

Genetic variability of *Liometopum apiculatum* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) as a conservation measure in Mexico

Variabilidad genética de *Liometopum apiculatum* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) como una medida de conservación en México

Hipólito-Cruz, Gudelia¹; Reyes-López, Joaquín²; Cadena-Iñiguez, Jorge¹; Morales-Flores, Francisco J.^{1*}

¹Posgrado en Innovación en Manejo de Recursos Naturales, Campus San Luis Potosí. Colegio de Postgraduados. Salinas, San Luis Potosí. ²Área de Ecología, Facultad de Ciencias, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, Córdoba-España.

*Autor de correspondencia: franciscojmf@colpos.mx

ABSTRACT

Objetivo: to measure genetic divergence of *Liometopum apiculatum* Mayr of three different sites in Mexico based on cytochrome oxidase subunit I.

Design/Methodology/Approach: we sampled populations of *L. apiculatum* (escamol) on three collecting sites: Otumba, Mexico State; Pinos, Zacatecas and Matehuala, San Luis Potosí and compared amplified DNA extracts with NCBI GenBank established molecular taxonomic patterns.

Results: we build a two-parameter genetic distance model with the three populations of *L. apiculatum* that confirms sites connectivity in spite of distance based on the cytochrome oxidase subunit I. These similarities uphold the adaptation of *L. apiculatum* to adverse climate conditions.

Limitations on study/implications: the similarity, based on cytochrome oxidase subunit I, may allow the use of queen ants from different sites in order to enhance the reproduction of ants, but requires acceptability tests of the ant queens.

Findings/Conclusions: DNA of *L. apiculatum* showed a very little genetic divergence on ant nests analyzed. We think of a strategy to enhance *Liometopum* reproduction activities based on the use of alien queen ants in the needed nests.

Keywords: escamoles, reintroduction, semi-desert edible insect.

RESUMEN

Objetivo: comprobar la divergencia genética de *Liometopum apiculatum* con base al fragmento Citocromo oxidasa subunidad I, usando tres poblaciones diferentes.

Diseño/ Metodología/ Enfoque: Se tomaron muestras de poblaciones de *L. apiculatum* (escamol) en tres sitios de recolección: Otumba, Estado de México; Pinos, Zacatecas y Matehuala, San Luis Potosí y compararon extractos de ADN amplificados con patrones taxonómicos moleculares establecidos por NCBI GenBank.

Resultados: Se construyó un modelo de distancia genética de dos parámetros con las tres poblaciones de *L. apiculatum* que confirma la conectividad de los sitios a pesar de la distancia basada en la subunidad citocromo oxidasa I. Estas similitudes mantienen la adaptación de *L. apiculatum* a condiciones climáticas adversas.

Agroproductividad: Vol. 13, Núm. 6, junio, 2020. pp: 71-76.

Recibido: octubre, 2019. **Aceptado:** mayo, 2020.

Limitaciones en el estudio/implicaciones:

la similitud, basada en la subunidad I del citocromo oxidasa, puede permitir el uso de hormigas reinas de diferentes sitios para mejorar la reproducción de otros nidos, pero requiere pruebas de aceptabilidad de las hormigas reinas introducidas.

Hallazgos/Conclusiones: el ADN de *L. apiculatum* mostró muy poca divergencia genética en los nidos de hormigas analizados. Es posible una estrategia para mejorar las actividades de reproducción de esta hormiga basada en la reintroducción de hormigas reina en los nidos.

Palabras clave: escamoles, reintroducción, semidesierto insecto comestible

INTRODUCCIÓN

La biodiversidad nativa está siendo desafiada por amenazas antropogénicas como la pérdida de hábitat o fragmentación, la introducción de especies invasoras en nuevos ecosistemas, cambios en el ambiente por plaguicidas, el cambio climático y la sobreexplotación (Brook *et al.*, 2008). *Liometopum apiculatum* es una especie de hormiga distribuida en 15 estados de la República Mexicana (del Toro *et al.*, 2009), principalmente en Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, San Luis Potosí, Hidalgo, Estado de México, Distrito Federal y Tlaxcala (Ruiz *et al.*, 2010), contribuye a los servicios esenciales de los ecosistemas (Brooks *et al.*, 2012) y puede considerarse un elemento central de las zonas áridas, debido principalmente a su papel como estructuradoras de las comunidades vegetales por las diversas interacciones con otros artrópodos y microorganismos (Rios-Casanova *et al.*, 2004), por favorecer la aereación del suelo y la polinización de plantas (Esparza *et al.*, 2008) que son vitales para la biodiversidad (Brooks *et al.*, 2012). Conservar a *L. apiculatum* en los ecosistemas áridos coadyuva a mantener su frágil equilibrio. Desde el punto de vista de la seguridad alimentaria *L. apiculatum* retoma particular importancia ya que es un insecto comestible en su estado de larva, comúnmente conocido como escamol, es muy apreciado, buscado y explotado, al respecto, Rumpold y Schlüter (2013) puntualizaron que la recolecta de insectos comestibles no está controlada y que es propensa a la sobre-explotación y con esto a la pérdida de las especies. En el caso de *L. apiculatum*, en el año 1983 se registró un caso de sobre

explotación en el estado de Hidalgo, México (Ramos-Elorduy *et al.*, 2006), y en el Altiplano Potosino (Lara *et al.*, (2014).

La sobre explotación y los descensos de las poblaciones de *L. apiculatum* son motivo de preocupación para las personas de comunidades rurales que se benefician de la recolecta de escamol. Ésta preocupación es generalizada para otros insectos de vida silvestre (Neumann y Carreck, 2010). Para apoyar a las futuras medidas de conservación de *L. apiculatum* se consideró estudiar la estructura genética de poblaciones de la especie, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue comprobar la divergencia de *L. apiculatum* con base al fragmento Citocromo oxidasa subunidad I, usando tres poblaciones diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon tres poblaciones *L. apiculatum* durante julio-agosto de 2015. Cada una de las muestras procede de una zona diferente: Otumba, Estado de México (19.715402°, -98.745266° y 2368 m), Pinos, Zacatecas (a 22.502207°, -101.308041° y 2234 m) y Matehuala, San Luis Potosí (23.62105°, -1000530285° y 1618 m). La distancia mínima entre una recolecta y otra fue de 280 km (S.L.P.-Zacatecas) y la máxima de 530 km (S.L.P.-Edo. de Mexico). Para la información climática se recurrió a las paginas oficiales de la NOAA, 20116 y la CONAGUA (2016), se construyó una base de datos y analizó con estadística descriptiva.

Extracción y amplificación del ADNmt

El ADN fue extraído de hormigas y el análisis molecular se realizó empleando la técnica de proteínaasa K (Sambrook y Russel, 2001). Para la amplificación del gen parcial del COI se analizó una PCR (un ciclo a 92 °C/1:30 s, 35 ciclos a 92 °C/20s, 53 °C/1 min, 72 °C/30 s y un ciclo de extensión final a 72 °C/4 min). Los oligonucleótidos utilizados fueron: forward LCO1490 (5'-GGTCAACAA-ATCATAAAGATATTGG-3') y reverse HC02198 (5'-TAA-ACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') con una longitud aproximada 640 pb (Hebert *et al.*, 2003; Savolainen *et al.*, 2005). Posteriormente, los fragmentos fueron secuenciados.

Con las secuencias forward y reverse se obtuvo la secuencia consenso utilizando el programa sequence 9.0. Con fines de comparación se buscaron secuencias con el mismo gen, de hormigas originarias de México, a excepción de *Liometopum luctuosum* de origen de U.S.A.,

en la base de datos (GenBank) del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Las secuencias obtenidas se alinearon empleando ClustalW del software MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013). Finalmente, para establecer los patrones taxonómicos moleculares, se empleó el modelo de distancia genética de dos parámetros de Kimura (Nei y Kumar, 2000) de construcción de filogramas con consistencia igual a 1000 réplicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la búsqueda de secuencias mitocondriales en el GenBank, se seleccionaron cuatro, más la de *L. luctuosum* (Cuadro 1 y Figura 1).

El dendograma obtenido en el presente estudio reafirma la clasificación taxonómica y distribución geográfica presentada por Del Toro et al. (2009) para las tres poblaciones confirmando que, tienen conectividad de los nidos dentro y entre el área geográfica donde se realizan prácticas de recolección (localidad, ejido, munici-

pio), no hay diferencias genéticas entre *L. apiculatum* congénere, y entre las familias de las especies comparadas que mostraron entre 75% (*Pseudomyrmex ferrugineus*) a 89% (*Liometopum luctuosum*) de similitud según el Citocromo oxidasa subunidad I (Cooper et al., 2016).

Lo anterior indica que las poblaciones de *L. apiculatum*, así como vuelos de apareamiento de las fun-

aire en la superficie del país que varía desde los 14 °C como promedio mínimo, hasta 26 °C como promedio máximo, precipitación promedio de 6 mm mínimo hasta 267 mm máximo y casos de sequía intensa durante 2006, 2008, 2009, 2011 y 2012 (Figura 2). Sin embargo, las condiciones climáticas no promovieron mutaciones genéticas para la supervivencia de la colonia. Los periodos de estrés constantes, por ejemplo, exposición al sol, aire, lluvia o asfixia por derrumbe de suelo en la galería principal, cuando es temporada de recolecta y sucumbir a lo largo del año, podría compararse con el de las reinas de *Aphis mellifera* ante su exposición a pesticidas (Williams et al., 2015) debido a que, en un plano paralelo, son afectaciones a los miembros de la colonia con repercusiones directas sobre la reina.

La población de hormigas del Estado de México presentó una mínima separación (0.01) respecto a las de Zacatecas y San Luis Potosí. Según Stern et al. (2011) las pequeñas distancias genéticas implican pocos cambios en nucleótidos, los cuales pueden ser insignificantes, en caso contrario, el éxito de su expresión está definido por el ambiente. Al respecto, el fenómeno de **El niño y la niña en el país**, como los fenómenos evidentes de variabilidad climática, no influyen la genética de las poblaciones de *L. apiculatum* durante el periodo 2014-2016, **El niño** se asocia con importantes perturbaciones durante septiembre-abril de los años 2004-2005, 2006-2007, 2009-2010 y 2015-2016 con un índice de 0.5 hasta 2.3, temperatura mínima de 7.5 °C y máxima de 19.5 °C (Figura 3), lluvias con

Cuadro 1. Información del ADN mitocondrial de especies reportadas en el GenBank.

| Especie | GenBank | GI |
|--------------------------------|------------|-----------|
| <i>Azteca pittieri</i> | JQ867507.1 | 389955720 |
| <i>Linepithema dispertitum</i> | FJ161720.1 | 206600436 |
| <i>Pseudomyrmex</i> sp. | FJ436842.1 | 223696975 |
| <i>Tetraponera rufonigra</i> | FJ436846.1 | 223696983 |
| <i>Liometopum luctuosum</i> | DQ353394.1 | 87046974 |

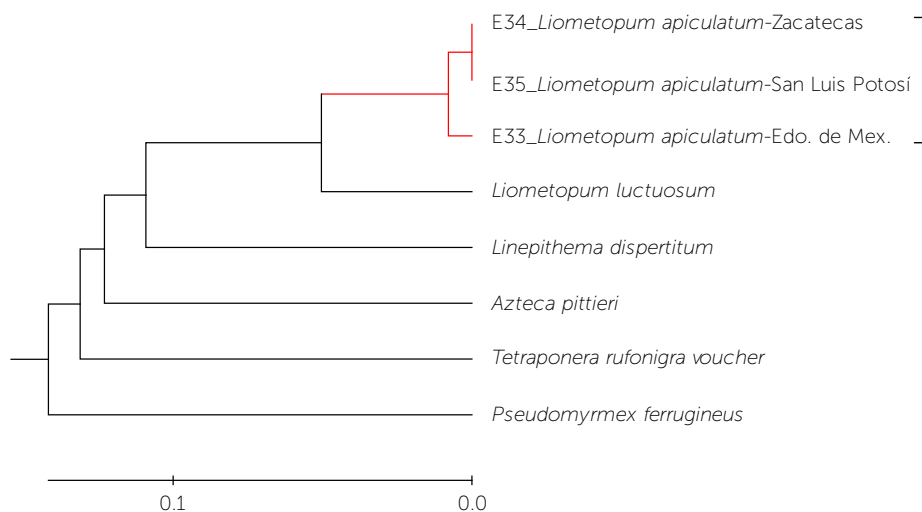


Figura 1. Divergencia genética de *L. apiculatum* de tres poblaciones diferentes y comparación con especies de la subfamilia *Dolichoderinae y ** Pseudomyrmecinae. Método estadístico UPGMA modelo de distancia genética de dos parámetros de Kimura (Nei y Kumar, 2000).

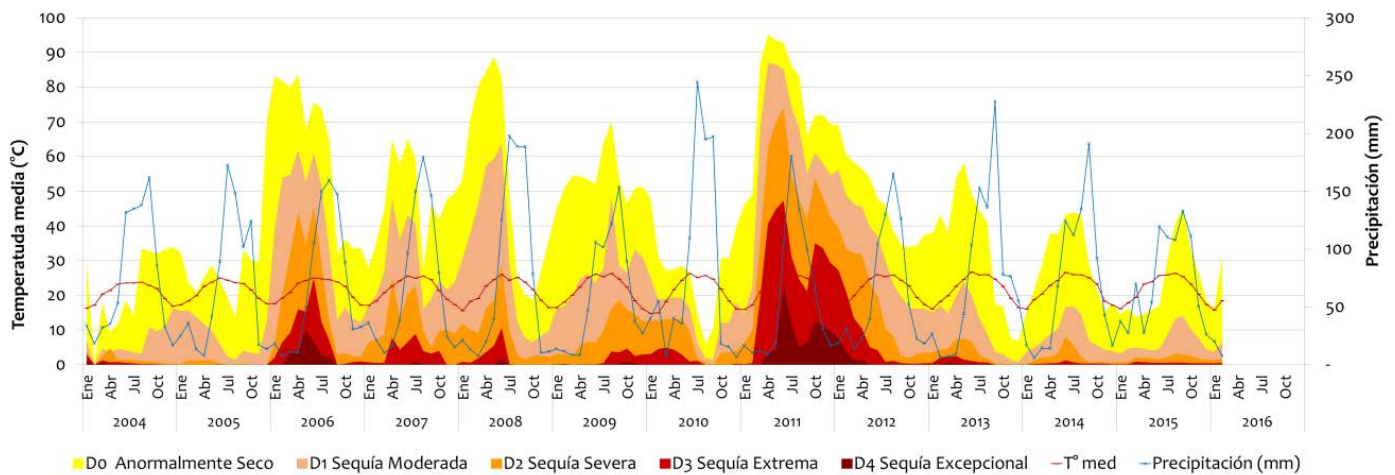


Figura 2. Condiciones de precipitación, temperatura y monitor de la sequía que permiten que las poblaciones de *L. apiculatum* conserven su identidad genética.

precipitación mínima de 7.10 mm y máxima de 161 mm. Dichas condiciones suponen un estrés para los hospedantes de forrajeo y anidación de *L. apiculatum* (Figura 4). **La niña** provocó inviernos secos durante los años 2006, 2007, 2008, 2009, 2011, 2012 y 2014 con un índice de -0.5 hasta -1.6 resultando en fuertes sequías propiciando estrés en la vegetación como alimento para el ganado en los ejidos y compactación del suelo al recorrer varias veces cierta área y largas distancias ocasionando disturbios al hábitat de *L. apiculatum* (Figura 5).

Los resultados obtenidos son comparables con los de la termita *Microcerotermes diversus* en Israel, donde reportaron nula divergencia (Firouzabadi et al., 2012), o con *Apis mellifera* en Murcia, España, donde concluyen que las colmenas son homogéneas y no muestran introgresión (Albaladejo et al., 1999).

En el caso de *L. apiculatum* el fragmento Citocromo oxidasa subunidad I, contribuye a definir que, de ser necesario, las poblaciones de *L. apiculatum* de Zacatecas podrían introducirse a San Luis Potosí e Hidalgo, o en cualquier área en donde se documente la disminución de las colonias.

Las consecuencias ecológicas de la introducción generalizada de *L. apiculatum* para plantas y artrópodos nativos no son bien conocidos debido a la falta de información sobre su comportamiento para recolonizar o establecerse en nuevas áreas. Se puede especular que la introducción de *L. apiculatum* puede tener consecuencias importantes en el tamaño de la colonia que se establezca debido a que, *L. apiculatum* es un insecto eusocial, y los requerimientos de un mínimo de individuos para el establecimiento de nuevas colonias

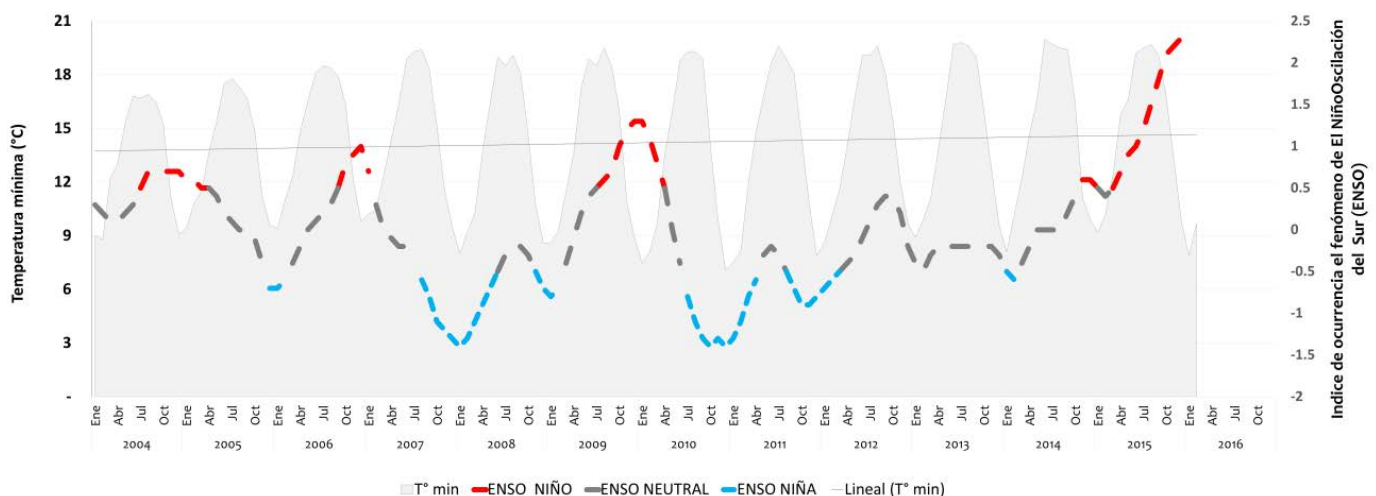


Figura 3. Influencia de las condiciones de ENSO y temperatura mínima que permiten que las poblaciones de *L. apiculatum* conserven su identidad genética. Información tomada de NOAA, 2016 y CONAGUA, 2016.

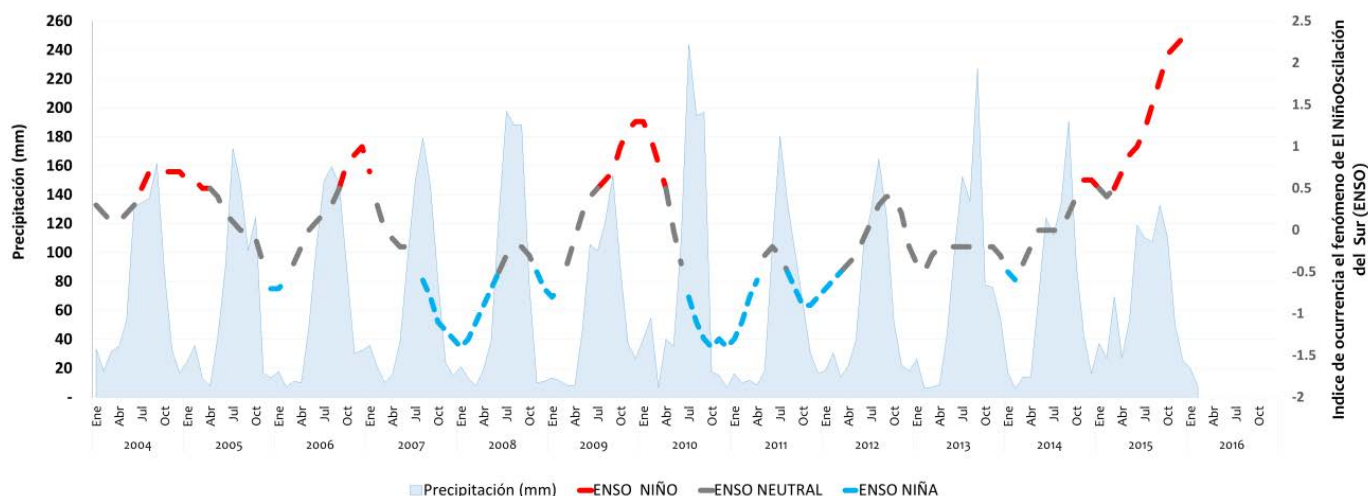


Figura 4. Influencia de las condiciones de ENSO y precipitación que permiten que las poblaciones de *L. apiculatum* conserven su identidad genética. Información tomada de NOAA, 2016 y CONAGUA, 2016.

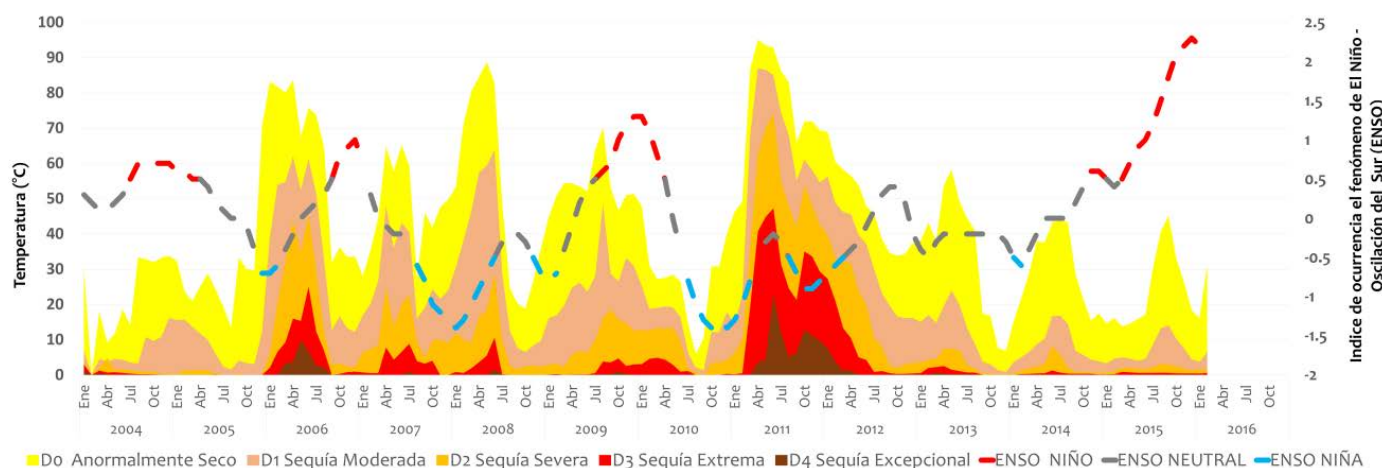


Figura 5. Influencia de las condiciones de ENSO y precipitación que permiten que las poblaciones de *L. apiculatum* conserven su identidad genética. Información tomada de NOAA, 2016 y CONAGUA, 2016.

dependerá exclusivamente de la especie, ya que en el caso de hormigas del género *Ponerinae*, requieren de una docena de obreras (Ware et al., 1990), un requerimiento completamente distinto es el de hormigas cortadoras de hojas que necesitan millones de obreras (Fjerdingstad y Boomsma, 1998).

Desde un punto de vista demográfico, el éxito del establecimiento de las colonias de *L. apiculatum* debe estar positivamente relacionada con el número de individuos liberados, según lo demostrado por el trabajo teórico en la estocasticidad demo-

gráfica (Legendre et al., 1999). Además, en ambientes áridos, naturalmente fluctuantes por condiciones de clima, vegetación, tipo de suelo y prácticas agropecuarias, una multi introducción escalonada por varios años debe mejorar el éxito de establecimiento de la especie (Haccou y Iwasa, 1996).

CONCLUSIONES

El ADN mitocondrial de *L. apiculatum* evidencia un bajo a nulo nivel de divergencia genética que demuestra que las poblaciones investigadas tienen alto grado de

conservación. Lo anterior permite pensar en la posibilidad de un plan de introducción de la especie en las áreas en donde ha sido desplazada. Por ejemplo, poblaciones de Zacatecas podrían ser introducidas en áreas del estado de Hidalgo, San Luis Potosí, y contribuir a conservar este recurso natural en áreas originales de distribución (15 estados de la república mexicana) y continuar proporcionando los beneficios ecosistémicos, de biodiversidad y seguridad alimentaria a las zonas áridas y a personas de las comunidades rurales que se benefician del escamol.

LITERATURA CITADA

- Albaladejo, J.G.; Serrano, J.; De la Rúa-Tarín, P. (1999). Variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones de abejas de la miel (*Apis mellifera* L.) de la Región de Murcia. Investigación agraria. Producción y sanidad animales. 14(1-3):41-50.
- Brook, B.W.; Sodhi, N.S.; Bradshaw, J. A. (2008). Synergies among extinction drivers under global change. Trends in Ecology and Evolution. 23(8): 453-460.
- Brooks, D.R.; Bajer J.E.; Clark, S.J.; Monteith D.T.; Andrews, C.; Corbett S.J.; Beaumont, D.A.; Chapman, J.W. (2012). Large carabid beetle declines in a United Kingdom monitoring network increases evidence for a widespread loss in insect biodiversity. Journal of Applied Ecology.
- Cooper, P.; Landrum, M.; Mizrahi, I.; Weisemann, J. (2016). Entrez Sequences Quick Start. National Center for Biotechnology Information. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44863/> (consultado 11 de mayo de 2020)
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). (2016). Climatología. En línea en: http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=75. (Consultado el 3/03/2016).
- Del Toro, I.; Pacheco, J.A.; Mackay, W.P. (2009). Revision of the Ant Genus *Liometopum* (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology. 53(2):299-370.
- Esparza, F.G.; Macías, R.F.J.; Martínez, S.M.; Jiménez, G.M.A.; Méndez, G.S.J. (2008). Insectos comestibles asociados a las magueyerías en el ejido Tolosa, Pinos, Zacatecas, México. Agrociencia, 42(2): 243-252.
- Firouzabadi, E. A.; Habibpour, B.; Galehdari, H.; Shishebor, P. (2012). Genetic diversity and morphometric study of thirteen populations of *Microcerotermes diversus* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae) in southern Iran. In: Proceedings IRG-WP Annual Meeting. 43rd The International Research Group on Wood Protection Annual Meeting. Pp.1-15.
- Fjerdingstad, E.J.; Boomsma, J.J. (1998). Multiple mating increases the sperm stores of *Atta colombica* leafcutter ant queens. Behavioral Ecology and Sociobiology. 42(4):257-261.
- Haccou, P.; Iwasa, Y. (1996). Establishment probability in fluctuating environments: A branching process model. Theoretical Population Biology. 50(3):254-280.
- 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(3): 313-321.
- Lara, J. P.; Rivera, A.J.R.; Lara, C.P.; Agüero, R.J.A. (2015). Biology and exploitation of the escamoles ant, *Liometopum apiculatum* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). Acta Zoológica Mexicana (nueva serie). 31(2): 251-264.
- Legendre, S.; Clobert, J.; Møller, A.P.; Sorci, G. (1999). Demographic stochasticity and social mating system in the process of extinction of small populations: The case of Passerines introduced to New Zealand. The American Naturalist.
- Nei, M.; Kumar, S. (2000). Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York. 352 p. ISBN: 978-0195135855.
- Neumann, P.; Carreck, N.L. (2010). Honey bee colony losses. Journal of Apicultural Research. 49(1):1-6.
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). (2016). ENSO Diagnostic Discussion. El Niño / Southern Oscillation (ENSO). En línea en: <http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/precip/CWlink/MJO/enso.shtml>. (Consultado el 3/03/2016).
- Ramos-Elorduy, J.; Pino, J.M.; Conconi, M. (2006). Ausencia de una reglamentación y normalización de la explotación y comercialización de insectos comestibles en México. Folia Entomológica Mexicana. 45(3):291-318.
- Rios-Casanova, L.; Valiente-Banuet, A.; Rico-Garay, V. (2004). Las hormigas del Valle de Tehuacán (Hymenoptera: Formicidae): una comparación con otras zonas áridas de México. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie). 20(1):37-54.
- Ruiz, C.E.; Kasparyan, D.R.; Coronado, B. J.M.; Myartseva, S.N.; Trjapitzin, V.A.; Hernández A., S.G.; García J., J. (2010). Hymenopteros de la Reserva El Cielo, Tamaulipas, México. Universidad de Guadalajara. Dugesiana. 17(1):53-77.
- Rumpold, B. A.; Schlüter, O.K. (2013). Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 17(1): 1-11.
- Sambrook, J.; Russel, D.W. (2001). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd. ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, USA. 2368 p.
- Savolainen, V.; Cowan, R.S.; Vogler, A. P.; Roderick, G.K.; Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B Biological Science. 360(1462):1805-1811.
- Stern, R.A.; Riley, D.O.; Daneshvar, D.H.; Nowinski C.J.; Cantu, R.C.; McKee, A.C. (2011). Long-term consequences of repetitive brain trauma: Chronic traumatic encephalopathy. PM&R. American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. S460-S467.
- Tamura, K.; Stretchen, G.; Peterson, D.; Filipski, A.; Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution. 30(12):2725-2729.
- Ware, A.B.; Compton S.G.; Robertson, H. G. (1990). Gamergate reproduction in the ant *Streblognathus aethiopicus* Smith (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Insectes Sociaux. 37(3):189-199.
- Williams, G. R.; Troxler, A.; Retschnig, G.; Roth, K.; Yañez, O.; Shutler, D. Neumann, P.; Gauthier, L. (2015). Neonicotinoid pesticides severely affect honey bee queens. Scientific Reports Nature. 5,14621.

