por un lado la materia mineral, orgánica y biológica, constituyen la fase sólida e integran el 50%; el agua corresponde al 25% y el aire conforma el 25% del espacio restante (Iglesias-Mendoza, 2006).

El suelo es considerado el sustrato evolutivo y biomaterial más complejo del mundo. Forma parte intrínseca de cualquier ecosistema terrestre y es fundamental para la subsistencia de la vida en el planeta (Pepper *et al.*, 2009). No obstante, su estructura se ve modificada por procesos antropogénicos que no son reversibles a corto plazo, por lo que se considera un recurso no renovable (Wahl, 2007; CONAFORT, 2013; FAO, 2015).

I.1.1 La fracción biológica del suelo

La fracción biológica se refiere a todos los organismos vivos que habitan dentro del suelo (bacterias, protistas, hongos, plantas, animales invertebrados y algunos vertebrados). Un componente importante de la edafofauna son los invertebrados, que pueden clasificarse de acuerdo al tamaño de su cuerpo, en tres categorías; macrofauna: >2.0 mm, incluye hormigas, termitas, ciempiés, cochinillas, lombrices, etc.; mesofauna: entre 0.1-2.0 mm, integra principalmente nemátodos, proturos, colémbolos y ácaros; y microfauna: <0.1 mm caracterizada por protistas, amebas y nemátodos (Karyanto *et al.*, 2012).

I.1.2 El suelo como reservorio de vida

En los primeros 20 cm del suelo se presenta una cantidad innumerable de organismos, que corresponden a los 3 Dominios taxonómicos y cerca de 25 Phyla (Swift *et al.*, 2012). Esta fracción biológica se alberga principalmente en biotopos, que son sitios que le proporcionan nutrientes y alojamiento, ya sea dentro o en la superficie del suelo (Sigala-Regalado, 2011).

Entre los biotopos más conocidos están: la superficie inmediata del suelo, el subsuelo, los troncos podridos, la hojarasca, el musgo y el guano. En estos sustratos la fauna edáfica se ha adaptado al cambio en el régimen hídrico y a los distintos tamaños de poro (Giere, 2009). Además la edafofauna se han adecuado a la compactación del sustrato, a una atmósfera que posee de diez a cien veces más CO₂ que O₂ (en relación a la atmósfera superficial), a las fluctuaciones micro climáticas y a la disposición variable de intensidad lumínica y alimento (Brown *et al.*, 2001).

I.1.3 La mesofauna y su papel dentro del ecosistema

Los integrantes de la mesofauna se distinguen por pasar toda o una parte de su vida en el suelo, ocupar gran parte de los niveles tróficos de la cadena alimentaria y crear una interdependencia (George, 2006; Neher & Barbercheck, 1999). Algunos integrantes de la mesofauna son ácaros (Acari), colémbolos (Collembola), nemátodos (Nematoda), sínfilos (Symphylla), proturos (Protura), dípluros (Diplura), entre otros. Los grupos que poseen predominancia en números totales, biomasa y diversidad de especies son nemátodos, ácaros y colémbolos (Arroyo *et al.*, 2003; Culliney, 2013; García-Gómez *et al.*, 2010).

Algunos de los procesos ecológicos en los que la mesofauna se ve involucrada son (Bongers & Ferris, 1999; Freckman, 1988; George, 2006; Muturi *et al.*, 2009; Swift *et al.*, 2012):

1. Descomposición de la materia orgánica y humificación. Los “fragmentadores de hojarasca”, en su mayoría ácaros y colémbolos junto con bacterias y hongos, desintegran la materia vegetal, transformándola en carbono orgánico, también conocido como humus.
2. Ciclo de nutrientes. Los microdepredadores permiten el crecimiento de bacterias en su intestino y al excretar liberan los nutrimentos inmovilizados por la microflora del suelo.
3. Catalización de la actividad microbiana. La mesofauna a través de la depredación influye sobre el crecimiento y la actividad metabólica de las colonias bacterianas.

4. Estructura del suelo, formación y mantenimiento. El aporte de pellets de la mesofauna sirve como material de agregación de partículas y el movimiento de esta fauna ayuda a la creación de bioporos dentro de los sustratos.
5. Control y desarrollo de enfermedades y plagas. La ingestión de organismos patógenos por parte de la mesofauna depredadora, modifica las cantidades y proporciones de biota nociva, favoreciendo el control natural de enfermedades y plagas o el incremento de éstas.

I.2 Grupos predominantes de la Mesofauna

I.2.1 Nematoda Cobb, 1932

Nematoda es uno de los grupos más abundantes de invertebrados en la faz de la Tierra y probablemente ha mantenido esta posición desde su origen en el Precámbrico (Poinar, 2011). Es un grupo con una gran riqueza de especies, de las que se han reportado formalmente 24,000 de un estimado 100,000 (Bhadury, 2012). Los integrantes de este grupo habitan ecosistemas marinos, dulceacuícolas y terrestres, en variadas zonas climáticas. Los nemátodos pueden ser parásitos o de vida libre (Machado-Restrepo, 2009). Los primeros afectan la salud de plantas y animales, incluyendo al ser humano y han tenido mayor estudio a escala mundial, por otro lado, los de vida libre interactúan en las cadenas tróficas del suelo, sin embargo, queda mucho por conocer sobre este grupo de nemátodos (Blaxter *et al.*, 1998; Maceto-Celemín *et al.*, 2009; Masler, 2013).

Los nemátodos son gusanos no segmentados, pseudocelomados, transparentes, redondos en un corte transversal y con forma de huso. Su tamaño va de 5-100 μm de ancho y en promedio de 0.1-2.0 mm de largo. Todos los nemátodos comparten un plan corporal que consiste de dos tubos concéntricos separados por un pseudoceloma, el tubo exterior está cubierto por una cutícula de colágeno y el tubo interior se compone de un canal faríngeo y digestivo, no tienen órganos especializados para la circulación o excreción. Su desarrollo se completa en 4 etapas que se pueden presentar todas de vida libre o alguna(s) fase(s) como parásitos de plantas o animales (George, 2006). La densidad de nemátodos se estima entre 10^4 y 10^8 individuos por m^2 (Bhadury, 2012; Eche *et al.*, 2015; Neher & Barbercheck, 1999).

Los nemátodos que habitan el suelo se clasifican en diferentes grupos funcionales. Un grupo funcional se refiere al conjunto de especies que poseen atributos semejantes entre si y que

desempeñan papeles ecológicos equivalentes. Aunque este concepto es laxo porque no existe una clasificación funcional universal (Martínez-Ramos, 2008). Esto ha motivado a otros investigadores a considerar distintas clasificaciones como la de gremios funcionales, ya que obtienen mayor información sobre la estructura de la comunidad, debido a que las interacciones a nivel de género o especie se ven afectadas de diferente manera ante cambios ambientales (Cesarz *et al.*, 2015).

I.2.2 Collembola Lubbock, 1870

Actualmente se han descrito 8,344 especies de colémbolos en el mundo, de un estimado de 50,000 (Cicconardi *et al.*, 2013). En México hay aproximadamente 700 sp., que componen cerca del 8% de la riqueza mundial (Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014). Los colémbolos están presentes en sistemas terrestres, dulceacuícolas o marinos (Bellinger *et al.*, 2015) y se considera uno de los grupos de artrópodos más exitosos (Guillén *et al.*, 2006). Además es un linaje viviente que nos permite reunir información sobre los primeros procesos que dieron lugar a la evolución de Hexapoda a partir de un ancestro crustáceo (Faddeeva *et al.*, 2015).

Los colémbolos se caracterizan por ser hexápodos apterigotas, con forma alargada a globular, que miden de 0.2-8.0 mm y su vida promedio es de tres meses. El cuerpo de los colémbolos se divide en tres regiones principales, cabeza, tórax y abdomen (Palacios-Vargas, 2014):

- a) Cabeza. Se compone de un par de antenas (de 4 artejos), hasta ocho cornéolas a cada lado de la cabeza (algunos tienen los omatidios reducidos y otros son totalmente ciegos) y las piezas bucales son alargadas y siempre se ocultan dentro de la cabeza (enthognata).
- b) Tórax. Conformado por tres segmentos, cada uno con un par de patas. Las patas están formadas por: precoxa, coxa, trocánter, fémur y tibiotarso.
- c) Abdomen. Cuenta con seis segmentos sin cercos. En el primer segmento abdominal presentan una estructura ventral pequeña y tubular (colóforo), que es muy importante en el balance hídrico y también permite la adhesión. En el tercer segmento, presentan un retináculo que sirve para fijar la fúrcula que se encuentra en el cuarto segmento. La abertura genital se encuentra en el quinto segmento y la abertura anal en el sexto.

Los colémbolos son invertebrados numéricamente dominantes o subdominantes, su abundancia solamente es superada por nemátodos y ácaros (Muturi *et al.*, 2009). Habitan desde los

glaciares hasta las regiones tropicales, así como en cuevas profundas, el dosel del bosque, las costas y algunos desiertos (Deharveng, 2008; Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014).

La importancia ecológica de los colémbolos radica en su intervención en procesos como: la fragmentación primaria y secundaria de la hojarasca (García-Gómez *et al.*, 2010), que deriva en la descomposición de la materia vegetal muerta y en los procesos húmicos; el ciclo de nutrientes y la formación de la estructura del suelo; la dispersión de bacterias y esporas de hongos; la cadena trófica debido a que, por un lado, son el alimento de grupos de mayor nivel (Palacios-Vargas, 2014) y, por el otro, la versatilidad de su alimentación causa interacciones importantes con otros organismos edáficos (Castaño-Meneses *et al.*, 2004; Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014).

I.2.3 Acari Leach, 1817

Acari se caracteriza por ser el conjunto más diverso y rico en especies dentro de los arácnidos (Iraola, 1998). Hasta el año 2011 se habían registrado 54,617 especies del estimado mundial de un millón (Pérez *et al.*, 2014). En México se han descrito cerca de 2,625 especies y su estudio aún es incipiente. Sin embargo el conocimiento sobre la sistemática de ácaros no ha sido suficiente para dar respuesta exacta a su filogenia (Moraza, 1999). También, son el grupo más abundante y diverso de quelicerados, su tamaño va de 0.1 mm a 3.0 mm, su cuerpo se divide en dos tagmas (prosoma y opistosoma), poseen un par de piezas bucales o quelíceros (a menudo en forma de pinza), el segundo par de apéndices llamados pedipalpos, son para alimentarse y los cuatro pares restantes corresponden a las extremidades motoras. Su respiración es por vía cutánea o traqueal; la reproducción se realiza mediante espermátóforos depositados en el sustrato o transferidos del macho a la hembra, además es común la partenogénesis (Walter & Proctor, 2013).

Los ácaros están presentes en todo tipo de ambientes, ya sea acuático, terrestre, arbóreo o sobre un hospedero. Tienen un papel ecológico importante, puesto que participan en la fragmentación de plantas superiores, el reciclaje de la materia orgánica y la incorporación de los nutrientes al suelo, incentivan el desarrollo de bacterias y hongos y contribuyen a la estructura de las partículas del suelo con la producción de pellets fecales (Arango-Galván *et al.*, 2009). Se han utilizado como indicadores de la salud del suelo y se reconocen como los principales interactores con nemátodos y bacterias que favorecen la descomposición en el suelo (Walter & Proctor, 2013).

Los diferentes grupos de ácaros se distinguen con base a la posición en la que se encuentran sus estigmas (Iglesias-Mendoza, 2006; Iraola, 1998) y dependiendo esta característica, los grupos más destacados debido a su abundancia y papel en los ecosistemas edáficos son (Krantz *et al.*, 2009; Pérez *et al.*, 2014; Vázquez-Rojas, 2002; Wahl, 2007):

- Mesostigmata: su talla va de 200-2,000 μm , la mayoría son depredadores de vida libre en el suelo y en la hojarasca (como Parasitidae, Macrochelidae, Uropodidae, Rhodacaridae, etcétera), se alimentan de nemátodos, colémbolos y larvas de insectos, también se consideran parásitos cosmopolitas de plantas y animales (Koehler, 1999).
- Prostigmata: su talla varía de los 100 a los 16,000 μm , tienen una alta diversidad específica, así como una gran fecundidad (aunque variable entre familias), tienen diversos hábitos alimenticios (microfitófagos, macrofitófagos, zoófagos, depredadores de artrópodos y nemátodos, necrófagos, coprófagos y parásitos); sin embargo, estos hábitos pueden causar una distribución inespecífica en la ocurrencia de los taxones sobre los distintos microhábitats (Kentley, 1990).
- Cryptostigmata (Oribatida): su tamaño se encuentra alrededor de 150 a 1,500 μm , son numéricamente dominantes en el suelo, sus hábitos alimenticios se definen como macrofitófagos y microfitófagos. Se encuentran en sitios naturales o seminaturales y son poco abundantes en sitios con gran impacto antrópico, mientras que otros son pioneros; sin embargo, muchos se caracterizan por tener baja fecundidad y capacidad para incrementar su población en poco tiempo (Iglesias-Mendoza, 2006).
- Astigmata: Es un grupo derivado de Oribatida (Krantz *et al.*, 2009), sin embargo, posee características propias. Su tamaño oscila entre 350 a 650 μm , tiene poca variedad en el suelo, pero puede ser muy abundante, presenta distintos hábitos alimenticios, siendo estos: saprófagos, fungívoros, depredadores, fitófagos y parásitos. Su presencia se determina generalmente por una alta humedad (75%), poca ventilación, poco movimiento del sustrato donde se encuentra (Casanueva *et al.*, 1995) y en sitios con acumulaciones de MOS (como estiércol y composta). Son ácaros de selección-r (rápido crecimiento poblacional y capacidad de colonizar nuevos ambientes) (Maldonado-Vargas, 2008).

I.3 Biotecnología para conocer la biodiversidad

Actualmente la biotecnología se considera no sólo una disciplina aplicada, sino más bien, una actividad multidisciplinaria, cuyo sustento se forma a partir del conocimiento generado de la genética y de la biología molecular, permitiendo el estudio integral y la manipulación de los sistemas biológicos (Bolívar-Zapata, 2004).

Las técnicas empleadas en biotecnología y la amplísima variedad de biomas en el país, brindan un potencial enorme para el descubrimiento de nuevas especies, sobre todo en los grupos taxonómicos poco explorados. Aunque las técnicas aplicadas para el conocimiento de la biodiversidad sean cada vez más utilizadas, la velocidad con la que se está añadiendo información en los bancos de datos sobre fragmentos moleculares de taxas, es insignificante respecto a lo descrito taxonómicamente (Soberón-Mainero & Golobov, 2004).

I.3.1 Marcadores moleculares

Para lograr caracterizar un taxón es importante la elección de los marcadores adecuados. Actualmente se utilizan aquellos que codifican regiones de DNA nuclear y mitocondrial (Sonnenberg *et al.*, 2007; Tarqui-Callejas, 2012).

Las secuencias utilizadas para generar una caracterización molecular en animales pueden ser:

- a) la pequeña subunidad del gen nuclear ribosomal de DNA (SSU, también conocido como 18S);
- b) la subunidad grande del gen nuclear ribosomal de DNA (LSU, también conocido como 28S) ;
- c) los bucles de expansión; d) la sección del espaciador interno transcrito, altamente variable del cistrón ribosomal de RNA (ITS, separados por el gen 5 S de RNA ribosomal en regiones ITS1 e ITS2); y e) el citocromo c oxidasa 1 del gen mitocondrial (CO1 o COX1).

Los genes SSU y LSU son universales, ya que se encuentra en todos los organismos eucariotas en repeticiones en tándem y hay excelentes conjuntos de primers que funcionan en la mayoría de los taxones, las bases de datos existentes para las secuencias SSU, están representadas con más de 30,000 secuencias, lo que hace el alineamiento fácil entre taxones relacionados (Blaxter, 2004).

I.3.2 Reacción en cadena de la polimerasa, PCR

La Reacción en Cadena de la Polimerasa es una catálisis enzimática consecutiva, que permite replicar *in vitro*, regiones específicas del genoma, ya sean genes o fragmentos específicos del DNA (Beas-Zárate *et al.*, 2009). Esta técnica se compone de tres etapas cíclicas de reacción (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2002), de las cuales se obtiene un fragmento de DNA de tamaño determinado (Tarqui-Callejas, 2012), las etapas son: a) Desnaturalización del DNA, a 94°C las hebras de DNA se separan, permitiendo que los cebadores tengan acceso al DNA monocatenario; b) Alineamiento, de 40-60°C, los oligonucleótidos se empatan con el DNA en una región de doble cadena; y c) Extensión, a 72°C, la polimerasa comienza a copiar en sentido 5'-3' sintetizando las secuencias complementarias de las hebras de DNA templado (Guerrero-Parra, 2009; Huges & Moody, 2007; Viljoen *et al.*, 2005).

I.3.3 Electroforesis

Es un método empleado para separar macromoléculas en función de su tamaño, carga eléctrica y otras propiedades físicas. Se basa en el principio de que una molécula colocada en un campo eléctrico, migra al electrodo apropiado a una velocidad proporcional al campo de fuerza y a su propia carga. Por esto una mezcla de moléculas de DNA puede separarse y ser visible en función del tamaño, forma o magnitud de las cargas netas (Somma & Querci, 2007; Tarqui-Callejas, 2012).

I.3.4 BLAST

La herramienta básica de búsqueda de alineamiento local o mejor conocida como BLAST, es un programa que compara las secuencias que deseamos caracterizar, con las secuencias ya existentes en las bases de datos y calcula la significancia estadística de las regiones que poseen similitud local (Altschul *et al.*, 1990). El programa BLAST es el más utilizado para la búsqueda de secuencias e identificación de nucleótidos en bases de datos como GenBank (Andrés *et al.*, 2008).

I.3.5 Código de barras

El código de barras es el análisis estandarizado de fragmentos de DNA (5'-3', correspondientes al mismo locus) para diferenciar organismos a nivel de especies. Estos fragmentos tienen un

tamaño aproximado de 650 pares de bases (pb) y se caracterizan por tener fácil amplificación a través del PCR (Hebert *et al.*, 2003). El objetivo principal del código de barras para la vida es la caracterización de la diversidad biológica mediante una secuencia corta de DNA, que complemente, facilite y/o agilice la identificación taxonómica (Fontanilla, 2010) y actualmente se apoya en la amplificación del marcador COI, sin embargo también marcadores nucleares refuerzan esta identificación, así como la definición MOTU's.

I.3.5.1 Empleo de MOTU's

Una MOTU se refiere a Unidad(es) Taxonómica(s) Operacional(es) Molecular(es). Este concepto fue instaurado por Floyd *et al.* (2002), bajo el supuesto de desarrollar un método simple, compatible y sin ninguna correlación formal (publicaciones de especies descritas), que permitiera determinar taxones de manera rápida y efectiva, así como estimar su diversidad y abundancia. La definición de MOTU se presentó en un contexto no molecular, utilizando caracteres sin conocer su verdadero valor taxonómico, llamados OTU's. Así, la definición de MOTU's utiliza las secuencias de DNA como un grupo de caracteres sin valor *a priori*, facilitando diferentes tipos de análisis taxonómicos y filogenéticos (Acevedo-Granados, 2013).

MOTU es un grupo de individuos que son reconocidos en el análisis de similitud de secuencias. Para realizar este análisis se recurre a las bases de datos internacionales de secuencias génicas (GenBank) y al diagnóstico taxonómico. Actualmente se ve como una necesidad relacionar ambos tipos de información (Blaxter, 2004; Lanteri, 2007).

I.3.5.2 Ventajas y desventajas del Código de Barras

Ventajas

- Aplicación rápida y fácil con protocolos estandarizados (Blaxter, 2004).
- Utilidad de los datos moleculares para análisis filogenéticos en grupos cuyos caracteres homólogos no se han concretado, así como para aquellos que carecen de registro fósil informativo (Bik *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2010).
- Designación de especies independientemente de la etapa del ciclo de vida en la que se encuentre el organismo.

- Empleo de las técnicas en taxas microscópicas como nemátodos, colémbolos y ácaros y aprovechamiento de los datos moleculares como resolución adicional sobre la morfología, permitiendo la evaluación de linajes crípticos (Porco *et al.*, 2012).

Desventajas

- Las diferencias en las secuencias entre especímenes pueden surgir por errores metodológicos o por la variación natural dentro del taxón (Blaxter, 2004).
- La comparación del código de barras o huella molecular depende de una base de datos con la cantidad de secuencias similares existentes, además de la identificación correcta de los códigos (individuos a partir de los que se obtuvo la secuencia) (Blaxter *et al.*, 2005).
- El uso de códigos de barras requiere la aplicación y la aceptación de un concepto de especie según la misma definición del código de barras, sin embargo éste no ha sido evaluado (Rubinoff *et al.*, 2006).

I.4 Bioevaluación

La bioevaluación es el análisis científico de la información ecológica recolectada en campo, donde se caracterizan diversos organismos con el fin de obtener información acerca del estado de alteración de su ambiente. Dentro de este esquema, se propone comparar el grado de perturbación de dos ecosistemas aledaños (uno sometido a un disturbio antrópico y otro protegido), para analizar la distorsión estructural y funcional de las comunidades estudiadas y evaluar así el grado de modificación (López-Chan, 2013; Wahl, 2007). El biomonitoreo al igual que la bioevaluación, utiliza a los organismos vivos para valorar la salud de un ecosistema, sólo que es realizado a través del tiempo. Ambas evaluaciones, proponen detectar los daños en las comunidades biológicas que los esquemas físicoquímicos no son capaces de reflejar (Badii-Zabeh *et al.*, 2005).

I.4.1 Uso de suelo

El uso de suelo es el término que designa la actividad o propósito específico de un territorio, es decir, es el resultado de la acción del humano sobre el ambiente natural. El uso de suelo es el factor de transformación de un área y permite observar la presión que se ejerce sobre los

ecosistemas naturales (Machado-Restrepo, 2009). La biodiversidad animal depende de cuatro condiciones cuando se encuentra en un sitio con manejo agrícola: a) la diversidad de la vegetación dentro del cultivo (malezas) b) vegetación aledaña al cultivo, ya sea natural o inducida, c) el tipo y la frecuencia de rotación del cultivo y d) la intensidad del manejo agrícola (Flores-Pardavé *et al.*, 2008; Muturi *et al.*, 2009).

I.4.2 Indicadores biológicos

Los indicadores funcionan como parámetros estadísticos, que representan el estado actual de un sistema y se consideran necesarios para realizar una evaluación. Un indicador biológico o bioindicador puede ser un organismo, su actividad, subproductos o poblaciones que permitan caracterizar un ecosistema. Sus cualidades deben ser: medible, repetible, accesible, aplicable en campo, de fácil manejo y de respuesta clara y rápida (UNAD, 2015).

La mesofauna forma parte de las cadenas y redes tróficas del suelo, que varían en su complejidad y son altamente sensibles al disturbio ambiental, como es el caso del manejo agrícola que altera refugios, sitios de reproducción, hábitos alimenticios y/o disposición de alimento. Debido a la respuesta rápida de la mesofauna, se considera una herramienta para la bioevaluación del suelo (Ferrera-Cerrato & Alarcón, 2001; Flores-Pardavé *et al.*, 2008; Paoletti *et al.*, 2010).

La mesofauna presenta principalmente dos ventajas como bioindicadores respecto a otra biota del suelo, por ejemplo, ante la microflora (bacterias, hongos y algas) o la microfauna (protozoos):

- La primera ventaja es el nivel que poseen como consumidores en la cadena alimenticia (forman un enlace entre los descomponedores primarios y la fauna de mayor tamaño), brindando un reflejo de las propiedades químicas, físicas y biológicas de sus recursos alimenticios.
- La segunda primacía se refiere a su ciclo de vida, ya que es más largo y mantiene observables a las poblaciones, que responden ante la alteración del medio (Sánchez-Moreno & Talavera, 2013).

Los nemátodos, colémbolos y ácaros, presentan características relevantes, como (Accattoli & Salazar, 2012; Arango-Gutiérrez & Macías, 2004; Höss & Traunspurger, 2003; Iglesias-Mendoza, 2006; Koehler, 1999; Maldonado-Vargas, 2008; Neher & Barbercheck, 1999; Ruf, 1998; Vázquez & Palacios-Vargas, 2004):

- Capacidad de mostrar cambios en su composición poblacional cuando existe perturbación
- Dominan en los sedimentos y presentan altas densidades así como riqueza de especies

- Representan grupos tróficamente heterogéneos
- Presentan altas tasas de reproducción
- Pueden ser muestreados todo el año

I.4.3 Salud del suelo

La capacidad que existe en el suelo para funcionar como un sistema vivo, sostener la productividad biológica, promover la calidad del ambiente y mantener la salud animal y vegetal, es llamada salud del suelo (Doran & Zeiss, 2000). El suelo sano es el que establece un medio sustentable dentro de un ecosistema ya sea natural o antrópico (Hernández-Moreno, 2006).

I.2.1.3 Índice de madurez

El índice de madurez (IM) es un valor semi cuantitativo que indica el grado de conservación o disturbio de un ecosistema, que se basa en la composición de una comunidad de nemátodos. Este método fue presentado por Bongers (1990). El sistema de evaluación de la salud del suelo se calcula como la media ponderada de los valores c-p independientes. La escala indica que a mayor disturbio ambiental el resultado presenta valores cercanos a 1, mientras que valores por encima de 3 sugieren estabilidad ambiental (Esquivel-Hernández, 2011).

Las familias de nemátodos se encuentran en diferentes posiciones dentro de la cadena trófica e intervienen de distinta manera sobre la organización y la estructura edáfica funcional que principalmente se dividen en dos grupos:

1. Colonizadores 'c' (estrategas tipo r). Muestran tasas reproductivas altas, sus ciclos de vida son cortos, abundantes, excelentes oportunistas y colonizadores (mayor tolerancia a contaminantes). Sus representantes son del grupo de los Secernentea, que ocupan un lugar basal en la cadena trófica y presentan valores de c-p entre 1 y 3.
2. Persistentes 'p' (estrategas tipo k). Tienen tasas reproductivas bajas, sus ciclos de vida son largos, tienen poca descendencia, baja abundancia, viven en hábitats estables, tienen baja colonización y poca tolerancia a contaminantes. Sus representantes son miembros de Adenophorea, que ocupan un nivel alto en la cadena trófica, los valores en la escala de valor c-p son entre 4 y 5 (Bongers *et al.*, 1995).

II. ANTECEDENTES

II.1 Estudios con aproximación a las herramientas moleculares

En México como en otras partes del mundo, hasta hace casi tres décadas, todas las clasificaciones de organismos, tanto a nivel de especie como de los grandes grupos taxonómicos, se basaban en análisis morfológicos (López-Soriano, 2004). Por lo que el uso de las herramientas moleculares no fueron implementadas en estos campos, hasta el desarrollo del código de barras de la vida (Hebert *et al.*, 2003). Actualmente la revolución en la metodología molecular es cada vez más aceptada para ampliar información sobre la diversidad biológica de grupos considerados remotos, como es el caso de la mesofauna del suelo (Moreira *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2010).

II.1.1 Nemátodos

En el país se han realizado pocos trabajos que enfatizan la importancia de los nemátodos de vida libre; sin embargo, en años recientes el interés va en aumento, sobre todo para aquellos grupos que acompañan la rizósfera de cultivos. Por ejemplo: Desgarenes *et al.* (2009) determinaron los grupos tróficos de nemátodos presentes en la rizósfera de papa y caña de azúcar en Cofre de Perote, Veracruz. Pen-Mouratov *et al.* (2008), en el desierto de Tehuacán-Cuicatlán, determinaron la dispersión espacial y definieron la distribución vertical de nemátodos, de acuerdo con las asociaciones vegetales dominantes. Rueda-Puente *et al.* (2015) en el noroeste de México (Sonora), identificaron por primera vez nemátodos fitoparásitos de la halófito *Salicornia bigelovii*. Por otro lado, existen algunos listados de nematofauna, uno de ellos en la Reserva Natural “Los Tuxtlas”, Ver. (Franco-Navarro *et al.*, 2007). Sin embargo ninguno de los estudios citados anteriormente, han utilizado caracteres morfológicos (OTU's) y moleculares (MOTU's).

Por otro lado, los trabajos que se han servido de ambas herramientas son: Robles-Rivera (2013) quién aisló nematofauna del suelo y a través de la amplificación del marcador 18S, intentó obtener nemátodos que funcionaran como nuevos modelos biológicos. La mayoría de los trabajos se han dirigido al estudio de nemátodos marinos y de litorales. Navarrete (2007) en el estado de Colima identificó taxonómicamente 30 especies de nemátodos de vida libre, por otro lado Mundo-Ocampo *et al.* (2007) y Pereira *et al.* (2010) han empleado secuencias 18S y 28S, con el objetivo de conocer la diversidad de los nemátodos marinos del Golfo de California, México.

II.1.2 Colémbolos

En México la generación de conocimiento para el grupo Collembola ha tenido un gran desarrollo, principalmente en su taxonomía (Palacios-Vargas, 1981; Palacios-Vargas & González, 1995; Palacios-Vargas, 2003; Díaz-Azpiazu *et al.*, 2004), biogeografía (Palacios-Vargas *et al.*, 2000) y ecología (García-Gómez *et al.*, 2014; Gómez-Anaya *et al.*, 2010).

Las herramientas moleculares aplicadas en colémbolos han sido útiles para aclarar y formular nuevas preguntas sobre el origen y la diversificación de los linajes del grupo (Cicconardi *et al.*, 2013). Algunos de los trabajos sobre la filogenia de Collembola han utilizado los marcadores 18S y 28S rDNA además de la región I y II del Citocromo Oxidasa (COI). Muchos trabajos también incluyen métodos morfológicos para inferir mejores relaciones dentro del grupo, por ejemplo: Palacios-Vargas *et al.* (2011) presentaron descripciones morfológicas junto con código de barras, de dos nuevas especies del género *Pronura* en América del Sur. De manera similar Gao *et al.* (2012) describieron e ilustraron morfológicamente especies de *Vitronura*, junto con la caracterización molecular a través del marcador COI. Más aún de todos los avances desarrollados en colémbolos, aún quedan metas por alcanzar en cuanto a la estandarización de técnicas para la caracterización molecular y morfológica de estos organismos, como la obtención de DNA a través de métodos no destructivos que ayuden a la identificación precisa del organismo (Porco *et al.*, 2012).

II.1.3 Ácaros

Respecto a trabajos sobre ácaros realizados en México, la mayoría corresponde al desarrollo de la taxonomía basada en caracteres morfológicos, ontogenéticos y/o conductuales (Mejía-Recamier, 2007; Palacios-Vargas, 1984; Palacios-Vargas & Iglesias-Mendoza, 2007) y un gran número de trabajos se refieren a ácaros de importancia sanitaria o agrícola (Badii-Zabeh *et al.*, 2001; Fernández-Duro *et al.*, 2013; Okassa *et al.*, 2012; Tapia-Pérez *et al.*, 2003).

Por otro lado se reconoce que se ha ganado terreno en el empleo de las herramientas moleculares para profundizar en la clasificación de los grupos de ácaros o por lo menos en los grupos que han adquirido mayor relevancia. Por citar algunos ejemplos; Dabert *et al.* (2010) utilizaron secuencias de los marcadores 18S rDNA y COI, para realizar el primer acercamiento sobre las relaciones de ancestría-descendencia en Acariformes, así como Maraun *et al.* (2004) y

Domes *et al.* (2007), a través de las regiones 18S y 28S del rDNA establecieron las relaciones filogenéticas del grupo Cryptostigmata. También a través de las herramientas moleculares se han propuesto otros tipos de enfoques para evaluar el nivel de variabilidad entre especies de ácaros, por ejemplo: Navajas *et al.* (1992), secuenciaron las regiones no codificantes (ITS2) en el genoma de la familia Tetranychidae y con base en este método se derivaron otras investigaciones, como la de Vargas *et al.* (2005), quienes estudiaron la diferenciación entre especies de *Geomylicbus* para poder definir el grado de especificidad en un sistema huésped-parásito.

II.2 Evaluación de la salud del suelo en México

En México, la evaluación de la degradación del suelo se ha realizado en diversos periodos; 1940, 1997, 1999, 2002 y 2004, a través del INEGI. Las estimaciones muestran que el 64% del territorio presenta degradación del suelo en algún nivel (de ligero a severo) y son las actividades humanas las que han contribuido; ya sea por la pérdida de cubierta vegetal, por el desplazamiento de material parental y por el deterioro interno del suelo, en este último se encuentra la degradación biológica.

De acuerdo a la evaluación de 2002, en el país no ha sido posible establecer una valoración de la salud del suelo a través de criterios biológicos, ya que el daño biológico se ha inferido a través de la degradación química, la cual se asocia directamente con la disminución o eliminación de la productividad biológica del suelo (Gordillo-Martínez *et al.*, 2010; SEMARNAT, 2004).

Conocer la composición de la comunidad de la mesofauna, con la finalidad de determinar las perturbaciones en el suelo, es una herramienta que se ha estudiado principalmente en los Países Bajos (Bongers, 1990) y Estados Unidos (Gupta & Yeates, 1997). En Sudamérica, Colombia (Machado-Restrepo, 2009) y Costa Rica (Esquivel-Hernández, 2011) han tenido aproximaciones para evaluar sus suelos mediante parámetros biológicos. Sin embargo, en México no se encuentran precedentes.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Planteamiento del problema

En México, la mesofauna ha sido poco investigada en conjunto y recientemente se ha comenzado a estudiar bajo el contexto de la diversidad genética que representa en el suelo. Por otra parte, los nemátodos, colémbolos y ácaros se consideran una herramienta útil, para conocer el estado de salud de su ambiente, debido a la capacidad bioindicadora que poseen.

Por esto, para profundizar en el conocimiento de estos grupos y resaltar sus cualidades como bioindicadores ambientales en diferentes usos de suelo, se considera necesaria la caracterización molecular, la identificación taxonómica y la estimación de abundancia y densidad de la mesofauna.

Justificación

Debido a que en México la aplicación de las herramientas moleculares para el conocimiento de la biodiversidad apenas comienza a desarrollarse, el uso conjunto de la biología molecular y la taxonomía es novedoso y ofrece una nueva visión para el estudio de la mesofauna. Por otro lado, la evaluación de los suelos mexicanos a través de su composición biótica ha sido nula o poco desarrollada, por esto, esta fauna es un componente clave en los ecosistemas que nos ayudará a enriquecer nuestro panorama sobre la interacción entre los grupos de la mesofauna y los impactos que ocasionan las actividades humanas sobre la salud del suelo.

IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo General

Determinar molecular y taxonómicamente la comunidad de nemátodos, colémbolos y ácaros de diferentes localidades de Puebla y Veracruz, además de conocer su abundancia y densidad.

Objetivos Particulares

1. Aplicar herramientas moleculares previamente desarrolladas en nemátodos, colémbolos y ácaros para caracterizar a estos grupos en los sitios de muestreo.
2. Definir MOTU's mediante réplicas de los individuos utilizados en la extracción y la secuenciación para ser identificados taxonómicamente.
3. Analizar a través de filogramas las relaciones de parentesco entre MOTU's del mismo género, ubicadas en ambos estados.
4. Contabilizar la abundancia e inferir la densidad de nemátodos, colémbolos y ácaros para relacionar estos atributos con factores ambientales y de uso de suelo.
5. Calcular el Índice de madurez y las variantes de este método en las comunidades de nemátodos.
6. Identificar taxonómicamente los grupos más abundantes de colémbolos y ácaros.

Hipótesis

En cuanto a la abundancia y densidad de la mesofauna en los sitios con diferente uso de suelo, se propone que las comunidades presentarán una mayoría en los sitios considerados con poco disturbio, en comparación con las zonas de manejo agrícola. Respecto a la estructura trófica de nemátodos (Índice de madurez), se encontrarán valores mayores en las zonas con poco disturbio.

V. MATERIAL Y MÉTODO

V.1 Sitios de estudio

Los sitios de estudio se ubican en Puebla y Veracruz y las colectas se realizaron en mayo de 2013 y junio de 2014. Ambos muestreos correspondieron a la temporada de lluvias (Fig. 1; Apéndice 1). La elección de los sitios para el primer año de muestreo (2013) fueron bajo la premisa de contrastar dos campos con diferente uso de suelo. Por un lado, sitios en donde se presentara un cultivo agrícola, en este caso, Atlixco, Puebla (ATL) y “La Soledad” en Martínez de la Torre, Veracruz (SOL). Por otro lado, aquellos ambientes sin cultivo y que presentaron poco disturbio, sean éstos los municipios de Izúcar de Matamoros, Puebla (IZU), Tepexco, Puebla (TEPE) y “El Clarín” Tlapacoyan, Veracruz (CL). Para el segundo año de colecta (2014) se monitorearon las mismas localidades, con excepción de Izúcar de Matamoros que fue ubicada unos kilómetros adelante, en el municipio de Tepexco (TEPE).

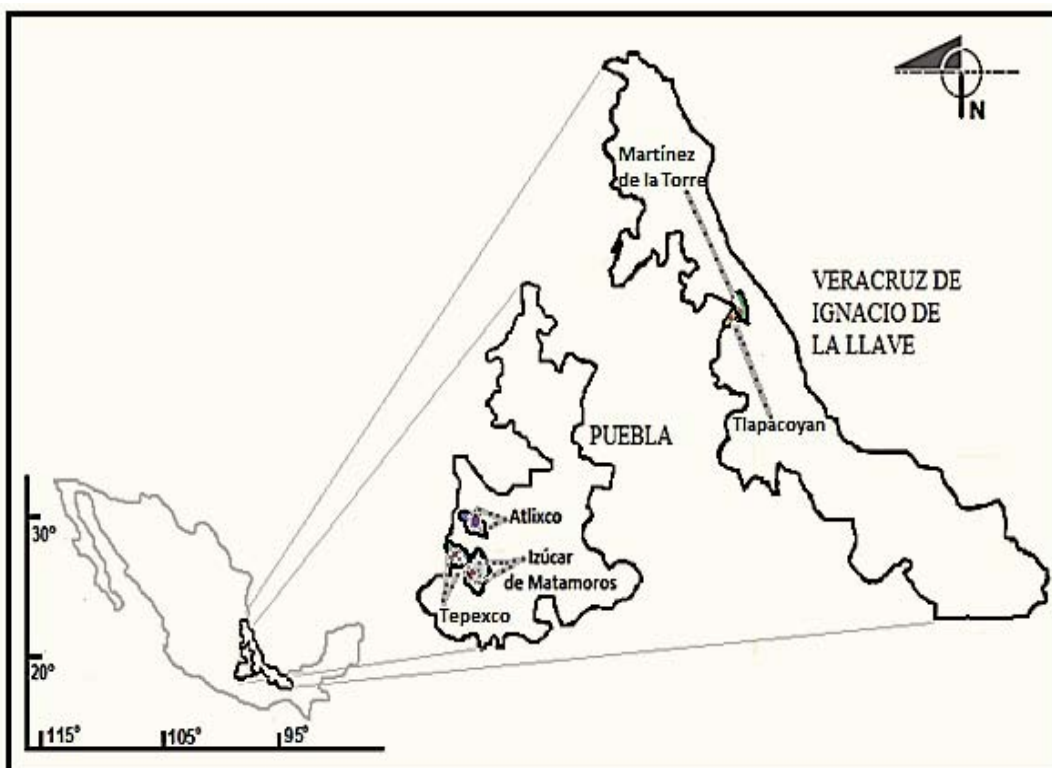


Figura 1. Representación de las localidades muestreadas en Puebla y Veracruz.

V.1.1 Puebla

En el municipio de Atlixco, la primera colecta (2013) fue sobre un cultivo agrícola de *Medicago sativa* (alfalfa). Para el siguiente año (2014) esta localidad se presentó como un terreno en abandono, con presencia de pastos sin motivo comercial (Fig. 1; Tabla 1; Apéndice 1).

Izúcar de Matamoros en 2013 se caracterizó por poseer vegetación de matorral xerófilo, sin embargo, para el 2014 el muestreo se desplazó al municipio de Tepexco, en una ladera con vegetación de selva baja caducifolia sin perturbación aparente (Fig. 1; Tabla 1; Apéndice 1).

Tabla 1. Generalidades de los sitios de estudio en el estado de Puebla.

Atributos de los sitios de muestreo	Atlixco, Puebla.	Izúcar de Matamoros, Puebla.	Tepexco, Puebla.
Ubicación	Región Centro Oeste de Puebla	Región Suroeste de Puebla	Región Suroeste de Puebla
Latitud	18.903222	18.611250	18.655806
Longitud	-98.418861	-98.489194	-98.657944
Altitud	1800 msnm	1350 msnm	1349 msnm
Temperatura mín.-máx.	10 - 26°C	18 - 26°C	21- 25°C
Tipo de Clima	Semicálido húmedo con lluvias en verano (ACf)	Cálido subhúmedo con lluvias en verano (Aw)	Cálido subhúmedo con lluvias en verano (Aw)
Tipo de Vegetación	Bosque templado, pastizal y suelo de cultivo	Selva baja caducifolia y vegetación secundaria	Selva baja caducifolia y pastizal
Tipo de uso de suelo	Agricultura y zona urbana	Agricultura y zona urbana	Agrícola y pecuario

V.1.2 Veracruz

Las colectas se realizaron en 2 estaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la Facultad de MVZ, UNAM. Los sitios se ubicaron en los límites de los municipios de Tlapacoyan y Martínez de la Torre (Fig. 1; Tabla 2; Apéndice 1).

En el predio “La Soledad” (Martínez de la Torre), el muestreo en 2013 se realizó sobre un cultivo de *Cratylia argenta* (Cratylia), leguminosa forrajera empleada para el ganado y en el año siguiente (2014) se presentó la misma vegetación pero más desarrollada. En el predio “El Clarín” (Tlapacoyan) el muestreo se realizó en un sitio de bosque subtropical (UNAM, 2012), en ambos

años de colecta se encontró con bajo disturbio aparente, aunque bajo la influencia de las corrientes estacionales del Río Bobos (Fig. 1; Tabla 2; Apéndice 1).

Tabla 2. Generalidades de los sitios de estudio en el estado de Veracruz.

Atributos de los sitios de muestreo	“La Soledad” CEIEGT, UNAM.	“El Clarín” CEIEGT, UNAM.
Ubicación	Kilómetro 3.5 del camino vecinal Martínez de Torre - Novara	Kilómetro 5.5 de la Carretera Federal Martínez de la Torre - Tlapacoyan
Latitud	20.039972	20.040778
Longitud	-97.082556	-97.108278
Altitud	112 msnm	98 msnm
Temperatura mín.-máx.	22°C - 26°C	22°C - 24°C
Tipo de Clima	Entre la zona costera sub-húmeda y húmeda	Entre la zona costera sub-húmeda y húmeda
Tipo de Vegetación	Pastizal y suelo de cultivo	Bosque subtropical
Tipo de uso de suelo	Agricultura y producción pecuaria	Pecuaria, agrícola, urbana y reserva

V.2 Muestreo

Para la obtención de las muestras se realizó un patrón de 10 unidades con una distribución heterogénea en zigzag y un espacio equidistante de 2 m entre cada punto de muestreo. Se referenció cada punto con GPS y con un termo-hidrómetro (IAQ-Calc 8760/8762) se registró la humedad relativa, temperatura y fracción molar de CO₂ a 15 cm de profundidad (Tabla 3).

La obtención de muestras para la extracción de microartrópodos se realizó con la ayuda de un recipiente plástico de un área de 110 cm² (10.5 cm de largo x 10.5 cm de ancho x 4.5 cm de alto). Cada muestra de hojarasca para los ambientes conservados y suelo con vegetación para las localidades de manejo agrícola fue colectada entre la superficie del suelo y a profundidad de 5 cm (Álvarez-Ríos, 2012). Las muestras de nemátodos del suelo fueron tomadas con una pala a una profundidad de 5 a 20 cm a partir de la superficie del terreno y medidas con un recipiente plástico.

Tabla 3. Parámetros ambientales de las localidades muestreadas en 2013 y 2014.

Año de colecta	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Parámetro	T ^a	T ^a	CO ₂	CO ₂	Humedad	Humedad
Localidad	(°C)	(°C)	(ppm)	(ppm)	(RH %)	(RH %)
Atlixco, cultivo de alfalfa.	24.36	26.16	99.3	140.6	69.69	62.96
Izúcar, matorral xerófilo / Tepexco, selva baja.	39.54	26.51	125.8	200.7	35.98	74.27
"La Soledad", cultivo de <i>Cratylia</i> .	27.67	30.45	227.7	324.6	86.44	80.32
"El Clarín", bosque subtropical	31.21	31.59	246.3	432.9	91.34	74.48

V.3 Herramientas Moleculares

El trabajo de Biología Molecular se llevó a cabo en el Taller de Sistemática y Biogeografía del Departamento de Biología Evolutiva de la Facultad de Ciencias, UNAM.

V.3.1 Extracción de DNA

Un solo individuo fue transferido a 1 µl de solución TE (buffer Tris EDTA) para ser lavado e hidratado. En cada extracción se realizó lo siguiente: el individuo fue fragmentado y colocado en un tubo de 1.5 µl; se agregaron 35 µl de solución de lisis, 1 µl de proteinasa K y 265 µl más de solución de lisis; se incubó la mezcla a 60°C por media hora; después se añadió 1 µl de RNAasa y se incubó a 37°C por 30 min; al finalizar se enfrió en hielo 5 min; se añadieron 150 µl de Protein precipitation (MPC) agitando en un vortex y se centrifugó a 13,800 rpm por 15 min; fue retirado el sobrenadante y se agregaron 500 µl de isopropanol a -20°C, mezclando por inversión; nuevamente se centrifugó y al terminar se retiró el sobrenadante. El pellet se lavó con etanol 70° a -20°C y se dejó secar. El DNA fue resuspendido con TE y conservado a -20°C.

V.3.2 Reacciones de PCR

Para cada reacción de PCR se agregaron 0.5 µl de dNTPs [0.2 µM c/u], 0.75 µl de cada primer o cebador [0.5 µM], 5 µl de Buffer 5X, 5 µl de MgCl₂ [2 µM] y 12 µl de Lambda H₂O, además se agregó 1 µl de DNA junto con los primers o cebadores Forward (sentido 5'-3') y Reverse (anti-sentido 3'-5') de los genes seleccionados. Un control negativo (sin DNA) incluido para cada reacción. El instrumento utilizado fue un termociclador marca Axygen (THERM-1000-2).

V.3 2.1 Marcadores Moleculares

En nemátodos se emplearon 7 pares de primers. Con el primer par (GS18S4-26R) se amplificaron las regiones del gen 18S y una sección del gen ITS1 (Nadler *et al.*, 2007). El marcador 28S se amplificó a través de los primers D₂A-D₃B (dominios D1 y D2; De Ley *et al.*, 1999) y del par 391a-501 (parte de los dominios D1-D3 de la región LSU; Stock *et al.*, 2001) (Tabla 4). El perfil de amplificación para el PCR consistió de: 3 min a 94°C; 36 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 54°C y 1 min a 72°C, con una extensión final de 7 min a 72°C.

Tabla 4. Primers o cebadores para los marcadores 18S y 28S rDNA en nemátodos.

Primer	Secuencia 5' - 3'	Dirección	Referencia
GS18S4	GCTTGTCTCAAAGATTAAGCC	Forward	Blaxter <i>et al.</i> , 1998
26R	CATTCTTGGCAAATGCTTTCG	Reverse	Blaxter <i>et al.</i> , 1998
18S1A	GGCGATCGAAAAGATTAAGCCATGCA	Forward	Nadler <i>et al.</i> , 2007
647	CATTCTTGGCAAATGCTTTCG	Reverse	Nadler <i>et al.</i> , 2007
645	CTGGCACCAGACTTGCCCTC	Reverse	Nadler <i>et al.</i> , 2007
136	TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC	Reverse	Nadler <i>et al.</i> , 2007
D ₂ A	ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG	Forward	De Ley <i>et al.</i> , 1999
D ₃ B	TCGGAAGGAACCAGCTACTA	Reverse	De Ley <i>et al.</i> , 1999
391a	AGCGGAGGAAAAGAACTAA	Forward	Nadler <i>et al.</i> , 2003
501	TCGGAAGGAACCAGCTACTA	Reverse	Thomas <i>et al.</i> , 1997; Stock <i>et al.</i> , 2001

En el caso de los colémbolos se utilizaron los primers (C1-D2) para las regiones D1 y D2 del gen 28S rDNA (800 pb), utilizados por D'Haese (2002) para realizar análisis filogenéticos (Tabla 5). El perfil de amplificación para el PCR consistió de: 1 min a 72°C; 40 ciclos por 30 s a 94°C, 45s a 52°C y 90 s a 72°C, con una extensión final de 5 min a 72°C (Schneider *et al.*, 2011).

Tabla 5. Primers o cebadores para los marcadores 28S rDNA utilizados en colémbolos.

Primer	Secuencia 5' - 3'	Dirección	Referencia
C1	ACCCGCTGAATTTAAGCAT	Forward	D'Haese, 2002
D2	TCCGTGTTTCAAGACGGG	Reverse	D'Haese, 2002

Para el grupo de los ácaros, se eligieron primers para la amplificación de la subunidad 18S ribosomal. Estos fragmentos corresponden a un peso aproximado de 700 pb. Para este taxón se amplificó la región D2 del gen 18S rDNA (Black IV *et al.*, 1997; Dabert *et al.*, 2010) (Tabla 6). El perfil de amplificación consistió de: 2 min a 94°C; 35 ciclos de 52 s a 94°C, 60 s a 58°C, 90 s a 72°C y una extensión final de 10 min a 72°C (Thoma *et al.*, 2014).

Tabla 6. Primers o cebadores utilizados en ácaros para la amplificación del 18S rDNA.

Primer	Secuencia 5' - 3'	Dirección	Referencia
FW1230	TGAAACTTAAAGGAATTGACG	Forward	Skoracka & Dabert, 2010; Dabert <i>et al.</i> , 2010
Rev18S	TGATCCTTCCGCAGGTTACCT	Reverse	Laumann <i>et al.</i> , 2007; Dabert <i>et al.</i> , 2010

V.3.3 Electroforesis

Se empleó un gel de agarosa al 1% en un buffer de TBE [1X]. Se cargó 1µl del producto de la amplificación por PCR. Las muestras fueron incluidas al gel mediante un buffer de carga (5XSGB) y se colocó un marcador de peso molecular (ladder 100 pb Axygen). La electroforesis corrió en buffer de TBE 1X, aplicando 100 V por una hora. El gel se tiñó con bromuro de etidio (Labnet) [0.2 µg/ml]. Los gels se visualizaron en un transiluminador UV (2UVTM Benchtop).

V.3.4 Secuenciación de fragmentos de DNA

La secuenciación se realizó en el Instituto de Biología, UNAM, utilizando un secuenciador ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Los productos del PCR fueron empleados para la secuenciación de DNA, junto con los cebadores 5'-3' para el gen 18S y 28S.

V.4 Herramientas Bioinformáticas

V.4 .1 Análisis de secuencias

El electrofenograma resultante se analizó para otorgar un resultado de calidad a cada base (Heracle BioSoft, 2013). La conversión de las secuencias al formato FASTA se realizó en el programa Bioedit v7.0.5.3 (Hall, 2013). Para el alineamiento se empleó el algoritmo MUSCLE, implementado en el software MEGA 6.06 (Tamura *et al.*, 2013) con los parámetros 'por default'. En este mismo programa se construyó la matriz de distancias genéticas, al igual que los filogramas bajo los criterios de Máxima Verosimilitud (ML), según el modelo de sustitución GTR (General Time Reversible) y con bootstrap de 1,000 (Hall, 2011).

V.4.2 Definición de MOTU's

Las MOTU's se definieron mediante caracterización molecular e identificación taxonómica, de la siguiente manera:

- a. Las secuencias obtenidas se compararon en GenBank de NCBI (Benson *et al.*, 2013) a través de un BLASTn (Johnson *et al.*, 2008), optimizando la búsqueda de secuencias con la más alta similitud (algoritmo Megablast). Se eligieron los resultados de mayores porcentajes de similitud (Max score, Total score, Query cover, Ident y E value) para cada secuencia (Apéndice 2).
- b. Además se identificaron taxonómicamente las réplicas (individuos con mayor similitud morfológica) de los individuos secuenciados.

V.4.3 Exactitud de la secuenciación

El error experimental se puede observar a través de resecuenciaciones, es decir, llevar a cabo cierto número de amplificaciones (PCR's), a partir de una misma cadena de DNA molde (extracción de un individuo), ya que este ejercicio muestra el error en los caracteres alineados (Floyd *et al.*, 2002) y resuelve las dudas o ambigüedades que se puedan tener en cuanto a la posición de las bases, a través de los electrofenogramas.

V.5 Técnicas de extracción de mesofauna edáfica

El trabajo de taxonomía y ecología se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos del Departamento de Ecología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

V.5.1 Embudo de Berlese-Tullgren

Se colocaron las muestras de hojarasca en el embudo Berlese-Tullgren, la mesofauna extraída cayó en un envase colector. El primer día fue fijada en etanol 96° y preservada a -20°C para realizar extracciones de DNA. Las muestras permanecieron los tres días posteriores en los embudos y fueron expuestas a una lámpara de 25 W, los organismos colectados se preservaron en etanol 70°.

V.5.2 Tamizado por embudo de Baermann

Para el tamizado, cada muestra de suelo se homogenizó y en una probeta de 1 L se colocaron 200 g de suelo, se aforó con agua hasta un volumen de 400 ml. En una cubeta se mezcló el volumen aforado con 2 L de agua, esta mezcla se pasó por los tamices de 25 y 60 mallas, eliminando el cernido (ramas y rocas >3cm) (Arriaga-Franco, 1987). A continuación se cernió por los tamices de 100, 200, 350 y 400 mallas y en un frasco, con la ayuda de una piceta, se recolectó el suelo de cada cernidor. La técnica del embudo de Baermann se desarrolló montando un embudo de vidrio en un soporte universal, en la parte más ancha del embudo se puso un colador de plástico y en la parte más angosta se añadió una manguera de goma, que fue cerrada en el ápice con una pinza Mohr. El colador se cubrió con un pañuelo desechable, sobre el que se agregó el material del tamizado. Las colectas se realizaron a las 24 y 48 h, con un promedio de 130 ml de agua, volumen que fue dividido para utilizar tres fijadores diferentes; etanol 96°, etanol 70° y FA 4:1. En el único caso en el que no se sacrificaron los individuos por medio de calor fue al usar etanol 96°, muestras que también fueron resguardadas a -20°C, lo cual evita daño en el material genético, para la obtención de secuencias de DNA (Hillis *et al.*, 1996).

V.5.3 Deshidratación, aclarado y montaje

En el caso de los nemátodos, las muestras fijadas en FA 4:1 se mantuvieron 4 días en esta solución antes de pasar a la deshidratación. Los nemátodos se separaron en una microsiracusa y se depositaron en una campana de etanol. Las muestras permanecieron dentro de la campana hasta que se eliminó el olor a formol en un tiempo de 24-48 h y, por último, se transfirieron a glicerina anhidra de acuerdo con el método de Seinhorst modificado por De Grisse (1969).

Los colémbolos se colocaron en potasa al 10%, donde permanecieron hasta cambiar su coloración (rojiza o transparente), enseguida se cambiaron a lactofenol y se dejaron aclarar. El organismo se montó sobre líquido de Hoyer quitando el exceso de lactofenol y las laminillas se dejaron secar en la estufa a 40°C de 5-7 días. (Palacios-Vargas & Mejía-Recamier, 2007).

Para los ácaros Prostigmados se llevó a cabo un método similar al empleado en colémbolos. Sin embargo, éstos solamente fueron aclarados en lactofenol entre 4-6 días, después se extrajeron de esta sustancia quitando el exceso y se montaron en líquido de Hoyer. En cuanto a los ácaros

Mesostigmados, Oribátidos y Astigmados se les retiró el exceso de alcohol y fueron colocados en una cápsula de porcelana junto con 2 ml de ácido láctico. La cápsula se introdujo en una estufa a 40°C de 24 a 72 h hasta observar que la cutícula se transparentaba. Una vez aclarados, se extrajeron de la estufa y se limpiaron con alcohol a 70° para quitar el exceso de ácido láctico y, finalmente, se montaron semipermanentemente sobre líquido de Hoyer.

V.5.4 Cuantificación

La separación y conteo de mesofauna se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4 (32X). Los organismos fueron separados en tubos eppendorf según el taxón, localidad y año de muestreo. Se contabilizó la abundancia total contenida en 110 cm² de suelo para nemátodos y en 441 cm² para los microartrópodos del biotopo que los contenía, con estas abundancias se estimó la densidad de los grupos (ind/m²).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1 Desarrollo de herramientas moleculares

VI.1.1 MOTU's - Comparación de similitud respecto a GenBank -

Se generaron 53 secuencias de las cuales 23 correspondieron a nemátodos, 13 a colémbolos y 17 a ácaros. Estas secuencias fueron designadas como MOTU's a través de la comparación en GenBank. Los resultados para cada grupo fueron los siguientes:

- Las 17 secuencias de ácaros fueron amplificadas a partir del marcador 18S y promediaron un 97.7% de identidad respecto a GenBank.
- Para el grupo de los colémbolos se designaron 12 MOTU's con el marcador 28S y también 1 MOTU (correspondiente a *Orthonychiurus folsomi*) fue amplificada con el marcador 18S. Las 13 secuencias promediaron un 90.3% de semejanza con GenBank.
- De las 23 secuencias de nemátodos, 4 fueron secuenciadas con el marcador 18S y el resto con el marcador 28S, en conjunto promediaron 90.7% de afinidad con GenBank, sin embargo sus porcentajes de identidad fueron heterogéneos, entre el 81% en *Pseudacrobeles* y el 100% en *Aporcelaimellus* (Fig. 2; Apéndice 2).

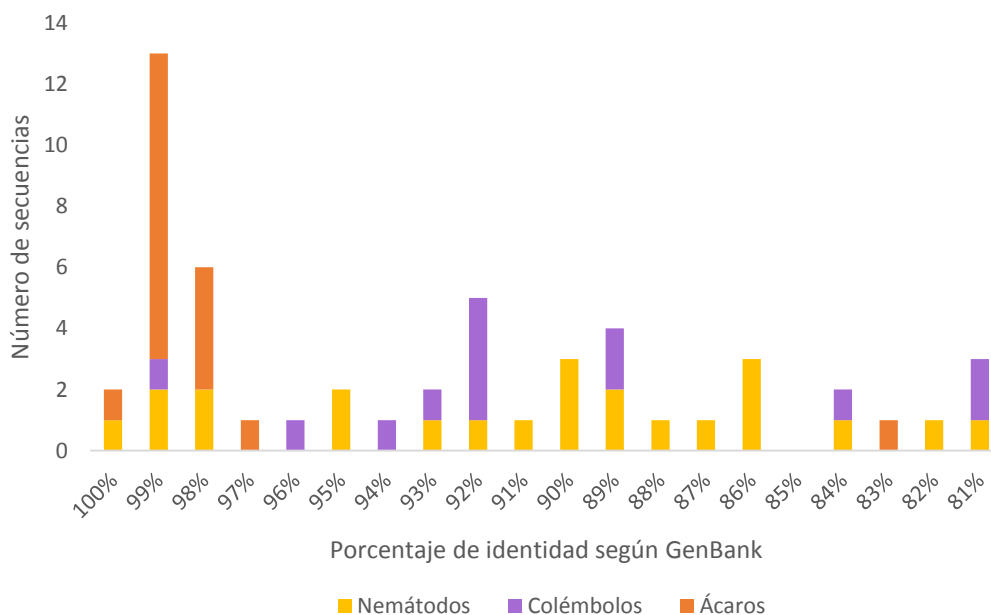


Figura 2. Número de secuencias según el porcentaje de identidad respecto a GenBank.

En este trabajo se observó que los marcadores moleculares utilizados dieron resultados satisfactorios, como lo fue en los trabajos de Sonnenberg *et al.* (2007), quienes evaluaron la utilidad del LSU (28S) como un marcador potencial en la identificación de especies animales, encontrando que la variación en el fragmento D1-D2 permitía el uso de este marcador en los códigos de barras de DNA, ya que esta fracción se compone de regiones conservadas y divergentes.

En algunos grupos taxonómicos, se ha utilizado en menor medida el marcador 28S en comparación con el 18S. Por ello consideramos que las secuencias obtenidas en este trabajo a través del marcador 28S para nemátodos y colémbolos representan un aporte significativo.

En cuanto a la definición MOTU's a través de la comparación de secuencias por un BLASTn se ha discutido que únicamente ayuda a la definición de MOTU's y no a la designación de código de barras de DNA (Creer *et al.*, 2010), debido a que el algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) toma la secuencia con puntuación más alta y cercana al límite de calidad, mostrando la mejor coincidencia para la secuencia de consulta (Query), sin embargo puede pasar por alto puntuaciones superiores o iguales (Blaxter *et al.*, 2005). Por lo anterior, en este trabajo únicamente se describen las secuencias como MOTU's sin llegar a definir un Código de Barras de DNA o DNA Barcode.

VI.1.2 MOTU's -Identificación taxonómica en comparación con GenBank-

La identificación taxonómica de los organismos réplica (individuos con mayor similitud morfológica) sirvieron como sustento para conformar las MOTU's. Para cada taxón se realizaron identificaciones a nivel de género y especie.

En este estudio 10 individuos diferentes, correspondientes a géneros de nemátodos (*Rhabditis*, *Mononchus* y *Tripyla*), colémbolos (*Orthonychiurus*, *Xenylla*, *Hemisotoma* y *Pseudosinella*) y ácaros (*Cosmolaelaps*, *Macrocheles*, *Parasitus*; Mesostigmata) sirvieron como secuencias duplicadas o triplicadas para géneros sin corresponder a resecuenciaciones, ya que el DNA procede de diferentes organismos (Tabla 7).

Aunado a lo anterior, solamente 5 individuos se utilizaron como secuenciaciones múltiples o resecuenciaciones de nemátodos (*Rhabditis* y *Mononchus*), colémbolos (*Xenylla* y *Hemisotoma*) y ácaros (*Parasitus*; Mesostigmata), puesto que el DNA utilizado en la amplificación procedió de un sólo organismo (Tabla 7).

Tabla 7. Secuencias e identificación taxonómica de la mesofauna.

Grupo	Secuencias	Identificación de género	Identificación de especie	Géneros secuenciados más de 1 vez	Resecuenciaciones
Nemátodos	23	18	0	3	2
Ácaros	17	10	3	3	1
Colémbolos	13	5	2	4	2
Total	53	33	5	10	5

La aplicación del concepto MOTU presenta accesibilidad en las investigaciones, dado que los organismos se identifican mediante el análisis de similitud de secuencias (Blaxter *et al.*, 2005). Además la correlación formal con descripciones de especies no se considera necesaria (Floyd *et al.*, 2002). Sin embargo, el uso de la caracterización molecular junto con la identificación taxonómica se ha discutido desde el surgimiento del código de barras para la vida (Hebert *et al.*, 2003).

Hoy en día investigadores como Zhang *et al.* (2014) suponen que es necesaria una revisión apoyada en datos moleculares y morfológicos para formalizar un enfoque multidimensional en la caracterización de un organismo, además de utilizarse como apoyo en la discriminación de especies que presentan variaciones intra específicas. También se ha considerado que la identificación taxonómica es importante, ya que la gran mayoría de las secuencias de DNA registradas en GenBank no cuentan con una referencia taxonómica que las complemente (Lanteri, 2007).

En la actualidad se han implementado técnicas con una correspondencia precisa entre la identificación taxonómica y molecular. Sin embargo, éstas aún son pocas, a causa de que las características de los grupos de la mesofauna, como su tamaño microscópico y sus cutículas degradables, dificultan la recuperación de información morfológica del mismo organismo utilizado en la extracción de DNA. Uno de los trabajos al respecto, lo realizaron Porco *et al.*, (2010), quienes describieron un método no destructivo en la extracción y recuperación de cutículas de colémbolos que pudieron ser utilizadas como especímenes ‘voucher’.

En este estudio la comparación entre secuencias moleculares e identificaciones taxonómicas mostró exacta correspondencia del 70% en nemátodos, 62% en colémbolos y 83.4% en ácaros porque en este trabajo no fue posible emplear métodos que ayudaran a la correspondencia exacta entre secuencias moleculares e identificación taxonómica.

Por otro lado, el análisis de resecuenciación múltiple, se considera una herramienta para evaluar la tasa de error y para mostrar la variación dentro del taxón, que ayude a definir las MOTU's (Blaxter, 2004). En este trabajo se obtuvieron resecuenciaciones, sin embargo no fueron suficientes para establecer error entre las entidades, por ejemplo: Floyd *et al.* (2002) realizaron un análisis con 19 resecuenciaciones y mostraron cómo esta práctica ayuda a delimitar las MOTU's y establecer el error entre ellas, sin embargo aún se considera una práctica muy costosa.

VI.1.3 Caracterización molecular de nemátodos

Los nemátodos caracterizados molecularmente en esta investigación se muestran en la Tabla 8, junto con la identificación taxonómica y los resultados de similitud obtenidos en GenBank.

Tabla 8. Nemátodos. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.

Identificación taxonómica	Serie	Marcador/ Primers	Género con mayor similitud/ Acceso GenBank	Puntuación Total	Query Cover %	E-Value	Identidad %
<i>Aporcelaimellus</i> (Heyns, 1965)	HM 37	18S/ GS18S4-26R	<i>Aporcelaimellus</i> AY284811.1	1555	100	0.0	100
<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	HM 159	28S/ D2A-D3B	<i>Oscheius</i> EU195969.1	1038	96	0.0	99
<i>Helicotylenchus</i> (Steiner, 1945)	HM 232	28S/ 391a-501	<i>Helicotylenchus</i> DQ077794.1	1247	75	0.0	99
<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	HM 225	28S/ 391a-501	<i>Oscheius</i> EU195969.1	1456	91	0.0	98
<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	HM 423	28S/ D2A-D3B	<i>Oscheius</i> EU195969.1	1077	97	0.0	98
<i>Aglenchus</i> (Andrássy, 1954)	HM 58	18S/ GS18S4-26R	<i>Aglenchus</i> FJ969113.1	1290	94	0.0	95
<i>Tripyla</i> (Bastian, 1865)	HM 226	28S/ 391a-501	<i>Tripylina</i> KC117541.1	1105	82	0.0	95
<i>Nothacrobeles</i> (Allen, 1971)	HM 300	28S/ 391a-501	<i>Nothacrobeles</i> DQ145646.1	1386	98	0.0	93
<i>Tripylella</i> (Brzeski, 1993)	HM 305	28S/ 391a-501	<i>Tripylella</i> GQ503051.1	593	46	2e-124	92
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	HM 222	28S/ 391a-501	<i>Mononchus</i> AY593064.1	1378	98	0.0	91
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	HM 324	28S/ D2A-D3B	<i>Mononchus</i> AY593064.1	583	55	3e-127	90
<i>Acrobeles</i> (Von Linstow, 1887)	HM 404	28S/ 391a-501	<i>Acrobeloides</i> DQ903097.1	1164	95	0.0	90
<i>Tripylella</i> (Brzeski, 1993)	HM 224	28S/ 391a-501	<i>Tripylella</i> GQ503051.1	598	52	1e-126	90
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	HM 328	28S/ 391a-501	<i>Mononchus</i> AY593064.1	809	66	7e-110	89
<i>Dorylaimus</i>	HM	28S/	<i>Aporcella</i>	909	95	0.0	89

(Dujardin, 1845)	318	D2A-D3B	JQ778273.1				
<i>Discolaimus</i> (Cobb, 1913)	HM 320	28S/ D2A-D3B	<i>Discolaimus</i> EF207239.1	514	58	1e- 141	88
<i>Aporcelaimellus</i> (Heyns, 1965)	HM 175	28S/ D2A-D3B	<i>Aporcelaimellus</i> JX094341.1	806	93	0.0	87
<i>Tripyla</i> (Bastian, 1865)	HM 319	28S/ D2A-D3B	<i>Tripyla</i> KF270636.1	375	41	6e- 100	86
<i>Panagrolaimus</i> (Fuchs, 1930)	HM 441	28S/ D2A-D3B	<i>Panagrolaimus</i> EU253569.1	691	85	0.0	86
<i>Tylencholaimus</i> (Man, 1876)	HM 323	28S/ D2A-D3B	<i>Tylencholaimus</i> AY593028.1	815	95	0.0	86
<i>Criconemoides</i> (Taylor, 1936)	HM 61	18S/ GS18S4-26R	<i>Criconema</i> AJ966480.1	139	15	9e- 29	84
<i>Eucephalobus</i> (Steiner, 1936)	HM 128	18S/ GS18S4-26R	<i>Eucephalobus</i> HM439769.1	387	64	2e- 103	82
<i>Pseudacrobeles</i> (Steiner, 1938)	HM 194	28S/ D2A-D3B	<i>Eucephalobus</i> HM439770.1	255	42	7e- 64	81

En el presente estudio se comprobó la utilidad del marcador nuclear 18S en nemátodos de vida libre, tal como lo observaron Blaxter *et al.* (2005) quienes realizaron pruebas para la identificación de la mesofauna alojada en musgos, usando este mismo marcador. Las secuencias de nemátodos obtenidas con el marcador 28S, a través de la amplificación de la región D2-D3 también fueron resultados de este estudio, como lo fueron para De Ley *et al.* (1999) en la caracterización morfológica y molecular de cefalóbidos. Así mismo para la amplificación del 28S, el conjunto de cebadores 391a-501 mostró secuencias de calidad, como las que obtuvieron Stock *et al.* (2001) en sus estudios sobre la filogenia del nemátodo *Steinernema*.

En la base de datos GenBank existen 1, 973,159 secuencias parciales de nemátodos con distintos marcadores, entre ellos 18S y 28S, de los cuales 1,084 pertenecen a México. El número de secuencias registradas para los géneros caracterizados en este trabajo fueron: 162 para *Rhabditis*, 313 para *Helicotylenchus*, 89 para *Aporcelaimellus*, 66 en *Tripyla* (2 individuos de México), 12 para *Nothacrobeles*, 8 para *Tripylla* (2 individuos de México), 20 en *Mononchus*, 36 para *Acrobeles*, 5 para *Dorylaimus*, 12 en *Discolaimus*, 216 para *Panagrolaimus*, 26 para *Tylencholaimus*, 52 para *Criconemoides*, 37 para *Eucephalobus* y finalmente *Pseudacrobeles* muestra 10 registros (NCBI-BLAST, 2015).

Las secuencias registradas para México, en su mayoría corresponden a organismos con características patógenas (para plantas o animales), además pocos estudios se han realizado sobre nemátodos de vida libre, entre ellos Cid del Prado *et al.* (2012) obtuvieron secuencias del marcador 18S, describiendo nuevos géneros de la familia Tripyllidae en el estado de Veracruz.

V.1.4 Caracterización molecular de colémbolos

Los colémbolos caracterizados molecularmente en este trabajo fueron: *Orthonychiurus folsomi*, *Hemisotoma thermophila*, *Entomobrya*, *Xenylla*, *Pseudosinella*, *Folsomides* y *Sminthurinus* (Tabla 9).

Tabla 9. Colémbolos. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.

Identificación taxonómica	Serie	Marcador/ Primers	Género con mayor similitud/ Acceso GenBank	Puntuación Total	Query Cover %	E-Value	Identidad %
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer, 1900)	HM 208	18S/ FW1230 -Rev18S	<i>Onychiurus yodai</i> AY037171.1	1168	98	0.0	99
<i>Entomobrya</i> (Rondani, 1861)	HM 41	28S/ C1-D2	<i>Entomobrya marginata</i> LK024309.1	1005	78	0.0	96
<i>Pseudosinella</i> (Schäffer, 1897)	HM 430	28S/ C1-D2	<i>Pseudosinella tumula</i> KC236294.1	1122	93	0.0	94
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer, 1900)	HM 192	28S/ C1-D2	<i>Tetrodontophora bielanensis</i> EU376051.2	1112	96	0.0	93
<i>Xenylla</i> (Tullberg, 1869)	HM 190	28S/ C1-D2	<i>Xenylla humicola</i> LK024440.1	1040	84	0.0	92
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer, 1900)	HM 188	28S/ C1-D2	<i>Tetrodontophora bielanensis</i> EU376051.2	1127	66	0.0	92
<i>Xenylla</i> (Tullberg, 1869)	HM 213	28S/ C1-D2	<i>Xenylla humicola</i> LK024440.1	1042	93	0.0	92
<i>Pseudosinella</i> (Schäffer, 1897)	HM 362	28S/ C1-D2	<i>Pseudosinella tumula</i> KC236294.1	979	100	0.0	92
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	HM 212	28S/ C1-D2	<i>Cryptopygus antarcticus</i> EF199971.2	948	95	0.0	89
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	HM 361	28S/ C1-D2	<i>Cryptopygus antarcticus</i> EF199971.2	911	99	0.0	89
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	HM 189	28S/ C1-D2	<i>Cryptopygus antarcticus</i> EF199971.2	725	96	0.0	84
<i>Folsomides</i> (Stach, 1922)	HM 191	28S/ C1-D2	<i>Folsomides parvulus</i> JN981041.1	708	93	0.0	81
<i>Sminthurinus</i> (Börner, 1901)	HM 360	28S/ C1-D2	<i>Ptenothrix monochroma</i> FJ411425.1	592	99	4e-165	81

La caracterización molecular de colémbolos se ha realizado por autores como D'Haese (2002), quién amplificó las regiones D1-D2 del marcador 28S rDNA, para abordar mediante análisis filogenético la transición evolutiva de los colémbolos. De igual manera en este estudio dichas regiones fueron secuenciadas para la caracterización de los colémbolos de Puebla y Veracruz.

Actualmente estudios realizados sobre la filogenia de Collembola, han utilizado distintos marcadores nucleares, entre ellos el 18S y 28S. El trabajo realizado por Xiong *et al.* (2008) muestra una filogenia para este grupo a partir de marcadores nucleares y resuelve que no hay más de cinco grupos principales: Poduromorpha, Tomoceroidea, Entomobryomorpha, Neelipleona y Symphypleona; sin embargo, se requiere de un mayor número de datos para poder identificar la posición entre los grupos. Zhang *et al.* (2014), también utilizaron un marcador nuclear y mitocondrial, para crear una filogenia molecular y así poder examinar la evolución de la familia Entomobryidae.

Actualmente en GenBank existen 1,605 secuencias parciales de colémbolos amplificadas con el marcador 28S, de este número de secuencias no hay registros para *Orthonychiurus folsomi* (aunque existen 7 para *Onychiurus* 28S y 3 para *Onychiurus* 18S), *Entomobrya* presenta 27 secuencias, *Hemisotoma thermophila* no posee registros (aunque 56 para *Cryptopygus* 28S), *Xenylla* muestra 27, *Pseudosinella* 6 registros, *Folsomides* 1 registro y *Sminthurinus* 19 (NCBI-BLAST, 2015).

Revisando en esta misma base de datos genéticos, sabemos que en México se han caracterizado únicamente cuatro secuencias de colémbolos a través del marcador COI. Sin embargo, estos colémbolos no fueron identificados taxonómicamente y solamente fueron asignados como miembros del grupo Collembola (Prosser *et al.*, 2013). Por lo tanto, estas secuencias principalmente las referentes a *Orthonychiurus folsomi*, *Hemisotoma thermophila* y *Sminthurinus* serían nuevas referencias en dicha base y las primeras registradas con los marcadores nucleares 18S y 28S utilizados para colémbolos procedentes de Puebla y Veracruz.

VI.1.5 Caracterización molecular de ácaros

Los ácaros de este trabajo caracterizados molecularmente a través del marcador 18S fueron:

- I. Mesostigmata: *Macrocheles*, *Parasitus*, *Neoseiulus*, *Gamasiphis*, *Cosmolaelaps* y *Uroobovella*.
- II. Cryptostigmata: *Malaconothrus*, *Rostrozetes*, *Mochlozetes*, *Scheloribates* y *Nasobates spinosus*.
- III. Astigmata: *Tyrophagus putrescentiae*.

Tabla 10. Ácaros. Taxonomía, caracterización molecular y resultados de GenBank.

Identificación taxonómica	Serie	Marcador/ Primers	Género con mayor similitud/ Acceso GenBank	Puntuación Total	Query Cover %	E- Value	Identidad %
<i>Malaconothrus</i> (Berlese, 1904)	HM 445	FW1230/ -Rev18S	<i>Malaconothrus</i> <i>gracilis</i> EF091424.1	1192	96	0.0	100
<i>Macrocheles</i> (Latreille, 1829)	HM 215	FW1230/ -Rev18S	<i>Macrocheles</i> AY620939.1	1162	99	0.0	99
<i>Macrocheles</i> (Latreille, 1829)	HM 217	FW1230/ -Rev18S	<i>Macrocheles</i> AY620939.1	1146	98	0.0	99
<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	HM 207	FW1230/ -Rev18S	<i>Parasitus</i> <i>kraepelini</i> GQ864296.1	1033	100	0.0	99
<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	HM 216	FW1230/ -Rev18S	<i>Parasitus</i> GQ864296.1	1083	94	0.0	99
<i>Tyrophagus</i> <i>putrescentiae</i> (Schrank, 1781)	HM 218	FW1230/ -Rev18S	<i>Tyrophagus</i> <i>putrescentiae</i> AY499563.2	1142	95	0.0	99
<i>Rostrozetes</i> (Sellnick, 1925)	HM 267	FW1230/ -Rev18S	<i>Rostrozetes</i> <i>ovulum</i> HM070342.1	1147	97	0.0	99
<i>Neoseiulus</i> (Hughes, 1948)	HM 336	FW1230/ -Rev18S	<i>Neoseiulus</i> <i>womersleyi</i> AB618062.1	1168	98	0.0	99
<i>Gamasiphis</i> (Berlese, 1904)	HM 338	FW1230/ -Rev18S	<i>Gamasiphis</i> <i>pulchellus</i> AF115374.1	1205	98	0.0	99
<i>Cosmolaelaps</i> (Berlese, 1903)	HM 344	FW1230/ -Rev18S	<i>Cosmolaelaps</i> <i>trifidus</i> L76343.2	1162	98	0.0	99
<i>Tyrophagus</i> <i>putrescentiae</i> (Schrank, 1781)	HM 341	FW1230/ -Rev18S	<i>Tyrophagus</i> <i>putrescentiae</i> AY499563.2	1125	94	0.0	99
<i>Scheloribates</i> <i>praencisus</i> (Berlese, 1910)	HM 426	FW1230/ -Rev18S	<i>Scheloribates</i> <i>pallidulus</i> AB818527.1	1157	98	0.0	98
<i>Cosmolaelaps</i> (Berlese, 1903)	HM 343	FW1230/ -Rev18S	<i>Cosmolaelaps</i> <i>trifidus</i> L76343.2	1101	98	0.0	98
<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	HM 214	FW1230/ -Rev18S	<i>Parasitus</i> GQ864296.1	1072	90	0.0	98

<i>Mochlozetes</i> (Mahunka, 1978)	HM 337	FW1230/ -Rev18S	<i>Oripoda</i> AB818532.1	1144	98	0.0	98
<i>Nasobates spinosus</i> (Woolley, 1966)	HM 426	FW1230/ -Rev18S	<i>Scutovertex</i> <i>sculptus</i> GQ864305.1	1016	97	0.0	97
<i>Uroobovella</i> (Berlese, 1905)	HM 340	FW1230/ -Rev18S	<i>Uroobovella</i> DQ144649.1	460	83	1e- 125	83

Los trabajos realizados para ácaros con base en marcadores nucleares, corresponden principalmente a estudios filogenéticos, en los cuales el marcador 18S ha sido útil para construir estas relaciones. Por ejemplo, Dabert *et al.* (2010) realizaron un amplio análisis sobre los Acariformes, con el que distinguieron los grupos de Oribátidos y Prostigmados. Por otra parte la filogenia de Parasitiformes también se construyó a través de marcadores nucleares (Klompen *et al.*, 2007). De esta manera los marcadores utilizados para la secuenciación de ácaros en el presente estudio fueron efectivos, tanto para los linajes de Parasitiformes (Mesostigmata), como para los Acariformes (Cryptostigmata y Astigmata), exceptuando para el grupo Prostigmata, cuyas amplificaciones resultaron negativas, pudiendo mejorar el protocolo.

La referencia más común sobre secuencias moleculares hasta ahora es GenBank. En esta base, los registros encontrados para el marcador 18S de los ácaros Mesostigmata caracterizados en este trabajo fueron: *Macrocheles* muestra 10 secuencias registradas, *Parasitus* tiene 1 secuencia, *Neoseiulus* 105 registros, *Gamasiphis* 2 registros, *Cosmolaelaps* 3 registros y *Uroobovella* 1 secuencia registrada (aunque 3 registros con el marcador 28S para México; Knee *et al.*, 2012).

Los registros encontrados para los ácaros Cryptostigmata caracterizados con 18S fueron: 3 para *Malacothonrus*, 2 para *Rostrozetes*, 0 para *Mochlozetes*, 2 para *Schelorbates* y 0 para *Nasobates*.

Los registros mostrados para marcador 18S en el grupo de los Astigmata fue de 12 para *Tyrophagus putrescentiae* (NCBI-BLAST, 2015).

Los datos anteriores indican que las secuencias de ácaros presentadas en este trabajo para el marcador 18S también pueden formar parte de nuevos registros en GenBank, principalmente para *Mochlozetes* y *Nasobates spinosus*, de los cuales no hay secuencias que precedan a estos resultados.

VI.1.6 Análisis de Máxima Verosimilitud

En este análisis se compararon las MOTU's compartidas tanto en Puebla como en Veracruz. Para ácaros el género *Tyrophagus* se distribuyó en ambos estados, en cuanto a los colémbolos, *Hemisotoma thermophila* presento esta característica y dentro de los nemátodos se compartieron los géneros *Mononchus*, *Tripyla* y *Tripylrella*. Los árboles de Máxima Verosimilitud sirvieron para la comparación de individuos del mismo género que fueron registrados en localidades diferentes.

En general, las herramientas moleculares aplicadas a través de la secuenciación de marcadores nucleares 18S y 28S han sido útiles para el conocimiento de la biodiversidad del suelo, la búsqueda de caracteres homólogos y la construcción de filogenias (Blaxter *et al.*, 1998; Bik *et al.*, 2010). Los análisis filogenéticos moleculares pueden utilizarse para generar hipótesis comprobables de la interrelación de MOTU's (Blaxter, 2004). Además se ha reconocido que mediante una prueba de Máxima Verosimilitud es posible estimar la posibilidad de que una secuencia pueda asignarse a determinada especie o a distintas áreas geográficas (Lanteri, 2007).

VI.1.7 Nemátodos

En este análisis se eligieron las secuencias del marcador 28S. Los resultados muestran que 13 MOTU's diferentes se logran distinguir dentro de los cinco grupos funcionales de nemátodos. *Mononchus*, *Tripyla* y *Tripylrella* fueron las MOTU's que pertenecen a diferentes localidades de ambos estados (Fig. 3; recuadros verdes).

Los resultados de esta comparación muestran 5 Clados que agrupan a las familias estudiadas. El Clado I reunió familias de bacteriófagos (*Nothacrobeles*, *Acrobeles*, *Pseudoacrobeles*, *Panagrolaimus* y *Rhabditis*) y unido a éstas el género *Helicotylenchus* representante fitófago. En el Clado II se agrupó a *Mononchus*, definido como un género de omnívoros-depredadores. El Clado III corresponde a géneros de nemátodos omnívoros (*Discolaimus*, *Aporcelaimellus* y *Dorylaimus*) y un fungívoro (*Tylencholaimus*). Finalmente el clado IV y V se componen de *Tripyla* y *Tripylrella* conocidos como familias de depredadores (Fig. 3).

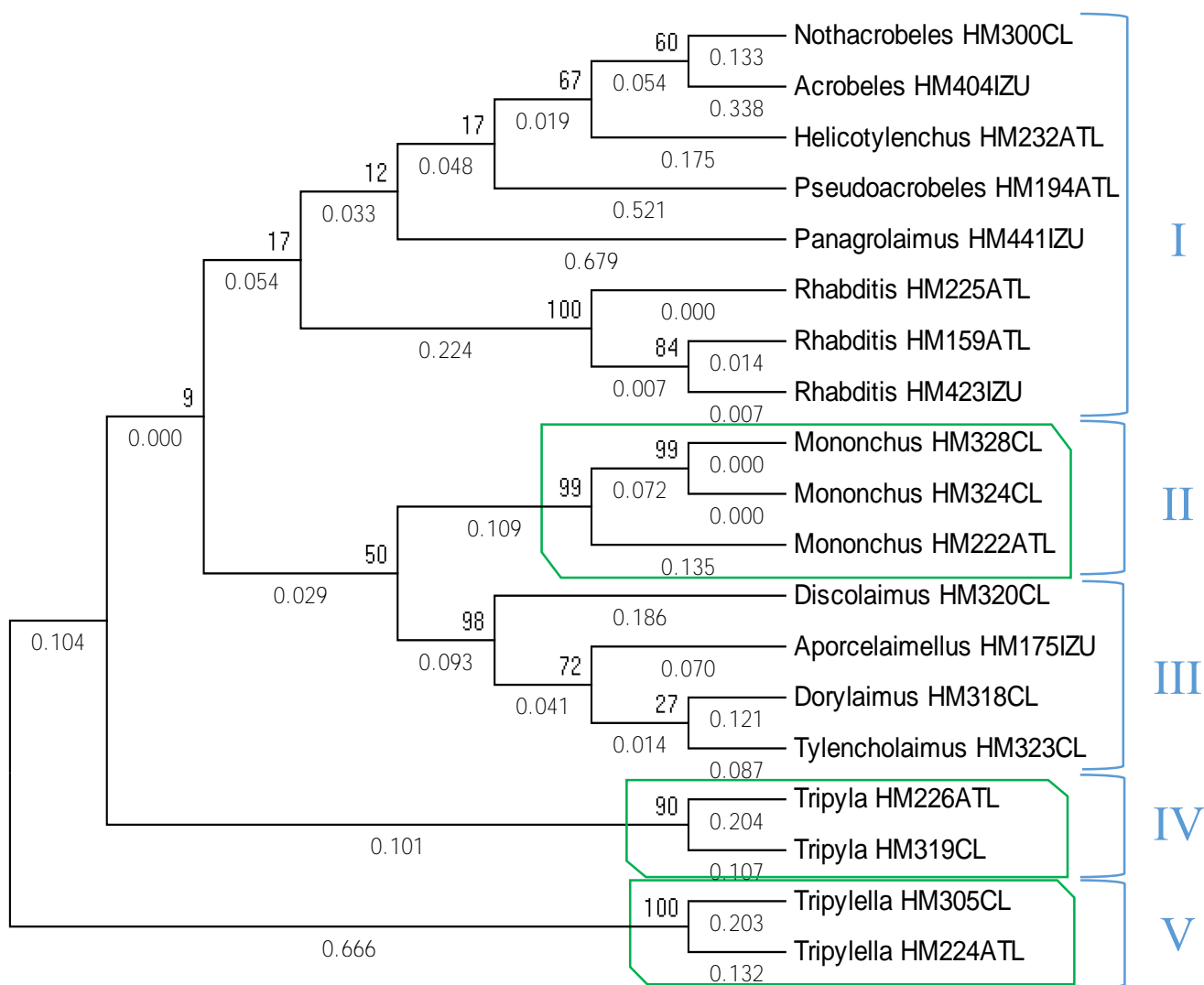


Figura 3. Árbol de Máxima Verosimilitud para nemátodos a partir del marcador 28S rDNA. Recuadros verdes, representan los géneros compartidos en Puebla y Veracruz. Los valores encima de las ramas representan el soporte de bootstrap.

El árbol muestra una relación filogenética en la que se distinguen al menos cuatro grupos funcionales en los diferentes Clados (bacteriófagos, fitófagos, omnívoros y depredadores).

La hipótesis en nemátodos respecto al cambio a nivel de género según la distribución geográfica muestra que dentro de *Mononchus* (con 99% de peso en las ramas y 0.07 en la sustitución de bases) se encuentran diferentes especies entre los estados de Puebla y Veracruz. Para *Tripyla* (soporte de ramas de un 90% y una distancia de 0.10) también se muestra una diferencia amplia dentro del género. Y *Tripylella* (100% de peso en las ramas y valor de la distancia genética >0.13) demuestra altas variaciones entre las localidades comparadas (Fig. 3).

VI.1.8 Colémbolos

El árbol de ML muestra 3 divisiones importantes, que corresponden a los grupos Poduromorpha, Entomobryomorpha y Symphypleona y que se han presentado ya en estudios para la filogenia de Collembola (Xiong *et al.*, 2008).

En la comparación *Hemisotoma thermophila* tuvo representantes que procedieron de Puebla (Atlixco) y Veracruz (“El Clarín”) (Fig. 4; recuadro morado). El análisis mostró 3 Clados principales. El Clado I corresponde a los Entomobryomorpha, de los cuales 2 géneros pertenecen a la familia Isotomidae: *Hemisotoma* y *Folsomides*, 1 género a Entomobryidae; *Entomobrya* y para la Subfamilia Lepidocyrtinae, *Pseudosinella*. El Clado II corresponde a un género *Sminthurinus*, del grupo de los Symphypleona. El Clado III se formó de 2 familias de los Poduromorpha: Onychiuridae (*Orthonychiurus*) e Hypogastruridae (*Xenylla*) (Fig. 4).

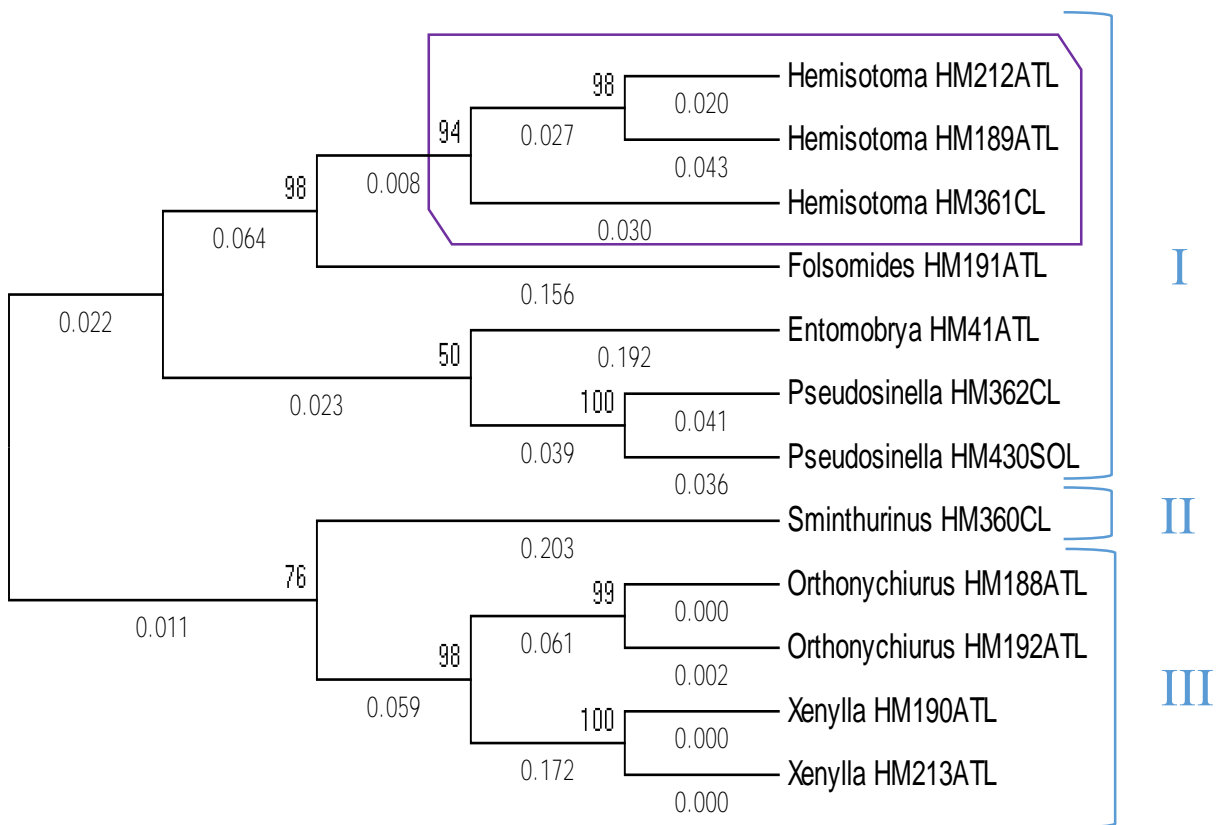


Figura 4. Árbol de Máxima Verosimilitud para colémbolos a partir del marcador 28S del rDNA. El recuadro morado representa a la especie compartida en ambos estados. Los valores encima de las ramas representan el soporte de bootstrap.

La MOTU comparada para Acari, correspondió a *Tyrophagus*, que mostró un bootstrap del 100% y una distancia de 0.005. Estos resultados se podrían referir a que la misma especie es encontrada en Puebla y Veracruz, puesto que el tamaño diminuto de estos organismos no interfiere con la distribución geográfica entre sitios de relativa proximidad. Pocos estudios se han realizado en la secuenciación de ácaros de vida libre y, a su vez, pocos muestran representaciones biogeográficas de estos organismos con base en secuencias moleculares.

VI.1.10 Mesofauna

Como resultado, las secuencias de los 3 grupos de mesofauna se logran diferenciar en sus niveles taxonómicos más altos (Nematoda, Collembola y Acari), a través de los marcadores seleccionados para cada grupo faunístico. Dentro de las MOTU's, de manera general, se pueden observar Clados dentro de cada taxa: 2 Clados para ácaros (naranja), 2 para colémbolos (morado) y 3 para nemátodos (verde) (Fig. 6).

El análisis de Máxima Verosimilitud muestra relaciones filogenéticas, como se han presentado en otros trabajos, ya sea mediante morfología y/o a través de caracterización molecular, útiles para inferir en las relaciones de estos grupos (Nadler *et al.*, 2007; Xiong *et al.*, 2008; Dabert *et al.*, 2010).

Las comparaciones realizadas en este trabajo, muestran diferencias entre las secuencias que corresponden al mismo género y estas disimilitudes podrían deberse a cambios ocasionados al designar la MOTU (por variación entre la caracterización morfológica o molecular) o por las diferencias naturales relacionadas con los taxones (variación interespecífica). Por lo tanto, se considera que es necesario utilizar métodos heurísticos basados en índices de error cuantitativo para distinguir las MOTU's (Blaxter, 2004).

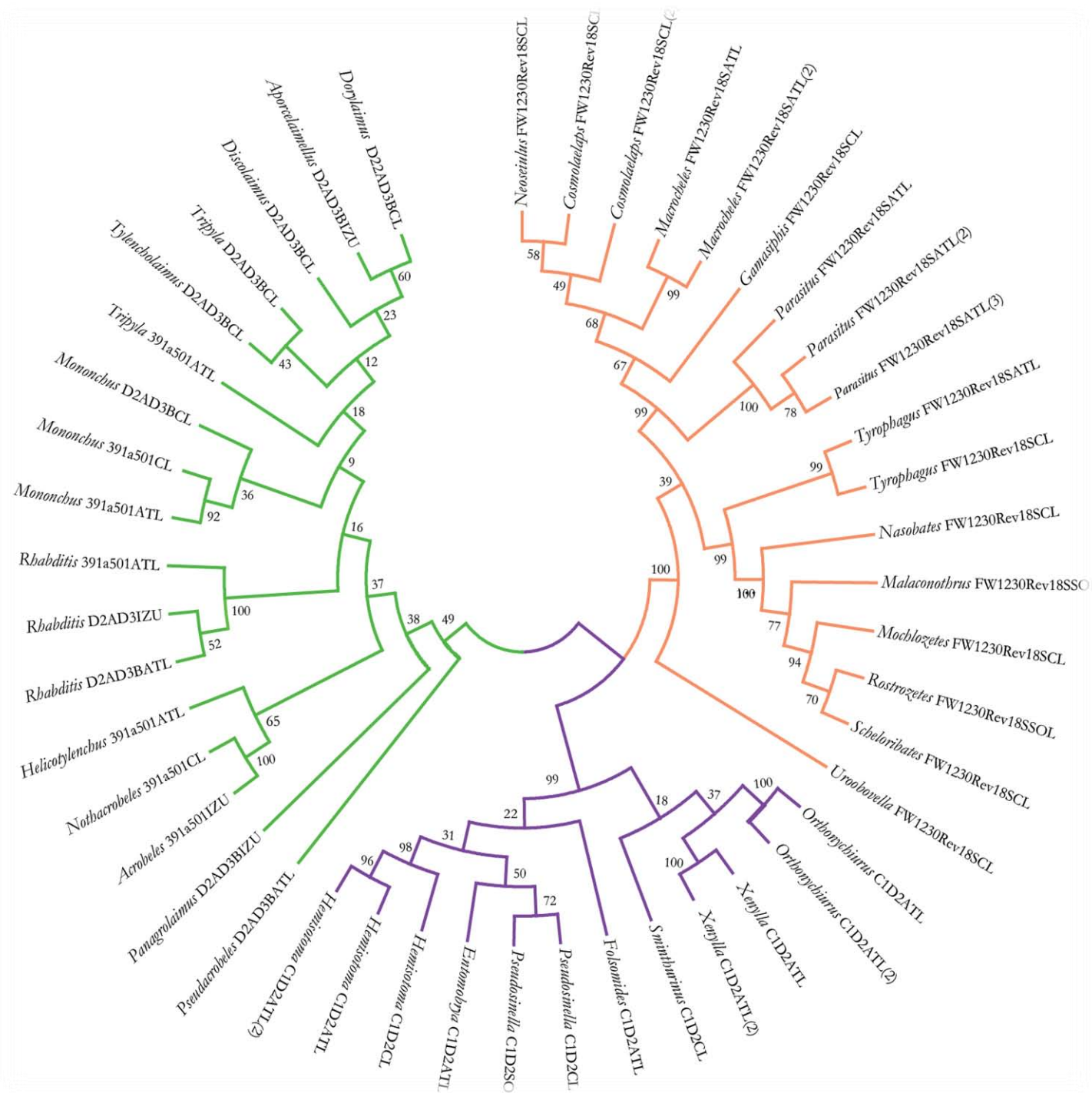


Figura 6. Árbol de Máxima Verosimilitud de la mesofauna, construido a partir de marcadores nucleares: 28S (nematodos y colémbolos) y 18S (ácaros). Los colores representan a cada grupo: Verde: Nematoda, Morado: Collzembola y Café: Acari. Los valores encima de las ramas representan el soporte de bootstrap.

VI.2 Diagnóstico sobre la salud del suelo

VI.2.1 Factores ambientales

La temperatura más alta se registró en Izúcar de Matamoros, comportándose la humedad relativa de manera inversa. En Atlixco se presentó la menor temperatura y valores medios de humedad. En las localidades de Veracruz las temperaturas fueron cercanas a 30°C y los porcentajes de humedad fueron los más altos. La proporción de dióxido de carbono atmosférico fue menor en las localidades de Puebla que en las de Veracruz y también fueron menores en los sitios con manejo agrícola en comparación con los sitios considerados con poco disturbio (Figs. 7-9).

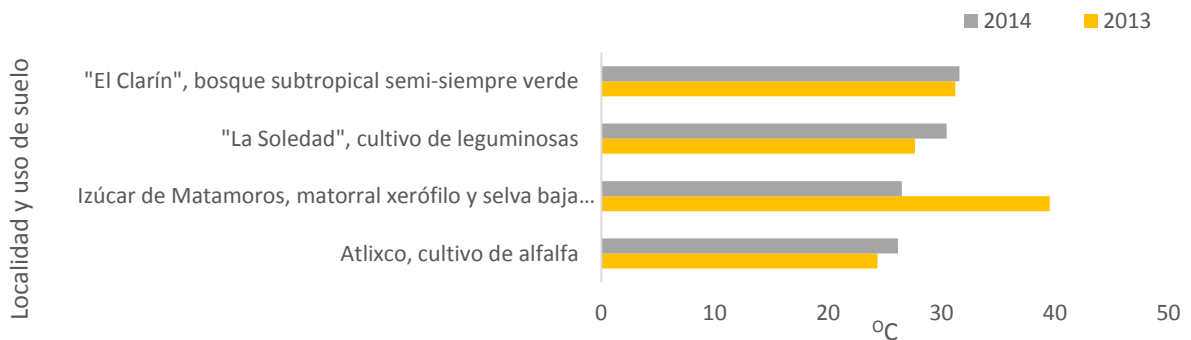


Figura 7. Registro de temperatura en los dos años de colecta.

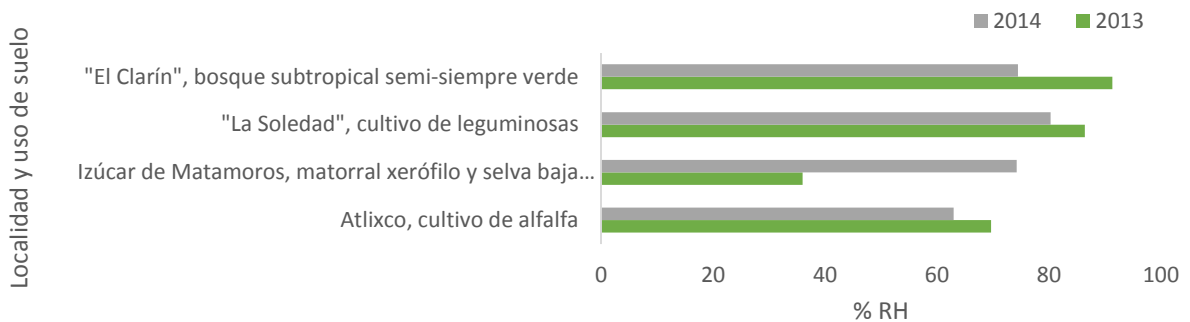


Figura 8. Registro de humedad relativa en las diferentes localidades.

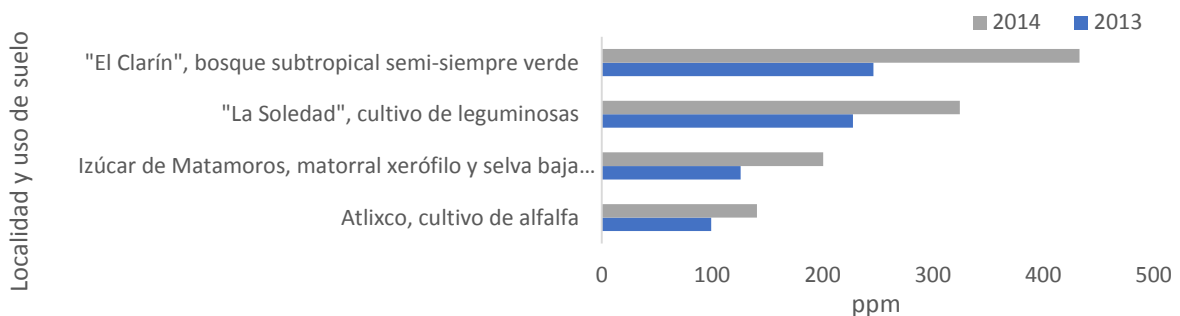


Figura 9. Registro de dióxido de carbono atmosférico circundante al suelo.

Los factores ambientales inherentes al sitio de muestreo como la altitud, el clima, el relieve, la topografía, etcétera, se relacionan con la ocurrencia de la mesofauna. Algunos otros factores abióticos como la temperatura, humedad relativa y emisión de CO₂, corresponden a propiedades intrínsecas de las localidades, que pueden modificarse por diversos motivos, como la intervención antrópica (agricultura, ganadería, deforestación, etcétera.), causando un impacto en las densidades de la biota edáfica y de la mesofauna (Castillo, 2012; Guerrero-Ortíz *et al.*, 2012).

En este trabajo los factores temperatura y humedad se relacionaron con las características propias de los sitios de colecta, es decir, por un lado, Veracruz presentó registros mayores en estos atributos, ya que la altitud es menor y se distribuye en una región tropical, que posee mayor influencia de temperaturas cálidas y clima húmedo. Por el otro, en Puebla, donde la altitud es mayor hay predominio de una región templada y un registro de menores temperaturas y humedad relativa; sin embargo, en este estado también se encontraron zonas semi-secas como producto de las condiciones climáticas locales, en donde las temperaturas alcanzan el punto de sequía, como es el caso de Izúcar de Matamoros.

El CO₂ atmosférico a nivel del suelo es un factor estrechamente ligado con la temperatura, la humedad y la descomposición de MOS, de manera que puede considerarse un elemento afín a las características del lugar y capaz de modificarse por el disturbio antrópico (manejo agrícola). El desprendimiento de dióxido de carbono se relaciona con la cobertura vegetal y la respiración del suelo (como resultado de la actividad biológica) y se ha demostrado en estudios como el de Guntiñas-Rodríguez (2009) y el de Mendiara-Co (2012), que bajo los efectos de la temperatura la descomposición de la MOS es mayor, al igual que la emisión de CO₂.

Desde estas perspectivas se encontró que:

a) La cantidad de dióxido de carbono fue mayor en Veracruz que en Puebla. Esto se explica en estudios realizados en gradientes altitudinales, que muestran que a mayores altitudes la emisión de CO₂ es menor (García-Gómez, 2009) y b) La cantidad de dióxido de carbono fue mayor en las localidades poco perturbadas que en las zonas con manejo agrícola. Lo cual señala que existe una mayor actividad de la biota edáfica en suelos sin disturbio, en comparación con las zonas de manejo agrícola. Resultados similares en Venezuela también mostraron cambios en las propiedades biológicas de los suelos conservados y con manejo agrícola (Mogollón *et al.*, 2010).

VI.2.2 Características ecológicas de la mesofauna

VI.2.2.1 Abundancia y densidad de nemátodos

La comunidad de nemátodos se integró de 14 familias que modificaron su ocurrencia de la siguiente manera:

Atlixco: presentó 6 familias de fitoparásitos filiformes, 5 familias de bacterívoros y 3 familias de omnívoros-depredadores. Su población más alta registrada fue para la familia Hoplolaimidae (*Helicotylenchus*) en 2013, aunque para 2014 disminuyó considerablemente (Fig. 10).

Izúcar de Matamoros en su única colecta mostró 6 familias de bacterívoros, 3 de fitoparásitos y 3 de omnívoros-depredadores. Para 2014 en Tepexco, la composición fue similar, aunque el número de bacteriófagos y omnívoros incrementó y disminuyó el de fitoparásitos (Fig. 11).

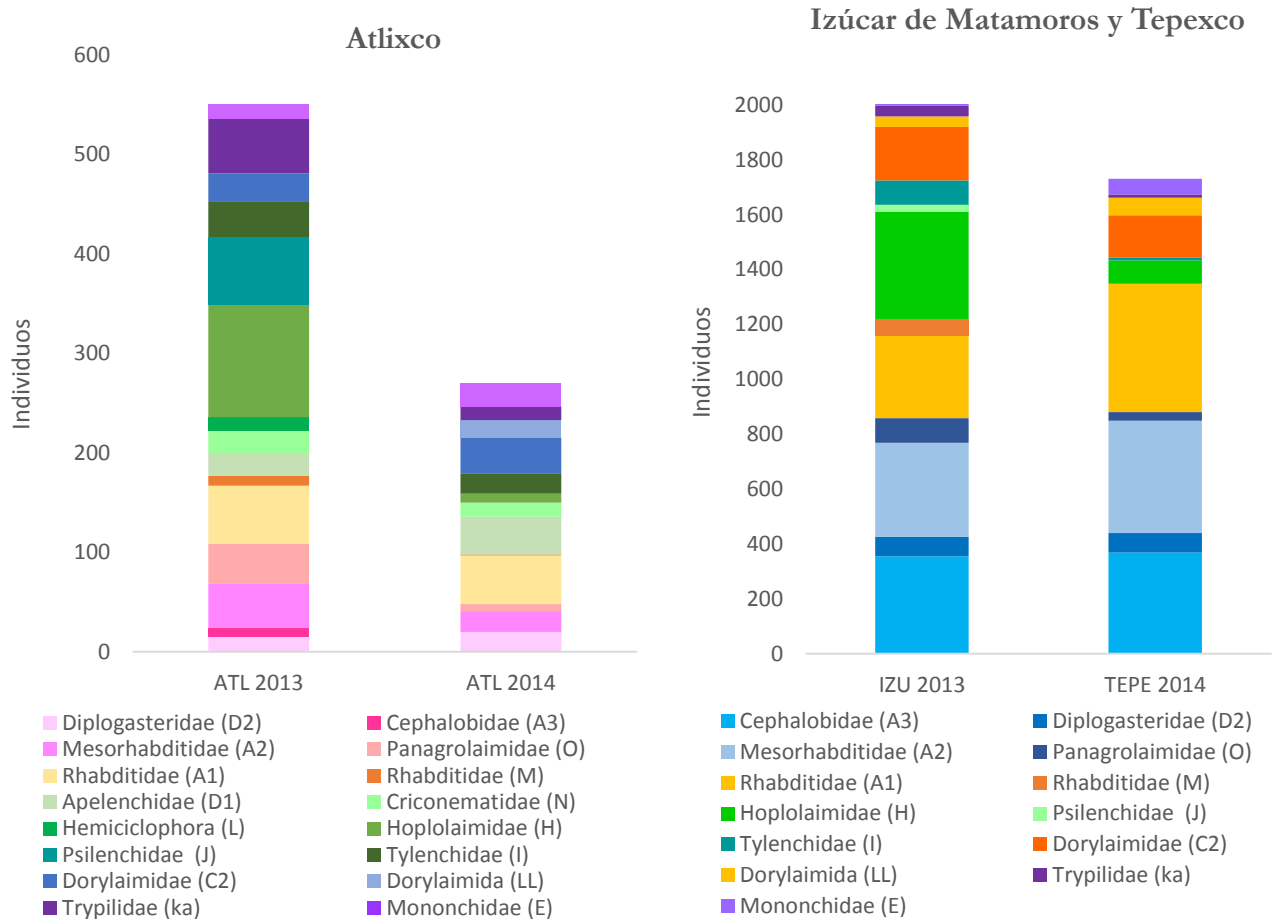


Figura 10. Abundancia de las familias de nemátodos en Atlixco, Puebla.

Figura 11. Abundancia de las familias de nemátodos en Izúcar (2013) y Tepexco (2014), Puebla.

En “La Soledad” predominó la abundancia de 2 grupos tróficos: los bacterívoros y los omnívoro-depredadores, que en su primera colecta resultaron siempre más abundantes. También se presentaron grupos de fitoparásitos, aunque en abundancias menores a 50 individuos (Fig. 12).

En “El Clarín” se identificaron 3 familias de bacterívoros, que tuvieron siempre mayores abundancias en 2013, estas fueron: Rhabditidae, Mesorhabditidae y Cephalobidae, también la abundancia de doriláimidos se presentó con mayor número en 2014 (Fig. 13).

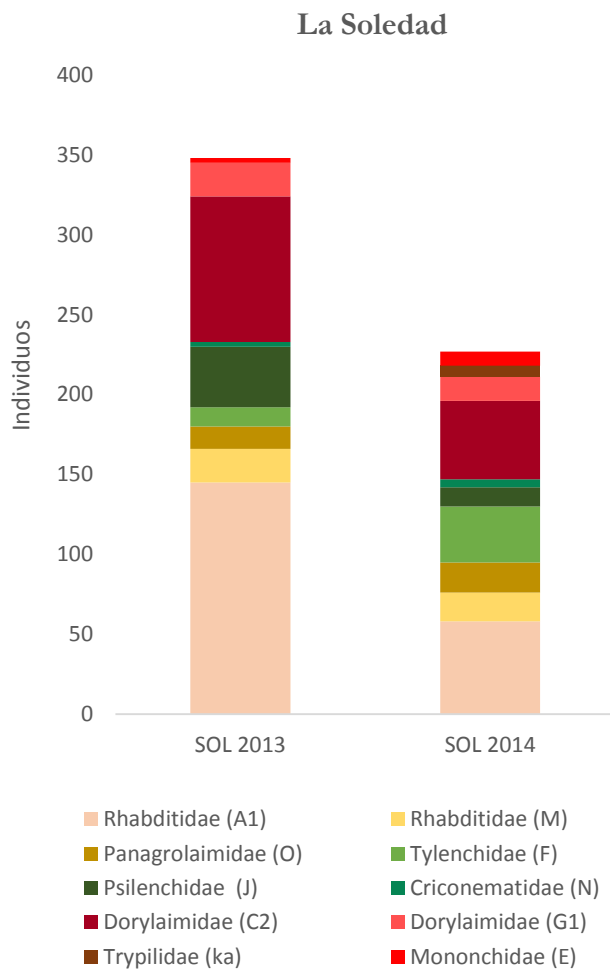


Figura 12. Abundancias de las familias de nemátodos en “La Soledad”, Veracruz.

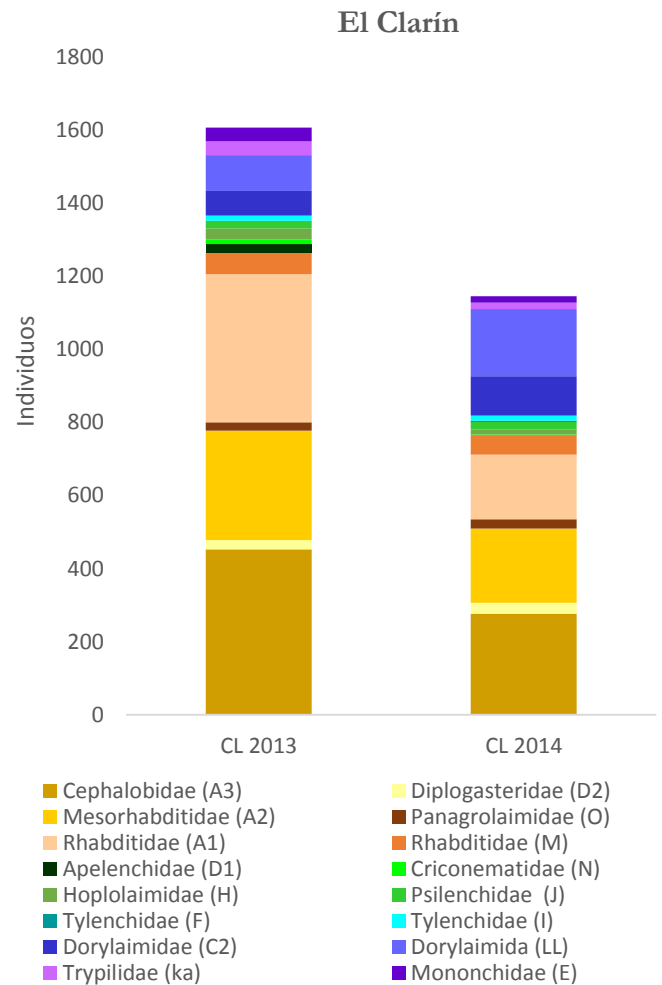


Figura 13. Abundancia de las familias de nemátodos en “El Clarín”, Veracruz.

La densidad de nemátodos fue mayor en 2013 que en 2014. Este parámetro también fue mayor en las localidades con poco disturbio (IZU-TEPE y CL), donde los valores se encontraron hasta en 230,000 ind/m², en comparación con las localidades donde se presentó manejo agrícola (ATL y SOL), donde la densidad fue en un orden de 60,000 ind/m² (Fig. 14).

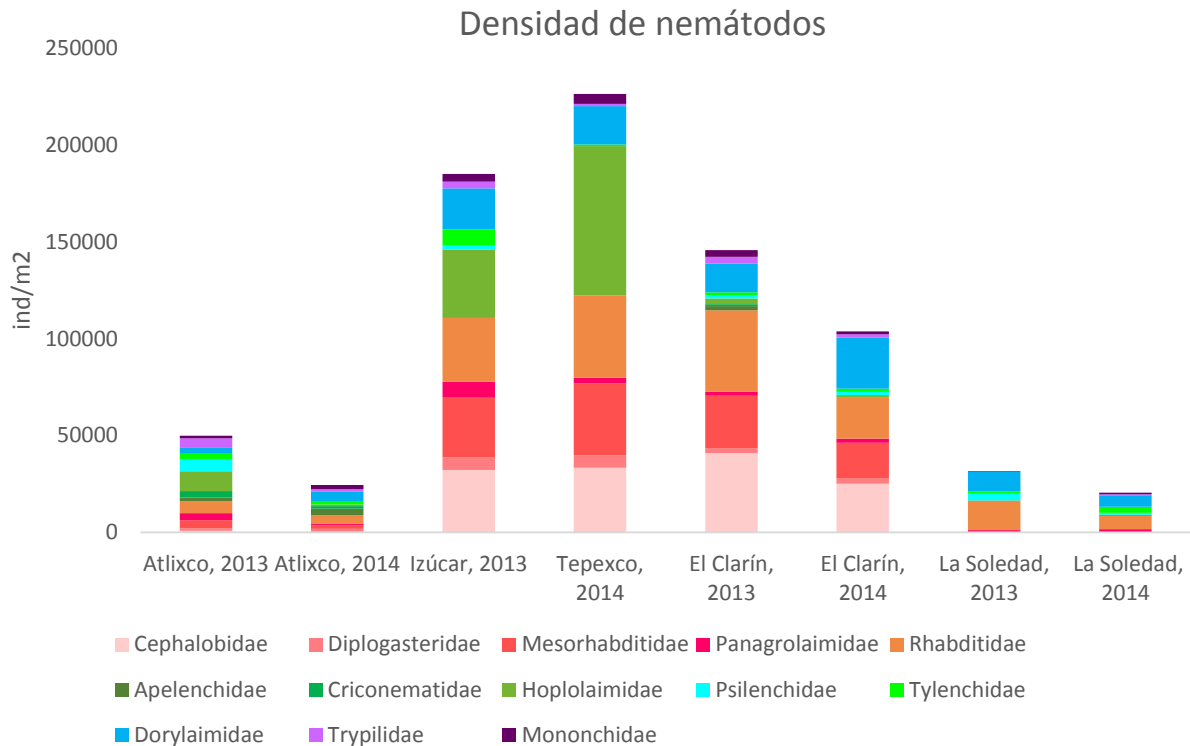


Figura 14. Densidad de nemátodos a partir de las familias encontradas.

Varela-Benavides (2013), realizó una investigación en cuatro sistemas agrícolas y un sistema natural, encontró cómo las actividades agrarias provocan disminución de la abundancia de nemátodos en el suelo. De manera similar, en el presente estudio la abundancia de nemátodos fue menor en sitios con cultivo agrícola (Atlixco con *Medicago sativa* y “La Soledad” con *Cratylia argentea*) y mayor en los sitios poco perturbados (Izúcar-Tepexco y “El Clarín”). Asimismo, la densidad total de nemátodos en este trabajo fue menor, en comparación con los resultados obtenidos por Varela-Benavides (2013), sin embargo la variación según los sitios sí los podemos relacionar con los suelos conservados y los suelos sometidos a manejo agrícola.

El estado del ecosistema así como el efecto de las alteraciones ocasionadas por su manejo, se analizan través de los cambios de la comunidad de nemátodos.

El análisis de la composición de las familias según sus características, es el siguiente:

a) Bacteriófagos

- Rhabditidae, Mesorhabditidae, Panagrolaimidae y Diplogasteridae: Son familias de bacteriófagos oportunistas de enriquecimiento, que suelen encontrarse en hábitats con alta actividad microbiana. Se alimentan generalmente en medios enriquecidos (después de poner estiércol o sobre material en descomposición) y cuando los florecimientos microbianos se desvanecen, este gremio puede ser sustituido por oportunistas generales (Bongers, 2011; Ferris & Matute, 2003). En este estudio las abundancias registradas que reflejan mayor enriquecimiento bacteriano debido a la presencia de estas familias fue “El Clarín” y con el menor enriquecimiento Atlixco.
- Cephalobidae: Son nemátodos conocidos como oportunistas generales, carroñeros de bacterias y hongos. Sus recursos aumentan cuando es propicia la descomposición por hongos, por ejemplo: cuando el material orgánico complejo se encuentra disponible en el suelo o cuando la actividad fúngica ha mejorado y hay condiciones menos favorables para la descomposición bacteriana (Ferris & Matute, 2003). En este estudio, la mayor abundancia fue para este grupo, lo que indica que se presentó una descomposición por hongos en “El Clarín”, Izúcar-Tepexco, en menor medida en Atlixco, este proceso se ausentó de “La Soledad”.

b) Fungívoros

- Aphelenchidae: Es una familia de micófagos habitantes del suelo, que se encuentran en tejidos de plantas infectadas con hongos fitopatógenos (Cid del Prado, 1995) y también es un grupo que se ha reconocido dentro de los oportunistas generales (Ferris & Matute, 2003), así como una familia de endoparásitos migratorios, cuyos hospederos principales son las plantas de aguacate, ajo, alfalfa, avena, cacao, caña de azúcar, entre otros (Reyes-Hernández, 2004). Las abundancias más altas se registraron en Atlixco lo que demuestra la presencia de hongos. Este grupo tuvo una presencia mínima en “El Clarín” y se ausentaron del resto de las localidades.

c) Fitoparásitos

- Hoplolaimidae: Únicamente se identificó al fitoparásito filiforme *Helicotylenchus*, conocido por dañar cultivos (Robles y Pérez, 2011). Este nemátodo se ha registrado en sitios naturales y en cultivos. Sin embargo, muestra mayor abundancia en sitios con manejo agrícola. En este trabajo sus mayores registros fueron en las localidades de Puebla y con mínimos registros en las colectas de Veracruz.
- Tylenchidae, Psilenchidae, Criconematidae y Hemicyclophoridae: La presencia de estas familias muestra que existe suficiente provisión vegetal, ya que influye notablemente en el número de nemátodos, en este caso se supone que en Atlixco las plantas de alfalfa sirvieron como hospederas. Otros trabajos como el de Robles-Hernández y Pérez (2011), así como el de Murga-Gutiérrez (2007), han registrado este tipo de nematofauna asociada a la rizósfera de cultivos. Las principales localidades de mayor a menor abundancia donde se presentaron estas familias fueron: Atlixco, “La Soledad”, Izúcar de Matamoros, Tepexco y “El Clarín”.

d) Omnívoros

- Dorylaimida: Es un grupo importante, que tiene variados hábitos de alimentación, de los cuales destacan los fitoparásitos y depredadores, también algunas especies actúan como vectores de enfermedades virales infectivas de plantas. Las especies depredadoras son de gran importancia en el control natural de fitoparásitos como Tylenchidae y Aphelenchidae (Jairajpuri & Ahmad, 1992). Este grupo se relaciona con la estabilidad de la cadena trófica, pero también en el control de enfermedades de plantas. Las localidades se presentan según su mayor o menor abundancia: “El Clarín”, Izúcar-Tepexco, “La Soledad” y Atlixco.
- Tripylidae: Es considerada una familia de omnívoros-depredadores (Schmidt-Rhaesa, 2014). En orden de mayor a menor abundancia, las localidades se presentaron: Atlixco, Izúcar-Tepexco, “El Clarín” y “La Soledad”.

e) Depredadores

- Mononchidae: Representa a una familia de depredadores de microorganismos edáficos, incluyendo a los fitoparásitos y se considera como un grupo de

nemátodos útiles en el biocontrol (Ahmad & Jairajpuri, 2010). Son persistentes e indican estabilidad en el ecosistema, así como una serie de redes tróficas complejas (Ballina-Gómez *et al.*, 2012; Varela-Benavides, 2013). Las localidades con mayor abundancia fueron: Izúcar-Tepexco y “El Clarín” (alrededor de 50 ind.), los sitios con menor abundancia fueron “La Soledad” y Atlixco (alrededor de 20 ind.).

Las localidades con mayor densidad de nemátodos fueron Izúcar-Tepexco y "El Clarín", además estos sitios presentaron mayor número de familias de bacteriófagos (tanto de oportunistas de enriquecimiento, como generales) y omnívoros-depredadores. Únicamente en la localidad de Izúcar de Matamoros la densidad de fitoparásitos fue mayor, comparada con Tepexco y “El Clarín” en donde fue un grupo poco representativo.

Por otro lado, las localidades de Atlixco y "La Soledad", presentaron una densidad menor de nemátodos, respecto a las localidades anteriores. Particularmente en Atlixco, la riqueza de familias fue mayor incluso que en los sitios conservados, sin embargo, las que predominaron fueron de fitoparásitos. En "La Soledad" se presentaron las menores densidades, que correspondieron principalmente a 3 grupos: oportunistas de enriquecimiento, fitoparásitos y omnívoros.

Los resultados anteriores reflejan que la mayor abundancia y densidad se encuentran en localidades conservadas y la mayor riqueza en las localidades con manejo agrícola.

VI.2.2.2 Abundancia y densidad de colémbolos

Se contabilizaron 2,117 colémbolos para todas las localidades, identificando 23 géneros cuya ocurrencia y abundancia variaron en cada punto de muestreo (Figs. 15-18).

Las localidades con mayor riqueza de géneros fueron Atlixco y “La Soledad” (13 cada una), “El Clarín” contó con 10 géneros y los menores registros fueron para Izúcar-Tepexco (5 géneros). La abundancia tuvo una variación en cada sitio de muestreo, según el año de colecta. En el 2013 la densidad de Atlixco y “El Clarín” fue mayor, respecto a las localidades de Tepexco y “La Soledad” que tuvieron mayor densidad en 2014 (Fig. 19).

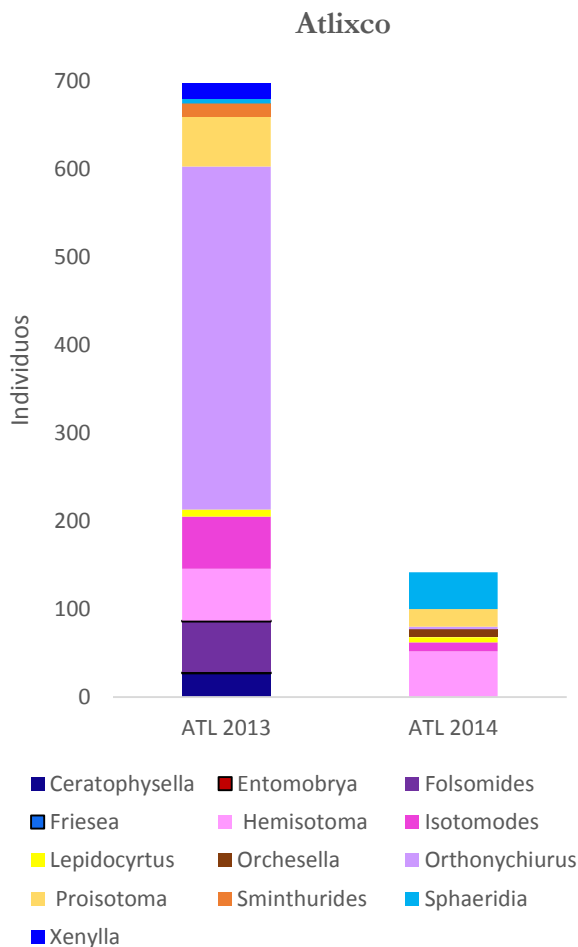


Figura 15. Abundancia de colémbolos en Atlixco, Puebla.

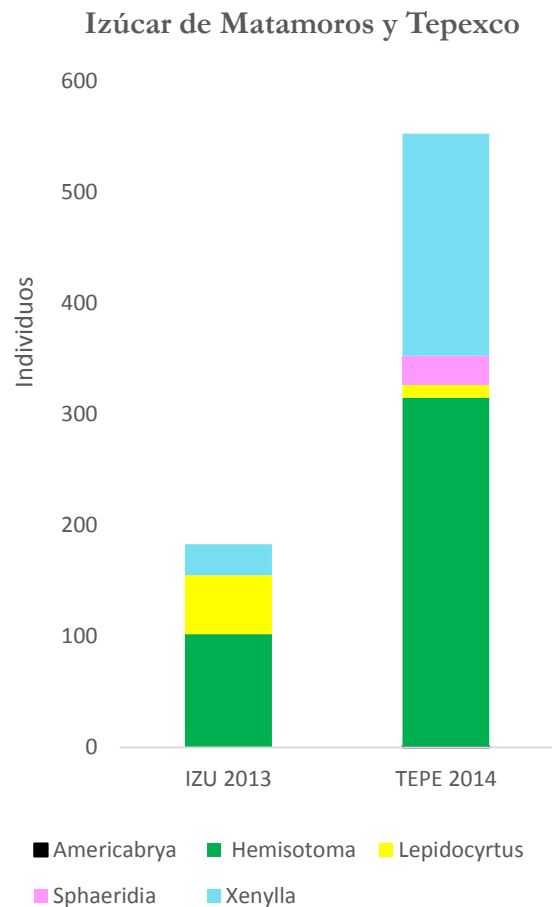


Figura 16. Abundancia de colémbolos en Izúcar-Tepexco, Puebla.

Los taxones que se encontraron en todas las localidades, fueron: *Hemisotoma thermophila*, *Lepidocyrtus* y *Xenylla*. Los géneros compartidos, al menos en una localidad de ambos estados fueron: *Ceratophysella*, *Folsomides*, *Friesea*, *Isotomodes*, *Orthonychiurus*, *Proisotoma* y *Sphaeridia*. Los registrados para Puebla: *Americabrya*, *Orchesella*, *Sminthurides* y *Entomobrya*, los de Veracruz fueron: *Brachystomella*, *Cyphoderus*, *Dicyrtoma*, *Sminthurus*, *Sminthurinus*, *Isotomiella*, *Pseudosinella*, *Seira* y *Xenyllodes*. Sin embargo, esto no significa que los registros señalados sean exclusivos para cada localidad de muestreo.

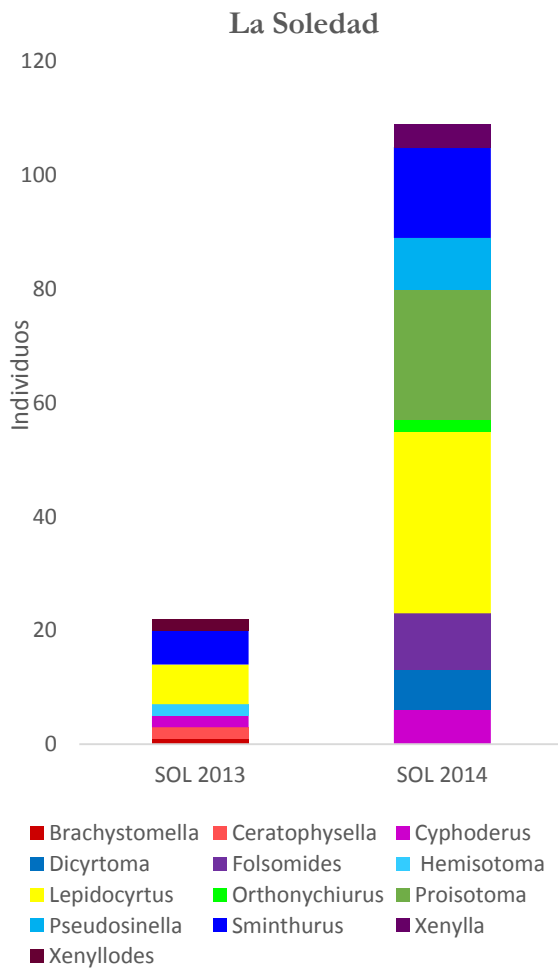


Figura 17. Abundancia de colémbolos en "La Soledad", Veracruz.

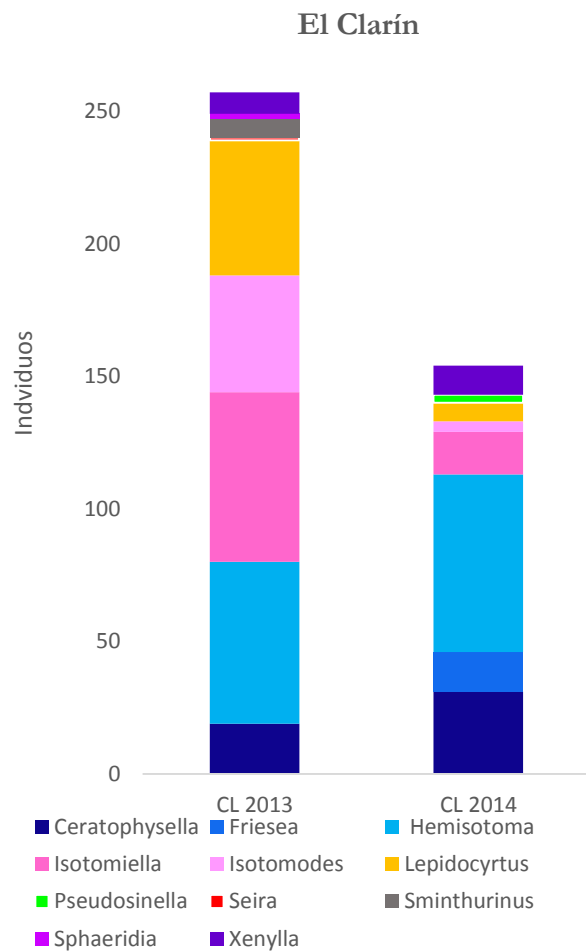


Figura 18. Abundancia de colémbolos en "El Clarín", Veracruz.

La densidad de colémbolos en 2013 fue superior para Atlixco y “El Clarín”, mientras que en 2014, hubo una disminución en estas localidades y un incremento para Tepexco y “La Soledad” (Fig. 19).

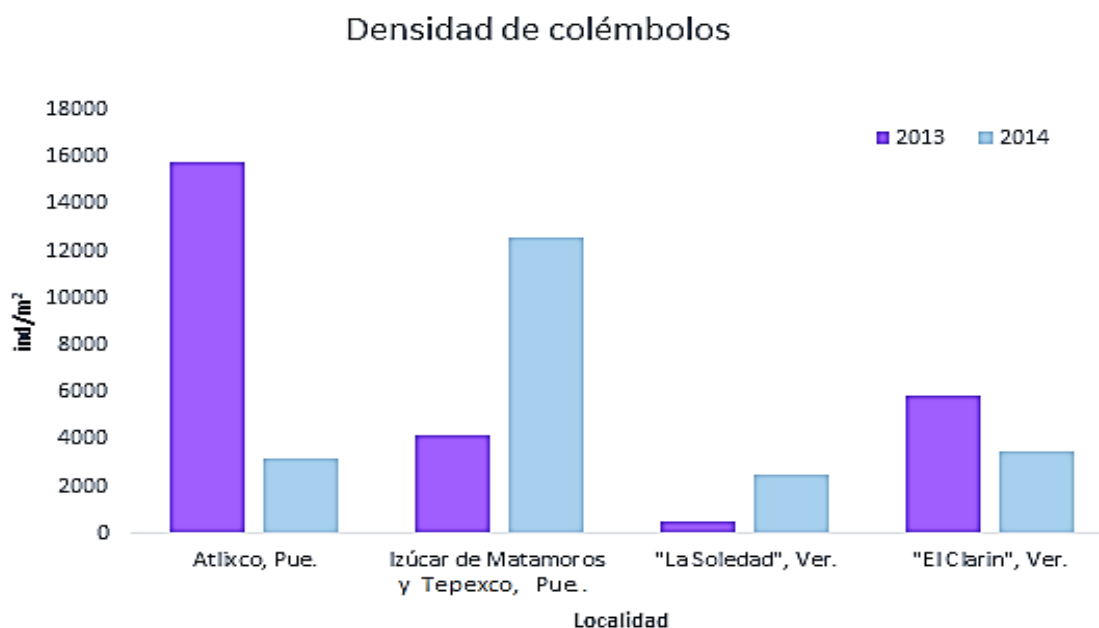


Figura 19. Densidad de colémbolos para cada localidad en 2013 y 2014.

La abundancia, densidad y diversidad de colémbolos se ha investigado de manera amplia en el país, a causa de la forma de vida cosmopolita de estos organismos (Palacios-Vargas, 2014). Algunos estudios realizados en colémbolos respecto a su carácter de bioindicación se refieren a: Uribe-Hernández *et al.* (2010) que realizaron estudios centrados en suelos contaminados por hidrocarburos. Cutz-Pool *et al.* (2007) mostraron la composición de colémbolos de dos agroecosistemas con diferentes tipos de riego y Guillén *et al.* (2006) realizaron un estudio comparativo entre suelos naturales y suelos con disturbio, en Costa Rica.

La abundancia de colémbolos registrada en diferentes estudios, muestra que pueden llegar a densidades mayores de 100,000 ind/m² y específicamente en condiciones naturales se observa un amplio intervalo de variación desde 100 ind/m² en un desierto, 10,000 ind/m² en el dosel de la selva y hasta 670,000 ind/m² en suelos Antárticos (Palacios-Vargas, 2014). En agroecosistemas esta densidad tiende a disminuir, reportándose de 663 ind/m² hasta 9,700 ind/m² en diferentes cultivos (Mendoza-Arviso *et al.*, 1999).

En este estudio las densidades fueron de 15,000 ind/m² a 500 ind/m², generalmente para los sitios con poco disturbio y para las localidades registradas con manejo agrícola, respectivamente. Sin embargo, Atlixco (localidad considerada con manejo agrícola) en 2013 tuvo una particularidad en su densidad, siendo mayor a todos los registros debido a una especie *Orthonychiurus folsomi*. A excepción de esta localidad, las demás se comportaron como se mencionó previamente.

En este trabajo se encontraron integrantes de diversas familias que se han citado en trabajos previos y algunos de los cuales presentan mayor información sobre su carácter bioindicador.

A continuación se muestran los géneros encontrados y sus características como bioindicadores:

- *Americabrya arida*. Posee especies consideradas cosmopolitas (Palacios-Vargas, 2014). Diversos estudios realizados en México han encontrado a esta especie sobre diversos gradientes altitudinales (Cutz-Pool *et al.*, 2008). También han encontrado representantes de este género en sitios conservados o cultivos agrícolas y se ha sugerido que es tolerante a zonas con manejo antrópico, sin embargo queda poco clara su ocurrencia (Cutz-Pool *et al.*, 2007; Uribe-Hernández *et al.*, 2010). En este estudio se encontraron de 1 a 2 individuos únicamente en Tepexco.
- *Brachystomella*. Corresponde a familia Brachystomellidae, sus especies presentan amplia distribución y se les ubica tanto en zonas áridas, como el desierto de Chihuahua (Cepeda & Whitford, 1990), así como en diferentes estados de salud del suelo (Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014). Guillén *et al.* (2006) menciona a *Brachystomella parvula* como predominante en suelos degradados. En este trabajo se presentó en “La Soledad”.
- *Ceratophysella*. Género de la familia Hypogastruridae, presenta especies en México y el resto de América (Villalobos & Palacios-Vargas, 1986), con una distribución amplia en el país (Delgado-de la Selva, 2010). Uribe-Hernández *et al.* (2010) mencionan que es una especie tolerante a concentraciones altas de Cr, Cu y Zn; Cutz-Pool *et al.* (2007) hacen referencia a trabajos en donde se registra este género en agroecosistemas. En el presente estudio, *Ceratophysella* en su mayoría se ubicó en “El Clarín”, Atlixco y en menor número en “La Soledad”.

- *Cyphoderus*. Miembro de Cyphoderidae, que presentan asociaciones con hormigas y termitas. Ha sido colectado en la hojarasca de sitios conservados como bosques, aunque también se ha aislado de suelo procedente de cultivos agrícolas (Mari-Mutt, 1977; Paul *et al.*, 2011). Se ha registrado en entornos tropicales como la Península de Yucatán y se sabe que son sensibles a los cambios en las condiciones edáficas (Palacios-Vargas, 2014), se puede reproducir en suelos húmedos y fértiles (Saha & Joy, 2014). En el presente trabajo ambos años se encontró en “La Soledad”.
- *Dicyrtoma*. Este género, en México tiene representantes en la Provincia del Altiplano Mexicano (Palacios-Vargas, 2014). Se ha encontrado en sitios cultivados, sin embargo su presencia está ligada a sitios húmedos, como los bosques y prados (Noordijk & Berg, 2012). En este trabajo, se encontró en “La Soledad”.
- *Entomobrya*. Este género se encuentra distribuido principalmente en el Eje Volcánico Transmexicano (Delgado-de la Selva, 2010). En el trabajo de Flores-Pardavé *et al.* (2011) lo encontraron como el taxón más conspicuo en los cultivos de alfalfa. Cutz-Pool *et al.* (2007) lo consideran dentro de los pioneros en suelos perturbados con gran irrigación de agua. Este grupo se encontró solo en Atlixco.
- *Folsomides*. Su distribución es cosmopolita en el país (Palacios-Vargas & Villarreal-Rosas, 2013). En el estudio de Uribe-Hernández *et al.* (2010), se encontró en la zona control de su estudio (suelos neutros con menor cantidad de hidrocarburos), en este trabajo se presentó en 2013 en las localidades de Atlixco y “La Soledad”.
- *Friesea*. Es un género cosmopolita y rico en especies depredadoras (Palacios-Vargas, 2005) y necrófagas (Delgado-de la Selva, 2010). Se presenta en la mayoría de las provincias mexicanas (Palacios-Vargas, 2014). Por otra parte, Contreras-Valadez (2001) indica que podría soportar altos niveles de Cr, Cu y Zn, ya que se ha registrado en terrenos regados con aguas residuales. Geissen & Kampichler (2004) realizaron un biomonitoreo con el fin de emplear un modelo de bioindicación para identificar la perturbación de bosques, sin embargo, este género no se relacionó con los diferentes factores ambientales. En este trabajo se tuvieron registros en “El Clarín” y Atlixco.

- *Hemisotoma thermophila*. Presenta distribuciones amplias, ya sea en sitios naturales o alterados (Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014). Algunos estudios se refieren a esta especie como resistente a contaminación por metales pesados (Cu, Pb, Cd, Zn; Cutz-Pool *et al.*, 2007). Asimismo un estudio realizado en parques urbanos en Bucarest, Rumania confirma su resistencia a altas concentraciones de metales pesados en suelo y aire, además de encontrar un aumento de sus poblaciones en los sitios más contaminados, no obstante, los mecanismos detrás de esta respuesta son poco conocidos (Fiera, 2009). En esta investigación *H. thermophila*, corresponde a la especie con mayor distribución (encontrada en todas las localidades, al menos en un año de muestreo), su mayor abundancia se encontró en Tepexco-Izúcar de Matamoros y “El Clarín”, y fue menor en Atlixco y “La Soledad”.
- *Isotomiella*. Es un género distribuido ampliamente en el país y considerado cosmopolita (Palacios-Vargas, 2014). En el estudio de Uribe-Hernández *et al.* (2010) se registraron algunos individuos en la zona control de su estudio (zona poco perturbada por actividad antropogénica y sin influencia industrial). En este estudio, únicamente se encontró en la localidad de “El Clarín”.
- *Isotomodes*. Es un género ampliamente distribuido (Palacios-Vargas & Kovác, 1995), se ha encontrado en sitios conservados como playas (Thibaud, 2007) a la orilla de ríos (Buşmachi, 2011) además de presentar registros, en sitios de manejo agrícola con riego de agua dulce (Cutz-Pool *et al.*, 2007). En este estudio su mayor abundancia se encontró en el primer año de colecta, en “El Clarín” y Atlixco.
- *Lepidocyrtus*. Es un género cuya distribución es muy amplia. En México se ha registrado en zonas como el Eje Volcánico Transmexicano y la Península de Yucatán (Palacios-Vargas, 2014). Se ha demostrado que es uno de los elementos importantes en la composta (Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014). Otros estudios muestran que este género se ha encontrado en sistemas de agrícolas, donde sus mayores abundancias son en cultivos de café (Guillén *et al.*, 2006). En este estudio se distribuyó en todas las localidades pero con mayor abundancia en “La Soledad” (2014), “El Clarín” (2013) e Izúcar de Matamoros (2013).

- *Orchesella*. Se encuentra distribuido en la Sierra Madre Occidental y en el Eje Volcánico Transmexicano (Palacios-Vargas, 2014). Un estudio desarrollado por Miranda-Rangel *et al.* (2015) describe a este género como fungívoro, específicamente en cultivos arbóreos de *Jatropha curcas*. También ha sido importante por su adaptación en sitios contaminados (principalmente por Cadmio), derivando en estudios sobre la modificación genética ocasionada por los contaminantes (Costa *et al.*, 2012). En el presente trabajo *Orchesella* se registró en Atlixco, 2014.
- *Orthonychiurus folsomi*. Es una especie de la familia Onychiuridae, esta familia se ha encontrado en distintos biotopos, como el suelo, la hojarasca, en el interior de cuevas, jardines y macetas de ornato (Palacios-Vargas, 1981), además su distribución se considera amplia, desde el Sureste de Asia hasta América del Norte (Arbea & Jornada, 1988). Algunos estudios muestran que tiene la capacidad de establecerse en densidades altas sobre el humus de lombrices. En 1988, Arbea & Jornada, detectaron la abundancia monoespecífica de *Onychiurus folsomi* en diferentes empresas lumbricultoras y consideraron que las densidades de estos organismos podrían predecir daños en las cosechas, ya que el consumo vegetal de estos colémbolos sobre las raíces y tallos incrementaría infecciones fúngicas o bacterianas. Por otro lado, en México Robles *et al.* (2012) realizaron un estudio sobre los colémbolos asociados a la lombricomposta y su efecto sobre cultivos de alfalfa (*Medicago sativa*), como resultado, obtuvieron que la predominancia de colémbolos correspondía a *O. folsomi* y en cuanto al cultivo de alfalfa, se observó un incremento en la longitud de las plantas, así como en la biomasa. Lo que indica que esta especie contribuye al aporte de nutrientes y otros beneficios en este tipo de cultivo. Los anteriores estudios coinciden en que las condiciones óptimas de la lombricomposta, como la porosidad, el alto contenido de MOS, la temperatura, la humedad, entre otras características, juegan un papel importante en el crecimiento y fecundidad de esta especie. En el presente trabajo *O. folsomi* fue la especie más abundante en Atlixco, 2013 y se presentó un mínimo para “La Soledad”, 2013.
- *Proisotoma*. Corresponde a la familia Isotomidae, que en México se ha adaptado a diferentes ambientes (Palacios-Vargas, 2014). Estudios realizados para este género

como el de Contreras-Valadez (2001), muestra que es resistente a concentraciones altas de Cu, Mendoza-Arviso *et al.* (1999), señalan que es muy abundante en sitios con cultivo y bajo diferentes tipos de riego (agua potable o residual). Cutz-Pool *et al.* (2007), concluyen que posee una adaptabilidad pionera en ambientes perturbados, que puede estar relacionada con la amplia gama de hábitos alimenticios que posee *Proisotoma*. En este estudio se encontró en las localidades con manejo agrícola, sean Atlixco y “La Soledad”.

- *Pseudosinella*. Es un género cosmopolita, distribuido en diferentes regiones geográficas, incluso con algunos representantes cavernícolas (Palacios-Vargas, 2014). Contreras-Valadez (2001) enuncia a *Pseudosinella* como tolerante a contaminación por hidrocarburos y con afinidad a suelos neutros. Cutz-Pool *et al.* (2007) consideran a este género, como pionero en suelos perturbados y con gran irrigación de agua, Uribe-Hernández *et al.* (2010) lo encontraron asociado a sitios con menor cantidad de hidrocarburos. En el presente estudio se encontraron en “La Soledad” y “El Clarín”, 2013.
- *Seira*. Posee especies cosmopolitas. Se ha considerado por Uribe-Hernández *et al.* (2010) como un género tolerante a contaminación por hidrocarburos, sin embargo sólo 1 individuo correspondió a estas características, por lo tanto no podemos generalizar este patrón. Guillén *et al.* (2006) y Paul *et al.* (2011) encontraron algunos representantes en bosques y en agroecosistemas. Flores-Pardavé *et al.* (2011) encontraron abundante este género en cultivos de alfalfa y maíz. En el presente trabajo se identificó un individuo en “El Clarín”.
- *Sminthurides*. Género perteneciente a Sminthurididae, compuesta de diminutos colémbolos clasificados como epineústicos, que se distribuyen en diferentes regiones del país (Palacios-Vargas, 2007). Es un grupo que se ha encontrado en sitios manejados y con alta concentración de hidrocarburos (Uribe-Hernández *et al.*, 2010). Guillén *et al.* (2006) hace referencia de este género como un indicador de zonas húmedas. Ponge *et al.* (2003) registraron 2 especies tanto en sitios boscosos como en sitios con diferente manejo agrícola, algunos de estos sitios caracterizados por ser húmedos. En los bosques de México, también se ha registrado este género

a diferentes niveles altitudinales (García-Gómez *et al.*, 2010). En este trabajo *Sminthurides* se encontró únicamente en Atlixco, Puebla.

- *Sminthurinus*. Género dentro de Katiannidae. Los representantes en México se han registrado en la provincia del Altiplano (Palacios-Vargas, 2014). Cutz-Pool *et al.* (2007), lo encontraron mejor representado en sitios con riego de aguas residuales. También se ha relacionado a microescala con cultivos de leguminosas (Salamon *et al.*, 2011). En el presente trabajo se registró en “El Clarín”.
- *Sminthurus*. Es un género que se distribuye en el Eje Volcánico Transmexicano (Palacios-Vargas, 2014). Un solo individuo de este género se encontró en la zona control del estudio de Uribe-Hernández *et al.* (2010), de manera que no puede generalizarse su ocurrencia a sitios conservados. También Flores-Pardavé *et al.* (2011), reporta a este género y lo relaciona con cultivos de alfalfa, dotados o no con biosólidos. Otros estudios se refieren a *Sminthurus sativa*, con altas densidades sobre cultivos de leguminosas forrajeras (Baquero & Jordana, 1999). En la presente investigación este género se encontró exclusivamente en “La Soledad”.
- *Sphaeridia*. Es un género de la Familia Sminthurididae que se distribuye en un amplio gradiente ecológico (Palacios-Vargas, 2014). Según el estudio de Cutz-Pool *et al.* (2007), este género se ve afectado por el tipo de riego (aguas las residuales), de igual manera en el trabajo de Flores-Pardavé *et al.* (2011), el ambiente que prefieren estos organismos corresponde a cultivos sin biosólidos añadidos. En las localidades donde se presentó con mayor abundancia fueron Atlixco, Tepexco y en “El Clarín”, con mínimos representantes.
- *Xenylla*. Es un grupo de especies con amplias distribuciones en sitios alterados y no alterados (Palacios-Vargas & Castaño-Meneses, 2014). También es considerado un género tolerante a la contaminación (Contreras-Valadez, 2001; Cutz-Pool *et al.*, 2007; Uribe-Hernández *et al.*, 2010). La mayor abundancia se presentó en Tepexco, todas las demás localidades también lo presentaron pero en abundancias menores, lo cual confirma su amplia distribución y su resiliencia en condiciones de estrés.

- *Xenyllodes*. Género de la familia Odontellidae, Palacios-Vargas (2014) lo refiere como cosmopolita. Contreras-Valadez (2001) detectó que es resistente a la presencia de metales pesados como Cr, Cu y Zn. Ponge *et al.* (2003), lo registraron en sitios boscosos. En este estudio se presentó en “La Soledad”.

Con lo anterior, observamos que cada localidad tiene particularidades en la ocurrencia de colémbolos, aunque se desconoce de cada uno de estos sitios su uso de suelo, más allá de lo observable, es probable que algunas características de los sitios de colecta puedan ser inferidas a través de las cualidades bioindicadoras de los géneros de colémbolos encontrados y registrados anteriormente en otros estudios, así tenemos que:

En Atlixco, seis géneros fueron compartidos en los dos años de colecta. Estos grupos tienen distribuciones amplias y se han encontrado principalmente en sitios con manejo agrícola. Por los taxones encontrados en esta localidad, se puede decir que Atlixco, era un sitio de mayor humedad e irrigación de agua en 2013 que en 2014, los niveles de MOS y nutrientes, fueron altos en ambos años, probablemente se presentaron concentraciones de metales pesados entre ellos Cu, Pu y Cd. La presencia de *Orthonychiurus folsomi* y *Entomobrya* se relacionan con los cultivos de alfalfa.

En las localidades de Izúcar de Matamoros-Tepexco, se presentó la menor riqueza de colémbolos, al registrarse cinco géneros, de los cuales tres se localizaron en ambas fechas de colecta; *Hemisotoma thermophila*, *Lepidocyrtus* y *Xenylla*, caracterizados por ser tolerantes a contaminantes. La mayor abundancia de estos grupos fue en el 2014, que puede reflejar un mayor requerimiento de humedad para estos grupos. Los géneros registrados únicamente en 2014 fueron: *Americabrya* caracterizada tolerante al manejo antrópico, sin embargo solo se tiene un registro y *Sphaeridia* que incrementó sus números junto con los mayores porcentajes de humedad.

Izúcar-Tepexco muestra que cinco géneros registrados es un número bajo en comparación con las demás localidades, esto puede deberse a algún tipo de disturbio ya sea antrópico (pastoreo o forrajeo) o natural (tipo de pendiente o ladera), además de las condiciones poco favorables como las altas temperaturas y la baja humedad, debido que los taxones encontrados corresponden a organismos tolerantes a condiciones de estrés ambiental.

En “La Soledad”, se presentaron 13 morfotipos de colémbolos. Los taxones reportados indican características del sitio de muestreo, por ejemplo: *Cyphoderus*, es una especie que habita en

suelos húmedos y fértiles; *Lepidocyrtus*, se ha registrado en sitios con alto contenido de nutrientes y características ambientales favorables, como la composta; y *Sminthurus*, se caracteriza por incidir en cultivos de leguminosas forrajeras. Por otro lado las especies que se presentaron únicamente en el 2013 indican la presencia de metales pesados y suelos con manejo agrícola. Para el 2014 se encontraron géneros que representan sitios irrigados, con alto contenido de nutrientes como los sitios de cultivo y también organismos pioneros y tolerantes a la contaminación.

“El Clarín” tiene en conjunto 11 géneros de los cuales 6 se presentaron en ambos años de colecta. Entre estos géneros, algunos se han encontrado en sitios poco perturbados y a orillas de ríos, como *Isotomiella* e *Isotomodes* respectivamente; en el caso de *Hemisotoma*, *Ceratophysella* y *Xenylla* se reportan en sitios como agroecosistemas y sitios contaminados; *Lepidocyrtus* se ha presentado en lugares con alto contenido de nutrientes. Esta localidad se caracterizó por encontrarse a orillas del Río Bobos, no presentó cultivo agrícola, sin embargo, no se sabe si algún tipo de contaminante proveniente del río pudiera influir en la composición de la colémbolofauna. Los géneros que se presentaron únicamente en 2013 (*Seira*, *Sminthurinus* y *Sphaeridia*) tuvieron registros de abundancia menores a 10 individuos en el suelo y en otros trabajos se han registrado en cultivos de maíz, alfalfa y leguminosas. Los géneros encontrados en 2014 son *Friesea* y *Pseudosinella* que se consideran tolerantes a contaminantes y pioneros en sitios perturbados, respectivamente.

VI.2.2.3 Abundancia y densidad de ácaros

La comunidad de ácaros fue más abundante en 2014, año en el que se incrementó casi cuatro veces el número de individuos respecto al 2013. La distribución de los grupos de ácaros se presentó muy similar en ambos años, siendo dominantes los ácaros Cryptostigmata, seguidos de Mesostigmata, Prostigmata y Astigmata (Figs. 20-24). Sin embargo, cada localidad presentó algunas particularidades en su composición:

Atlixco: La abundancia total de ácaros no superó los 400 individuos, su composición fue única, debido a que *Tyrophagus* (Astigmata) mostró mayor abundancia que Cryptostigmata (Fig. 20).

Izúcar-Tepexco: Izúcar de Matamoros (2013) mostró la menor abundancia de ácaros (cercana a 200 individuos), mientras que en Tepexco (2014) se contabilizaron abundancias superiores a 1,200 individuos. En ambas localidades se ausentó *Tyrophagus* (Astigmata) y de mayor a menor abundancia de los grupos de ácaros fueron: Cryptostigmata, Prostigmata y Mesostigmata (Fig. 21).

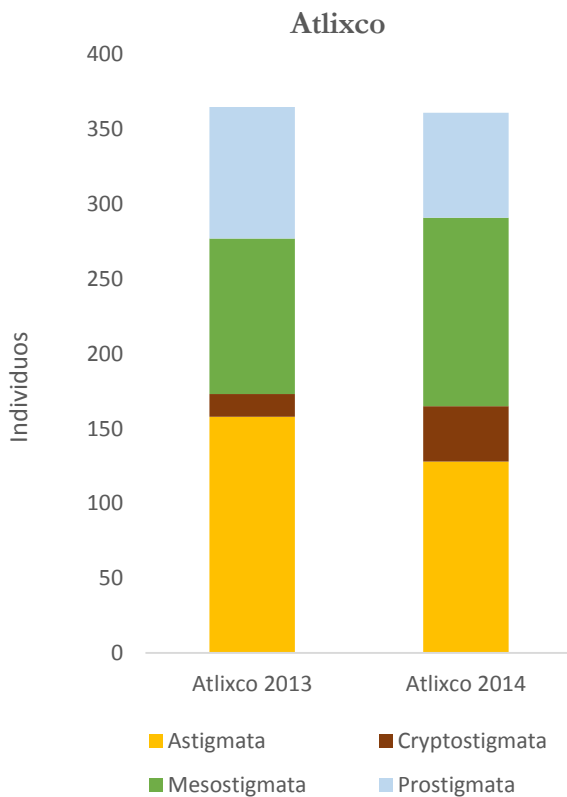


Figura 20. Abundancia de ácaros en Atlixco, Puebla.

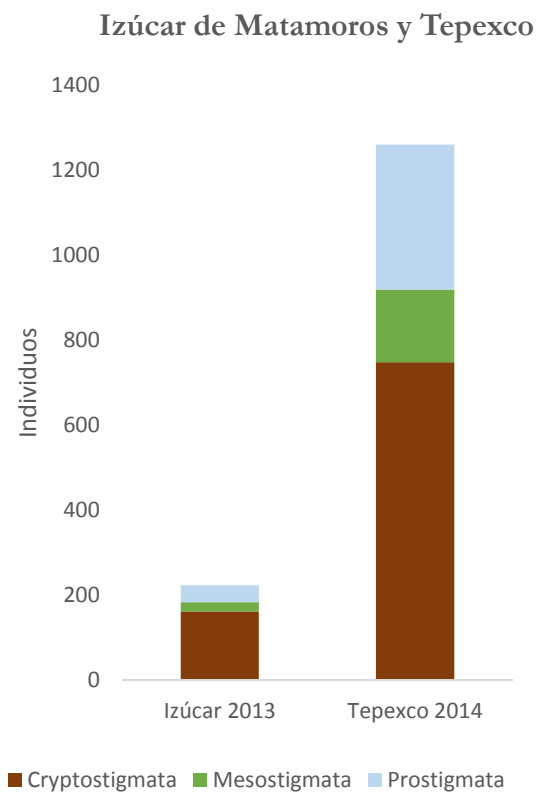


Figura 21. Abundancia de ácaros en Izúcar-Tepexco, Puebla.

En “La Soledad” la abundancia fue cercana a 400 individuos en donde se integraron todos los grupos de ácaros, la mayor proporción fue para el grupo de Oribátidos, seguida de Prostigmados, Mesostigmados y en menor cantidad los Astigmados (Fig. 22).

“El Clarín” presentó la mayor abundancia de todas las localidades, pero solamente en su segundo año de muestreo (2,000 individuos). Su composición fue mayor para Cryptostigmata, seguido de Mesostigmata, Prostigmata y una cantidad menor de Astigmata (Fig. 23).

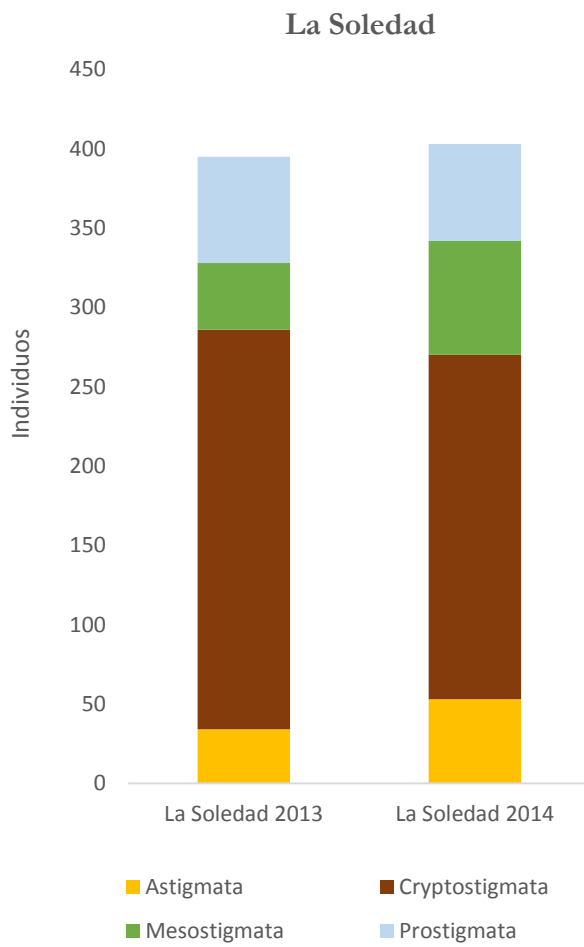


Figura 22. Abundancia de ácaros en “La Soledad”, Veracruz.

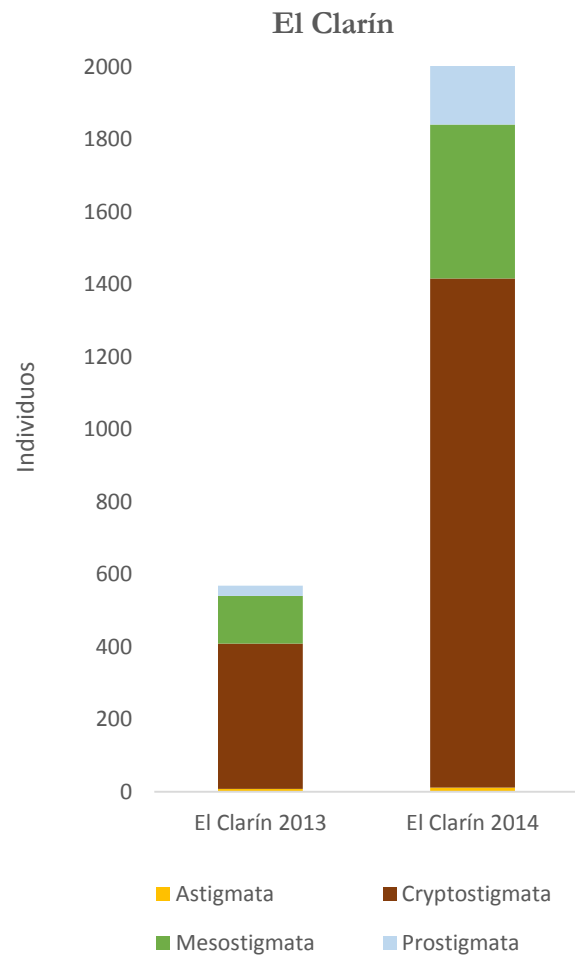


Figura 23. Abundancia de ácaros en “El Clarín”, Veracruz.

Se infirió la densidad de ácaros. La localidad con menor densidad fue Izúcar de Matamoros (2013) que presentó una densidad de 5,055 ind/m², a continuación fue la localidad de Atlixco, que se acercó a 8,200 ind/m² y posteriormente “La Soledad” con un aproximado de 9,000 ind/m². Las tres localidades con mayor densidad fueron: “El Clarín” (2013), Tepexco (2014) y “El Clarín” (2014), con 12,900 ind/m², 28,570 ind/m² y 46,166 ind/m², respectivamente (Fig. 24).

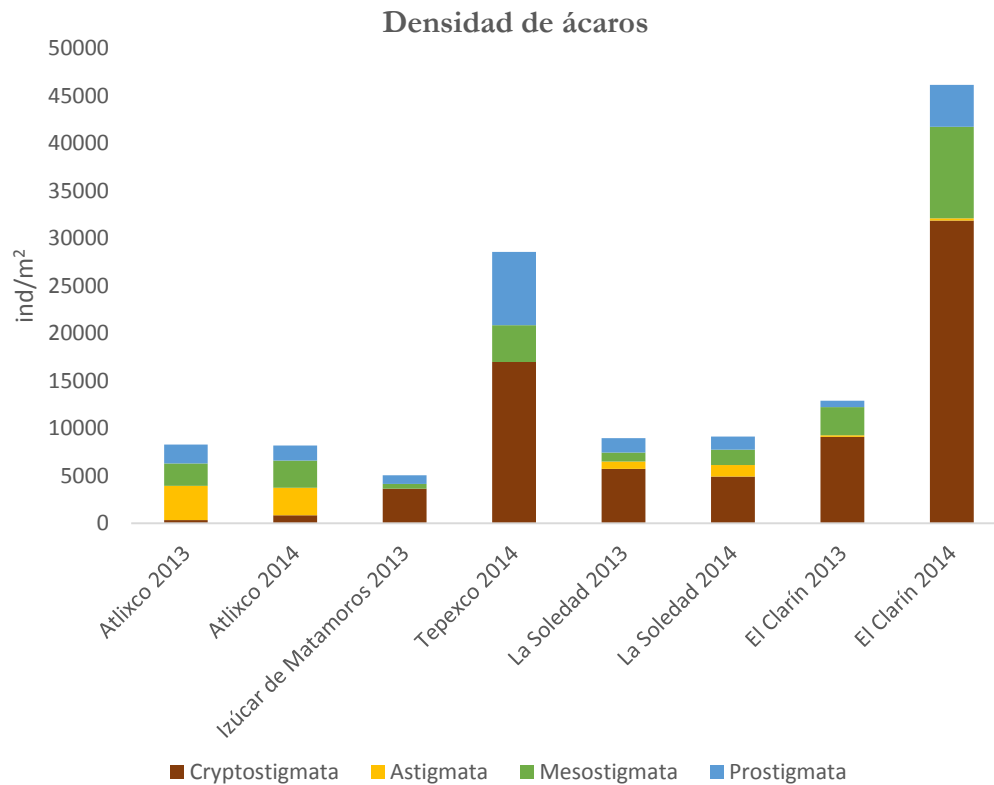


Figura 24. Densidad de los principales grupos de ácaros en 2013 y 2014.

Alrededor del mundo se ha reconocido que los ácaros son importantes bioindicadores de los sistemas acuáticos y terrestres, a causa de que son habitantes activos dentro de estos ecosistemas (Walter & Proctor, 2013). En este estudio se trabajó de manera general con los cuatro grupos más importantes de ácaros, algunas localidades presentaron peculiaridades en su abundancia y composición que describen características propias del terreno (condiciones climáticas) y algunas alteraciones antrópicas (como el manejo agrícola).

Se observó que las localidades con cultivo agrícola (Atlixco y “La Soledad”) tuvieron una abundancia y densidad cuatro veces menor que las localidades consideradas con poco disturbio,

como ocurrió en un estudio realizado en Nueva York, donde se comparó la diversidad de ácaros (Mesostigmata y Cryptostigmata) en cinco diferentes tipos de suelo (Minor & Cianciolo, 2007).

En la localidad de Atlixco, *Tyrophagus* (Astigmata) fue el grupo más abundante. Se sabe que este ácaro es herbívoro y se han localizado en cultivos de alfalfa, ya sea en las hojas frescas o en la hojarasca (Badieritakis *et al.*, 2014), también se alimenta de hongos contenidos en granos mohosos y de algas acuáticas (Walter & Proctor, 2013). Otra característica es que son subacuáticos, su cutícula delgada es adecuada para el intercambio de gases, tiene tiempos de generación cortos y capacidad para colonizar sitios perturbados. Con lo anterior podemos decir que *Tyrophagus* encontró condiciones ideales para su alimentación en los cultivos de alfalfa e incrementó sus poblaciones. Por otro lado, algunas características del suelo como la contaminación por químicos, pudieron haber interferido en las poblaciones de Oribátidos (Vázquez-Rojas, 2002).

Izúcar-Tepexco fueron las localidades en las que se ausentaron los Astigmata, sin embargo aquí se encontró el mayor número de Prostigmata, esta abundancia relativamente alta, puede ser explicada por la gran diversidad de hábitos alimenticios de este grupo, además de sus diferentes tamaños que permiten un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles y así tienen la facultad de ocupar un mayor número de nichos (Fuentes *et al.*, 2008). Un trabajo realizado en dos sitios semiáridos en el Valle de Tehuacán, Pue., reflejaron una proporción 2:1 de Prostigmata-Oribatida, de dicho estudio se concluyó que el grupo Prostigmata presenta cierta afinidad por condiciones xéricas (Estrada *et al.*, 1988). Lo anterior se vincula con este trabajo, debido a que la misma proporción de prostigmados y oribátidos se obtuvo en la localidad con mayores temperaturas, siendo esta, Izúcar de Matamoros.

En “La Soledad”, hubo registros de *Tyrophagus*, aunque no en números mayores que la abundancia de Oribátidos. El número de mesostigmados y prostigmados fueron menores, respecto a las demás localidades. Estudios realizados sobre suelos con manejo agrícola, muestran que existe una pérdida notable de materia orgánica, mismo proceso que desfavorece a las poblaciones de ácaros (Bernal-Rojas, 2006).

En el sitio de muestreo “El Clarín” se presentó la densidad más alta de ácaros. El grupo más abundante fue Cryptostigmata, taxón que refleja una estabilidad en el ecosistema, como condiciones favorables de humedad, temperatura, contenido de materia orgánica (Gergócs &

Hufnagel, 2009). Los mesostigmados y prostigmados también fueron abundantes, mostrando que es la localidad con más representantes de diversos grupos tróficos.

VI.2.2.4 Correlación: abundancia de mesofauna - factores ambientales

El principio fundamental para la utilización de la fauna como indicadora de la calidad del suelo es que los organismos no están distribuidos al azar, sino que su ocurrencia está correlacionada con ciertas propiedades ambientales. En consecuencia, se seleccionan parámetros en base a su sensibilidad o a una condición dada del recurso y después se evalúa en sitios diferentes para hacer inferencia acerca de ese atributo o condición (Bedano, 2007). En este estudio la relación entre la densidad de mesofauna y los factores ambientales (humedad, temperatura y emisión de CO₂), ocurrió de la siguiente manera (Tabla 11; Fig. 25):

Tabla 11. Correlación de los factores ambientales y la abundancia de la mesofauna.

Elementos	Correlación	Relación
Nemátodos - Temperatura	0.33784957	Negativa (Moderada)
Colémbolos - Temperatura	-0.43932748	Negativa (Débil)
Ácaros - Temperatura	-0.03674438	Negativa (Muy débil)
Nemátodos - % RH	-0.53731155	Negativa (Muy débil)
Ácaros - % RH	0.21576335	Negativa (Moderada)
Colémbolos - % RH	-0.05382699	Negativa (Muy débil)
Colémbolos - CO ₂	-0.44808426	Negativa (Débil)
Ácaros - CO ₂	0.71345121	Negativa (Moderada)
Nemátodos - CO ₂	-0.12489046	Negativa (Débil)
Ácaros - Colémbolos	0.06842852	Negativa (Moderada)
Ácaros - Nemátodos	0.37093958	Negativa (Moderada)
Colémbolos - Nemátodos	0.34292868	Negativa (Moderada)

Existe una correlación negativa entre los microartrópodos y la temperatura, por su parte los nemátodos muestran una correlación negativa moderada. Nemátodos y colémbolos presentan una correspondencia negativa respecto a la humedad relativa, siendo los ácaros los únicos con una relación moderada ante este factor. En la relación abundancia-proporción de CO₂, los ácaros se

relacionaron moderadamente, mientras que nemátodos y colémbolos lo hicieron de manera negativa. La abundancia de cada grupo de mesofauna tiene mayor relación entre los microartrópodos-nemátodos en comparación con ácaros-colémbolos.

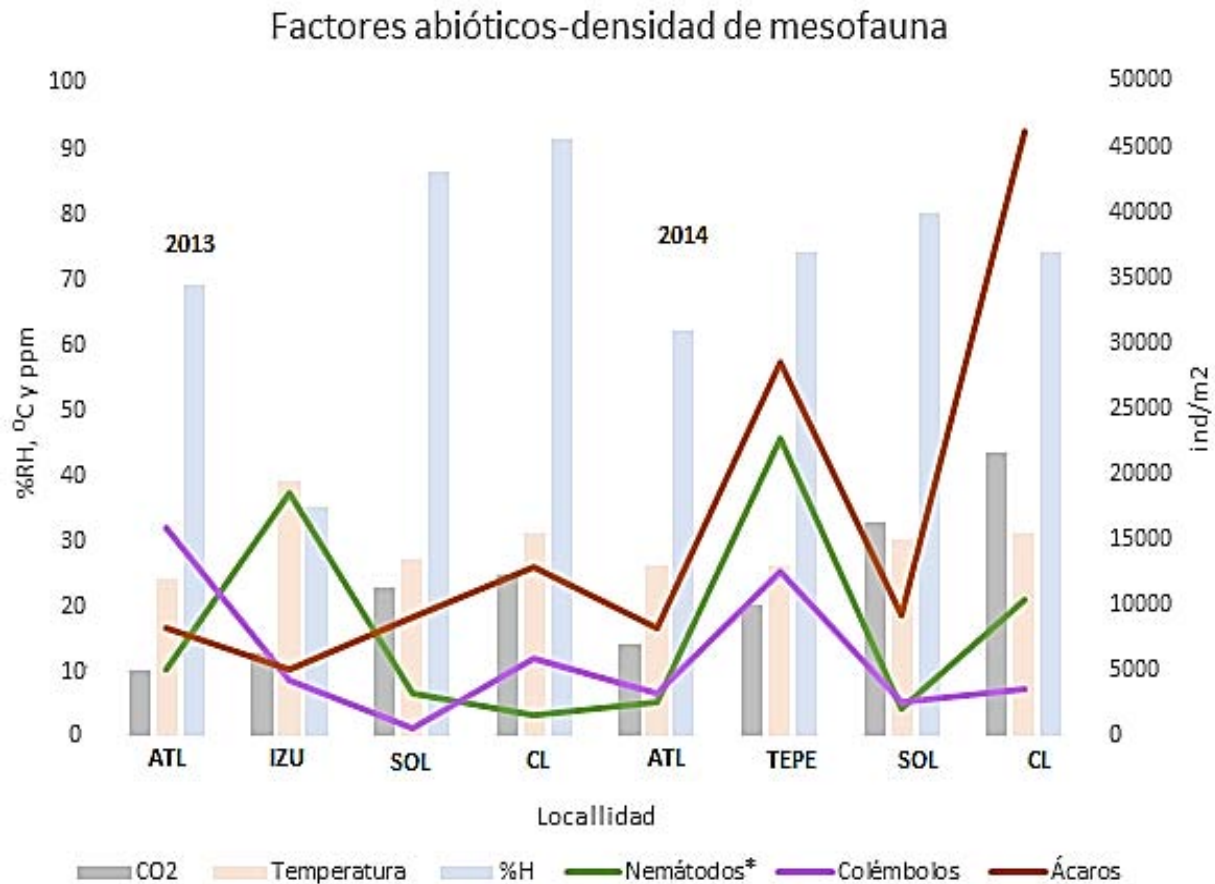


Figura 25. Relación de los factores ambientales con la densidad de la mesofauna.
***La relación de la densidad de nemátodos respecto a la de microartrópodos es 10 veces mayor y por razones de visibilidad en el gráfico, se consideró una cantidad de 10,000 individuos menos en la densidad de nemátodos.**

La temperatura, así como los valores de humedad, ocasionan una respuesta negativa en la densidad de la mesofauna, como fue el caso en el que disminuyeron ácaros y colémbolos en la localidad de Izúcar de Matamoros. Sin embargo, éste no fue el caso para los nemátodos, cuya disminución en la densidad se relaciona con otros factores. En los ambientes con disturbio causado por el uso de suelo se modificó la riqueza de la mesofauna, y se sabe que esta edafofauna posee menor riqueza de especies en las primeras etapas de sucesión, por lo que algunos

colonizadores pioneros, especializados y con alta capacidad reproductiva y de dispersión, tienen oportunidad de crecer en grandes poblaciones y la diversidad pronto aumenta y puede llegar a niveles aún más altos que en la etapa de sucesión final (Koehler, 1999).

VI.2.2.5 Composición de nemátodos

Se identificaron 18 morfotipos correspondientes a 14 familias y 17 géneros de nemátodos, que se clasificaron según su comportamiento trófico, así como su grado de colonización-persistencia (valor c-p) (Urzelai *et al.*, 1998; Yeates *et al.*, 1993) (Tabla 12).

Tabla 12. Morfotipo, familia, género, comportamiento trófico y valor c-p de nemátodos.

Bacterívoros (BB), fungívoros (FF), parásitos de plantas (PP), omnívoros (OM), depredadores (DP), alimentadores de eucariotas unicelulares (AEU) y omnívoro-depredadores (OM-DP). *Valores c-p: ^a (Bongers, 1990) y ^b (Cares & Huang, 2012).

Morfotipo / Familia	Género	Comportamiento trófico	Valor c-p *	Atlixco, Pue.	Izúcar, Pue.	“La Soledad”, Ver.	“El Clarín”, Ver.
(A1)/ Rhabditidae	<i>Rhabditis</i>	BB	1 ^a	+	+	+	+
(A2) / Mesorhabditidae	<i>Mesorhabditis</i>	BB	1 ^a	+	+	-	+
(D2) / Diplogasteridae	Desconocido	BB	1 ^a	+	+	-	+
(M) / Rhabditidae	Desconocido	BB	1 ^a	+	+	+	+
(O) / Panagrolaimidae	<i>Panagrolaimus</i>	BB	1 ^a	+	+	+	+
(A3) / Cephalobidae	<i>Acrobeles</i>	BB	2 ^a	+	+	-	+
(D1) / Aphelenchidae	<i>Aphelenchus</i>	FF	3 ^b	+	-	-	+
(Ka) / Tripylidae	<i>Trypilla</i>	DP	3 ^b	+	+	+	+
(I) / Tylenchidae	<i>Tylenchus</i>	AEU	2 ^b	+	+	-	+
(J) / Psilenchidae	<i>Filenchus</i>	PP	2 ^b	+	+	+	+
(H) / Hoplolaimidae	<i>Helicotylenchus</i>	PP	3 ^a	+	+	-	+
(L) / Hemicycliophoridae	<i>Hemicyclophora</i>	PP	3 ^a	+	-	-	-
(N) / Criconematidae	<i>Criconemoides</i>	PP	3 ^a	+	-	+	+
(F) / Tylenchidae	Desconocido	PP	2 ^a	-	-	+	+
(C2) / Dorylaimidae	<i>Dorylaimus</i>	OM	4 ^a	+	+	+	+
(G1) / Dorylaimidae	Desconocido	OM-DP	4 ^a	-	-	+	-
(LL) / Dorylaimidae	Desconocido	OM-DP	4 ^a	+	+	-	+
(E) / Mononchidae	<i>Mononchus</i>	DP	4 ^a	+	+	+	+

Las características de las comunidades de nemátodos fueron descritas por los siguientes enfoques (Tabla 13):

1. Índice de madurez (IM) e índice fitoparasítico (IFP) (Bongers, 1990).
2. Índice de madurez modificado (mIM) (Yeates, 1994).

3. Índice de madurez IM₂₋₅ (excluyendo c-p 1) (Bongers & Bongers, 1998).
4. Coeficiente IFP/IM (Bongers & Bongers, 1998).

Tabla 13. Valores para el Índice de madurez y sus diferentes adaptaciones.

Localidad/ IM	Año	Atlixco, Puebla	Izúcar- Tepexco, Puebla	“La Soledad”, Veracruz	“El Clarín”, Veracruz
IM	2013	1.90	1.82	2.22	1.75
IM	2014	2.30	1.74	2.33	2.13
IFP	2013	2.54	2.77	2.05	2.42
IFP	2014	2.28	2.89	2.09	2.29
mIM	2013	2.22	2.05	2.20	1.79
mIM	2014	2.37	1.80	2.27	2.14
IM2-5	2013	3.31	2.88	4	2.63
IM2-5	2014	3.84	2.85	3.91	3.05
Coeficiente IFP/IM	2013	1.32	1.52	0.92	1.38
Coeficiente IFP/IM	2014	0.96	1.66	0.89	1.07

El Índice de madurez muestra cifras entre 1.74 (Izúcar-Tepexco) y 2.33 (“La Soledad”), sin embargo ya que son menores a un índice de 3, estos valores no muestran una estabilidad ambiental.

El Índice Fitoparasítico en ambos estados se presentó mayor en las localidades sin disturbio (Izúcar-Tepexco y “El Clarín”) que en las localidades con manejo agrícola (Atlixco y “La Soledad”). Este índice refleja el nivel de la producción primaria de las plantas superiores, aumentando su valor como resultado de la fertilización.

El Índice de madurez modificado por Yeates (1994), combina los dos índices anteriores (IM e IFP) y cuanto más alto es su valor se considera un ecosistema con mayor estabilidad (Porazinska *et al.*, 1999). Lo que respecta a este trabajo, todas las localidades muestran valores alrededor de 2, representando un estado de madurez y estabilidad bajo. Sin embargo estos resultados podrían conjuntarse con otros análisis, como el tipo de suelo o la cantidad de contaminantes, debido a que se pueden presentar dos diferentes efectos en un tipo de suelo (Yeates & Bird, 1994).

El Índice IM₂₋₅ evalúa el estado ecológico del suelo a largo plazo, se desarrolla mediante la exclusión de los grupos con valor c-p 1. Los valores entre 2 y 5 de c-p son más estables temporalmente, siendo cp-1 indicativo de la presencia de oportunistas en condiciones agrícolas y de un grado alto en nutrientes que pueden enmascarar el efecto del estrés inducido por metales pesados u otros contaminantes. El valor más alto de este índice lo presentó “La Soledad”, esta

localidad se observó rica en nutrientes por la adición de biosólidos como el estiércol y se ha demostrado que en estos casos ocurre un incremento del IM_{2-5} durante la sucesión primaria, secundaria y si es el caso de que se suministren constantemente nemátodos y los nichos sean adecuados, se beneficiará el establecimiento de la población para llegar a condiciones clímax. La segunda localidad con valores altos del IM_{2-5} fue Atlixco, en el cual no se observaron biosólidos agregados, sin embargo presenta una comunidad de nemátodos escalonada. Para el resto de las localidades: Izúcar-Tepexco y “El Clarín” consideradas sin cultivo agrícola, resultaron con valores cercanos a 3, indicando una estabilidad y madurez media del ecosistema. Se sabe que los nichos naturales pueden cambiar temporalmente su comunidad de nemátodos, como resultado de factores de estrés, tales como la deshidratación o el cambio de la relación de O_2/CO_2 , dichos cambios podrían dar lugar a una mayor competencia y a la extinción de especies dentro del microambiente (Bongers & Bongers, 1998).

La relación IFP/IM también es un indicador de la fertilidad del suelo, los cambios se han observado después de que termina la fertilización por nitrógeno y no es un índice que esté directamente relacionado con los cambios en la vegetación, pero sí se encuentra influenciado por el nivel nutricional del suelo (Bongers y Bongers, 1998). Los valores más altos de fertilidad en el suelo fueron para las localidades sin cultivo agrícola, en este caso con 1.66 para Izúcar-Tepexco y 1.38 para “El Clarín”, mientras que las localidades con menores valores de fertilidad fueron para aquellas con manejo agrícola, con 1.32 para Atlixco y 0.92 para “La Soledad”.

VI.2.3 Presencia de microartrópodos e identificación taxonómica

A continuación, se enlistan los géneros más abundantes de cada grupo de microartrópodos.

VI.2.3.1 Colémbolos

Se identificaron 23 familias de colémbolos en todos los sitios de colecta. En “La Soledad”, se identificaron 9 familias, 7 subfamilias, 12 géneros y 2 especies, en “El Clarín” 6 familias, 4 subfamilias, 9 géneros y 4 especies, en Atlixco: 5 familias, 4 subfamilias, 9 géneros y 4 especies y en Izúcar de Matamoros: 3 familias, 3 subfamilias, 7 géneros y 1 especie (Tabla 14).

Tabla 14. Identificación taxonómica de colémbolos

Año	Localidad	Familia	Subfamilia	Género	Especie
2013	Atlixco, Pue.	Onychiuridae	Onychiurinae	<i>Orthonychiurus</i>	<i>folsoni</i>
2013	Atlixco, Pue.	Isotomidae	Proisotominae	<i>Proisotoma</i>	<i>minuta</i>
2013	Atlixco, Pue.	Isotomidae	Anurophorinae	<i>Hemisotoma</i>	<i>thermophila</i>
2013	Atlixco, Pue.	Isotomidae	Anurophorinae	<i>Isotomodes</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Isotomidae	Proisotominae	<i>Folsomides</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Neanuridae	Frieseinae	<i>Friesea</i>	<i>magnicornis</i>
2013	Atlixco, Pue.	Hypogastruridae	-	<i>Ceratophysella</i>	sp.
2014	Atlixco, Pue.	Hypogastruridae	-	<i>Xenylla</i>	sp.
2014	Atlixco, Pue.	Sminthuridae	-	<i>Sphaeridia</i>	sp.
2013	Izúcar, Pue.	Entomobryidae	Lepidocyrtinae	<i>Lepidocyrtus</i>	sp.
2013	Izúcar, Pue.	Sminthuridae	-	<i>Sminthurides</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Entomobryidae	Willowsiinae	<i>Americabrya</i>	<i>arida</i>
2014	Tepexco, Pue.	Entomobryidae	Orchesellinae	<i>Orchesella</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Sminthuridae	-	<i>Sphaeridia</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Hypogastruridae	-	<i>Xenylla</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Isotomidae	Anurophorinae	<i>Hemisotoma</i>	<i>thermophila</i>
2013	La Soledad, Ver.	Poronellidae	Cyphoderinae	<i>Cyphoderus</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Entomobryidae	Entomobryinae	<i>Entomobrya</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Isotomidae	Proisotominae	<i>Folsomides</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Sminthuridae	Sminthurinae	<i>Sminthurus</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Isotomidae	Proisotominae	<i>Proisotoma</i>	<i>minuta</i>
2013	La Soledad, Ver.	Hypogastruridae	-	<i>Ceratophysella</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Odontellidae	-	<i>Xenyllodes</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Brachystomellidae	-	<i>Brachystomella</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Entomobryidae	Lepidocyrtinae	<i>Pseudosinella</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Dicyrtomidae	Dicyrtominae	<i>Dicyrtoma</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Hypogastruridae	-	<i>Xenylla</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Hypogastruridae	-	<i>Xenylla</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Hypogastruridae	-	<i>Ceratophysella</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Neanuridae	Frieseinae	<i>Friesea</i>	<i>magnicornis</i>
2014	El Clarín, Ver.	Sminthuridae	-	<i>Sphaeridia</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Entomobryidae	Lepidocyrtinae	<i>Lepidocyrtus</i>	<i>floridensis</i>
2014	El Clarín, Ver.	Entomobryidae	Lepidocyrtinae	<i>Lepidocyrtus</i>	<i>finus</i>
2014	El Clarín, Ver.	Entomobryidae	Seirinae	<i>Seira</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Katiannidae	-	<i>Sminthurinus</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Isotomidae	Anurophorinae	<i>Hemisotoma</i>	<i>thermophilla</i>
2014	El Clarín, Ver.	Entomobryidae	Lepidocyrtinae	<i>Pseudosinella</i>	sp.

VI.2.3.2 Ácaros

El grupo de ácaros más abundante fue el de los Cryptostigmata, del cual las familias identificadas para Puebla fueron 13 y para Veracruz 21. De los Mesostigmata se identificaron 7 familias, encontrando a Phytoseiidae en los dos estados. Se identificaron 7 familias para Puebla y 2 para Veracruz de Prostigmata y únicamente se identificó a *Tyrophagus* para Astigmata (Tabla 15).

Tabla 15. Identificación taxonómica de ácaros

Año	Localidad	Familia	Género	Especie	
2013	Atlixco, Pue.	Mesostigmata	Phytoseiidae	<i>Amblyoseius</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Mesostigmata	Parasetidae	<i>Parasitus</i>	sp.
2014	Atlixco, Pue.	Mesostigmata	Macrochelidae	<i>Macrocheles</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Mesostigmata	Urodinychidae	<i>Uroobovella</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Mesostigmata	Uropodidae	-	-
2014	El Clarín, Ver.	Mesostigmata	Phytoseiidae	<i>Neoseiulus</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Mesostigmata	Oligamasidae	<i>Gamasiphis</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Mesostigmata	Laelapidae	<i>Cosmolaelaps</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Prostigmata	Caligonellidae	<i>Neognathus</i>	<i>Terrestris</i>
2013	Atlixco, Pue.	Prostigmata	Ereynetidae	-	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Trombellidae	-	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Barbutiidae	-	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Ereynetidae	-	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Cunaxidae	<i>Pulaeus</i>	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Cunaxidae	<i>Cunaxa</i>	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Cunaxidae	<i>Armascirus</i>	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Cunaxidae	<i>Dactyloscira</i>	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Cunaxidae	<i>Cunaxoides</i>	-
2014	Tepexco, Pue.	Prostigmata	Bdellidae	<i>Spinibdella</i>	<i>Bifurcata</i>
2013	La Soledad, Ver.	Prostigmata	Scutacaridae	-	-
2013	El Clarín, Ver.	Prostigmata	Trombiidae	<i>Trombidium</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Ceratozetidae	<i>Ceratozetes</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Schelorbataidae	<i>Schelorbates</i>	<i>ca. Artigasi</i>
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Oribatulidae	<i>Zygoribatula</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Tectocephidae	<i>Tectocephus</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Haplozetidae	<i>Xylobates</i>	sp.
2013	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Phthiracaridae	<i>Hoplophorella</i>	sp.
2014	Atlixco, Pue.	Cryptostigmata	Haplozetidae	<i>Rostrozetes</i>	sp.
2013	Izúcar, Pue.	Cryptostigmata	Scutoverticidae	<i>Scutovertex</i>	sp.
2013	Izúcar, Pue.	Cryptostigmata	Euphthiracaridae	<i>Rhysotritia</i>	sp.
2013	Izúcar, Pue.	Cryptostigmata	Pheroliodidae	-	-
2014	Tepexco, Pue.	Cryptostigmata	Galumnidae	<i>Galumna</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Cryptostigmata	Epilohmaniidae	<i>Epilohmannia</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Cryptostigmata	Eremaozetidae	<i>Eremaozetes</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Cryptostigmata	Passalozetidae	<i>Passalozetes</i>	sp.
2014	Tepexco, Pue.	Cryptostigmata	Tectocephidae	<i>Tectocephus</i>	<i>ca. Elegans</i>
2013	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Oppiidae	<i>Oppiella</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Tectocephidae	<i>Tectocephus</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Euphthiracaridae	<i>Rhysotritia</i>	sp.
2013	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Oribatulidae	<i>Zygoribatula</i>	sp.
2013; 2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Galumnidae	<i>Galumna</i>	sp.
2013; 2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Nanthermanniidae	<i>Cyrtthermannia</i>	<i>Simplex</i>

2013; 2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Schelorbitidae	<i>Schelorbitates</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Nothridae	<i>Nothrus</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Thripochthonnidae	<i>Allonothrus</i>	<i>Neotropicus</i>
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Zetomimidae	<i>Heterozetes</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Lohmanniidae	<i>Meristacarus</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Haplozetidae	<i>Rostrozetes</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Haplozetidae	<i>Rostrozetes</i>	sp.
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Malaconothridae	<i>Malaconothrus</i>	<i>ca. Chajulensis</i>
2014	La Soledad, Ver.	Cryptostigmata	Phenopelopidae	<i>Eupelos</i>	<i>ca. Acromius</i>
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Othocephidae	<i>Pseudotocephus</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Schelorbitidae	<i>Schelorbitates</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Eremobelbidae	<i>Eremobelba</i>	<i>Piffli</i>
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Tectocephidae	<i>Tegeozetes</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Opiidae	<i>Multioppia</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Damaeidae	<i>Belba</i>	sp.
2013; 2014	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Haplozetidae	<i>Rostrozetes</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Mochlozetidae	<i>Mochlozetes</i>	sp.
2013; 2014	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Schelorbitidae	<i>Schelorbitates</i>	<i>Praencisus</i>
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Nasobatidae	<i>Nasobates</i>	<i>Spinusus</i>
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Phthiricaridae	-	-
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Hermaniellidae	<i>Sacculobates</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Trhypochthonnidae	<i>Allonothrus</i>	<i>Neotropicus</i>
2014	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Mochlozetidae	<i>Mochloribatula</i>	sp.
2014	El Clarín, Ver.	Cryptostigmata	Galumnidae	-	-
2014	Atlixco, Pue.	Astigmata	Acaridae	<i>Tyrophagus</i>	sp.
2013	El Clarín, Ver.	Astigmata	Acaridae	<i>Tyrophagus</i>	sp.

VII. CONCLUSIONES

- De acuerdo con el objetivo general se obtuvieron 53 secuencias que corresponden a registros nuevos de la caracterización molecular y taxonómica de MOTU's para la mesofauna de los estados de Puebla y Veracruz. En cuanto a la densidad y abundancia de los grupos de interés, se presentó una mayoría en los sitios poco perturbados en comparación con aquellos con manejo agrícola.
- Dentro de los objetivos particulares se concluye que:
 - ❖ Las herramientas moleculares fueron aplicables a partir de los marcadores nucleares 18S para ácaros y 28S para nemátodos y colémbolos, mismos que permitieron una discriminación clara entre taxones.
 - ❖ Para la definición de las 53 MOTU's se identificaron taxonómicamente 53 individuos, presentándose un 71% de coincidencia entre la caracterización molecular y morfológica, ya que no fueron empleados métodos exactos de conservación de organismos 'voucher'.
 - ❖ Mediante la construcción de árboles de Máxima Verosimilitud para la comparación de individuos del mismo género registrados en las localidades de Puebla y Veracruz, se obtuvo que el género compartido de ácaros *Tyrophagus*, corresponde a la misma especie en ambos estados. En cuanto a los colémbolos *Hemisotoma thermophila*, presenta una distancia amplia entre las MOTU's, suponiendo que los individuos difieren probablemente a nivel de especie. En el caso de los nemátodos, las MOTU's de *Mononchus*, *Tripyla* y *Tripyrella*, por su amplia distancia genética, podrían ser géneros pertenecientes a diferentes especies en ambos estados.
 - ❖ El grupo de mesofauna con mayor abundancia y densidad fue Nematoda, seguido de Acari y Collembola. Los atributos de la mesofauna se relacionaron principalmente con los sitios menos perturbados y con mayor humedad.
 - ❖ El Índice de Madurez y sus diferentes modificaciones mostraron que todas las localidades presentan una estabilidad ambiental media. Algunos índices como el Fitoparasítico y la correlación IFP/IM atribuyeron mayor estabilidad y fertilidad a

las localidades sin manejo agrícola, mientras que los sitios con cultivo presentaron valores menores para estos índices.

- ❖ Se identificaron 23 familias de colémbolos, de las cuales 15 se encontraron en Veracruz y 8 en Puebla. También se identificaron ácaros de los cuatro grupos principales; 7 familias de Mesostigmata, 9 familias de Prostigmata, 34 familias de Cryptostigmata y 1 familia para Astigmata.

APÉNDICE 1

Sitios de Muestreo

Atlixco, Puebla.

2013

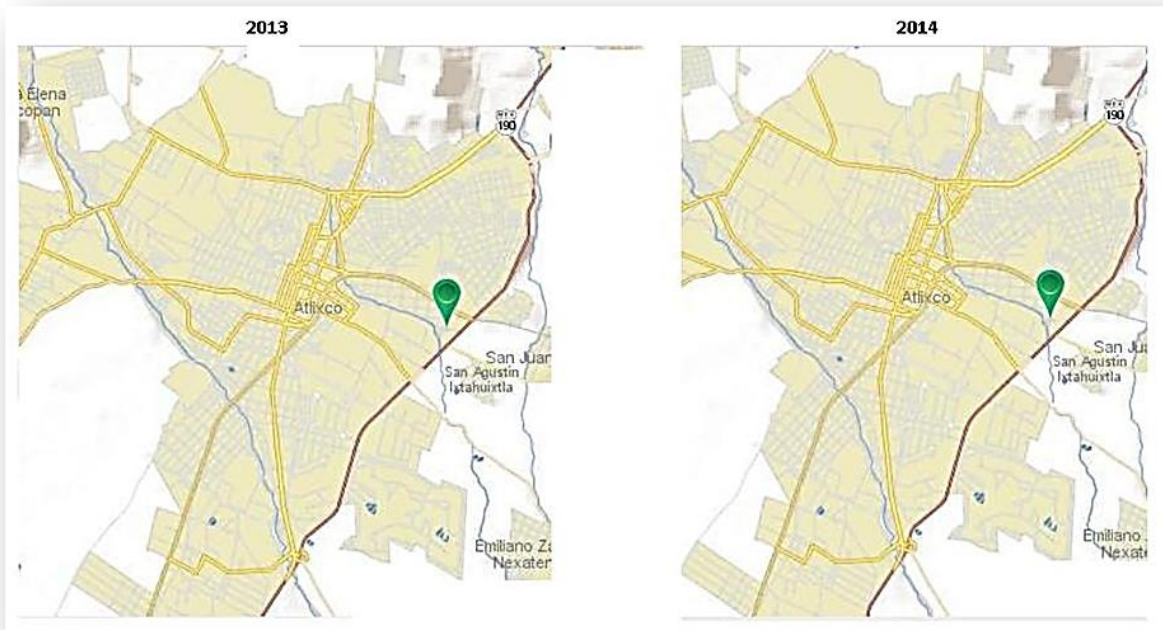


18.903281 N, -98.417528 W

2014



18.903222 N, -98.418861 W



*Mapas modificados de Google Maps:

<https://www.google.com.mx/maps/place/18%C2%B054'11.8%22N+98%C2%B025'03.1%22W/@18.9019577,-98.418909,17.24z/data=!4m2!3m1!1s0x0:0x0>

Izúcar de Matamoros y Tepexco, Puebla.

Izúcar, 2013



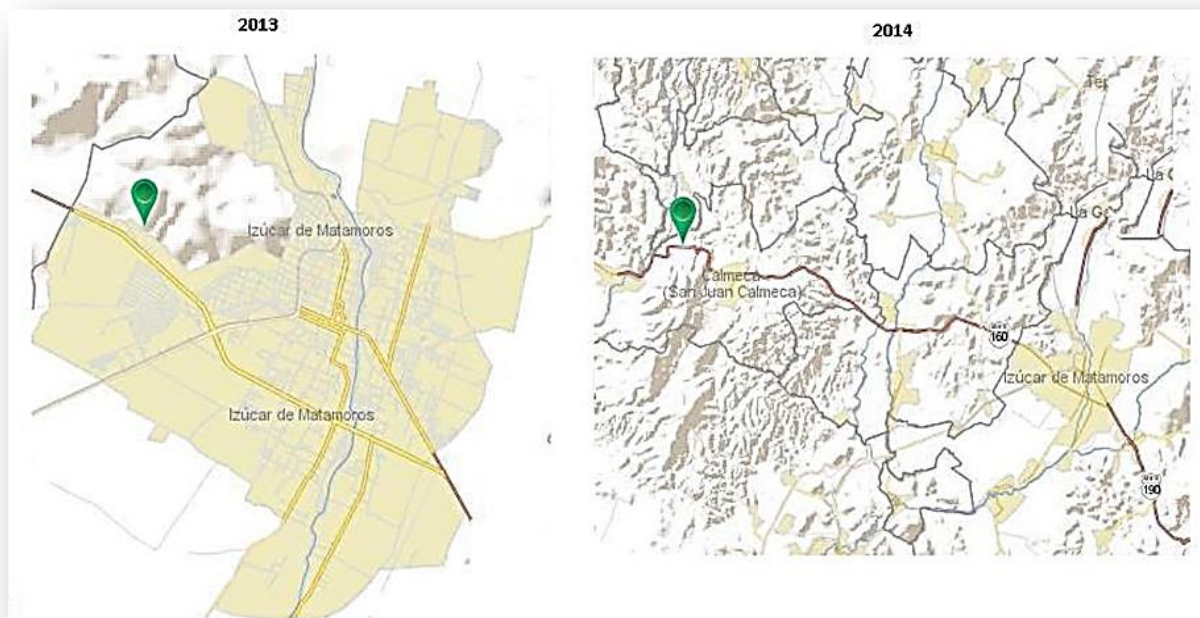
18.611250 N, -98.489194 W

Tepexco, 2014



18.655806 N, -98.657944 W

*La imagen de Izúcar de Matamoros fue tomada de: From Trying day by Michellendave Revisada el 21 de septiembre de 2015. En:<http://tripwow.tripadvisor.com/slideshow-photo/greenscape-north-of-izucar-de-matamoros-by-travelpod-member-michellendave-n5-mexico-mexico.html?sid=19982252&fid=tp-9>.



* Mapas modificados de Google Maps:

<https://www.google.com.mx/maps/place/18%C2%B036'40.5%22N+98%C2%B029'21.1%22W/@18.6098163,-98.490122,17z/data=!4m2!3m1!1s0x0:0x0>.

Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT)
“La Soledad”, Veracruz.

2013

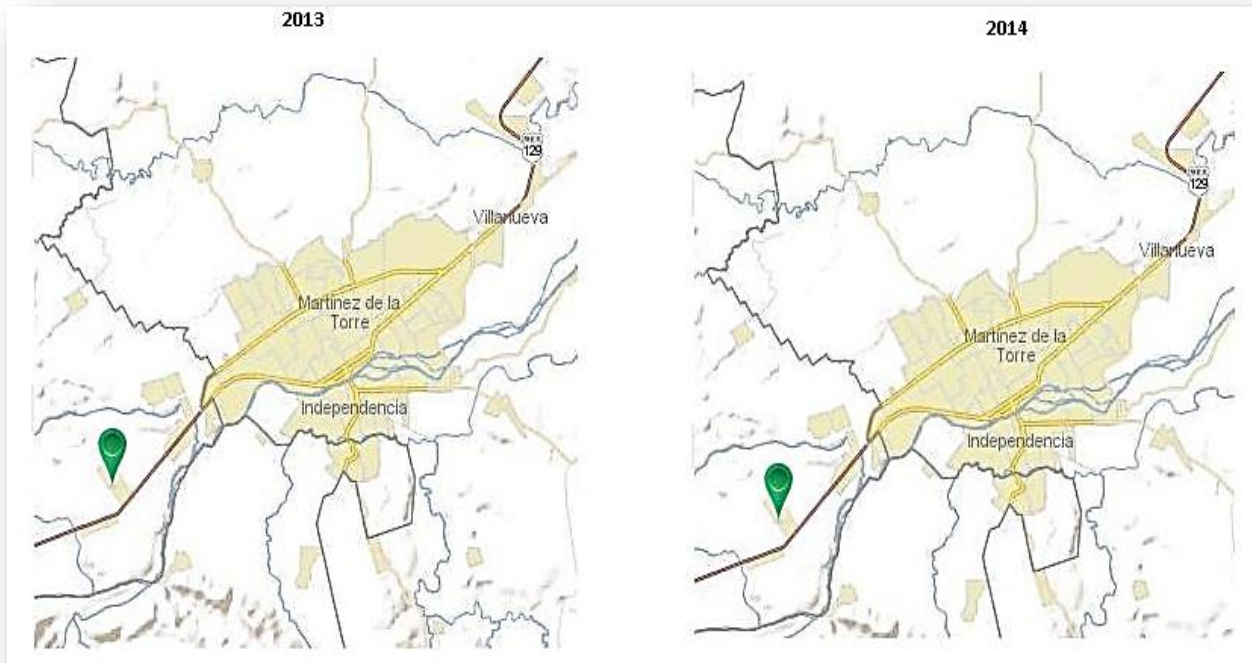


20.039778 N, -97.082722 W

2014



20.039972 N, -97.082556 W



* Mapas modificados de Google Maps:

<https://www.google.com.mx/maps/place/20%C2%B023.2%22N+97%C2%B004'57.8%22W/@20.0412044,-97.0978775,14.53z/data=!4m2!3m1!1s0x0:0x0>

Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT)
“El Clarín”, Veracruz.

2013



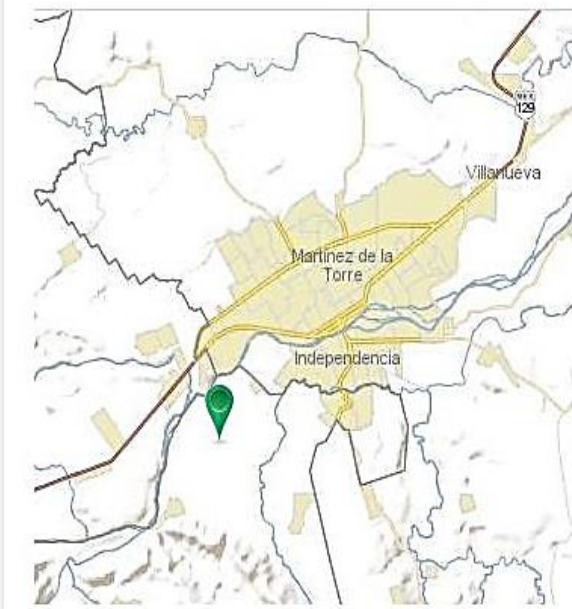
20.040972 N, -97.108114 W

2014



20.040778 N, -97.108278

2013



2014



* Mapas modificados de Google Maps:

<https://www.google.com.mx/maps/place/20%C2%B002'23.2%22N+97%C2%B004'57.8%22W/@20.0412044,-97.0978775,14.53z/data=!4m2!3m1!1s0x0:0x0>

APÉNDICE 2

Información sobre las secuencias de DNA obtenidas

Secuencias organizadas según su máximo porcentaje de identidad en GenBank.

Identificación Taxonómica	Secuencia seleccionada y tipo de BLAST	Nombre y serie del NCBI de la secuencia con mayor similitud	Porcentaje de coincidencia	Porcentaje de divergencia	Marcador / Primers	# DNA	# Secuencia	Localidad	Año
<i>Aporcelaimellus</i> (Heyns, 1965)	<i>Aporcelaimellus</i> D37 Revers Highly similar sequences	<i>Aporcelaimellus obtusicaudatus</i> isolate ApoEObt 18S RNA gene, AY284811.1	100%	0%	18S/ GS18S4 - 26R	X37	HM37	“La Soledad” MVZ, UNAM, Veracruz	2013
<i>Malaconothrus</i> (Berlese, 1904)	<i>Malaconothrus</i> D445 SC Highly similar sequences	<i>Malaconothrus gracilis</i> 18S ribosomal RNA gene, EF091424.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X93 Lam. Ac. 54	HM445	“La Soledad” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Macrocheles</i> (Latreille, 1829)	<i>Macrocheles</i> D215 SC Highly similar sequences	<i>Macrocheles</i> sp. AL5995 18S ribosomal RNA gene, partial AY620939.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X71 Lam. Ac. 16	HM215	Atlixco, Puebla	2013
<i>Helicotylenchus</i> (Steiner, 1945)	<i>Helicotylenchus</i> D232 Reverse Highly similar sequences	<i>Helicotylenchus</i> sp. 4I22G4 28S ribosomal RNA gene, partial DQ077794.1	99%	1%	28S/ 391a-501	X33	HM232	Atlixco, Puebla	2013
<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	<i>Rhabditis</i> D159 Forward Highly similar sequences	<i>Oscheius tipulae</i> strain CEW1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EU195969.1	99%	1%	28S/ D2A-D3B	X56	HM159	Atlixco, Puebla	2013
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer, 1900)	<i>Orthonychiurus</i> D208 SC Highly similar sequences	<i>Orthonychiurus yodai</i> 18S ribosomal RNA gene, complete sequence AY037171.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X79	HM208	Atlixco, Puebla	2013
<i>Macrocheles</i> (Latreille, 1829)	<i>Macrocheles</i> D217 SC Highly similar sequences	<i>Macrocheles</i> sp. AL5995 18S ribosomal RNA gene, partial sequence AY620939.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X73 Lam. Ac. 18	HM217	Atlixco, Puebla	2013
<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	<i>Parasitus</i> D207 Revers Highly similar sequences	<i>Parasitus kraepelini</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence GQ864296.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X70 Lam. Ac. 17	HM207	Atlixco, Puebla	2013

<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	<i>Parasitus</i> D216 Revers Highly similar sequences	<i>Parasitus kraepelini</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence GQ864296.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X72 Lam. Ac. 15	HM216	Atlixco, Puebla	2013
<i>Tyrophagus putrescentiae</i> (Schrank, 1781)	<i>Tyrophagus</i> D218 Revers Highly similar sequences	<i>Tyrophagus putrescentiae</i> voucher AHBLoo511 18S ribosomal RNA, AY499563.2	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X74 Lam. Ac. 14	HM218	Atlixco, Puebla	2013
<i>Rostrozetes</i> (Sellnick, 1925)	<i>Rostrozetes</i> D267 Reverse Highly similar	<i>Rostrozetes ovulum</i> voucher MZSPAC 00003 18S ribosomal RNA gene, HM070342.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X91 Lam. Ac. 45	HM267	“La Soledad” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Neoseiulus</i> (Hughes, 1948)	<i>Neoseiulus</i> D336 SC Somewhat similar sequences	<i>Neoseiulus womersleyi</i> genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, AB618062.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X112 Lam Ac. 27 y 28	HM336	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Gamasiphis</i> (Berlese, 1904)	<i>Gamasiphis</i> D338 SC Highly similar sequences	<i>Gamasiphis pulchellus</i> 18S ribosomal RNA gene, complete sequence AF115374.1	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X114 Lam. Ac. 29-31	HM338	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Cosmolaelaps</i> (Berlese, 1903)	<i>Cosmolaelaps</i> D344 SC Highly similar sequences	<i>Cosmolaelaps trifidus</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence L76343.2	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X120 Lám. Ac. 24 y 25	HM344	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Tyrophagus</i> (Schrank, 1781)	<i>Tyrophagus</i> D341 Revers Highly similar sequences	<i>Tyrophagus putrescentiae</i> voucher AHBLoo511 18S ribosomal RNA gene, partial sequence. AY499563.2	99%	1%	18S/ FW1230- Rev18S	X117 Lám Ac. 50-51	HM341	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Parasitus</i> (Latreille, 1795)	<i>Parasitus</i> D214 SC Highly similar sequences	<i>Parasitus kraepelini</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence GQ864296.1	98%	2%	18S/ FW1230- Rev18S	X72 Lam. Ac. 15	HM214	Atlixco, Puebla	2013
<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	<i>Rhabditis</i> D225 Reverse Highly similar sequences	<i>Oscobius tipulae</i> strain CEW1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EU195969.1	98%	2%	28S/ 391a-501	X56	HM225	Atlixco, Puebla	2013

<i>Rhabditis</i> (Dujardin, 1845)	<i>Rhabditis</i> D423 SC Highly similar sequences	<i>Osebeius tipulae</i> strain CEW1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EU195969.1	98%	2%	28S/ D2A-D3B	X177	HM423	Izúcar de Matamoros , Puebla	2014
<i>Mochlozetes</i> (Mahunka, 1978)	<i>Mochlozetes</i> D337 SC Highly similar sequences	<i>Oripoda</i> sp. SK-2013 gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence AB818532.1	98%	2%	18S/ FW1230-Rev18S	X113 Lám. Ac. 41	HM337	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Scheloribates praencisus</i> (Berlese, 1910)	<i>Scheloribates praencisus</i> D426 SC Highly similar sequences	<i>Scheloribates pallidulus</i> gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence AB818527.1	98%	2%	18S/ FW1230-Rev18S	X172 Lám. 34-37 y 53	HM426	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Cosmolaelaps</i> (Berlese, 1903)	<i>Cosmolaelaps</i> D343 SC Highly similar sequences	<i>Cosmolaelaps trijidus</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence L76343.2	98%	2%	18S/ FW1230-Rev18S	X119 Lám. Ac. 55	HM343	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Nasobates spinosus</i> (Woolley, 1966)	<i>Nasobates spinosus</i> D339 SC Highly similar sequences	<i>Scutovertex sculptus</i> 18S ribosomal RNA gene, partial sequence GQ864305.1	97%	3%	18S/ FW1230-Rev18S	X115 Lám. Ac. 33	HM339	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Entomobrya</i> (Rondani, 1861)	<i>Entomobrya</i> D41 Revers Highly similar sequences	<i>Entomobrya marginata</i> genomic DNA containing 28S rRNA LK024309.1	96%	4%	28S/ C1-D2	X41	HM41	Atlixco, Puebla	2013
<i>Aglenchus</i> (Andrássy, 1954)	<i>Aglenchus</i> D58 SC Highly similar sequences	<i>Aglenchus agricola</i> strain AgleAgr1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence FJ969113.1	95%	5%	18S/ GS18S4-26R	X21	HM58	Atlixco, Puebla	2013
<i>Tripyla</i> (Bastian, 1865)	<i>Tripyla</i> D226 Reverse Somewhat similar sequences	<i>Tripylina</i> sp. 1 YX-2013 isolate 2 28S ribosomal RNA KC117541.1	95%	5%	28S/ 391a-501	X61	HM226	Atlixco, Puebla	2013
<i>Pseudosinella</i> (Schäffer, 1897)	<i>Pseudosinella</i> D430 SC Highly similar sequences	<i>Pseudosinella tumula</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence KC236294.1	94%	6%	28S/ C1-D2	X173	HM430	“La Soledad” MVZ, UNAM, Veracruz	2014

<i>Nothacrobeles</i> (Allen y Noffsinger, 1971)	<i>Nothacrobeles</i> D300 SC Highly similar sequences	<i>Nothacrobeles triniglarus</i> 28S ribosomal RNA DQ145646.1	93%	7%	28S/ 391a-501	X101	HM300	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer,1900)	<i>Orthonychiurus folsomi</i> D192 Revers Somewhat similar sequences	<i>Tetrodontophora bielanensis</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EU376051.2	93%	7%	28S/ C1-D2	X78	HM192	Atlixco, Puebla	2013
<i>Tripylrella</i> (Brzeski y Winiszewska, 1993)	<i>Tripylrella</i> D305 Reverse Highly similar sequences	<i>Tripylrella</i> sp. ZQZ-2010a isolate R10 large subunit ribosomal RNA, GQ503051.1	92%	8%	28S/ 391a-501	X103 B	HM305	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Orthonychiurus folsomi</i> (Schäffer,1900)	<i>Orthonychiurus folsomi</i> D188 SC Somewhat similar sequences	<i>Tetrodontophora bielanensis</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EU376051.2	92%	8%	28S/ C1-D2	X69	HM188	Atlixco, Puebla	2013
<i>Xenylla</i> (Tullberg, 1869)	<i>Xenylla</i> D190 SC Somewhat similar sequences	<i>Xenylla humicola</i> genomic DNA containing 28S rRNA LK024440.1	92%	8%	28S/ C1-D2	X76	HM190	Atlixco, Puebla	2013
<i>Xenylla</i> (Tullberg, 1869)	<i>Xenylla</i> D213 Forward Highly similar sequences	<i>Xenylla humicola</i> genomic DNA containing 28S rRNA TUZ031538 LK024440.1	92%	8%	28S/ C1-D2	X76	HM213	Atlixco, Puebla	2013
<i>Pseudosinella</i> (Schäffer, 1897)	<i>Pseudosinella</i> D362 SC Highly similar sequences	<i>Pseudosinella tumula</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence KC236294.1	92%	8%	28S/ C1-D2	X131	HM362	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	<i>Mononchus</i> D222 SC Somewhat similar sequences	<i>Mononchus truncatus</i> clone MonCTru large subunit ribosomal RNA, AY593064.1	91%	9%	28S/ 391a-501	X32	HM222	Atlixco, Puebla	2013
<i>Tripylrella</i> (Brzeski y Winiszewska, 1993)	<i>Tripylrella</i> D224 Reverse Highly similar sequences	<i>Tripylrella</i> sp. ZQZ-2010a isolate R10 large subunit ribosomal RNA, GQ503051.1	90%	10%	28S/ 391a-501	X35	HM224	Atlixco, Puebla	2013
<i>Acrobeles</i>	<i>Acrobeles</i> D404 Forward Somewhat	<i>Acrobeloides maximus</i> strain	90%	10%	28S/ 391a-501	X176	HM404	Izúcar de Matamoros , Puebla	2014

(Von Linstow, 1887)	similar sequences	JB-89 28S ribosomal RNA, DQ903097.1							
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	<i>Mononchus</i> D324 SC Highly similar sequences	<i>Mononchus truncatus</i> clone MonCTru large RNA, AY593064.1	90%	10%	28S/ D2A-D3B	X106	HM324	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Mononchus</i> (Bastian, 1865)	<i>Mononchus</i> D328 SC Highly similar sequences	<i>Mononchus truncatus</i> clone MonCTru large subunit RNA, AY593064.1	89%	11%	28S/ 391a-501	X106	HM328	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	<i>Hemisotoma thermophila</i> D212 Forward Highly similar	<i>Cryptopygus antarcticus</i> 28S ribosomal RNA gene, EF199971.2	89%	11%	28S/ C1-D2	X75	HM212	Atlixco, Puebla	2013
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	<i>Hemisotoma thermophila</i> D361 SC Highly similar sequences	<i>Cryptopygus antarcticus</i> 28S ribosomal RNA gene, EF199971.2	89%	11%	28S/ C1-D2	X130	HM361	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Dorylaimus</i> (Dujardin, 1845)	<i>Dorylaimus</i> D318 SC Somewhat similar sequences	<i>Aporcella simplex</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence JQ778273.1	89%	11%	28S/ D2A-D3B	X102	HM318	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Discolaimus</i> (Cobb, 1913)	<i>Discolaimus</i> D320 Reverse Highly similar sequences	<i>Discolaimus</i> cf. <i>major</i> HHBM-2007a clone P108 LSU RNA EF207239.1	88%	12%	28S/ D2A-D3B	X104	HM320	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Aporcelaimellus</i> (Heyns, 1965)	<i>Aporcelaimellus</i> D175 Reverse Highly similar sequences	<i>Aporcelaimellus</i> sp. n. 2 SAO-2013 28S ribosomal RNA gene, JX094341.1	87%	13%	28S/ D2A-D3B	X66	HM175	Izúcar de Matamoros , Puebla	2013
<i>Panagrolaimus</i> (Fuchs, 1930)	<i>Panagrolaimus</i> D441 Forward Somewhat similar sequences	<i>Panagrolaimus</i> sp. PS1159 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence EU253569.1	86%	14%	28S/ D2A-D3B	X194	HM441	Izúcar de Matamoros , Puebla	2014
<i>Tylencholaimus</i> (Man, 1876)	<i>Tylencholaimus</i> D323 SC Highly similar sequences	<i>Tylencholaimus</i> sp. JH-2004 clone 2Z large SSU RNA gene, AY593028.1	86%	14%	28S/ D2A-D3B	X105	HM323	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Tripyla</i> (Bastian, 1865)	<i>Tripyla</i> D319 SC Somewhat similar	<i>Tripyla</i> sp. TPD362 28S ribosomal RNA KF270636.1	86%	22%	28S/ D2A-D3B	X103 A	HM319	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014

<i>Criconemoides</i> (Taylor, 1936)	<i>Criconemoides</i> D61 Forward Highly similar sequences	<i>Criconema</i> sp. PDL-2005 partial 18S rRNA gene, isolated Belgium, AJ966480.1	84%	16%	18S/ GS18S4- 26R	X24	HMD61	Atlixco, Puebla	2013
<i>Hemisotoma thermophila</i> (Axelson, 1900)	<i>Hemisotoma thermophila</i> D189 Revers Somewhat similar sequences	<i>Cryptopygus antarcticus</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence EF199971.2	84%	16%	28S/ C1-D2	X75	HM189	Atlixco, Puebla	2013
<i>Uroobovella</i> (Berlese, 1905)	<i>Uroobovella</i> D340 Revers Highly Similar sequences	<i>Uroobovella</i> sp. OSAL014198 18S ribosomal RNA gene, DQ144649.1	83%	17%	18S/ FW1230- Rev18S	X116 Lam. Ac. 26	HM340	“El Clarín” MVZ, UNAM, Veracruz	2014
<i>Eucephalobus</i> (Steiner, 1936)	<i>Eucephalobus</i> D128 SC Highly similar sequences	<i>Eucephalobus striatus</i> isolate 5974 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence HM439769.1	82%	18%	18S/ GS18S4- 26R	X48	HM128	Atlixco, Puebla	2013
<i>Folsomides</i> (Stach, 1922)	<i>Folsomides</i> D191 Forward Somewhat similar	<i>Folsomides parvulus</i> voucher Gao 0901 28S ribosomal RNA gene, JM981041.1	81%	19%	28S/ C1-D2	X77	HM191	Atlixco, Puebla	2013
<i>Sminthurinus</i> (Börner, 1901)	<i>Sminthurinus</i> D360 Revers Somewhat similar	<i>Ptenothrix monochroma</i> internal transcribed spacer 1, FJ411425.1	81%	19%	28S/ C1-D2	X121	HM360	“El Clarín” MVZ, Veracruz	2014
<i>Pseudacrobeles</i> (Steiner, 1938)	<i>Pseudacrobeles</i> D194 Reverse Somewhat similar sequences	<i>Eucephalobus</i> sp. SN-2010 isolate 5613 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence HM439769.1	81%	19%	28S/ D2A-D3B	X48	HM194	Atlixco, Puebla	2013

APÉNDICE 3

Evidencia fotográfica de la mesofauna bajo estudio

Nemátodos



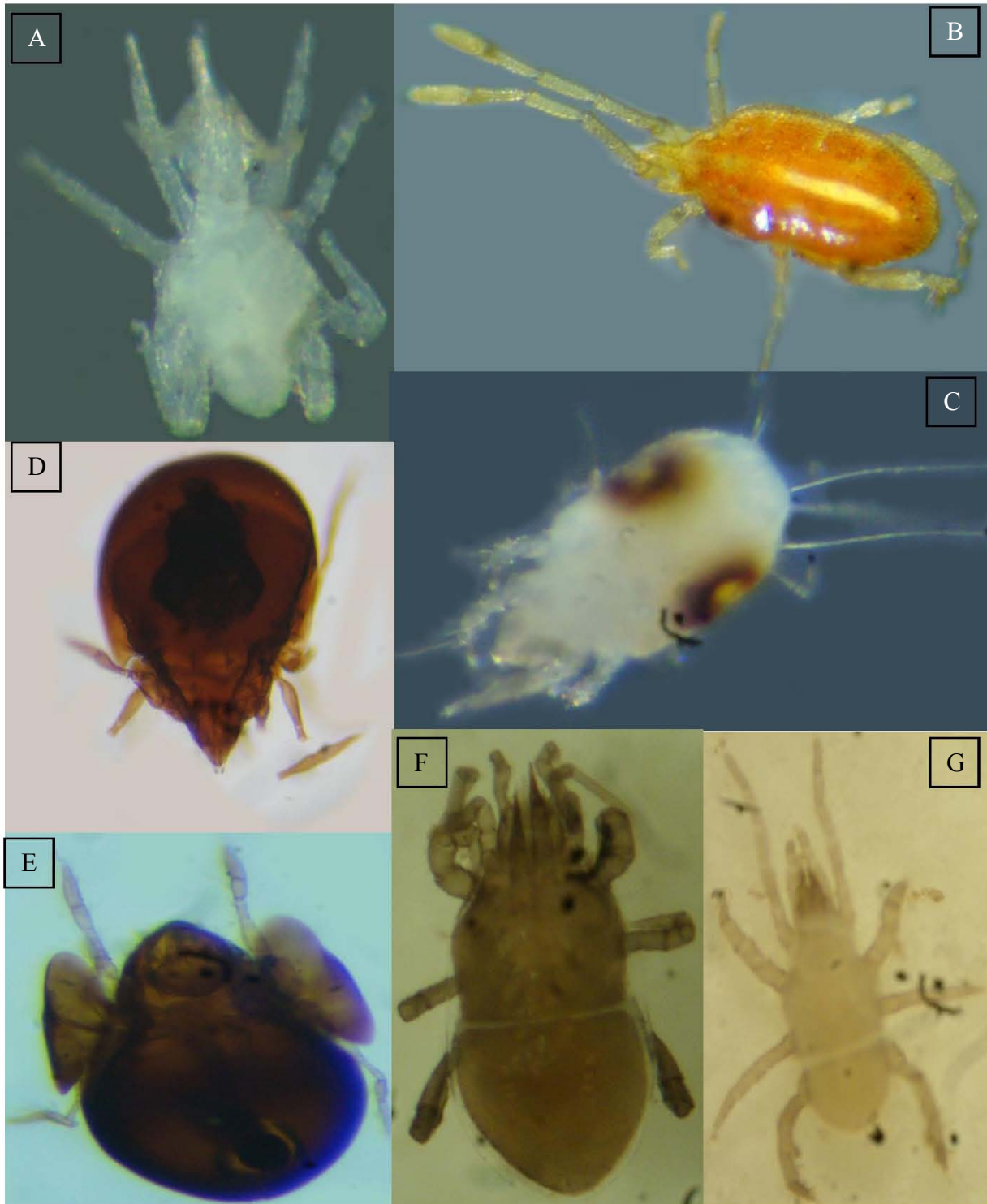
A: *Rhabditis*, B: *Acrobeles*, C: *Panagrolaimidae*, D: *Helicotylenchus*, E: *Dorylaimida* y F: *Mononchida* (Microscopio óptico 40X).

Colémbolos



A: *Onychiurus folsomi* **B:** *Pseudosinella* **C:** *Hemisotoma thermophila* **D:** *Cyphoderus*
E: *Isotoma* **F:** *Dicyrtoma* **G:** *Sminthurides* (Microscopio estereoscópico 35X).

Ácaros



A: Prostigmata, *Cunaxa* B: Prostigmata, *Trombidium* C: Astigmatina, *Tyrophagus* D: Cryptostigmata, *Rostrozetes* E: Cryptostigmata, Galumnidae F: Mesostigmata, *Macrocheles* G: Mesostigmata, *Parasitus* (Microscopio estereoscópico 35X).

LISTA DE REFERENCIAS

- Accattoli C. & Salazar A. (2012). Oribátidos (Acari: Oribatida): Indicadores de impacto antrópico en parques urbanos de La Plata (Argentina). *Acta Zoológica Mexicana*, 28(3):550-565.
- Acevedo-Granados Y. F. (2013). *Taxonomía molecular de aislamiento de Fusarium obtenidos a partir de muestras clínicas*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
- Ahmad W. & Jairajpuri S. (2010). *Mononchida. The predaceous nematodes*. India, New Delhi: Brill Leiden-Boston.
- Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W. & Lipman D. J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, 215:403-410.
- Álvarez-Ríos L. (2012). *Diversidad de ácaros del orden Prostigmata asociados al suelo de la Reserva Natural de Yotoco y del enclave seco del Río Dagua*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.
- Andrés M. F., Delibes A. & López-Braña I. (2008). Utilización de marcadores moleculares en el estudio de nemátodos fitoparásitos. En: Pallás V., Escobar C., Rodríguez-Palenzuela P., Marcos J. F. (Eds.). *Herramientas biotecnológicas en plantas*. España: Sociedad Española de Fitopatología: Mundi-Prensa.
- Arango-Galván A., Cutz-Pool L. & Cano-Santana Z. (2009). Estructura de la comunidad de colémbolos del mantillo. En: Lot A. y Cano-Santana Z. (Eds.). *Biodiversidad del Pedregal de San Ángel*. (Pp: 395-402). D. F., México: UNAM-Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel- Coordinación de la Investigación Científica.
- Arango-Gutiérrez G. P. & Macías-Mazo K. I. (2004). Mesofauna de los colémbolos en el compost de la Corporación Universitaria Lasallista. *Revista Lavillista de Investigación*, 1(1):102-104.
- Arbea J. I. & Jornada R. (1988). Nota sobre la presencia masiva de *Onychiurus folsomi* Schaffer (Collembola, Onychiuridae) en lechos de *Eisenia andrei* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Boletín de sanidad vegetal. Plagas* 14(4):535-540.
- Arriaga-Franco S. E. (1987). *Evaluación de algunas técnicas de tinción y montaje permanente de nematodos fitoparásitos y de vida libre*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Iztacala, México.
- Arroyo J., Iturrondobetia J. C., Caballero A. I. & González-Carcedo S. (2003). Las comunidades de micro y mesoartrópodos de parcelas experimentales de cultivo de secano en un muestreo de invierno. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, 27(1-4):41-51.
- Badieritakis E. G., Fantinou A. A. & Emmanouel N. G. (2014). A qualitative and quantitative study of mites in similar alfalfa fields in Greece. *Experimental and Applied Acarology*, 62:195-214.
- Badii-Zabeh M. H., Flores A. E., Flores S., Quirós H., Foroughbakhch R. & Torres R. (2001). El papel de los Phytoseiidae en control biológico de las arañas rojas. En: M. Vargas, Polaco O. J. y Zúñiga G. (Eds.). *Contribuciones Entomológicas* (Pp: 7-20). México: I. P. N.
- Badii-Zabeh M. H., Garza-Cuevas R., Garza-Almanza V. & Landeros-Flores J. (2005). Los Indicadores Biológicos en la evaluación de la contaminación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. *Cultura Científica y Tecnológica. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*, 2(6):4-20.
- Ballina-Gómez H., Herrera-Canto E., Kantun-Pat C., Tun-Suárez J. & Ruiz-Sánchez E. (2012). Diversidad de nematodos del suelo en una selva tropical mexicana. *Fitosanidad*, 16(2):97-100.

- Baquero E. & Jordana R. (1999). Nota sobre la presencia de *Sminthurus viridis* (Linnaeus, 1758) como plaga de la alfalfa en la ribera del río Arga (Navarra). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 25:107-110.
- Beas-Zárate C., Ortuño-Sahagún D. & Armendáriz-Borunda J. (2009). *Biología Molecular fundamentos y aplicaciones*. México: Mc Graw Hill-Interamericana Editores.
- Bedano J. C. (2007). El rol de la mesofauna edáfica en la evaluación de la calidad del suelo. En: Thuar A., Cassán F. & Olmedo C. (Eds.). *De la biología al suelo* (Pp: 249-259). Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
- Bellinger P. F., Christiansen K. A. & Janssens F. (2015). *Checklist of the Collembola of the world*. Recuperado el 21 de mayo de 2015, de: <http://www.collembola.org>.
- Benson D. A., Cavanaugh M., Clark K., Karsch-Mizrachi, Lipman D. J. Ostell J. & Sayers E. W. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41: D36-D42. doi:10.1093/nar/gks1195.
- Bernal-Rojas A. (2006). *Artrópodo-fauna edáfica de una finca cafetalera al sur del estado de Oaxaca con énfasis en Cryptostigmata y Collembola*. Tesis Profesional. UNAM, Distrito Federal, México.
- Bhadury P. (2012). Biodiversity of nematodes in the era of "omics". En: Boeri F. & Chung J. (Eds.). *Nematodes: Morphology, functions and management strategies* (Pp: 301-309). New York, USA: Nova Publishers.
- Bik H. M., Lamshead P., John D., Kelley T. W. & Lunt D. H. (2010). Moving towards a complete molecular framework of the Nematoda: a focus on the Enoplida and early branching clades. *BioMed Central Evolutionary Biology*, 10(1):353.
- Black IV W., Klompen J. & Keirans J. (1997). Phylogenetic relationships among tick subfamilies based on the 18S nuclear rDNA gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 7(1):129-144.
- Blaxter M. L., de Ley P., Garey J. R., Liu L. X., Scheldeman P., Vierstraete A., Vanfleteren J. R., Mackey L. Y., Dorris M., Frisse L. M., Vida J. T. & Thomas W. K. (1998). A molecular evolutionary framework for the Phylum Nematoda. *Nature*, 392(6671):71-75.
- Blaxter M. (2004). The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series Biological sciences*, 359 (1444):669-679.
- Blaxter M., Mann J., Chapman T., Thomas F., Whitton C., Floyd R. & Abebe E. (2005). Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological*, 360:1935-1943.
- Bolívar-Zapata F. G. (Comp. y Ed.). (2004). *Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna*. México: El Colegio Nacional.
- Bongers T. (1990). The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83(1):14-19.
- Bongers T. (2011). *Manual de morfología de los nemátodos. Curso de identificación*. Esquivel A. (Trad.). Universidad Nacional de Costa Rica.
- Bongers T. & Bongers M. (1998). Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, 10:239-251.
- Bongers T. & Ferris H. (1999). Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology and Evolution*, 14(6):224-228.
- Bongers T., de Goede R. G. M., Korthals G. & Yeates G. W. (1995). Proposed changes of c-p classification for nematodes. *Russian Journal of Nematology*, 3:61-62.

- Brown G., Fragoso C., Barois I., Rojas P., Patrón J., Bueno J., Moreno A., Lavelle P., Ordaz V. & Rodríguez C. (2001). Diversidad y rol funcional de la macrofauna edáfica en los ecosistemas tropicales mexicanos. *Acta Zoológica Mexicana, Número Especial 1*:79-110.
- Buşmachi G. (2011) Collembola (Hexapoda) from the riparian habitats of the Dniester River. Muzeul Olteniei Craiova. *Studii și comunicări. Științele Naturii* 27(1):63-70.
- Cabrera M., de Hoyos C., Ledesma J., Nieto J., Revuelta J., Romero T., Salamanca C., Torres M. & Velasco J. (1996). *Ciencias de la Tierra y del medio ambiente*. Madrid, España: Editex, S. A.
- Cares J. E. & Huang S. P. (2012). Nematodos del suelo. En: Moreira, F., E. J. Huising y D. E. Bignell (Eds.). *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo* (Pp: 163-176). México: Instituto Nacional de Ecología.
- Casanueva E., Berrios A., Martínez R. & Peredo A. (1995). Ácaros asociados a equinos estabulados II: *Caloglyphus berlesei* (Michael) y *Caloglyphus rhizoglyphoides* (Zachvatkin). Primeros registros para Chile (Acari: Astigmata). *Archivos de Medicina Veterinaria*, 27(2):119-122.
- Castaño-Meneses G., Palacios-Vargas J. G. & Cutz-Pool L. Q. (2004). Feeding habits of Collembola and their ecological niche. *Anales del Instituto de Biología*, 75(1):135-142.
- Castillo A. E. (2012). *Análisis de la fracción molar y flujo de CO₂ en el subsuelo de un ecosistema árido*. Tesis de Maestría. Universidad de Granada, Granada, España.
- Cesarz S., Reich P., Scheua S., Ruess L., Schaefera M. & Eisenhauer N. (2015). Nematode functional guilds, not trophic groups, reflect shifts in soil food webs and processes in response to interacting global change factors. *Pedobiologia-Journal of Soil Ecology*, 58(1):23-32.
- Cepeda P. J. & Whitford W. G. (1990). Microartrópodos edáficos del desierto chihuahuense, al norte de México. *Folia Entomológica Mexicana*, 78: 257-272.
- Cicconardi F., Fanciulli P. & Emerson B. C. (2013). Collembola, the biological species concept and the underestimation of global species richness. *Molecular Ecology*, 22:5382-5396.
- Cid del Prado V. I. (1995). *Clave de nemátodos del orden Tylenchida subordenes Tylenchina y Aphelenchina*. Texcoco, México: Colegio de Postgraduados.
- Cid del Prado V. I., Ferris H., Nadler S. A. & Lamothe-Argumedo R. (2012). Four new species of *Tripylina* Brzeski, 1963 (Enoplida: Tripylidae) from México, with an emended diagnosis of the genus. *Journal of Nematode Morphology and Systematics*, 15(2):71-86.
- CONAFORT (Comisión Nacional Forestal). (2013). *Suelos Forestales*. Recuperado el 29 de enero de 2015, de: <http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/suelos>.
- Contreras-Valadez R. (2001). *Impacto en la ecología de algunos géneros del orden Collembola por la incorporación de contaminantes en suelos de San Salvador, Hidalgo, México*. Tesis de Maestría. UNAM, D. F., México.
- Costa D., Mariën J., Janssens T., van Gestel C., Driessen G., Sousa J., van Straalen N. & Roelofs D. (2012). Influence of adaptive evolution of cadmium tolerance on neutral and functional genetic variation in *Orchesella cincta*. *Ecotoxicology*, 21(7):2078-2087.
- Creer S., Fonseca V., Porazinska D., Giblin-Davis R., Sung W., Power D., Packer M., Carvalho G., Blaxter M., Lamshead P. & Thomas W. (2010). Ultrasequencing of the eiofaunal biosphere: practice, pitfalls and promises. *Molecular Ecology*, 19(1):4-20.
- Culliney T. W. (2013). Role of arthropods in maintaining soil fertility. *Agriculture*, 3:629-659.
- Cutz-Pool L. Q., Palacios-Vargas J. G., Castaño-Meneses G. & García-Calderón N. E. (2007). Edaphic Collembola from two agroecosystems with contrasting irrigation type in Hidalgo State, México. *Applied Soil Ecology*, 36: 46-52.

- Cutz-Pool L. Q., Palacios-Vargas J. G. & Castaño-Meneses G. (2008). Estructura de la comunidad de colémbolos (Hexapoda: Collembola) en musgos corticícolas en el gradiente altitudinal de un bosque subhúmedo de México. *Revista de Biología Tropical*, 56(2):740-748.
- Dabert M., Witalinski W., Kazmierski A., Olszanowski Z. & Dabert J. (2010). Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56:222-241.
- De Grisse A. T. (1969). Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans l'étude des nematodes phytoparasitaires. *Mededelingen Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent*, 34:351-369.
- De Ley P., Frisse M., Nadler S., Sternberg P. & Thomas W. (1999). Molecular and morphological characterization of two reproductively isolated species with mirrorimage anatomy (Nematoda: Cephalobidae). *Nematology*, 2:591-612.
- Delgado-de la Selva, E. (2010). *Distribución geográfica de Collembola (Hexapoda: Collembola) en México*. Tesis Profesional. UNAM, D. F., México.
- D'Haese C. A. (2002). Were the first springtails semi-aquatic? A phylogenetic approach by means of 28S rDNA and optimization alignment. *Proceedings of the Royal Society of London*, 269:1143-1151.
- Deharveng L., D'Haese C. A. & Bedos A. (2008). Global diversity of springtails (Collembola; Hexapoda) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595:329-338.
- Desgarenes D., Sánchez-Nava P., Peña-Santiago R. & Carrión G. (2009). Nematofauna asociada a la rizosfera de papas (*Solanum tuberosum*) cultivadas en la zona productora del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80:611-614.
- Díaz-Azpiazu M., González-Cairo V., Palacios-Vargas J. G. & Lucianez-Sánchez M. (2004). Clave dicotómica para la determinación de los colémbolos de Cuba (Hexapoda: Collembola). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 34:73-83.
- Domes K., Althammer M., Norton R., Scheu S. & Maraun M. (2007). The phylogenetic relationship between Astigmata and Oribatida (Acari) as indicated by molecular markers. *Experimental and Applied Acarology*, 42(3):159-171.
- Doran J. W. & Zeiss M. R. (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 15:3-11.
- Eche C. O., Jimin A. A., Usman H. I. & Oluwatayo J. I. (2015). Nematode diversity on some common weeds in Makurdí, Southern Guinea Savannah agro-ecological zone of Nigeria. *Journal of Agriculture*, 2(1):1-12.
- Estrada E. G., Sánchez I. & Bassols I. (1988). Ácaros del suelo de dos zonas del Valle de Tehuacán, Puebla. *Folia Entomológica Mexicana*, 76:225-236.
- Esquivel-Hernández A. (2011). Nemátodos como indicadores ambientales. Universidad Nacional: Heredia, Costa Rica. Recuperado el 27 de mayo de 2015, de: http://www.una.ac.cr/observatorio_ambiental/index.php?option=com_booklibrary&task=view&id=8&catid=44&Itemid=37.
- Faddeeva A., Studer R. A., Kraaijeveld K., Sie D., Ylstra B., Mariën J., Op Den Camp H. J. M., Datema E., Den Dunnen J. T., Van Straalen & Roelofs D. (2015). Collembolan transcriptomes highlight molecular evolution of hexapods and provide clues on the adaptation to terrestrial life. *Plos one*, Doi: 10.1371.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2015). Año Internacional de los Suelos 2015. Revisado el 20 de enero del 2015. En: <http://www.fao.org/soils-2015/about/es/>.
- Fernández-Duro B., Cuervo-Pineda N., Rodríguez-Alvizar J., Celio-Murillo R., Juárez-Anaya D. & Pérez-Ortíz T. (2013). Identificación de la fauna de ácaros del polvo doméstico en colchones de pacientes alérgicos de 6 estados mexicanos. *Revista Alergia México*, 60:87-92.
- Ferrera-Cerrato R. & Alarcón A. (2001). La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Universidad Autónoma del estado de México, Ciencia Ergo Sum*, 8(2):175-183.
- Ferris H. & Matute M. (2003). Structural and functional succession in the nematode fauna of a soil food web. *Applied Soil Ecology*, 23:93-110.
- Fiera C. (2009). Biodiversity of Collembola in urban soils and their use as bioindicators for pollution. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(8):868-873.
- Flores-Pardavé L., Escoto-Rocha J., Flores-Tena F. & Hernández-Sánchez A. (2008). Estudio de la biodiversidad de artrópodos en suelos de alfalfa y maíz con aplicación de biosólidos. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 40:11-18.
- Flores-Pardavé L., Palacios-Vargas J. G., Castaño-Meneses G. & Cutz-Poo L. (2011). Colémbolos de suelos agrícolas en cultivos de alfalfa y de maíz adicionados con biosólidos en Aguascalientes, México. *Agrociencia*, 45: 353-362.
- Floyd R., Abebe E., Papert A. & Blaxter M. (2002). Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology*, 11:839-850.
- Fontanilla I. K. C. (2010). *Achatina (Lissachatina) fulica* Bowdich: its molecular phylogeny, genetic variation in global populations, and its possible role in the spread of the rat lungworm *Angiostrongylus cantonensis* (Chen). Tesis de Doctorado, University of Nottingham, UK.
- Franco-Navarro F., Godínez-Vidal D. & Vilchis-Martínez K. (2007). *Soil nematodes biodiversity in The Reserve 'Los Tuxtlas', Ver., México*. En: UNEP/GEF funded project 'Conservation and Sustainable Management of Below-ground Biodiversity', Tranche II, 2007.
- Freckman D. W. (1988). Bacterivorous nematodes and organic matter decomposition. *Agriculture, Ecosystems and Environmental*, 24:195-217.
- Fuentes L., Vásquez C., Palma W. & Bari C. (2008). Ácaros prostigmata y mesostigmata asociados a la hojarasca en el bosque de galería del Parque Universitario de la UCLA, estado Lara, Venezuela. *Neotropical Entomology*, 37(5):591-596.
- Gao Y., Bu Y. & Palacios-Vargas J. G. (2012). Two new species of *Vitronura* (Collembola: Neanuridae) from Shanghai, Eastern China, with DNA Barcodes. *Florida Entomologist*, 95(4):1142-1153.
- García-Gómez A., Castaño-Meneses G. & Palacios-Vargas J. G. (2009). Diversidade de colémbolos (Hexapoda) de acordo com o gradiente de altitude. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(8):911-916.
- García-Gómez A., Castaño-Meneses G. & Palacios-Vargas J. G. (2010). Distribución y diversidad de Colémbolos (Hexápoda: Colémbola) en el gradiente altitudinal de un bosque templado en México. *Revista de Biología Tropical*, 59(1):315-327.
- García-Gómez A., Callejas-Chavero A. & Castaño-Meneses G. (2014). Importancia de cultivos para el estudio de colémbolos (Hexapoda: Collembola) de hábitos edáficos. *Dugesiana*, 21(2):103-106.

- Geissen V. & Kampichler C. (2004). Limits to the bioindication potential of Collembola in environmental impact analysis: a case study of forest soil-liming and fertilization. *Biology and Fertility of Soils*, 39:383-390.
- George A. (2006). *Estudio comparativo de indicadores de calidad de suelo en fincas de café orgánico y convencional en Turrialba, Costa Rica*. Tesis de Maestría. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Gergócs V. & Hufnagel L. (2009). Application of oribatid mites as indicators. *Applied Ecology and Environmental Research*, 7(1):79-98.
- Giere O. (2009). Meiofauna from selected biotopes and regions. En: *Meiobenthology. The Microscopic motile fauna of aquatic sediments* (2.^a ed.) Berlin., Alemania: Springer-Verlag.
- Gómez-Anaya J. A., Palacios-Vargas J. G. & Castaño-Meneses G. (2010). Abundancia de colémbolos (Hexapoda: Collembola) y parámetros edáficos de una selva baja caducifolia. *Revista Colombiana de Entomología*, 36(1):96-105.
- Gómez-Gutiérrez J. G., Bermúdez-Humarán L. G., Tamez-Guerra R., Adame-Rodríguez J. M. & Montes de Oca-Luna R. (2002). Producción y purificación de la taq DNA polimerasa a partir de *E. coli* recombinante. *Ciencia, Universidad Autónoma de Nuevo León*, 3:316-321.
- Gordillo-Martínez A. J., Cabrera-Cruz, R. B. E., Hernández M, Galindo M. & Francisco F. (2010). Evaluación regional del impacto antrópico sobre aire, agua y suelo. Caso: Huasteca Hidalguense, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(3):229-251.
- Guillén C., Soto-Adames F. & Springer M. (2006). Diversidad y abundancia de colémbolos edáficos en un bosque primario, un bosque secundario y un cafetal en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 30(2):7-17.
- Guerrero-Parra H. A. (2009). *Detección molecular de ascosporas de Sclerotinia sclerotiorum dispersas en la atmósfera de cultivos agrícolas*. Tesis Profesional. UNAM, D.F., México.
- Guerrero-Ortíz P. L., Quintero-Lizaola R., Espinoza-Hernández V., Benedicto-Valdés G. S. & Sánchez-Colín M. de J. (2012). Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de *Lupinus*. *Terra Latinoamericana*, 30(4):355-362.
- Guntiñas-Rodríguez M. E. (2009). *Influencia de la temperatura y de la humedad en la dinámica de la materia orgánica de los suelos de Galicia y su relación con el cambio climático*. Tesis de Doctorado. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
- Gupta S. R. & Yeates G. W. (1997). Soil microfauna as bioindicators of soil health. En: Pankhurst C., Doube B. M. & Gupta S. R. (Eds.). *Biological indicators of soil health* (Pp: 201-233), New York, USA: CAB International.
- Hall B. G. (2011). *Phylogenetic trees made easy: A how-to manual*. (4.^a ed.). Massachusetts, U.S.A: Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland.
- Hall T. A. (2013). BioEdit: biological sequence alignment editor for Win95/98/NT/2K/XP/7, version 7.1.3. Ibis Biosciences, Carlsbad, CA: Revisado el 21 de agosto de 2013. En: <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L. & De Waard J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270:313-321.
- Heracle BioSoft. (2013). DNA Baser Sequence Assembler v4. Revisado el 16 de agosto de 2013. En: <http://www.dnabaser.com/>.
- Hernández-Moreno M. M. (2006). *Evaluación del proceso de degradación del suelo mediante modelos con indicadores edáficos, topográficos y climáticos en el valle de Zapotitlán Salinas, Puebla*. Tesis de Maestría. UNAM, D. F., México.

- Hillis D. M., Mable B. K. & Moritz C. (1996). Applications of molecular systematics: the state of the field and a look to the future. En: Hillis D. M., Montz C. & Mable B. K. (Eds.). *Molecular Systematics* (Pp: 29-41) (2.ª ed.). Massachusetts, U.S.A: Sinauer Associates, Inc.
- Höss S. & Traunspurger W. (2003). Nematodes. En: Markert B. A., Breure A. M. & Zechmeister H.G. *Bioindicators and biomonitors: principles, concepts, and applications* (Pp: 529-554). USA. Elsevier Science.
- Huerta-Cantera H. (2010). *Determinación de propiedades físicas y químicas de suelos con mercurio en la región de San Joaquín, Querétaro y su relación con el crecimiento bacteriano*. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Huges S. & Moody A. (Eds.). (2007). *PCR. Methods express*. Delhi, India: Scion Publishing Limited.
- Iglesias-Mendoza R. (2006). *Ácaros oribátidos de dos agroecosistemas con riego contrastante en San Salvador, Hidalgo*. Tesis de Maestría. UNAM, D. F., México.
- Iraola V. (1998). Introducción a los ácaros (I): Descripción general y principales grupos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa. Universidad de Navarra, Pampola*, 23:13-19.
- Jairajpuri M. S. & Ahmad W. (1992). *Dorylaimida. Free-Living, predaceous and plant-parasitic nematodes*. India, New Delhi: E. J. Brill.
- Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y., Merezhuk Y., McGinnis S. & Madden T. L. (2008). NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Research*, 36:W5-W9. Doi:10.1093/nar/gkn201.
- Karyanto A., Rahmadi C., Franklin E., Susilo F. X. & Wellington de Morais J. (2012). Collembola, acari y otra mesofauna del suelo: el método Berlese. En: Moreira F., Huising E. J. & Bignell D. E. (Eds.). *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo* (149-162). México: Instituto Nacional de Ecología.
- Kenthley J. (1990). Acarina: Prostigamata (Actineida). En: Dindal D. L. (Ed.). *Soil Biology Guide* (Pp: 667-697). New York, USA: Jon Wiley y Sons. Inc.
- Kiryushin V. I. (2006). V. V. Dokuchaev and the present-day paradigm of nature management. *Eurasian Soil Science*, 39 (11): 1157-1163.
- Klompen H., Lekveishvili M. & Black IV W. C. (2007). Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43(3):936-951.
- Knee W., Beaulieu F., Skevington J. H., Kelso S., Cognato A. I. & Forbes M. R. (2012). Species boundaries and host range of tortoise mites (Uropodoidea) phoretic on bark beetles (Scolytinae), using morphometric and molecular markers. *PLoS One*, 7(10):47243.
- Koehler H. H. (1999). Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74:395-410.
- Krantz G. W. (2009). *A manual of acarology*. Oregon, USA: O.S.U Boock Stores, Inc.
- Lanteri A. A. (2007). Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la Entomología. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 66(3-4):15-25.
- Laumann M., Norton R. A., Weigmann G., Scheu S., Maraun M. & Heathoff M. (2007). Speciation on the parthenogenetic oribatid mite genus *Tectocephus* (Acari, Oribatida) as indicated by molecular phylogeny. *Pedobiologia*, 51:111-122.
- López-Chan J. A. (2013). *Uso de microartrópodos como bioindicadores*. Proyecto de Maestría en Manejo de Zonas Costeras. Instituto Tecnológico de Chetumal, Quintana Roo, México.
- López-Soriano J. (2004). Técnicas de Biología Molecular aplicadas a la Taxonomía y Filogenia de moluscos. *Spira*, 1(4):23-33.

- Maceto-Celemín B., Becerra D. C. & Rodríguez-Villamizar F. (2009). Identificación molecular de un nematodo parásito de la babosa plaga *Derocera reticulatum* (Müller, 1774). *Revista Tumbaga*, 4:149-167.
- Machado-Restrepo M. J. (2009). *Comparación de la densidad de grupos funcionales de nemátodos del suelo en cultivos de cebolla, plantación forestal y bosque, en la cuenca del río Otún, Risaralda*. Tesis Profesional. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Maldonado-Vargas C. (2008). *Comparación de las comunidades de ácaros Astigmata en dos agroecosistemas de San Salvador, Hidalgo*. Tesis de Maestría. UNAM., D. F., México.
- Maraun M., Heethoff M., Schneider K., Scheu S., Weigmann G., Cianciolo J., Thomas R. & Norton R. (2004). Molecular phylogeny of oribatid mites (Oribatida, Acari): evidence for multiple radiations of parthenogenetic lineages. *Experimental and Applied Acarology*, 33(3):183-201.
- Mari-Mutt J. A. (1977). New species of *Pseudocyphoderus melittophilus* from Costa Rica and remarks on taxonomy (Collembola: Cyphoderidae). *Entomological News*, 88(9 y 10):229-234.
- Martínez-Ramos M. (2008). Grupos funcionales. En: Sarukhán J. (Coord.) *Capital natural de México Vol I: Conocimiento actual de la biodiversidad* (Pp: 365-412). México: CONABIO.
- Masler E. P. (2013). Free-living nematode peptides. En: Kastin A. (Ed.). *Handbook of biologically active peptides* (Pp: 247-254) (2.^a ed.). New York, USA: Elsevier Academic Press.
- Mejía-Recamier B. E. (2007). *Cunáxidos edáficos de Chamela, Jalisco*. Tesis de Doctorado. UNAM, D.F., México.
- Mendiara-Co S. (2012). *Efecto de los usos del suelo en la emisión del dióxido de carbono del suelo a la atmósfera en un agroecosistema semiárido del Valle del Ebro*. Tesis Profesional. Universitat de Vic. Universitat Central de Catalunya, Barcelona, España.
- Mendoza-Arviso S., Villalobos F. J., Ruíz-Montoya L. & Castro R. A. E. (1999). Patrones ecológicos de los colémbolos en el cultivo de maíz en Balun Canal, Chiapas, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 78:83-101.
- Minor M. A. & Cianciolo J. M. (2007). Diversity of soil mites (Acari: Oribatida, Mesostigmata) along a gradient of land use types in New York. *Applied Soil Ecology*, 35:140-153.
- Miranda-Rangel A., Martínez-Cruz J. & Calyecac-Cortero H. G. (2015). *Orchesella bifasciata* (Entomobryidae: Collembola) controlador biológico de hongos de *Jatropha curcas*. *Entomología Mexicana*, 2: 218-223.
- Mogollón J. P., Torres D. & Martínez A. (2010). Cambios en algunas propiedades biológicas del suelo según el uso de la tierra en el sector el Cebollal, estado de Falcón, Venezuela. *Bioagro*, 22(3):217-222.
- Moreira M. S., Huising E. J. & Bignell D. E. (2008). *A Handbook of Tropical Soil Biology Sampling and Characterization of Belowground Biodiversity*. UK-USA: Earthscan.
- Moraza L. M. (1999). Los ácaros: origen, evolución y filogenia. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa. Universidad de Navarra, Pampola*, 26:281-292.
- Mundo-Ocampo M., D. Lamshead P. J., Debenham N., W. King I., De Ley P., Baldwin J. G., De Ley I. T., Rocha-Olivares A., Waumann D., Thomas W. K., Packer M. & Boucher G. (2007). Biodiversity of littoral nematodes from two sites in the Gulf of California. *Hydrobiologia*, 586:179-189.
- Murga-Gutiérrez S. N. (2007). Nematodos fitoparásitos asociados al cultivo de *Tagetes erecta* en el Distrito Virú, La Libertad, Perú. *Neotropical Helminthology*, 1(1):15-20.

- Muturi J. J., Mbugi J. P., Mueke J. M., Lagerl6f J., Mungatu J. K., Nyamasyo G. & Gikungu M. (2009). Collembola density and diversity along a gradient of land-use types in Embu district, Eastern Kenya. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11(2):361-369.
- NCBI-BLAST. (2015). Blastn suite. Revisado el 21 de agosto de 2015. En: http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome.
- Nadler S. A., Carreno R. A., Adams B. J., Kinde H., Baldwin James G. & Mundo-Ocampo M. (2003). Molecular phylogenetics and diagnosis of soil and clinical isolates of *Halicephalobus gingivalis* (Nematoda: Cephalobina: Panagrolaimoidea), an opportunistic pathogen of horses. *International Journal for Parasitology* 33:1115-1125.
- Nadler S. A., Carreno R. A., Mejía-Madrid H., Ullberg J., Pagan C., Houston R. & Hugot J. P. (2007). Molecular phylogeny of clade III nematodes reveals multiple origins of tissue parasitism. *Parasitology*, 134(10):1421-1442.
- Navajas M., Cotton D., Kreiter S. & Gutiérrez J. (1992). Molecular approach in spider mites (Acari: Tetranychidae): preliminary data on ribosomal DNA sequences. *Experimental and Applied Acarology*, 15:211-218.
- Navarrete A. de J. (2007). Nematofauna de vida libre en el litoral de Isla Socorro, Colima, México. *Hidrobiológica*, 17(1):61-66.
- Neher D. & Barbercheck M. (1999). Diversity and function of soil mesofauna. En: Collins W. y Qualset C. (Eds.). *Biodiversity in Agroecosystems* (Pp: 27-47). New York, USA: CRC Press.
- Noordijk J. & Berg M. (2012). De corticole fauna van platanen: ii. springstaarten, stofluizen, loopkevers (collembola). *Nederlandse faunistische Mededelingen*, 17:41-56.
- Okassa M., Kreiter S. & Tixier M. (2012). Obtaining molecular data for all life stages of *Typhlodromus* (Typhlodromus) *exbilaratus* (Mesostigmata: Phytoseiidae): consequences for species identification. *Experimental and Applied Acarology*, 57:105-116.
- Palacios-Vargas J. G. (1981). Notes on Collembola of Pedregal de San Angel, México. *Entomological News*, 92:42-44.
- Palacios-Vargas J. G. (1984). A new Mexican *Epidamaeus* (Oribatei: Damaeidae). *Entomological News* 95:23-26.
- Palacios-Vargas J. G. (2003). Los microartr6podos (Collembola) de la selva tropical húmeda. En: Álvarez-Sánchez J. & Naranjo-García E. (Eds.). *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México* (Pp: 217-225). México: Instituto de Ecología A.C. - Instituto de Biología - Facultad de Ciencias, UNAM.
- Palacios-Vargas J. G. (2005). *Friesea* (Collembola: Neanuridae) de México, nuevas especies y redescrici3n de *F. carlota*. *Folia Entomológica Mexicana*, 44(1):87-96.
- Palacios-Vargas, J. G. (2007). A new species of *Denisiella* (Collembola: Sminthurididae) from Panama and new records for *D. sexpinnata* (Denis, 1938). *Zootaxa*, 1637:63-68.
- Palacios-Vargas J. G. (2014). Biodiversidad de Collembola (Hexapoda: Entognatha) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85:220-230.
- Palacios-Vargas J. G. & Castaño-Meneses G. (2014). Los colémbolos (Arthropoda: Hexapoda) como bioindicadores. En: González-Zuarth C., Vallarino A., Pérez-Jiménez J. C. & Low-Pfeng A. M. (Eds.). *Bioindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental* (Pp: 291-307). El Colegio de la Frontera Sur-Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.

- Palacios-Vargas J. G. & González V. (1995). Two new species of *Deuterostminthurus* (Bourletiellidae), epiphytic Collembola from the Neotropical region with a key for the American species. *Florida Entomologist*, 78:19-32.
- Palacios-Vargas J. G. & Iglesias-Mendoza R. (2007). Ácaros oribátidos. En: Luna I., Morrone J. J. y Espinosa D. (Eds.). *Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana* (Pp: 345-356). México: Las Prensas de Ciencias-UNAM.
- Palacios-Vargas J. G. & Kovác L. (1995). A new species of *Isotomodes* (Collembola: Isotomidae) from México. *Southwestern Entomologists*, 20(4):501-505.
- Palacios-Vargas J. G. & Mejía-Recamier B. E. (2007). *Técnicas de colecta, montaje y preservación de microartrópodos edáficos*. México: Las Prensas de Ciencias-UNAM.
- Palacios-Vargas J. G. & Villarreal-Rosas J. (2013). A new mexican species of *Folsomides* (Collembola: Isotomidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84: 480-484.
- Palacios-Vargas J. G., Castaño-Meneses G. & Mejía-Recamier B. E. (2000). Collembola. En: Llorente-Bousquets J., Gonzalez-Soriano E. & Papavero N. (Eds.). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento* (Pp: 249-281). México: UNAM-CONABIO.
- Palacios-Vargas J. G., Deharveng L. & D'Haese C. A. (2011). The genus *Pronura* (Collembola: Neanuridae) in South America, with descriptions of two new species and a barcode sequence for one of them. *Revue Suisse De Zoologie*, 118(1):197-205.
- Paoletti M. G., D'incà A., Tonin E., Tonon S., Migliorini C., Petruzzelli G., Pezzarossa B., Gomiero T. & Sommaggio D. (2010). Soil invertebrates as bioindicators in a natural area converted from agricultural use: the case study of Vallencechia-Lugugnana. *Journal of Sustainable Agriculture*, 56:34-38.
- Paul D., Nongmaithem A. & Jha L. K. (2011). Collembolan density and diversity in a forest and an agroecosystem. *Open Journal of Soil Science*, 1:54-60.
- Pen-Mouratov S., Rodriguez-Zaragoza S. & Steinberger Y. (2008). The effect of *Cercidium praecox* and *Prosopis laevigata* on vertical distribution of soil free-living nematode communities in the Tehuacan Desert, México. *Ecological Research*, 23:973-982.
- Pereira T. J., Fonseca G., Mundo-Ocampo M., Guilherme B. C. & Rocha-Olivares A. (2010). Diversity of free-living marine nematodes (Enoplida) from Baja California assessed by integrative taxonomy. *Marine Biology*, 157:1665-1678.
- Pepper I. L., Gerba C. P., Newby D. T. & Rice C. W. (2009). Soil: a public health threat or savior? *Environmental Science and Technology*, 39(5):416-432.
- Pérez T., Guzmán-Cornejo C., Montiel-Parra G., Paredes-León R. & Rivas G. (2014). Biodiversidad de ácaros en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85:399-407.
- Poinar Jr G. O. (2011). *The evolutionary history of nematodes: as revealed in stone, amber and mummies*. *Nematology Monographs & Perspectives 9* (Series Editors: Hunt D. J. & Perry R. N.). Leiden, The Netherlands: Brill.
- Ponge J. F., Gillet S, Dubs F., Fédoroff E. & Haese L. (2003). Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6):813-826.
- Porazinska D. L., Duncan L. W., McSorley R. & Graham J. H. (1999). Nematode communities as indicators of status and processes of a soil ecosystem influenced by agricultural management practices. *Applied Soil Ecology*, 13: 69-86.

- Porco D., Rougerie R., Deharveng L. & Hebert P. (2010). Coupling non-destructive DNA extraction and voucher retrieval for small soft-bodied Arthropods in a highthroughput context: the example of Collembola. *Molecular Ecology Resources*, 10:942-945.
- Porco D., Decaëns T., Deharveng L., James S. W., Skarzynski D., Erseus C., Butt K. R., Benoit R. y Hebert P. D. N. (2012). Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. *Biological Invasions*, 15(4): 899-910.
- Prosser S., Martínez-Arce A. & Elías-Gutiérrez M. (2013). A new set of primers for COI amplification from freshwater microcrustaceans. *Molecular Ecology Resources*, 13:1151-1155.
- Reyes-Hernández M. (2004). *Dinámica poblacional y manejo biológico de nematodos, en el cultivo del guayabo (Psidium guajava L.), en Calvillo, Aguascalientes*. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Navarro”, Saltillo, Coahuila, México.
- Robles F., Salvador I., Juárez C., Montiel D., Mejía-Recamier B. E. & Palacios-Vargas J. G. (2012). Colémbolos (Hexapoda) asociados a lombricomposta de cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en La Magdalena Contreras, D.F. En: Equihua-Martínez A., Estrada-Venegas E. G., Acuña-Soto J. A., Chaires-Grijalva M. P. & Durán-Ramírez G. (Eds.). *Entomología Mexicana*, 11(1):487-491.
- Robles-Hernández J. y Pérez-Moreno L. (2011). Densidad poblacional de nematodos fitoparásitos en suelo de Irapuato, Guanajuato. *Revista mexicana de fitopatología*, 29(2):172-174.
- Robles-Rivera C. E. (2013). *Aislamiento, caracterización e identificación molecular de nemátodos de vida libre a partir de muestras de suelo*. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Rubinoff D., Cameron S. & Will K. (2006). A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “Barcoding” identification. *Journal of Heredity*, 97(6):581-594.
- Rueda-Puente E. O., Holguín-Peña R. J., Preciado-Rangel P., Fortis-Hernández M., Hernández-Montiel L. G. & Ruiz Espinoza F. H. (2015). Identificación y dinámica poblacional de nemátodos fitoparásitos asociados a la halófito *Salicornia bigelovii* (Torr.) en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(4):707-720.
- Ruf A. (1998). A maturity index for predatory soil mites (Mesostigmata: Gamasina) as an indicator of environmental impacts of pollution on forest soils. *Applied Soil Ecology*, 9:447-452.
- Saha I. & Joy V. (2014). Potential ill effects of igr pesticides on life-history parameters in ecologically important soil collembola *Cyphoderus javanus*, Börner. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3(2):365-373.
- Salamon J. A., Wissuwa J., Moder K. & Frank T. (2011). Effects of *Medicago sativa*, *Taraxacum officinale* and *Bromus sterilis* on the density and diversity of Collembola in grassy arable fallows of different ages. *Pedobiologia*, 54(2): 63-70.
- Sánchez-Moreno S. & Talavera, M. (2013). Los nematodos como indicadores ambientales en agroecosistemas. *Ecosistemas*, 22(1):50-55.
- Schmidt-Rhaesa A. (Ed.). (2014). *Nematoda*. Berlín, Alemania: Walter de Gruyter GmbH.
- Schneider C., Cruaud C. & D’Haese C. (2011). Unexpected diversity in Neelipleona revealed by molecular phylogeny approach (Hexapoda, Collembola). *Soil organisms*, 83(3):383-398.
- SEMARNAT (2004). Degradación del suelo en la República Mexicana -Escala 1:250 000-. Recuperado el 19 de septiembre 2014, de:

- http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/degra250kgw.xml?_httpcache=yes&_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no.
- Sigala-Regalado I. (2011). *Diversidad de protozoos ciliados en cinco biotopos de cuevas de México*. Tesis Profesional. UNAM, México.
- Skoracka A. & Dabert M. (2010). The cereal rust mite *Abacarus hystrix* (Acari: Eriophyoidea) is a complex of species: evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Bulletin of Entomological Research*, 100:263-272.
- Somma M. & Querci M. (2007). Electroforesis en gel de agarosa. *Organización Mundial de la Salud, Oficina Regional para Europa*.
- Sonnenberg R., Nolte A. W. & Tautz D. (2007). An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers in Zoology*, 4(6):1-12.
- Soberón-Mainero J. & Golobov-Figueroa J. (2004). Biotecnología y biodiversidad. En: Bolívar-Zapata F. G. (Comp. y Ed.). *Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna* (Pp: 299-316). México: El Colegio Nacional.
- Sposito G. (2008). *The Chemistry of Soils* (2.^a ed.). New York, USA: Oxford University Press.
- Stock S. P., Campbell J. F. & Nadler S. A. (2001). Phylogeny of *Steinernema* Travassos, 1927 (Cephalobina: Steinernematidae) inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. *Journal of Parasitology*, 87: 877-889.
- Swift M., Bignell D., Moreira F. & Huising J. (2012). El inventario de la biodiversidad biológica del suelo: conceptos y guía general. En: Moreira F., Huising E. J. & Bignell D. E. (Eds.). *Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo* (29-52). Instituto Nacional de Ecología. México.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipinski A. & Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725-2729.
- Tapia-Pérez G., García-Vázquez Z., Montaldo H. & George J. (2003). Inheritance of resistance to flumethrin in the Mexican Aldama strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 31(1-2):135-149.
- Tarqui-Callejas N. I. (2012). *Implementación de un sistema de código de barras para la sistematización del cepario de hongos del laboratorio de Biotecnología Industrial*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, México.
- Terzaghi K. (1943). *Theoretical Soil Mechanics*. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Thibaud J. M. (2007). Recent advances and synthesis in biodiversity and biogeography of arenicolous Collembola. *Annales de la Société Entomologique de France*, 43(2):181-185.
- Thoma B., Guinot D. & Felder D. (2014) Evolutionary relationships among American mud crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Xanthoidea) inferred from nuclear and mitochondrial markers, with comments on adult morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170:86-109.
- Thomas W. K., Vida J. T., Frisse L. M., Mundo M. & Baldwin J. G. (1997). DNA sequences from formalin-fixed nematodes: Integrating molecular and morphological approaches to taxonomy. *Journal of Nematology*, 29:250-254.
- UNAD (Universidad Abierta y a Distancia). (2015). *Indicadores biológicos de contaminación de suelos*. Recuperado el 1 de febrero de 2015, de: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358024/contLinea/leccin_30_indicadores_biolgicos_de_contaminacin_de_suelos.html.

- UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México). (2012). C.E.I.E.G.T. - Tlapacoyan, Veracruz, Localización Geográfica. Revisado el 12 de octubre de 2014. En: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/centros/ceiegt/localizacion.html>.
- Uribe-Hernández R., Juárez-Méndez C. H., Montes de Oca M. A., Palacios-Vargas J. G., Cutz-Pool L. & Mejía-Recarmier B. E. (2010). Colémbolos (Hexapoda) como bioindicadores de la calidad de suelos contaminados con hidrocarburos en el sureste de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81:153-162.
- Urzelai I., Hernández A. J. & Pastor L. (1998). Estudio de índices bióticos basados en la nematofauna edáfica para la evaluación de ecosistemas terrestres contaminados. *Cuadernos de Investigación Biológica (Bilbao)*, 20:335-338.
- Vargas M., Martín García-Varela M., Lactette J. P. & Pérez T. M. (2005). Application of ITS-2 sequences as markers for identification and phylogenetic inference within the genus *Geomylichus* (Acari: Listrophoridae). *Experimental and Applied Acarology*, 35(3):223-238.
- Varela-Benavides I. (2013). Las comunidades de nemátodos como indicadores ambientales. *Tecnología en marcha*: 30-37.
- Vázquez G. M. & Palacios-Vargas J. G. (2004). *Catálogo de colémbolos (Hexapoda: Collembola) de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*. México: CONABIO.
- Vázquez-Rojas I. M. (2002). *Prostigmata (Acarida) edáficos de una zona litoral del Golfo de México*. Tesis de Doctorado. UNAM, D. F., México.
- Viljoen G. J., Nel L. H. & Crowther J. R. (2005). *Molecular diagnostic PCR, handbook*. Netherlands: Springer.
- Villalobos F. J. & Palacios-Vargas J. G. (1986). Collembola de Chiapas, México. *Folia Entomológica Mexicana*, 67:3-12.
- Volke-Sepúlveda T., Velasco-Trejo J. A. & de la Rosa-Pérez D. A. (2005). *Suelos Contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación*. México: SEMARNAT-INE.
- Wahl J. J. (2007). *Soil mesofauna as bioindicators to assess environmental disturbance at a platinum mine*. Tesis de Maestría. North-West University, Sudáfrica.
- Walter D. E. & Proctor H. C. (2013). *Mites: ecology, evolution and behaviour. Life at a microscale* (2.^a ed.) Netherland, Springer.
- Xiong Y., Gao Y., Yin W. Y. & Luan Y. X. (2008). Molecular phylogeny of Collembola inferred from ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(3):728-735.
- Yeates G. W. (1994). Modification and qualification of the nematode Maturity Index. *Pedobiologia* 38:97-101.
- Yeates G. W. & Bird A. F. (1994). Some observations on the influence of agricultural practices on the nematode faunae of some South Australian soils. *Fundamental and Applied Nematology* 7:133-145.
- Yeates G. W., Bongers T., de Goede R., Freckman D. & Georgieva S. (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25(3):315-331.
- Zhang F., Chen Z., Dong R., Deharveng L., Stevens M., Huang Y. & Zhu C. (2014). Molecular phylogeny reveals independent origins of body scales in Entomobryidae (Hexapoda: Collembola). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 70:231-239.