



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN  
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL,  
UNIDAD DURANGO

---



**Estudios de variabilidad genética relacionados a la distribución espacial  
y factores ambientales de las especies  
*Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* en el Estado de Durango**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**M.C. RENE TORRES RICARIO**

**DIRECTORES DE TESIS**

**DR. J. NATIVIDAD GURROLA REYES**

**DR. JOSÉ ALBERTO NARVAEZ ZAPATA**

Victoria de Durango, Durango, Julio de 2014



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

SIP-14-BIS

*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 14:00 horas del día 23 del mes de Junio del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del: CIIDIR-IPN Unidad Durango para examinar la tesis titulada:  
Estudios de variabilidad genética relacionados a la distribución espacial y factores ambientales de las especies *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* en el Estado de Durango

Presentada por el alumno:

<b>TORRES</b>	<b>RICARIO</b>	<b>RENE</b>							
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)							
Con registro: <table border="1"><tr><td>B</td><td>1</td><td>0</td><td>1</td><td>0</td><td>7</td><td>5</td></tr></table>			B	1	0	1	0	7	5
B	1	0	1	0	7	5			

aspirante de:

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISIÓN REVISORA**

Directores de tesis

 _____ Dr. J. Natividad Gurrutía Reyes	 _____ Dr. José Narváez Zapata
 _____ Dr. Isaias Chalrez Hernández	 _____ Dr. Luis Rodríguez Herrera
 _____ Dra. Norma Almaraz Abarca	

\_\_\_\_\_  
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



Dr. Antonio Ávila Reyes



CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.D.I.R.  
UNIDAD DURANGO  
I.P.N.



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

SIP-13-BIS

*ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS  
Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS*

México, D.F. a 16 de Mayo del 2014

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Durango en su sesión extraordinaria No. 4 celebrada el día 14 del mes de mayo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

TORRES	RICARIO	RENE							
<small>Apellido paterno</small>	<small>Apellido materno</small>	<small>Nombre (s)</small>							
		Con registro: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px 5px;">B</td> <td style="padding: 2px 5px;">1</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">1</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">7</td> <td style="padding: 2px 5px;">5</td> </tr> </table>	B	1	0	1	0	7	5
B	1	0	1	0	7	5			

Aspirante de: Doctorado en Ciencias en Biotecnología

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:  
Estudios de variabilidad genética relacionados a la distribución espacial y factores ambientales de las especies *Boopeton nubilum* y *Meionoplus lakinus* en el Estado de Durango.

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:  
Dr. J. Natividad Gurrola Reyes y Dr. José Narváez Zapata

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:  
CIIDIR IPN Unidad Durango  
que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

  
\_\_\_\_\_  
Dr. J. Natividad Gurrola Reyes  
Aspirante

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Narváez Zapata  
Presidente del Colegio

  
\_\_\_\_\_  
M. en C. Rene Torres Ricario

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Antonio Avila Reyes  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.I.D.I.R.  
UNIDAD DURANGO  
I.P.N.





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de México, D.F. el día **24** del mes de **Junio** del año **2014**, el que suscribe **Rene Torres Ricario** alumno del Programa de **Doctorado en Ciencias en Biotecnología**, con número de registro **B101075**, adscrito al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. CIIDIR-IPN Unidad Durango**, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. J. Natividad Gurrola Reyes** y el **Dr. José Narváez Zapata** y cede los derechos del trabajo titulado **Estudios de variabilidad genética relacionados a la distribución espacial y factores ambientales de las especies *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* en el Estado de Durango**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o de los directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones [rtorresr1001@alumno.ipn.mx](mailto:rtorresr1001@alumno.ipn.mx), [ngurrola@ipn.mx](mailto:ngurrola@ipn.mx) y [janz\\_21\\_70@hotmail.com](mailto:janz_21_70@hotmail.com). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

  
\_\_\_\_\_  
Rene Torres Ricario

**LA PRESENTE INVESTIGACIÓN SE LLEVÓ A CABO EN EL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, UNIDAD DURANGO, .BAJO LA DIRECCIÓN DE LOS DOCTORES J NATIVIDAD GURROLA REYES Y JOSE ALBERTO NARVÁEZ ZAPATA ASÍ COMO DE LOS ASESORES ISAÍAS CHAIREZ, NORMA ALMARAZ ABARCA, RAUL RODRIGUEZ HERRERA. TENIENDO ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN EN EL CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA (CBG IPN), EN LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA (UAC) Y EL INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DEL GUADIANA**

---

## Dedicatorias

A Erika que durante esta gran aventura estuvo conmigo en las buenas y en las malas, porque siempre obtuve apoyo incondicional de su parte, que durante este viaje recibimos la mayor bendición que podíamos imaginar, la de formar una familia.

A Braulio, mi hijo, quien desde que llego a nuestras vidas me ha servido de inspiración para ser una mejor persona, un mejor profesionista y aspirar a ser un gran padre.

A mi madre quien apoyó en todas mis decisiones, quien siempre estuvo pendiente de mis pasos y no sería suficiente estas líneas para expresarle y agradecerle todo lo que ha hecho por mí.

A Jessica a quien quiero como una hermana y por compartir conmigo este amor por la investigación.

A mi hermano Favio que siempre me alentó y me hizo saber lo importante que era para él.

Al Dr. Natividad Gurrola porque más que un asesor me hizo sentir su amigo y más allá de la parte científica siempre tuvo una palabra de amistad hacia mí.

A Amanda y Ana quienes siempre encontraron la manera de ayudarme en el laboratorio e hicieron mis días en la escuela más felices.

A todos mis compañeros del laboratorio de Biotecnología, Roberto, Tito, Hugo, Laura porque siempre tuvimos tiempo para fortalecer nuestros lazos de amistad compartiendo esta gran pasión por la investigación.

A Marcos, Ruth y Diana que me han apoyado siempre y han creído en mí.

A Nestor porque tu bondad me sirve de inspiración para creer en un mundo mejor.

Sobre todo a Dios por darme salud y todas las bendiciones que han llegado a mi vida, por los retos que me permitieron crecer como persona.

---

## **Agradecimientos**

Al CONACyT por el apoyo otorgado (N° de apoyo 301901) para la realización de mis estudios de Doctorado.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por la oportunidad de ser parte de esta gran institución durante cuatro maravillosos años.

Al Centro de Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) por las facilidades y el apoyo durante esta etapa de mi vida, a todos los directivos, administrativos y personal de apoyo por siempre hacerme sentir como en casa.

Al Centro de Biotecnología Genómica (CBG) por la facilidad de sus instalaciones brindadas durante las estancias realizadas en su centro.

A la Universidad Autónoma de Coahuila (UAC) por su hospitalidad y apoyo durante los periodos que se me permitió trabajar en sus instalaciones.

Al Laboratorio de Biología Agrícola del Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana (ITVG), por el apoyo brindado para concluir la fase experimental de mi trabajo.

Al Dr. Gurrola porque siempre creyó en mí, una gran persona que me brindo siempre su ayuda y supo guiarme en mis buenos y malos momentos.

Al Dr. Narváez por compartir sus conocimientos conmigo, y por ayudarme a crecer profesionalmente durante mis estancias en CBG.

A la Dra. Norma Almaraz por apoyarme en todo momento y por el apoyo obtenido en su laboratorio

Al Dr. Ísaias por su apoyo durante todos estos años, por siempre tener tiempo de escuchar mis dudas y la paciencia para explicar.

Al Dr. Raúl Rodríguez por su apoyo incondicional y su gran hospitalidad en su laboratorio.

---

Al Dr. Pereyra y al Dr. Aviña por su hospitalidad y su gran apoyo que me brindaron para poder concluir mi trabajo experimental.

A Mayra y Noelia (q.d.e.p) porque desde el primer día que estuve aquí me ayudaron en todo lo posible y siempre con una sonrisa en su rostro.

---

---

## ÍNDICE

Índice de figuras	<i>i</i>
Índice de tablas	<i>i</i>
Índice de ecuaciones	<i>iv</i>
Índice de anexos	<i>iv</i>
Resumen	<i>v</i>
Abstract	<i>v</i>
I. Introducción	<b>1</b>
II. Marco Teórico	<b>1</b>
2.1.-Pastizal	1
2.1.1.-Chapulines y pastizales	2
2.1.2.-Impacto económico	6
2.2.- Diversidad genética	7
III. Justificación	<b>9</b>
IV. Objetivo	<b>9</b>
V. Hipótesis	<b>9</b>
VI. Materiales y Métodos	<b>10</b>
6.2.1- Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables de suelo	11
6.2.2- Caracterización de los sitios de estudio empleando variables climáticas	11
6.2.3- Caracterización de los sitios de estudio por medio de variables vegetales	12
6.3.-Captura e identificación morfológica de individuos	13
6.4.-Estudios de variabilidad genética	13
6.4.1.-Extracción de ADN	13
6.4.1.1.- Método de extracción basado en SDS	14
6.4.1.2.- Método basado en CTAB	14
6.4.1.3.-Medición de cantidad y estimación de la pureza de ADN	15
6.4.1.4.-Integridad del ADN	15

---

---

6.5.-Identificación de especies por medio del gen COI en chapulines del estado de Durango _____	15
6.6.-Marcadores moleculares _____	16
6.6.1.-Protocolo de AFLPS _____	16
6.6.1.1.-Digestión de ADN genómico _____	17
6.6.1.2.-Ligación de adaptadores _____	17
6.6.1.3.-Pre amplificación _____	17
6.6.1.4.-Amplificación selectiva _____	18
6.6.1.5.-Separación de los productos AFLPs en geles de acrilamida _____	18
6.7.-Microsatelites _____	18
6.8.- Análisis de la estructura genética y diversidad de las poblaciones de chapulines en el Estado de Durango _____	20
6.9.- Correlación entre variables _____	21
6.10.-Efecto de los diferentes grupos de variables sobre las variables genéticas _____	22
<b>VII.- Resultados y discusión _____</b>	<b>23</b>
7.1.-Área de estudio _____	23
7.1.1.- Determinación de los sitios de estudio _____	26
7.2 Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables de suelo _____	28
7.2.1.- Prueba de normalidad y correlación de Pearson para variables de suelo _____	30
7.2.1.1.-El análisis de correlación de Pearson _____	31
7.2.2.- Análisis de agrupamiento empleando las variables de suelo de los siete sitios _____	33
7.2.3.- Análisis de componentes principales empleando variables de suelo _____	34
7.3.- Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables climáticas _____	36
7.3.1 Análisis de varianza para identificar diferencia entre grupos _____	39
7.3.2.- Análisis de agrupamiento de los sitios de estudio empleando variables climáticas _____	41
7.3.3.- Análisis de correlación de Pearson de variables climáticas _____	42

---

---

7.3.4.- Análisis de componentes principales para las variables climáticas	44
7.4.- Caracterización de los sitios de estudio empleando variables de vegetación de los sitios	47
7.4.1 Análisis de agrupamiento empleando las frecuencias vegetales de los sitios	48
7.4.2.- Análisis de diversidad de los sitios	50
7.5.- Captura e identificación de chapulines de la especie <i>M. lakinus</i> y <i>B. nubilum</i>	51
7.5.1.- <i>Boopedon nubilum</i>	52
7.5.2.- <i>Melanoplus lakinus</i>	52
7.6.- Comparación de los métodos de extracción de ADN de las especies <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i>	53
7.6.1.- Integridad y pureza de ADN por electroforesis	54
7.7.- Identificación de las especies por medio del gen COI	55
7.8.- Estudios de estructura genética y variabilidad de las especies <i>Boopedon nubilum</i> y <i>Melanoplus lakinus</i> de poblaciones del Estado de Durango, usando AFLPs	57
7.8.2.- Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para determinar diferencias entre poblaciones de <i>Boopedon nubilum</i>	59
7.8.3- Análisis descriptivo de las poblaciones de <i>B. nubilum</i> mediante variables genéticas	60
7.8.3.1- Análisis de agrupamiento de las poblaciones de <i>B. nubilum</i> utilizando frecuencias alélicas	65
7.8.4.- Estudio de la estructura genética y variabilidad de la especie <i>M. lakinus</i> en el Estado de Durango usando AFLPs	66
7.8.2.1.-Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para determinar la estructura genética explicada de las especies de <i>M. lakinus</i> en el Estado de Durango, usando AFLPs	67
7.8.2.2.- Análisis descriptivo de las poblaciones de <i>M. lakinus</i> mediante variables genéticas	68

---

---

7.8.2.3 Análisis de agrupamiento de las poblaciones de <i>M. lakinus</i> utilizando frecuencias alélicas	70
7.9 Análisis de la variabilidad genética empleando Microsatelites	71
7.10.- Análisis de correlación de variables genéticas contra variables bióticas y abióticas	74
7.10.1.- Determinación del efecto de las variables bióticas y abióticas de las poblaciones de <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i> sobre su comportamiento genético	74
VIII. Conclusiones	<b>80</b>
IX. Recomendaciones	<b>83</b>
XI. Anexo	<b>94</b>

---

---

## Índice de figuras

Figura 1 Distribución espacial de <i>Boopedon nubilum</i> (R. Pfadt, 1997a)	4
Figura 2 Distribución espacial de <i>Melanoplus lakinus</i> (R. Pfadt, 1997b)	5
Figura 3.- Ubicación de las especies <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i> a lo largo de las zonas de pastizales y zona de los valles del estado de Durango, proyectado sobre la capa de tipo de clima	23
Figura 4.- Proyección de puntos de muestreo de chapulines de las especies <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i> sobre la capa de precipitación media anual	25
Figura 5.- Determinación de sitios de estudio proyectada sobre la carta de uso de suelo y basado en COTECOCA 1979	27
Figura 6.- Área de influencia de estaciones agroclimáticas de INIFAP e identificación de sitios de estudio	27
Figura 7.- Área de influencia de los puntos de suelo y su cercanía a los sitios de estudio	28
Figura 8.- Análisis de agrupamiento de los siete sitios de estudio empleando variables de suelo	33
Figura 9.- Grafico de comportamiento de componentes con respecto a su eigenvalue	35
Figura 10.- Comportamiento de precipitaciones a lo largo el año de los siete sitios de estudio	37
Figura 11.- Análisis de agrupamiento de los siete sitios de estudio empleando variables climáticas	42
Figura 12.- Correlación de Pearson de las variables precipitación y Humedad Relativa	43
Figura 13.- Análisis de correlación de Pearson entre variables temp y HR	44
Figura 14.- Análisis de agrupamiento para los sitios empleando frecuencias vegetales	49
Figura 15.- Análisis de componentes principales empleando frecuencias vegetales	49
Figura 16.- Análisis de componentes principales usando índices de diversidad	51
Figura 17.- Derecha: hembras <i>B. nubilum</i> , izquierda: machos <i>B. nubilum</i>	52
Figura 18.- Hembra de la especie <i>M. lakinus</i>	53

---

---

Figura 19.- Visualización de integridad de ADN de muestras de <i>B. nubilum</i> mediante dos protocolos de extracción de ADN _____	55
Figura 20.- Árbol filogenético utilizando el algoritmo de mínima evolución mostrando la localización de los haplotipos del gene CO1 para <i>Boopedon nubilum</i> (xCITOs) en relación a las especies cercanas <i>Boopedon faviventris</i> , <i>Melanoplus marshalli</i> , <i>M. pinicola</i> _____	56
Figura 21.- Estructura genética estimada de <i>B. nubilum</i> para K=3(A) y K=4(B) obtenida con el programa STRUCTURE. Cada individuo es presentado por una barra y cada cluster por un color, poblaciones por números (1:Y,2:C,3:P,4:VU,5:CR,6:SJ) _____	58
Figura 22.- Gráfico de superficie de las distancias genéticas a partir de la interpolación de las distancias genéticas (altura, eje:Z) empleando triangulaciones de Delaunay basándose en las frecuencias alélicas de <i>Boopedon nubilum</i> _____	62
Figura 23.- Ubicación de los puntos de máxima y mínima distancia genética de la especie <i>B nubilum</i> _____	63
Figura 24.- Red de conectividad de las poblaciones y barrera obtenida mediante el algoritmo de Monmonier para las poblaciones de la especie <i>B. nubilum</i> _____	64
Figura 25.- Análisis de agrupamiento usando frecuencias alélicas de la especie <i>B. nubilum</i> , mediante distancias euclidianas _____	65
Figura 26.- Estructura genética estimada de <i>Melanoplus lakinus</i> para K=3, obtenida con el programa STRUCTURE. Cada individuo es presentado por una barra y cada cluster por un color _____	66
Figura 27.- Gráfico de superficie de las distancias genéticas a partir de la interpolación de las distancias genéticas (altura, eje:Z) empleando triangulaciones de Delaunay basándose en las frecuencias alélicas de <i>M. lakinus</i> . _____	69
Figura 28.- Ubicación de los puntos de máxima y mínima distancia genética de la especie <i>M. lakinus</i> _____	70
Figura 29.- Análisis de agrupamiento usando frecuencias alélicas de la especie <i>M. lakinus</i> mediante distancias euclidianas _____	71
Figura 30.- Árbol filogenético a partir de las frecuencias alélicas de <i>M. lakinus</i> usando distancias euclidianas, obtenidas de tres microsatelites _____	74

---

---

Figura 31.- Análisis de Componentes Principales a partir de las variables de suelo y genéticas de <i>B. nubilum</i> _____	75
Figura 32.- Análisis de Componentes Principales a partir de las variables de suelo y genéticas de la especie <i>M. lakinus</i> _____	76
Figura 33.- Análisis de Componentes Principales (A) y Análisis de agrupamiento (B) de las especie <i>B. nubilum</i> empleando variables genéticas y climáticas _____	77
Figura 34.- Análisis de Componentes Principales de las variables de vegetación y variables genéticas de la especie <i>B. nubilum</i> _____	78

### Índice de tablas

Tabla 1.- Combinaciones de cebadores empleadas para AFLPs para estudios de <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i> _____	17
Tabla 2.- Caracterización de los once microsatélites amplificados en <i>M. lakinus</i> y <i>B. nubilum</i> mostrando rango, número de alelos, secuencia repetida y secuencia del iniciador _____	19
Tabla 3.- Descripción de los siete sitios de estudio mostrando variables de suelo y densidad de chapulines _____	29
Tabla 4.- Prueba de Normalidad para variables numéricas de los siete sitios de estudio _____	31
Tabla 5.- Análisis de correlación de Pearson para variables de suelo _____	32
Tabla 6.- Tabla de factores obtenidos por medio de análisis de componentes principales usando variables de suelo _____	34
Tabla 7.- Matriz de componentes de los factores generados mediante análisis de componentes principales _____	36
Tabla 8.- Estadística descriptiva de los sitios de estudio en base a sus variables climáticas _____	38
Tabla 9.- Análisis de Varianza para los siete sitios y sus variables climáticas _____	39
Tabla 10.- Prueba de tukey para la variable de Humedad relativa de los siete sitios de estudio _____	41
Tabla 11.- Análisis de componentes principales empleando variables climáticas _____	44
Tabla 12.- Matriz de componentes de las variables climáticas _____	45

---

Tabla 13.- Matriz de componentes rotados de las variables climáticas _____	46
Tabla 14.- Caracterización de sitios de estudio mostrando número de especies y sus coberturas y especies más abundantes _____	47
Tabla 15.- Análisis de la diversidad vegetal de los sitios de estudio _____	50
Tabla 16.- Prueba de igualdad de varianzas y comparación de muestras independientes de los métodos de extracción _____	53
Tabla 17.- Análisis molecular de varianza (AMOVA) de poblaciones de <i>B. nubilum</i> basados en datos de AFLPs _____	60
Tabla 18.- Parámetros de la genética poblacional de seis poblaciones de <i>B. nubilum</i> analizados con AFLPs _____	61
Tabla 19.- Análisis molecular de varianza (AMOVA) de poblaciones de <i>M. lakinus</i> basados en datos de AFLPs _____	67
Tabla 20.- Parámetros de la genética poblacional de seis poblaciones de <i>M. lakinus</i> analizados con AFLPs _____	68
Tabla 21.- Análisis Multi-locus para equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) calculados con GENPOP usando el método de Markov para siete poblaciones de <i>M. lakinus</i> _____	72
Tabla 22.- Estadísticos F (Wright) y flujo genético, calculado por Genepop usando tres marcadores (Microsatelites) de <i>M. lakinus</i> en Durango _____	72
Tabla 23.- Valores de identidad y distancia genética de Nei de <i>M. lakinus</i> obtenido de las frecuencias alélicas de tres microsatelites (Distancia genética debajo de la diagonal, Identidad genética por encima de la diagonal) _____	73

### Índice de ecuaciones

Ecuación 1.- Formula para determinar el tamaño de muestra _____	10
Ecuación 2.- Índice de aridez _____	12

### Índice de anexos

Anexo 1.- Datos recolectados de los sitios de muestreo para las especies <i>B. nubilum</i> y <i>M. lakinus</i> en el estado de Durango _____	94
--	----

---

## Resumen

Las especies de los chapulines *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* son las más abundantes en el estado de Durango. Las diferentes condiciones ambientales y la variación en la composición de la vegetación a lo largo del estado pueden tener influencia en el comportamiento y en la estructura poblacional de estas especies. En el presente trabajo se empleó la técnica de AFLPs (Polimorfismos en la Longitud de Fragmentos Amplificados) para estudiar el grado de variabilidad y la estructura genética de siete poblaciones de esas especies de chapulín. Se obtuvieron 138 (*B. nubilum*) y 256 (*M. lakinus*) loci amplificados para cada especie. *Boopedon nubilum* mostró diferencias entre poblaciones de acuerdo al Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) ( $p=0.00$ ). El análisis de conglomerados mostró tres grupos para esta especie, la población de VY tuvo un valor alto de  $F_{st}=0.413$  y los valores más bajos de diversidad genética ( $H'=0.08$ ) y de diversidad genética de Nei ( $Nei=0.08$ ), esta población se agrupó junto a la de C ya que ambas mostraron valores de índices genéticos similares. De acuerdo a la interpolación inversa de distancias ponderadas, la población de VU se encontró cercana al punto de mayor diversidad genética. La prueba de Mantel no mostró correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética ( $p=0.5$ ). Para *M. lakinus*, el MOVA ( $p=0.4$ ) no mostró diferencias entre poblaciones ni relación entre las distancias geográficas y genéticas (prueba de Mantel,  $p=0.45$ ). El análisis Canónico Correlacional ( $p<0.05$ ) mostró que las diferentes condiciones climáticas y la variación de la composición vegetal afectan de manera significativa la variabilidad y la estructura genética poblacional de ambas especies de chapulín.

## Abstract

Grasshoppers of the species *Boopedon nubilum* and *Melanoplus lakinus* are two of the most abundant Orthoptera in Durango State, Mexico. The variable environmental conditions and the differences in the flora along the State could affect the behavior and population genetic structure of those species. In the present study, several primer combinations of AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphism) markers were applied to study the genetic structure and genetic variability of seven populations of those both species. The specie *B. nubilum* presented 138 markers and *M. lakinus* 256.

*Boopedon nubilum* showed differences among populations according to the Molecular Analyses of Variance (AMOVA) ( $p=0.00$ ), the conglomeration test showed the formation of three groups, the population VU had the highest value of  $F_{st}=0.413$ , and the lowest values of genetic diversity ( $H'=0.08$ ) and Nei's genetic diversity index ( $Nei=0.08$ ), this population grouped together with the population C. According to the inverse distance weighted interpolation, the locality VU is near from the highest point of genetic diversity. Mantel test showed no relation between geographic and genetic distances ( $p=0.52$ ) for the populations of *B. nubilum*. *Melanoplus lakinus* showed no differences among populations, according to the Molecular Analyses of Variance (AMOVA) ( $p=0.4$ ), neither correlation between genetic and geographic distances (Mantel test,  $p=0.45$ ) The Canonical correlation analysis showed that the different environmental conditions and the variation in the plant species composition significantly affect the variability and genetic structure of the populations of both analyzed species of grasshopper *B. nubilum* and *M. lakinus*.

## I. Introducción

El estado de Durango cuenta con un extenso territorio propicio para la ganadería y la agricultura, estas zonas de interés se encuentran localizadas desde el noreste del estado hasta la parte sureste, a lo largo de la cordillera de la Sierra Madre Occidental. En cuestiones de ganadería, los pastizales localizados para esta práctica en el estado pueden ser afectados por una diversidad de plagas en diferentes épocas del año, una de estas posibles plagas es el chapulín el cual daña los pastizales de manera muy variable, dependiendo de factores climáticos, disponibilidad de alimento y la cantidad de chapulines presentes. Algunas de las especies presentes en estos pastizales son *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus*. Estas especies de chapulines, de la familia Acrididae, encuentran en las zonas de pastizales un hábitat de confort propicio para su supervivencia. El daño que pueden causar económicamente está en función del tipo de vegetación, el estado de maduración del insecto y la época del año. A lo largo de la zona de pastizales del estado de Durango existen diferentes condiciones bióticas y abióticas que afectan la estructura poblacional, la variabilidad genética, el tamaño, y la distribución de las poblaciones de esas especies de chapulines. Así que es de importancia caracterizar estos sitios y determinar las estructuras genéticas poblacionales que permitan servir de base para monitorear las poblaciones de chapulines y para desarrollar posibles modelos de predicción del aumento del tamaño poblacional en distintos ecosistemas del estado de Durango.

## II. Marco Teórico

### 2.1.-Pastizal

Un pastizal es aquel tipo de ecosistema en el cual la vegetación dominante está compuesta por herbáceas. Las condiciones ambientales dominantes en un pastizal se caracterizan por ser muy áridas lo cual evita que se presenten tipos de vegetaciones muy pobladas como los bosques pero no tan severa para evitar la presencia de algunas herbáceas como en los desiertos. Las precipitaciones son escasas en los pastizales donde una precipitación media anual en una pastizal templado puede ser de alrededor de entre 250mm a 750mm y en pastizales localizados en zonas tropicales alcanzan niveles de entre 600mm a 1500 mm. La precipitación determina el tipo y

---

extensión de la vegetación en este sistema (Branson, 2011; Branson y Sword, 2009; Bright, 1994).

Los pastizales ocupan alrededor del 30% al 40% de la superficie de la tierra y sirven de hábitat para una gran cantidad de especies animales y para actividades de importancia económica como la ganadería. En México alrededor del 48% del territorio nacional corresponde a estas zonas y el 12% del mismo corresponde exclusivamente a pastos con aproximadamente 28 millones de hectáreas (Gonzalez-Elizondo, 2007).

Los pastos forman parte de la familia Graminae (Gramíneas), la cual está conformada por alrededor de 650 a 700 géneros y alrededor de 12000 especies, muchas de ellas es de importancia para la alimentación animal ya que su presencia en los pastizales es muy abundante. En México se estima una presencia de alrededor de 1000 especies y alrededor de 200 gramíneas introducidas. El grupo de las gramíneas se considera de gran importancia económica pero también ecológica ya que por su sistema radicular y de tallos subterráneos son excelentes retenedoras y formadoras del suelo, así mismo, algunas especies poseen una alta capacidad de colonización lo que les permite establecerse en suelos poco óptimos (Herrera Arrieta y Cortés Ortiz, 2009; Holzhauer, 2008; Whitmore, 1992).

En el estado de Durango se tienen registrado 29 tipos diferentes de vegetación y 76 sitios de producción forrajera. La zona de pastizales cubre del 15% al 20% del territorio con 97 géneros y 338 especies de pastos (Herrera Arrieta y Cortés Ortiz, 2009).

#### 2.1.1.-Chapulines y pastizales

Los chapulines son una especie importante de herbívoros presentes en zonas de pastizales alrededor del mundo y a su vez son capaces de causar una severa defoliación de pastos al alimentarse directamente de las hojas y del tallo, desprendiendo así estas partes y a su vez causando daño a algunas hierbas. Los chapulines son capaces de subsistir en casi cualquier lugar y por lo tanto causar daño en estos lugares, pero principalmente se presentan en zonas donde la precipitación media anual no excede los 760 mm de lluvia. Existe una gran relación entre pastizales y chapulines debido a que en los pastizales los chapulines encuentran todas las

---

condiciones tanto climáticas como vegetativas para llevar a cabo todas sus actividades. Sin embargo las diferentes especies de chapulines presentan diferentes patrones de alimentación así como diferentes preferencias dependiendo de las comunidades vegetales de los pastizales las cuales varían considerablemente entre las diferentes regiones (Gurrola-Reyes, 2007; Quinn *et al.*, 1991; Quinn y Walgenbach, 1990).

Debido a la gran riqueza de hábitats, México es un lugar propicio para la presencia de chapulines, algunos de ellos de importancia económica. Los chapulines tienen entonces una gran importancia económica dentro del país siendo los estados más afectados por alguna plaga de estos: Chihuahua, Durango, Zacatecas, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Veracruz, Michoacán, Estado de México, Tlaxcala, Puebla e Hidalgo. Donde el quinto estado ninfal y el estado adulto de estas especies representan el mayor riesgo. En México se han catalogado alrededor de 30 especies como plagas importantes, algunas de ellas pertenecientes a las familias Gomphocerinae y Melanoplinae, mismas que se encuentran principalmente presentes en las zonas de pastizales (García, 2006).

Los chapulines son considerados comúnmente como los mayores insectos destructivos en ciertas vegetaciones, pero estos daños son mayores en lugares con condiciones de sequía. Los chapulines presentes en los pastizales difieren enormemente en sus alimentaciones y en su alto grado de selectividad de sus alimentos. Se han realizado una gran cantidad de estudios relacionados para entender el mecanismo que utilizan estos individuos para la selección de alimentos (Ueckert, 1972).

Dos especies que se encuentran distribuidas a lo largo de la zona semi árida del país en la zona de pastizales y representan una amenaza para la ganadería si su densidad poblacional se encuentra en niveles críticos son las especies *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* (García, 2006a; Gurrola-Reyes, 2007).

La especie *B. nubilum* se puede encontrar desde las zonas de pastizales del este de Montana en los Estados Unidos hasta México en la zona semidesértica que se

---

encuentra desde el desierto chihuahuense hasta el estado de San Luis Potosí. Esta especie vive en diferentes tipos de pastizal como praderas mixtas, praderas cortas y praderas desérticas. Esta especie se alimenta principalmente de pasto, se han hecho estudios en zonas en el suroeste de Texas donde se encontró que esta especie llegaba a consumir grandes cantidades de pasto Navajita Azul o *Bouteloua gracillis* el cual prefería en experimentos en los cuales se proporcionaba este pasto junto a otros. Esto quiere decir que los chapulines de esta especie son muy selectivos al momento de su alimentación. La distribución de *B. nubilum* se presenta en la figura número 1.



**Figura 1** Distribución espacial de *Boopedon nubilum* (R. Pfadt, 1997a)

Los chapulines de las especies *B. nubilum* se pueden diferenciar entre machos y hembras por el color, las hembras son alargadas y de color café mientras que los machos son pequeños y de color negro. Estos chapulines en su estado adulto se presentan a principios de julio hasta mediados de septiembre (García, 2006)

La otra especie presente en la zona de pastizales o semi-árida de México es *Melanoplus lakinus* perteneciente a la subfamilia *Melanoplinae* los cuales se encuentran comúnmente en superficies cubiertas por pastos, se alimenta principalmente por plantas de la familia *Chenopodiaceae*, cuando la presencia de este tipo de plantas favorece a que se encuentre esta especie de chapulín, a su vez también tiende a preferir algunas especies de *Atriplex*. En tiempos recientes se le ha

relacionado a la invasión de ciertas malezas exóticas al crecimiento de la población de *M. lakinus*. Los chapulines de esta especie no causan muchos daños a pastizales de forraje siendo hasta en ciertas circunstancias beneficiosos. Un estudio dentro de tres tipos de ecosistemas en Texas, praderas de pastizales cortos, praderas reforestadas y tierras de cultivo reveló que los chapulines de la especie *M. lakinus* se encontró solamente en las tierras reforestadas (E. R. García, 2006; R. Pfadt, 1997b).

En 1969 las poblaciones de *M. lakinus* infestó los pastizales y se reportó un promedio de entre 20 a 50 adultos por yarda cuadrada. Durante los brotes de *M. lakinus* principalmente se afecta a los cultivos de alfalfa, trigo, algunos vegetales y flores ornamentales. Incluso ciudades que se encuentran dentro de zonas de pastizales pueden sufrir la presencia de esta especie afectando sus jardines y pequeños cultivos. En un estudio donde se analizaron los tractos digestivos de algunos chapulines de la especie *M. lakinus* colectados de un pastizal en Nebraska se observó que el 94% de los fragmentos recuperados correspondieron a coquiá y el resto distribuido entre otras especies, en otro estudio en la zona de Alpine en Texas se analizaron los tractos digestivos de especímenes adultos de *Melanoplus lakinus* observándose que se alimentaron de una gran diversidad de pastos y hierbas, de las cuales el 40% aproximadamente correspondía a pastos (Appel y Joern, 1998; Bland y Nutting, 1969)

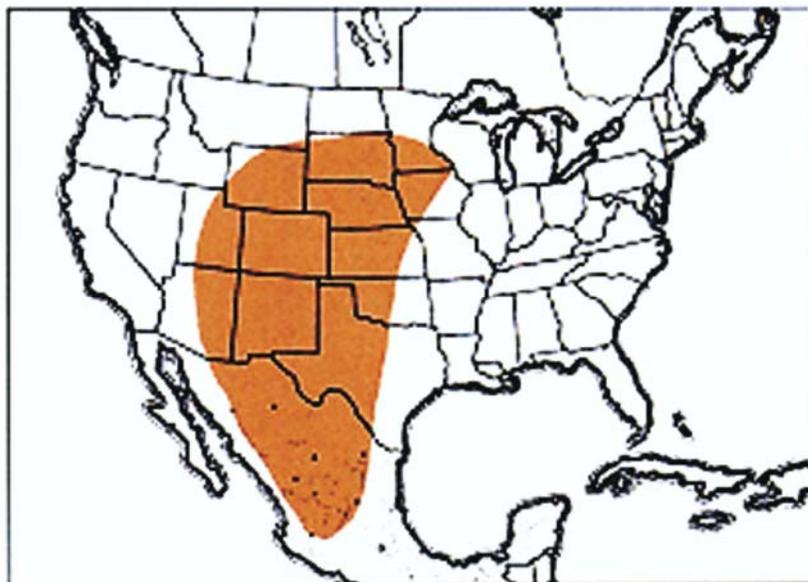


Figura 2 Distribución espacial de *Melanoplus lakinus* (R. Pfadt, 1997b)

### 2.1.2.-Impacto económico

Debido a la estrecha relación entre la presencia de chapulines y los pastizales se requiere de diversos factores que incluyen la etapa de desarrollo del insecto y características del cultivo como su etapa de crecimiento, costo del control e importancia comercial para que estos insectos puedan considerarse plagas (Gurrola, 2007).

En relación a la etapa de maduración del insecto esta empieza a presentar un peligro cuando están de la tercera a la quinta etapa ninfal y en el estado adulto (Calpas y Johnson, 2003). Un chapulín se considera de importancia económica cuando su densidad es tal que el consumo de vegetación es muy elevado y además el tipo de vegetación que utiliza es de importancia para la agricultura o la ganadería. Se ha calculado que los chapulines consumen alrededor del 25% de forraje disponible en Estados Unidos cada año, este tipo de insectos son consumidores voraces consumen la mitad de su peso corporal en forraje verde por día, afectando de esta manera la reducción en peso del ganado (Ueckert, 1968).

Una temperatura mayor a los 20°C es propicia para la pérdida de forraje debido a que los chapulines tienen sus temperaturas de activación y de mayor actividad metabólica entre los 20°C y 35°C, por lo que la temperatura es un factor importante a considerar para la estimación de pérdidas por chapulines así como la precipitación media anual (Gurrola, 2007).

En México los daños causados por estos ortópteros se estiman entre un 20% y 30% de pérdidas en la producción de forraje cuando no se llevan a cabo acciones de control. Los estados más afectados son Aguascalientes, Chihuahua, Hidalgo, San Luis Potosí, Michoacán y Zacatecas. En el estado de Durango se han reportado daños como los causados en los años de 1995 y 1996 en los sembradíos de frijol de temporal. Debido a que el estado de Durango cuenta con alrededor de 5.4 millones de hectáreas para uso exclusivo de agostadero y teniendo como referencia las pérdidas causadas por chapulines en Estados Unidos donde se reportan pérdidas de 600 libras en peso seco por acre en el estado de Arizona, una pérdida similar se esperaría para el estado de Durango de 600 Kg por hectárea (Gurrola, 2007).

---

## 2.2.- Diversidad genética

Los estudios de variabilidad genética son una medida del potencial evolutivo de las especies para responder a los cambios y a la adaptación a lo largo del tiempo (Rodríguez-Muñoz, 2006; Toro y Caballero, 2005). Esta diversidad se refiere principalmente a una variación de alelos y genotipos entre individuos y poblaciones, que se ve reflejado en diferencias fisiológicas, morfológicas o de comportamiento entre ellos (Frankham, 2002). Una pérdida en la diversidad genética puede afectar el potencial evolutivo y el riesgo de extinción de las poblaciones (Chapuis, 2012). El conocimiento acerca de los efectos demográficos y su relación con la variabilidad genética de invertebrados, como los insectos ha sido poco estudiada, además que este tipo de información es generalmente escasa en la fauna ortóptera por lo cual cada vez se realizan más estudios de este tipo (Clarke y Spier-Ashcroft, 2003; Chapuis *et al.*, 2008; Chapuis *et al.*, 2012; E. R. García, 2006a; G. Sword, A. Joern, & L. Senior, 2005). Una gran cantidad de herramientas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han tomado gran importancia en investigaciones con insectos, para estudios taxonómicos, de genética poblacional y evolutivos (Lagisz, Port, & Wolff, 2010). Estas técnicas basadas en PCR necesitan cantidades mínimas de ADN para poder ser amplificadas (Rodríguez-Romero, Posos Ponce, Peteira, & Suris, 2011). Pero existen técnicas como los polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLPs) que requieren una digestión completa del ADN genómico con enzimas de restricción ya que la mínima cantidad de ADN sin digerir puede suponer algún tipo de banda detectable, interpretando estas bandas como falsos polimorfismos (Štys & Kerzhner, 1975). Por lo que un ADN degradado puede perjudicar este tipo de estudios. La técnica AFLP (Vos *et al.*, 1995) proporciona un gran número de marcadores genéticos informativos y fiables que se pueden desarrollar de forma rápida y poco costosa. Los marcadores generados son dominantes y ampliamente distribuido en todo el genoma, lo que permite una evaluación de la variación de todo el genoma (Apple, Grace, Joern, St Amand, & Wisely, 2010; Chintauan-Marquier, Jordan, Berthier, Amedegnato, & Pompanon, 2011; Guo, Li, & Gan, 2006). El conocimiento anterior del genoma no es necesario por lo que esta técnica es particularmente útil en un gran número de organismos. (A. Alacs, P. B. S.

---

Spencer, P. J. Tores, & S. L. Krauss, 2010; Holzhauer et al., 2008). En el presente trabajo se analizó la variabilidad genética de estas especies de chapulines usando la técnica de AFLPs y microsatellites aislados de la especie *Odealus decorus* (*O. decorus*) perteneciente a la familia Acrididae (Berthier, Loiseau, Streiff, & Arlettaz, 2008a). Finalmente, se analizó la correlación de los datos de variabilidad genética con variables de suelo, climáticas y de frecuencia vegetal presente en los diferentes sitios de estudio, con el objetivo de conocer la estructura geografía y genética de estas especies en Durango.

### III. Justificación

Las probables características específicas (factores bióticos y abióticos) de las poblaciones de *M. lakinus* y *B. nubilum* el estado de Durango podrían estar asociadas a cambios en la variabilidad genética de estas especies de insectos. Lo anterior, podría también ser afectado por los patrones de alimentación de las poblaciones de chapulines presentes. Por lo tanto, la caracterización genética de estas especies en relación a los diversos factores ambientales y a los hábitos alimenticios es de gran importancia para poder estimar su importancia económica en el estado de Durango.

### IV. Objetivo

Caracterizar las poblaciones de los chapulines de las especies *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* en el estado de Durango y estudiar su variabilidad genética

#### 4.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar las poblaciones de estudio de acuerdo a sus variables de suelo, clima y vegetación para identificar las condiciones actuales en las que se desarrollan los chapulines.
- Determinar la variabilidad genética dentro y entre poblaciones de los chapulines empleando marcadores de tipo AFLPs.
- Determinar el efecto de los diferentes grupos de variables con respecto a las variables genéticas.

### V. Hipótesis

Los chapulines de especies económicamente importantes como *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* presentan diferencias genéticas a lo largo de las zonas de pastizales asociados a diferentes factores ambientales en el estado de Durango.

## VI. Materiales y Métodos

### 6.1.-Área de estudio

El área de estudio se determinó en base a un muestreo piloto para identificar la presencia de las especies *M. lakinus* y *B. nubilum* a lo largo del estado de Durango, georreferenciando las poblaciones con ayuda de un sistema de posicionamiento global (GPS) usando DATUM: WGS84 y proyección geográfica. Los meses de colecta fueron aquellos comprendidos entre los meses de agosto y octubre, donde los insectos se encuentran en estado adulto.

### 6.2.-Sitios de estudio

Una vez identificados los sitios donde se encuentren presentes las especies *M. lakinus* y *B. nubilum* se determinara el tamaño de muestra empleando como variable el porcentaje de presencia de ambas especies en el estado de Durango del 20 y 15% respectivamente en base a los estudios realizados por García-Gutiérrez en 2006 (G. C. García, Chairez, Rivera, Gurrola, & González, 2006). Usando la fórmula:

Ecuación 1:

**Ecuación 1.-** Formula para determinar el tamaño de muestra

$$n = \frac{NZ^2 pq}{d^2(N-1) + Z^2 pq}$$

Donde:

*n*=tamaño de muestra

*N*=Tamaño total

*Z*=es el nivel de confianza elegido, determinado por el valor de  $\alpha$

*p*=es la prevalencia esperada del parámetro que se ha de estimar.

*q*=1-*p*

*d*=precisión

La selección de las poblaciones de estudio se basaran en su proximidad con alguna de las redes agroclimáticas del INIFAP, así como de los sitios analizado por Espino-Chairez (2013), usando herramientas de proximidad y área de influencia con el software ArcGis10.1. (ESRI, 2011). Se identificaran el tipo de clima, tipo de suelo, precipitación media anual y temperatura media anual por medio de las cartas climatológicas obtenidas del portal del INEGI (INEGI, 2014).

#### 6.2.1- Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables de suelo

Para las variables correspondientes al suelo se utilizaron los datos obtenidos de las cartas de tipo de suelos, uso de suelo y vegetación y humedad de suelo escala (1:250000) del INEGI, usando el programa ArcGis 10.1 para sus análisis y desarrollo de mapas. Las variables obtenidas del trabajo presentado por Espino Chairez (2013) (Espino Cháirez, 2013) fueron textura de suelo, pH, Materia orgánica (MO) y conductividad eléctrica (Con Elect). Se obtendrán estadísticas descriptivas de todas las variables, correlaciones de Pearson para identificar interacciones entre las distintas variables, incluyendo las variables de altitud y densidad de chapulines por metro cuadrado. Se determinara por medio de un análisis de agrupamiento usando distancias euclidianas la formación de grupos de acuerdo a las diferentes características de suelo presentadas. Al final con ayuda de un análisis de componentes principales se podrá identificar qué factores explican la mayor parte de la varianza del complejo de variables de suelo y a su vez identificar por medio de matrices de componentes identificar que variables aportan más a los dichos componentes.

#### 6.2.2- Caracterización de los sitios de estudio empleando variables climáticas

Las variables climáticas fueron obtenidas desde la red agroclimática el INIFAP (<http://clima.inifap.gob.mx/>) (INIFAP, 2012) durante los meses de muestreo, los cuales fueron de los meses de Agosto, Septiembre y Octubre ya que en estos meses es cuando los insectos de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* se encuentran en quinto estado ninfal y en estado adulto, para así favorecer su captura e identificación, para llevar a cabo la caracterización de las poblaciones con ayuda de las variables de precipitación mensual (mm), temperatura mensual (°C), velocidad (Km/h) dirección del viento (grados), radiación (w/m<sup>2</sup>) y humedad relativa (porcentaje) de los meses de

muestreo, así como el índice de aridez. Al igual que las variables de suelo, se determinaran estadísticas descriptivas de las variables, se identificarán los índices de aridez empleando la ecuación 2.

**Ecuación 2.- Índice de aridez**

$$IA = \frac{T_{max} - T_{min}}{P}$$

Donde:

IA= Índice de aridez

Tmax=Temperatura máxima mensual

Tmin=Temperatura mínima mensual

P=Precipitación mensual

Dicho índice es utilizado para identificar el nivel de sequía presente en cada sitio, ya que este valor incorpora los datos de temperatura y de precipitación, dándonos una imagen más completa del comportamiento de los sitios, ya que un aumento en la precipitación indica una disminución en el índice de aridez (IA) (Nath, Rai, Bhattacharya, & Saha, 2010). Se identificara la correlación existente entre las variables climáticas por medio del índice de correlación de Pearson. Se identificarán la formación de grupos empleando un análisis de agrupamiento usando distancias euclidianas. Por medio de un análisis de componentes principales se identificarán que factores responden en su mayoría a la varianza total del estudio cuando se usan variables climáticas, a su vez por medio de una matriz de componentes de factores se identificarán que variables participan en cual factor y su importancia o efecto en cada uno de ellos.

### 6.2.3.-Caracterización de los sitios de estudio por medio de variables vegetales

Para la obtención de las variables vegetales se determinará el área mínima de muestreo utilizando el método de puntos anidados, donde se iniciara con un área de 0.5 x 0.5 m (0.25m<sup>2</sup>) y se anotaran todas las especies presentes. El área se duplicara

---

---

sucesivamente y se anotaran las especies adicionales que se encuentren en cada duplicación. Se realizara la duplicación mientras aparezcan nuevas especies en cada nuevo cuadrante. Una vez registrados los datos se construirá una gráfica del número de especie-área. El área mínima será aquella área en la cual la curva se haga asintótica (Burnham, Anderson, & Laake, 1980; Franco et al., 1985). Para determinar la frecuencia vegetal de las especies se empleó el método de transecto de línea empleado por Canfield (1941) (Canfield, 1941) y así obtener los diversos factores de biodiversidad empleando el programa PAST (Hammer, Harper, & Ryan, 2001). Las estadísticas descriptivas de los sitios se obtuvieron por medio del programa SPSS 17.

### 6.3.-Captura e identificación morfológica de individuos

Se capturaron individuos de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* de zonas de pastizales y áreas agrícolas del estado de Durango, durante los meses de agosto, septiembre y octubre de los años 2011, 2012 y 2013 que se encontraran en su quinto estado ninfal y adultos. Fueron capturadas usando redes entomológicas de 40 cm de diámetro, repitiendo cinco ocasiones el mismo movimiento, tal y como se describe por Evans (1984,1988) y Torrusio (2002). (E.W. Evans, 1984; E.W. Evans, 1988; Torrusio, Cigliano, & Wysiecki, 2002). La densidad de saltamontes por metro cuadrado (Ind m<sup>-2</sup>) se calculó usando el número total de insectos de la especie de interés capturados con la red y contando el número de insectos por metro cuadrado de las observaciones en campo (Ni, Wang, Jiang, & Zha, 2007). Los insectos fueron identificados usando las claves propuestas por Capinera (1982) y Pfadt (1994) (Capinera & Sechrist, 1982; R. E. Pfadt, 1994).

### 6.4.-Estudios de variabilidad genética

#### 6.4.1.-Extracción de ADN

Debido a los requerimientos específicos de ciertos marcadores moleculares y de la poca información acerca de procesos de extracción de ADN de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* se evaluaron dos métodos de extracción de ADN genómico basados en diferentes agentes quelantes debido a la naturaleza del exoesqueleto de los chapulines, que está constituida en gran parte por polisacáridos. Se analizaron de manera independiente, músculo del fémur anterior de 20 individuos de la especie *B.*

---

*nubilum* y 20 individuos de la especie *M. lakinus* en estado adulto, identificados previamente de manera morfológica, colectados en diferentes puntos del estado de Durango colocándolos en alcohol al 75% para su preservación y manteniéndolos en congelación a -20°C hasta su uso.

#### 6.4.1.1.- Método de extracción basado en SDS

Muestras de ADN genómico se obtuvieron del tejido del fémur anterior de los insectos usando pistilos estériles para su homogenización. La extracción del ADN se llevó a cabo utilizando el método empleado por Aljanabi y Martínez (1997), este método ha sido empleado con una gama amplia de grupos de organismos (Aljanabi & Martinez, 1997). Los tejidos fueron homogenizados en 400 µL de un regulador, conteniendo 0.4 M NaCl, 10 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 mM EDTA, durante 5 minutos mínimo por muestra, Después, se agregaron 40µL de una solución de SDS al 20% (concentración final del 2%) y 8µL de una solución 20mg/mL de proteinasa K (400µg/mL concentración final), se mezcló en vortex. Las muestras fueron incubadas de 55 a 65°C durante dos horas. Después se agregaron 300µL de una solución 6M de NaCl, se mezclaron y se centrifugaron durante 30 minutos a 10000g. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo y estéril. Se agregó un volumen de isopropanol, se mezcló vigorosamente y las muestras se incubaron a -20°C durante una hora, después se centrifugó durante 20 minutos a 10000 g (4°C). La pastilla de ácidos nucleicos se lavó dos veces con etanol al 70%, se dejó secar y se re suspendió en 500µL de agua bidestilada.

#### 6.4.1.2.- Método basado en CTAB

Se utilizó el método reportado por Barragán-Valencia *et al.*, (2009), en el que los insectos se lavaron cuatro veces con una solución 0.065% de NaCl para remover etanol e impurezas. Los tejidos se homogenizaron con una solución de buffer CTAB (2%CTAB, 1.4M NaCl, 0.2% 2-mercaptoetanol, 20mM EDTA, 100mM Tris-HCl pH 8) a 60°C durante una hora. Posteriormente se agregó un volumen de una solución de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1), se mezcló vigorosamente, y se centrifugó a 6000 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. La fase acuosa se recuperó, se combinó con dos volúmenes de isopropanol frio se mezcló, y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 20 minutos para que ocurriera la precipitación de los ácidos nucleicos. Después, se centrifugó a 6000g durante 10 minutos;, el sobrenadante se

---

---

descartó y la pastilla resultante se lavó dos veces con etanol al 75%. Finalmente la pastilla de ácidos nucleicos se re suspendió en 50µL de buffer TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 7.4) (Barragan-Valencia, Almaraz-Abarca, Alvarez-Zagoya, Delgado-Alvarado, & Pérez-Domínguez, 2009).

#### 6.4.1.3.-Medición de cantidad y estimación de la pureza de ADN

Para estimar la cantidad de ADN se tomaron 10µL de ADN extraído por el método de SDS se combinaron con 990µL de agua bidestilada (factor de dilución de 99) y para el método empleando CTAB se tomaron 4 µL mezclándose con 996 µL de agua bidestilada (factor de dilución de 250). Se midió la absorbancia a 260nm. Considerando que una unidad de absorbancia corresponde a una concentración de 50ng/µL de ADN, se hizo el ajuste correspondiente al valor de absorbancia obtenido para calcular la cantidad de ADN presente en cada muestra (Chan, 1992). La pureza se determinó de manera espectrofotométrica de acuerdo a (Sambrook & Russell, 2001). Se registraron las medidas de absorbancia a 260nm y 280nm, y se calculó la relación  $A_{260nm}/A_{280nm}$ .

#### 6.4.1.4.-Integridad del ADN

La integridad del ADN extraído se evaluó por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1%, usando 4µL de muestra más µL de syber gold (INVITROGEN) para su visualización.

#### 6.5.-Identificación de especies por medio del gen COI en chapulines del estado de Durango

Los cebadores se diseñaron de acuerdo al alineamiento CLUSTAL de secuencias de COI para ortópteros reportadas en el genbank utilizando el programa Bioedit (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>). La amplificación por PCR se llevó a cabo con las siguientes condiciones un ciclo a 94°C durante cinco minutos para su desnaturalización, 35 ciclos con 1 mis a 94°C, una temperatura de alineamiento de 56°C por 1:25 min y un ciclo de 72°C de 1:30 min. Para terminar se llevara un ciclo a 4°C durante 7 min Posteriormente a los productos de PCR se les agregó un volumen equivalente de Buffer de carga, el cual contenía azul de bromofenol, xylen cianol, formamida y EDTA, luego se desnaturalizaron a 95°C por 10 min en un termociclador,

las muestras fueron inmediatamente colocadas en hielo para conservarlas desnaturalizadas y así ser aplicadas en el gel de acrilamida al 6%. Se empleó el amortiguador TBE al 0.5X como amortiguador de corrida y las condiciones de corrida fueron 116 Volts por 20 horas a una temperatura de 10°C, transcurrido el tiempo de corrida el gel de acrilamida se separó cuidadosamente de los vidrios con ayuda de una espátula y se colocó el gel en un recipiente que contenía 200 ml de amortiguador (TBE 0.5X) y 20µl de Syber Gold para su tinción durante 30 min (Rochelle, 2001). Los productos de PCR separados a partir de estos geles serán purificados, re-amplificados siguiendo las condiciones de PCR previamente descritas y secuenciados directamente utilizando un secuenciador automática ABI 3110 (Applied Biosystems, USA) con el estuche comercial “24 BigDye terminator” de acuerdo a las instrucciones del proveedor (Applied Biosystems, USA). El análisis de las secuencias se realizó preliminarmente utilizando el algoritmo BLASTA (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y la filogenia molecular se estableció utilizando el algoritmo de evolución mínima y un re-muestreo de 1000 repeticiones con secuencias genéticamente relacionadas utilizando el programa MEGA ver.4 (<http://www.megasoftware.net/>).

## 6.6.-Marcadores moleculares

### 6.6.1.-Protocolo de AFLPS

A pesar de que la técnica de AFLPs puede ser utilizada casi de manera original para un gran número de especies, ocasionalmente se emplean ciertas modificaciones al protocolo original de Vos et al., (1995), particularmente en aquellas especies con genomas muy grandes. Los chapulines acríidos poseen genomas de mayor tamaño con respecto a otros insectos, seguido eso con los problemas asociados con la presencia de pseudogenes en estos individuos, por lo cual esto puede complicar los análisis genéticos que son de alguna manera más sencillos en otros insectos. Por lo que los estudios hechos por Sword (2005) (G. A. Sword, A. Joern, & L. B. Senior, 2005) encontraron que usando cebadores con EcoRi+4 y Tru9i +4 bases extras para las amplificaciones selectivas reducen el número de marcadores en acríidos para obtener resultados que puedan ser manejables al momento de su análisis (Tabla 1). Esta reducción en fragmentos es indispensable para evitar problemas de homoplasia,

---

ya que estudios reportados por Caballero (2008) demostraron que reduciendo el número y tamaño de las bandas reduce el riesgo de presentar este problema, donde también sugiere desestimar aquellos fragmentos menores a 70pb para reducir en un tercio el porcentaje de fragmentos homoplásticos, así como aquellos por encima de los 600pb (Caballero, Quesada, & Rolán-Alvarez, 2008; T. Li et al., 2011)

**Tabla 1.-** Combinaciones de cebadores empleadas para AFLPs para estudios de *B. nubilum* y *M. lakinus*

Combinación	Preselectivo		Selectivo	
	EcoRI+1	Tru9I+2	EcoRI+2	Tru9I+2
1	C	CA	CTCC	CAAT
2	C	CG	CTCC	CGAC
3	C	CC	CTCC	CCTG

#### 6.6.1.1.-Digestión de ADN genómico

Se realizó mediante el protocolo modificado de (Vos *et al.*, 1995). Se tomó 1µg de ADN y se sometió a digestión durante una hora a 37°C con 5U de la enzima EcoRI y 5U de la enzima Tru9I en combinación en 40µL de buffer de digestión (10mMTris-HAc (pH 7.5), 10mM MgAc, 50mM KAc, 5mM DTT, 50ng/µL BSA. El ADN digerido se visualizó en geles de agarosa al 1%.

#### 6.6.1.2.-Ligación de adaptadores

Se toman 10 µL de solución de ligación que contiene 1µL del adaptador Tru9I (50pmol), 1 µL de adaptador EcoRI (5pmol), 1 µL de 10mM ATP (1mM concentración final), 4 µL de buffer de ligación (50mM Tris-HAc, 50mMMgAc, 250mM KAc, 25mM DTT, 250ng/mL BSA), 1 U de enzima T4 DNA Ligasa PROMEGA. Se adicionó la solución de ligación al ADN previamente digerido, incubando a 37°C durante toda la noche a temperatura ambiente.

#### 6.6.1.3.-Pre amplificación

Se tomó 2 µL de ADN digerido-ligado y se agregan 18 µL de solución de PCR conteniendo 1 µL cebador EcoRI (+CT,+C), 1 µL de cebador Tru9I (+CA, +CG), 0.8

---

$\mu\text{L}$  de dNTPs mix (10mM), 1.2  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25mM), 4  $\mu\text{L}$  de buffer para PCR (PROMEGA), 0.1  $\mu\text{L}$  de Taq DNA Polimerasa (PROMEGA) Y 9.9  $\mu\text{L}$  DE Agua tridestilada esteril. Las condiciones de PCR para la pre-amplificación fueron las siguientes: 94°C durante 2 min, 34 ciclos de 94°C durante 30s, 50°C durante 30s y 72°C durante 1 min, y un paso final de 72°C durante 2 min. Los productos pre amplificados se diluyeron en relación 1:10 en buffer TE (pH 7.5) y se almacenaron a -20°C para su conservación.

#### 6.6.1.4.-Amplificación selectiva

Se toman 2  $\mu\text{L}$  del ADN pre amplificado diluido 1:10, se adicionan 18  $\mu\text{L}$  de solución de PCR conteniendo 1  $\mu\text{L}$  cebador EcoRI (+CAGA, +CTCC), 1 $\mu\text{L}$  de cebador Tru9I (+CGAG, +CAAT,+CCTG,+CAAG), 0.8  $\mu\text{L}$  de dNTPs mix (10mM), 1.2  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25mM), 4  $\mu\text{L}$  de buffer para PCR (PROMEGA), 0.1  $\mu\text{L}$  de Taq DNA Polimerasa (PROMEGA) Y 9.9  $\mu\text{L}$  DE Agua tridestilada estéril. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: Desnaturalización a 94°C durante 2 min, 12 ciclos de 94°C durante 30s, 64°C durante 30S disminuyendo 0.7°C hasta llegar a 56°C, y 72°C 1min, al alcanzar la temperatura de alineamiento de 56°C se llevan a cabo 20 ciclos más. Al final se hace un paso de 72°C durante 2min.

#### 6.6.1.5.-Separación de los productos AFLPs en geles de acrilamida

Los productos de PCR obtenidos de las muestras de ADN genómico de los saltamontes fueron reveladas en geles de poli-acrilamida al 6% para estimar el número de alelos, y el peso molecular estimado de cada uno de ellos usando como referencia marcadores de peso molecular de 100pb DNA ladder (PROMEGA). La visualización se llevó a cabo con sybergold (INVITROGEN) y se observó en foto documentador UVP Canon. Los geles de poli-acrilamida fueron analizados con ayuda del programa GELANALIZER versión 2010a. (<http://www.gelanalyzer.com/>) (Lazar, 2010) con el objetivo de identificar y medir los alelos presentes

#### 6.7.-Microsatelites

Once microsatelites polimórficos aislados y caracterizados de la especie *O. decorous* (Tabla 2) (Berthier, 2008) fueron empelados en las especies *M. lakinus* y *B. nubilum*. El volumen final de la solución de PCR fue de 25 mL usando un protocolo modificado

de Teng (2007) (Teng y Kang, 2007), consistiendo de 0.2-0.4  $\mu\text{M}$  de cada iniciador, 20 ng de ADN genómico, 0.2mM de cada dNTPs, 1.5 mmol/L de  $\text{MgCl}_2$ , y una unidad de Taq polimerasa. Los análisis de PCR fueron llevados a cabo en el aparato GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones, temperatura de desnaturalización de  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos, 35 ciclos de 1:30 minutos a  $95^\circ\text{C}$ , 1 minuto a  $55^\circ\text{C}$  de temperatura de alineamiento y 1 minuto a  $72^\circ\text{C}$ , con una fase final de  $72^\circ\text{C}$  durante 7 minutos. Los productos de PCR obtenidos de las muestras de ADN genómico de los saltamontes fueron reveladas en geles de poli-acrilamida al 6% para estimar el número de alelos, y el peso molecular estimado de cada uno de ellos usando como referencia marcadores de peso molecular de 100pb DNA ladder (PROMEGA), Los geles de poli-acrilamida fueron analizados con ayuda del programa GELANALIZER versión 2010a. (<http://www.gelanalyzer.com/>) (Lazar, 2010).

**Tabla 2.-** Caracterización de los once microsateélites amplificados en *M. lakinus* y *B. nubilum* mostrando rango, número de alelos, secuencia repetida y secuencia del iniciador

LOCUS	Alelos	Rango pb	Secuencia iniciador	secuencia	*Código
OD2	11-22	216-265	F: GAAACACGCCACGGATTAGT R: CTCACCCTAACCAGCCAAAC	(TG) <sub>11</sub> -(AG) <sub>6</sub>	A
OD4	10-23	126-246	F: GTAATCTGCCGGATGGATTTC R: GTAGAAACGCCCAATCACT	(AG) <sub>16</sub>	B
OD6	8-14	286-326	F: CTTGCACAATGAATCTCGTGA R: GCACACCGTTTCGCTACTA	(TG) <sub>18</sub> -(AG) <sub>7</sub>	I
OD7	10-23	161-208	F: CCATTGAACCTGCTTACCGT R: CGATTGGTGGGACACAGTTT	(CA) <sub>26</sub>	C
OD9	10-22	298-368	F: TTCGCAGACAGCACTTCG R: CGATGGTTTCCTGGCAGTAT	(GA) <sub>21</sub> -(GT) <sub>27</sub>	J
OD12	8-16	251-295	F: CGAACTAACTGCTTGGCAAC R: GCTGCAACGAGGTTAGAATC	(CT) <sub>10</sub> -CCC- (CT) <sub>9</sub>	D
OD3	5-18	277-299	F: AGCCACTATCCTCTTCCTGTT R: GAGGCGGCAAGAGAGAAT	(CT) <sub>12</sub> -AGTC- (CA) <sub>19</sub>	E
OD5	8-19	224-252	F: TATTGCGTGAGCGCGTGT R: TGTATGTCACTGGAAGTGCCTC	(GA) <sub>25</sub> -GG- (GA) <sub>4</sub>	K

---

OD8	8-23	253-275	F: TCCATCTTTTCGGCACACAG R: GGAGCTTCCGGATTATGTTG	(TG) <sub>5</sub> -TC- (TG) <sub>14</sub>	F
OD18	10-20	136-184	F: TTCCTGCCTTGACTCCTGAT R: CTCCTCAGATACGACTTGACGA	(TC) <sub>20</sub>	G
OD31	12-21	219-297	F: GCATGCAAAGCACATACCAC R: GATTCTACCTGATGTCTCAACA	(TC) <sub>24</sub>	H

---

\*Código establecido para identificación durante el estudio

### 6.8.- Análisis de la estructura genética y diversidad de las poblaciones de chapulines en el Estado de Durango

La determinación de la estructura genética se obtendrá a partir de los estadísticos de  $F_{st}$  de Wright y de la formación de grupos y su diversidad medida mediante la heterocigosidad dentro y entre cada población, con ayuda el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000). Para determinar la diversidad entre poblaciones e empleó un AMOVA usando distancias euclidianas entre los haplotipos (Galindo, Morán, & ROLÁN-ALVAREZ, 2009; Knowles & Richards, 2005) Para los marcadores moleculares AFLPs se empleó el software InfoGen (Balzarini M.G., 2013) para obtener las estadísticas descriptivas, los índices de variabilidad como índice de Nei, número efectivo y esperado de alelos y contenido de Loci polimórfico. Así como también se determinaran estudios de estructura genética empleando un análisis de varianza molecular para identificar el efecto de las poblaciones y de los individuos dentro de la variabilidad genética obtenida. Se emplearon método de agrupamiento basados en el algoritmo de neighbour joining para comprobar el análisis empleado por el programa STRUCTURE. Para determinar la correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética se empleó la prueba de Mantel, empleando el programa alelos en el espacio, mediante este programa también se determinó la red de conectividad mediante una triangulación de Delauny, se determinó también mediante una interpolación inversa de las distancias ponderadas (inverse distance-weighted interpolation) un gráfico de superficie para identificar las distancias genéticas y se pudo identificar barreras presentes en el área de estudio mediante el algoritmo de Monmonier (Miller, 2005).

Los análisis estadísticos descriptivos e informativos del estudio de variabilidad genética del marcador codominante (microsatelites) para *M. lakinus* y *B. nubilum* como número observado y esperado de alelos, heterocigosidad esperada y observada y el número observado de alelos, índice de Shannon, índice de diversidad genética de Nei así como los valores de identidad y distancia genética fueron obtenidos usando el programa popgene versión 1.32 (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>), el equilibrio de Hardy-Weinberg fue analizado usando el método de Markov mencionado por Alacs (2010) (E. A. Alacs, P. B. S. Spencer, P. J. Tores, & S. L. Krauss, 2010) usando el programa genpop en su versión online (<http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop/>);, utilizando el análisis de chi cuadrada para determinar el equilibrio de las poblaciones. El análisis de diversidad de las poblaciones usando el método de Fisher fue obtenido usando el programa genepop, utilizando estadísticos F de Wright como estimador de la estructura poblacional (Rousset, 2008). Se utilizó el análisis del Neighbour joining usando los algoritmos de Ward y distancias euclidianas como métodos de agrupamiento, complementando el análisis con análisis de k medias y componentes principales para identificar los clados principales y así evaluar la relación entre las diferentes poblaciones usando STATISTICA versión 7.0 (StatSoft, 2004) y PAST versión 2.17b (Hammer et al., 2001).

#### 6.9.- Correlación entre variables

La correlación entre todas las variables se llevará a cabo usando el índice de correlación de Pearson para identificar la relación existente entre las diversas variables dentro de las distintas poblaciones, así poder identificar algún tipo de efecto que influya en estos para influencias la presencia de las especies de chapulines a estudiar. Esta correlación se llevó a cabo usando los programas STATISTICA versión 7 y SPSS versión 17 (StatSoft 2004; SPSS 2007).

Una vez identificados algún tipo de factor que influya en los diversos sitios se procederá a realizar un análisis de componentes principales (ACP) para identificar qué factores tienen mayor peso en la varianza o el comportamiento del estudio. Donde se podrá identificar aquellas variables involucradas es estos factores y que peso

específico tienen dentro de los mismos. Para de esta manera poder identificar cuál de las variables tiene mayor efecto sobre la caracterización de los sitios.

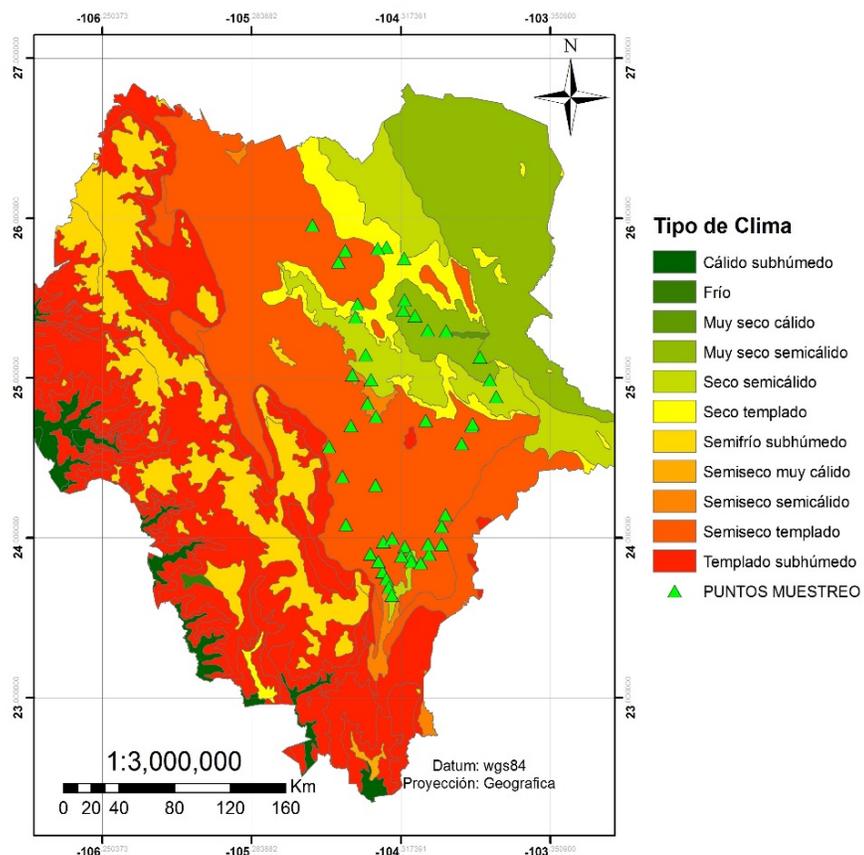
#### 6.10.-Efecto de los diferentes grupos de variables sobre las variables genéticas

Mediante un análisis Canónico Correlacional se determinará el efecto que tienen los diferentes grupos de variables (suelo, climáticas, vegetación) sobre la variabilidad obtenida de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus*. Empleando los software STATISTICA versión 7 y el programa SPSS ver 17.

## VII.- Resultados y discusión

### 7.1.-Área de estudio

Se realizaron recorridos a lo largo de las zonas de los valles y zona de pastizales del estado de Durango, situadas entre las longitudes (-143.66,-104.385) y las latitudes (23.58,25.945). Donde se identificaron 45 sitios en los cuales se identificó la presencia de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus*. (Anexo 1). En la figura 3 se identifica la ubicación de las poblaciones de muestreo, proyectados sobre la capa de tipo de clima para identificar el comportamiento espacial de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* a lo largo del área estudiada.



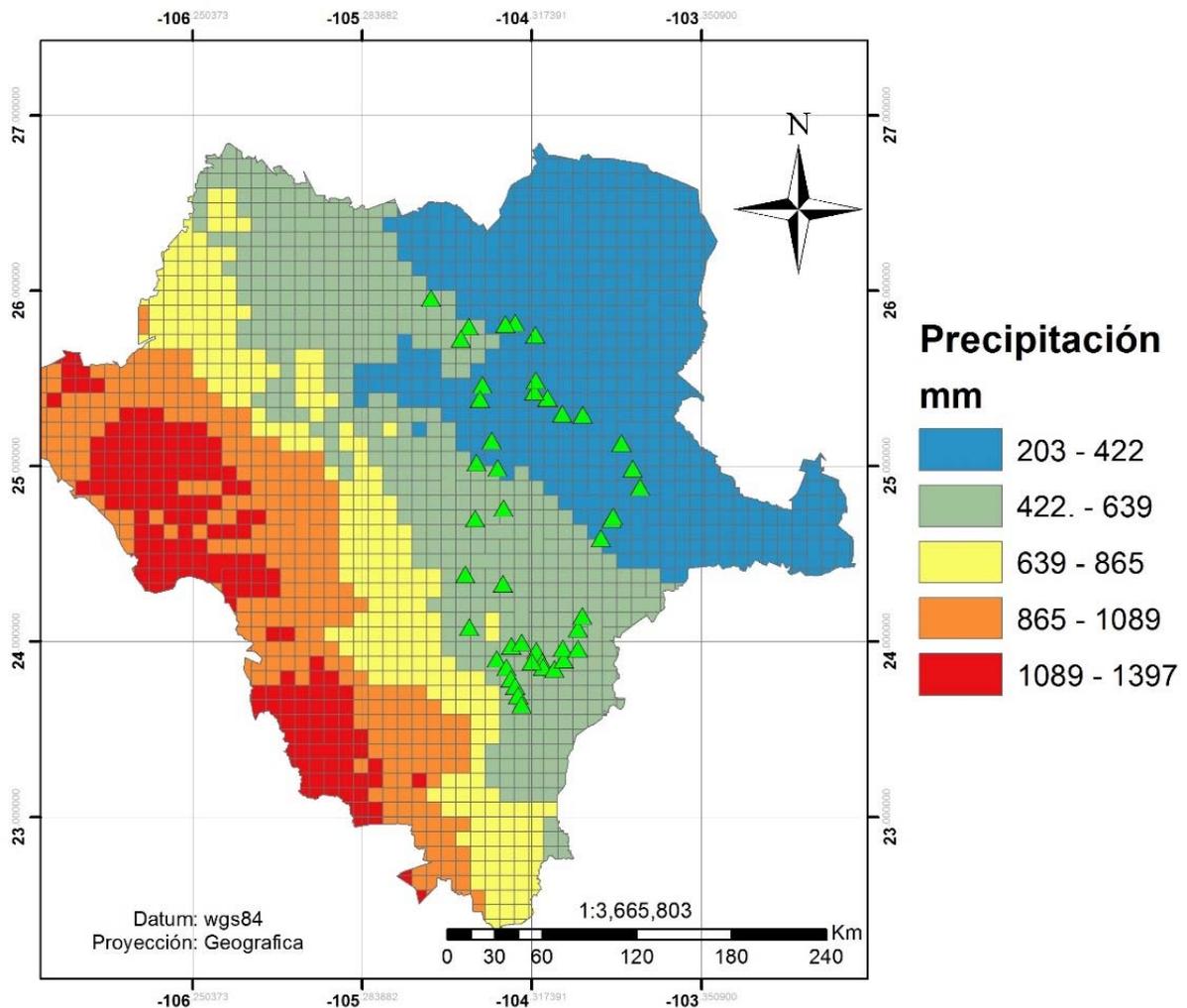
**Figura 3.-** Ubicación de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* a lo largo de las zonas de pastizales y zona de los valles del estado de Durango, proyectado sobre la capa de tipo de clima

---

La presencia de estos insectos coincide con la reportada por Rivera-García 2006 (E. R. García, 2006b) donde se realizó un registro de 60 especies de Ortópteros a lo largo de la zona conocida como la reserva de la Biosfera de Mapimi, que coincide en ubicación geográfica con los puntos muestreados en este estudio en longitud y latitud. Se puede observar también que la mayor concentración de estos insectos se presenta en los climas de tipo semi-seco templado (Bs<sub>1</sub>K) que presentan temperaturas promedio de los 12 a los 22°C, y precipitaciones promedio anuales de 400 a 600mm con un promedio de 50 a 75 días de precipitación al año, la superficie que ocupa dentro del estado de Durango es de alrededor del 27.34% del total (121,181km<sup>2</sup>)(INEGI) Ubicándose en la zona de los valles principalmente. También se presenta en la zonas Seco semicalido (BSh, 7.56%) y muy seco semicalido (BWh, 14.9%), con una superficie combinada del 22.46% del total de la superficie el estado (Gonzales-Elizondo et al., 2007). Lo que nos indica la preferencia de los insectos de la especies *B. nubilum* y *M. lakinus* coincidiendo con las descripciones de hábitat descritas en los estudios de Eaton (2007) (Eaton & Kaufman, 2007) donde indican la presencia de estas especies en las zonas semi aridas de Canadá, Estados Unidos y el Norte de México, situándolos en zonas de pastizales mayormente, indicando la presencia de estas especies como adultos en finales del verano y principios del Otoño, en localidades con grandes praderas y precipitaciones pluviales promedio ubicándose en los rangos de los 300 a 500mm. En la figura 4 se desplegó la capa de precipitación media anual obtenida de la base de datos del WORLD CLIMATE empleando el programa DIVA GIS para su análisis (R. Hijmans, Guarino, Cruz, & Rojas, 2001; R. J. Hijmans, Cameron, Parra, Jones, & Jarvis, 2005), donde se observa que las poblaciones coinciden con los datos reportados por estos autores, observándose la presencia de estos insectos en sitios con rangos de precipitación que van desde los 200 hasta los 600mm. Pero si las condiciones no son favorables pueden alargar su diapausa hasta 18 meses, lo que puede provocar rompimientos en las poblaciones y crear problemas de sobrepoblación y ser catalogados como plagas, como lo han sido *B. nubilum* en años anteriores según lo reportado por (Rivera-García, 2011) donde se presentaban precipitaciones no mayores a las 125mm. Por lo que la zona de estudio abarca gran parte de los pastizales dentro de la zona de los valles, las cuales están

---

constituidas por un estrato herbáceo en el cual predominan las gramíneas (pastos), encontrándose entre ellos el zacate navajita (*Bouteloua gracilis*) y zacate banderilla (*B. curtipendola*) ambos importantes para la ganadería e identificados como componentes principales en las dietas de estos insectos (Gonzales-Elizondo *et al.*, 2007; Gurrola-Reyes, 2007). Por lo que el área de estudio puede proveer información necesaria para identificar el comportamiento poblacional de este insecto en el estado de Durango influenciado por diversas variables.



**Figura 4.-** Proyección de puntos de muestreo de chapulines de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* sobre la capa de precipitación media anual

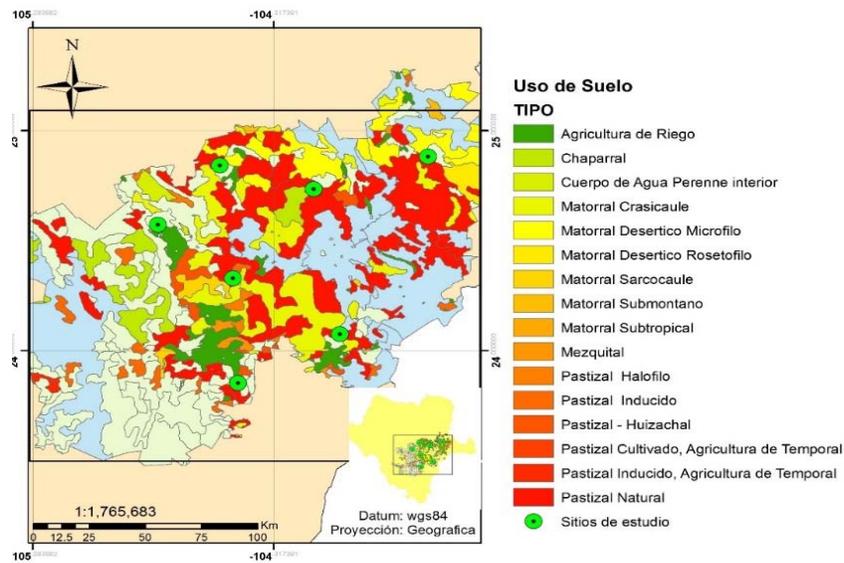
### 7.1.1.- Determinación de los sitios de estudio

En base a los 45 sitios encontrados se empleó la fórmula 1. Donde  $N=45$ ,  $p=0.35$ ,  $q=0.65$ ,  $d=0.2$ ,  $Z=1.96$ .

$$n = \frac{45 * 1.96^2 * 0.35 * 0.65}{0.2^2 (45 - 1) + 1.96^2 0.35 - 0.65}$$

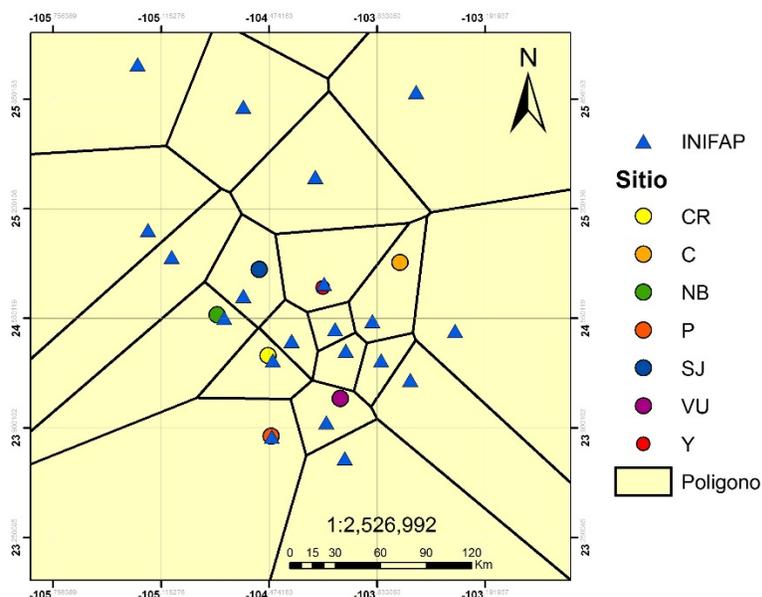
$$n = 7$$

A partir de la capa de uso de suelo y vegetación se observó que los puntos del muestreo caen principalmente en zonas identificadas como pastizales: abiertos, halófilos, natural, inducido, entre otros. Los cuales son característicos del pastizal mediano arbosufrutescente que se encuentra ampliamente distribuido a lo largo del estado, es la principal zona donde se sostiene la zona agrícola de temporal, cubre la mayor parte de los valles, como el del Guadiana, Llano grande, Nombre de Dios, Poanas, Peñon Blanco y otros. Este tipo de vegetación comprende los municipios de Durango, Canatlán, San Juan del Rio, Santiago Papasquiari, algunas porciones de Cuencame, Guadalupe Victoria, Poanas y nombre de Dios (COTECOCA., 1979). Por lo que al observar los puntos de muestreo y ver su mayor concentración en este tipo de vegetación se emplearon los puntos nombrados Villa Unión (VU, -104.053,24.072), Pino Suarez (P;-104.053, 24.852), Carlos Real (CR; -104.481, 24.389), Nicolás Bravo (NB, -104.783, 24.752), San Juan del Rio (SJ; -104.534, 24.841), Cuencame (C; -103.699, 24.881) y Yerbaniz (Y; -104.135, 24.732)(figura 5). Estos sitios presentaron mediciones de número de chapulines por metro cuadrado de 6.3 adultos (Anexo 1)promedios entre ambas especies, considerándose como un nivel de infestación ligero según lo reportado por Garza (2005) (Garza, 2005). Por lo que la combinación de densidades potencialmente importantes y el tipo de climas presentes justifican la selección de los siete sitios mencionados anteriormente.



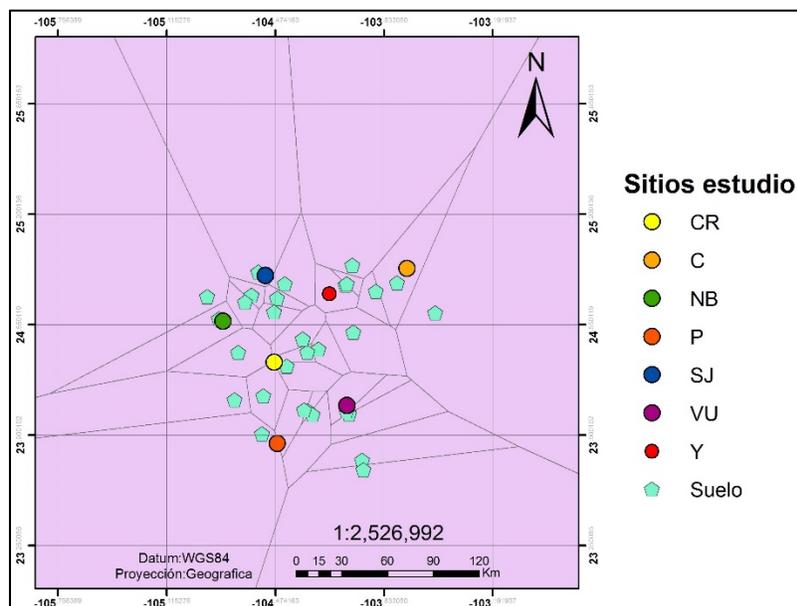
**Figura 5.-** Determinación de sitios de estudio proyectada sobre la carta de uso de suelo y basado en COTECOCA 1979

Se empleó la herramienta de creación de polígonos *Thiessen* (*ARcToolbox>Analystools>proximity>Create thiessen polygons*) del programa Arcmap versión 10.1 (Trial versión) para identificar el área de influencia de las redes agroclimáticas del INIFAP donde se empleó precipitación y temperatura como variables de influencia Figura 6.



**Figura 6.-** Área de influencia de estaciones agroclimáticas de INIFAP e identificación de sitios de estudio

Donde se observa la formación de 12 polígonos de influencia dentro del área de estudio, de esta manera se identificaron las estaciones climáticas de las cuales se emplearan para la captura de los datos de tipo climático. Se realizó el mismo procedimiento para determinar aquellos puntos que ayuden a obtener los datos correspondientes a las variables de suelo (*ARcToolbox>Analysistools>proximity>Create thyessen polygons*). Como se puede observar en la figura 7, la formación de los polígonos y su influencia sobre los sitios de estudio, identificándose de esta manera aquellos necesarios para los análisis de caracterización de sitios en base a estas variables.



**Figura 7.-** Área de influencia de los puntos de suelo y su cercanía a los sitios de estudio

## 7.2 Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables de suelo

El suelo determina una gran variedad de factores que involucran la presencia, supervivencia y comportamiento de los insectos, con ayuda de los trabajos realizados por Espino-Chairez (2013) y de las cartas de uso de suelo y tipo de suelo se pudo identificar de manera más precisa las variables involucradas en este estudio. En la tabla 3 se presentan las estadísticas descriptivas de los siete sitios analizados

**Tabla 3.-** Descripción de los siete sitios de estudio mostrando variables de suelo y densidad de chapulines

Sitio	Den	Tipo Suelo	Textura	% Arc	% Are	H	pH	Con Elec	MO
VU	9.2	Rendzima	Arc-are	0.47	0.17	65	6.55	0.183	1
P	4.2	Xerosol	Arc	0.6	0.17	125	7.32	0.289	0.5
CR	4.8	Vertisol	Arc-are	0.57	0.17	262	7.32	0.289	0.5
NB	5.2	Vertisol	Arc-are	0.57	0.2	96	7.63	0.201	1
SJ	7.2	Rendzima	Arc-are	0.67	0.17	67	7.06	0.186	1
C	4.5	Litosol	Arc-are	0.87	0.03	72	7.76	0.367	2
Y	9	Cheromezem	Arc-are	0.6	0.17	24	7.88	0.112	2

Den=densidad chapulines, Arc-are=Arcilloso arenoso, Arc=Arcilla, Are=Arena, H=Humedad acumulada, Con Elec=Conductividad eléctrica, MO=Materia orgánica

El factor del suelo es importante para el desarrollo de los chapulines, ya que en base al tipo de suelo, se favorece el crecimiento de cierto tipo de especies vegetales, los tipos de suelo presentes en los sitios de estudio como Vertisol, Rendzima son característicos de suelos con texturas Arcillosas y arcillo-arenosas como es el caso de los sitios de estudio, este tipo de textura favorece la retención de agua y por lo tanto es ideal para los chapulines en el proceso de ovoposición ya retienen humedad y así favorecen las condiciones de supervivencia a los huevos, como lo reporto Retana (2010) donde observó que las larvas de *Schistocerca gregaria* requieren de pocas cantidades disponibles de agua (20mm) para evitar problemas hídricos en su desarrollo además de no interferir en la disposición de agua para el crecimiento vegetal que servirá de sustento a las ninfas una vez hallan emergido, todo esto llevándose a cabo en suelos estrictamente Arcillosos y Arcilloso-Arenosos (Retana, 2000). Además de favorecer el control de la temperatura y el contenido de humedad el tipo de suelo arcilloso está directamente relacionado con la presencia de especies vegetales y la fauna que habita sobre ellos (Coudun & Gégout, 2007; Powell, Berg, Johnson, & Warland, 2007; Unsicker, Oswald, Köhler, & Weisser, 2008; B. Uvarov, 1977). En la fase de huevo de los chapulines durante su diapausa, la competencia por nutrientes y los recursos hídricos juega un papel importante, por lo que algunos

chapulines prefieren ovipositar en zonas con vegetación y otros en suelos desnudos, en este estudio se observa la presencia en zonas con vegetaciones ricas en pastos donde uno de estos es *Bouteloua gracilis* la cual no presenta signos de competencia por nutrientes, lo cual afectaría a los huevos durante su desarrollo (Coffin & Lauenroth, 1991) Una descripción más detallada sobre el tipo de vegetación de los sitios se presentara en la sección 7.4. Los sitios presentan valores promedio de pH de 7.36 considerándose suelos neutros, indicando por su rango (7.2-7.8) lo cual es significado de suelos orgánicos saturados de Calcio, este tipo de pH permite la disponibilidad de nutrientes tanto para las plantas como para los insectos .(Lucas & Davis, 1961; Raynaud & Leadley, 2004). Coincidiendo con los datos de pH se encuentran los valores de conductividad eléctrica (Con Elc=0.233) lo que sitúa a estos suelos como no salinos, según estudios realizados por Rong en 2006 la especie *Locusta migratoria manilensis* presentó preferencia por suelos principalmente arcillo-arenosos, produciendo mayor número de huevos por hembra, donde también era prevalente los suelos catalogados con poca salinidad de acuerdo a su conductividad eléctrica (Con Elec<0.200) (Rong, Dian-Mo, Bao-Yu, Zhe, & Dong-Li, 2006). De acuerdo a las características presentadas en los sitios de estudio, suelos arcillosos-arenosos con neutral y poca salinidad promueven la reproducción y posibles rompimientos poblacionales surgiendo en altas densidades en periodos en los cuales las condiciones lo permitan.

#### 7.2.1.- Prueba de normalidad y correlación de Pearson para variables de suelo

La interacción de dos o más variables pueden tener relación con el comportamiento de estos insectos a lo largo del estado de Durango, para determinar el tipo de prueba para buscar esta correlación se realizaran pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks debido a que nuestro tamaño de muestra es menor a 50 (Shapiro & Wilk, 1964). En la tabla se muestra los resultados de esta prueba.

**Tabla 4.-** Prueba de Normalidad para variables numéricas de los siete sitios de estudio

	Shapiro-Wilk		
	Valor	gl	Sig.
Densidad	.840	7	.100
Humedad	.814	7	.056
% arena	.863	7	.162
% arcilla	.598	7	.000
pH	.939	7	.631
Con Elec	.947	7	.705
MO	.819	7	.062

Con Elec=Conductividad eléctrica, gl=grados de libertad, sig= significancia

El programa estadístico nos arroja ambas pruebas de normalidad, pero como se mencionó anteriormente se tomará en cuenta la prueba de Shapiro-Wilks por el tamaño de muestra empleado, como se puede observar los valores de significancia ( $p < 0.05$ ) son mayores al nivel de significancia por lo que se considera según los criterios de la prueba que todas las variables de suelo de tipo numéricas presentan un comportamiento normal, por lo que la correlación entre las variables se determinará con una correlación de Pearson con excepción de la variable % arcilla, a la cual se le aplicara una transformación logarítmica para cumplir con este requisito de normalidad.

#### 7.2.1.1.-El análisis de correlación de Pearson

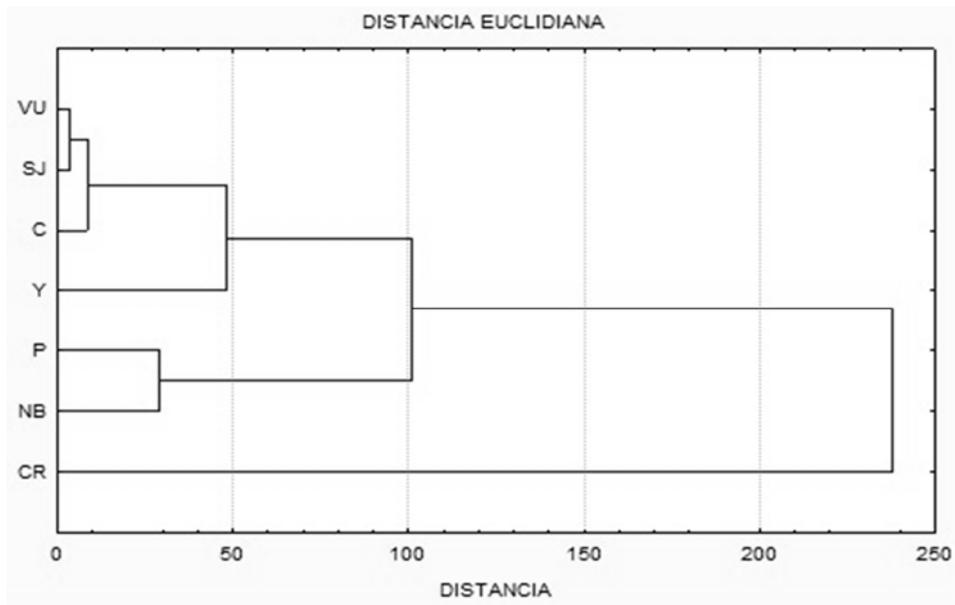
Los resultados de la correlación de Pearson se presentan en la tabla 5, la correlación entre la variable densidad de chapulines con respecto a conductividad eléctrica ( $R = -0.830, p = 0.021$ ) des la única que estadísticamente ( $p < 0.05$ ) es significativa, el signo negativo indica una relación inversa, lo que indicaría un aumento en la población y se relaciona con una pobre conductividad eléctrica, lo cual se definiría como una baja salinidad y por lo tanto una mejor absorción de nutrientes para los insectos y especies vegetales de mejor calidad en los sitios de estudio.

**Tabla 5.-** Análisis de correlación de Pearson para variables de suelo

		Densidad	Tipo Suelo	Textura	Humedad	% arena	% arcilla	pH	Con Elec	MO
Densidad	Pearson	1	-.099	-.432	-.581	-.450	.304	-	-.830*	.335
	Correlación							.35		
	Sig. (2-tailed)		.833	.334	.171	.311	.507	.43	.021	.463
Tipo Suelo	Pearson	-.099	1	-.211	-.095	.387	-.341	.90	.037	.673
	Correlación							2**		
	Sig. (2-tailed)	.833		.650	.839	.391	.454	.00	.937	.098
Textura	Pearson	-.432	-.211	1	.134	-.076	.124	-	.289	-.452
	Correlación							.03		
	Sig. (2-tailed)	.334	.650		.775	.872	.791	.93	.529	.308
Humedad	Pearson	-.581	-.095	.134	1	-.178	.153	-	.485	-.686
	Correlación							.09		
	Sig. (2-tailed)	.171	.839	.775		.702	.743	.83	.270	.089
% arena	Pearson	-.450	.387	-.076	-.178	1	-.868*	.54	.601	.562
	Correlación							2		
	Sig. (2-tailed)	.311	.391	.872	.702		.011	.20	.154	.189
% arcilla	Pearson	.304	-.341	.124	.153	-.868*	1	-	-.684	-.591
	Correlación							.31		
	Sig. (2-tailed)	.507	.454	.791	.743	.011		.49	.090	.162
pH	Pearson	-.355	.902**	-.039	-.099	.542	-.312	1	.136	.559
	Correlación									

	Sig. (2-tailed)	.435	.005	.935	.832	.208	.495		.771	.192
Con Elec	Pearson	-.830*	.037	.289	.485	.601	-.684	.136	1	-.131
	Correlación									
	Sig. (2-tailed)	.021	.937	.529	.270	.154	.090	.771		.780
MO	Pearson	.335	.673	-.452	-.686	.562	-.591	.559	-.131	1
	Correlación									
	Sig. (2-tailed)	.463	.098	.308	.089	.189	.162	.192	.780	

7.2.2.- Análisis de agrupamiento empleando las variables de suelo de los siete sitios  
De acuerdo a las estadísticas descriptivas y los análisis de correlación, los sitios de estudio pueden favorecer no solo la presencia de estas especies si no de posibles aumentos en sus poblaciones, se desarrolló un análisis de agrupamiento empleando distancias euclidianas para la formación de su dendograma y observar algún patrón de agrupamiento que no haya sido explicado por una interacción bi-variada si no por un conjunto de las mismas.



**Figura 8.-** Análisis de agrupamiento de los siete sitios de estudio empleando variables de suelo

En la figura 8 se puede observar la formación de tres grupos, uno característico es el subgrupo formado por las poblaciones de VU y de SJ, ya que fueron las poblaciones que presentaron valores más bajos en pH, además de compartir el mismo tipo de suelo, junto a la población de Y son los que presentan valores más altos de densidad poblacional de chapulines, debido a que los elementos en cada grupo se ubican espacialmente en sitios muy separados (Figura 5) el efecto de las variables de suelo no son suficientes para explicar estos comportamientos.

### 7.2.3.- Análisis de componentes principales empleando variables de suelo

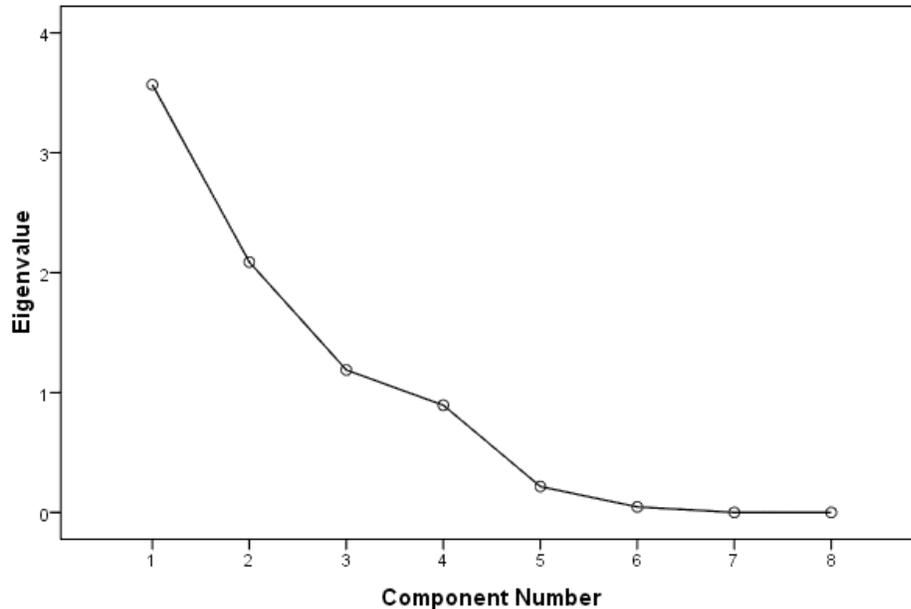
El agrupamiento demostró que el comportamiento no puede ser explicado por la correlación simple de dos variables involucradas en el estudio, por lo que con ayuda de un análisis de componentes principales se desea obtener aquellos factores que sean responsables de la mayor parte de la varianza y así poder identificar que variables participan y en qué medida dentro de estos factores.

**Tabla 6.-** Tabla de factores obtenidos por medio de análisis de componentes principales usando variables de suelo

Componente	Eigenvalues			Suma de cuadrados		
	Total	% de Varianza	% acumulado	Total	% de Varianza	% acumulado
1	3.568	44.597	44.597	3.568	44.597	44.597
2	2.088	26.100	70.697	2.088	26.100	70.697
3	1.188	14.848	85.545	1.188	14.848	85.545
4	.894	11.177	96.723			
5	.216	2.706	99.428			
6	.046	.572	100.000			
7	.000	.000	100.000			
8	.000	.000	100.000			

Se puede observar en la tabla 6, que existen tres factores que explican el 85% del total de la varianza, pero basándose en los *eigenvalues* mostrado por los dos primeros componentes se observa una gran diferencia entre los primeros dos y el tercero, además de la varianza explicada por cada uno de ellos, donde el primero explica el 44.5% del total de la varianza y el componente 2 el 26.1%, el tercero solo explica el

14.8%, para poder determinar el número de factores con mayor influencia en el estudio se observa el comportamiento de estos en la figura 9.



**Figura 9.-** Grafico de comportamiento de componentes con respecto a su *eigenvalue*

Se observa que en la figura 9, la línea conformada por los dos primeros componentes se rompe al iniciar el tercero, por lo que se puede concluir que el conjunto de dos componentes (factores) es suficiente para explicar el comportamiento de estas variables y su efecto en los sitios de estudio.

De acuerdo a esto se observa en la tabla 7, la matriz de componentes de los factores, donde se observan las variables que influyen en cada factor y el efecto que tienen dentro de ellos.

**Tabla 7.-** Matriz de componentes de los factores generados mediante análisis de componentes principales

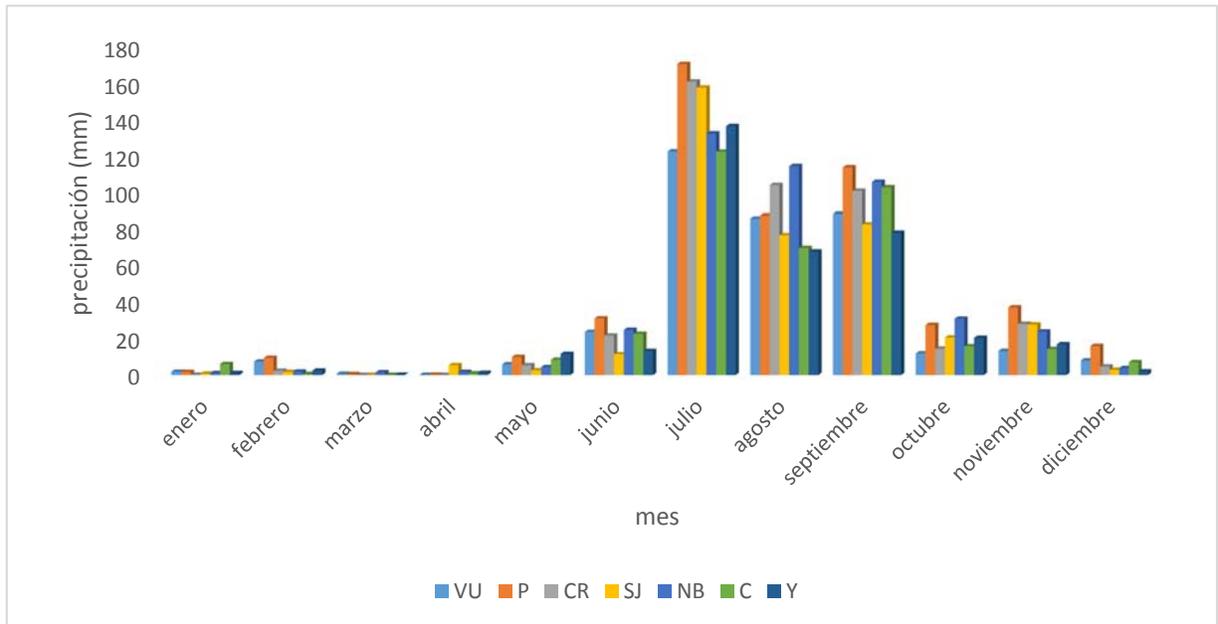
	1	2
Tipo Suelo	.768	-.184
Textura	-.271	.484
Humedad	-.348	.665
% arena	.844	.369
% arcilla	-.799	-.408
pH	.767	-.049
Conductividad Eléctrica	.322	.928
Materia Orgánica	.861	-.458

Dentro del primer factor se observa que las variables de % de arena y de Materia orgánica presentan valores altos de influencia dentro del mismo, y la variable de conductividad eléctrica es la variable más influyente en el segundo factor. Las variables de Materia orgánica y conductividad eléctrica representan intrínsecamente la calidad del suelo, ya que la variación de estas influyen en su capacidad de absorción de nutrientes, retención de humedad y crecimiento vegetal. La materia orgánica desarrolla un papel de importancia capital en la fertilidad, conservación y presencia de vida en los suelos ya que estos tienen gran afinidad por metales pesados provocando que el suelo actúe como almacén de los mismos para luego de esta forma transferirlos a la vegetación, afectando finalmente la conductividad eléctrica (Reuter & Perdue, 1977). Una mayor conductividad eléctrica representara un suelo con mayor salinidad lo que disminuye la fertilidad y la abundancia vegetal del mismo. En los siete sitios se ven influencias de estas variables, pero en cuestión de condiciones vegetales se discutirá en posteriores capítulos.

### 7.3.- Caracterización de los sitios de estudio a partir de variables climáticas

Con ayuda de las redes agroclimáticas el INIFAP se obtuvieron los datos para identificar aquellas variables que pudieran estar teniendo efectos sobre las poblaciones de chapulines en el estado de Durango, se tomaron datos de los años de colecta para identificar aquellos meses que se relacionaban más con el comportamiento de los insectos, ya que ausencia de precipitación como una

abundante temporada de la misma puede afectar la dinámica poblacional de las especies, en la tabla 8 se observa el comportamiento de las lluvias dentro de los siete sitios de estudio.



**Figura 10.-** Comportamiento de precipitaciones a lo largo el año de los siete sitios de estudio

Como se puede observar en la figura 10. Se presentan aumentos significativos en la precipitación a partir de los meses de junio y julio, considerándose prácticamente nulos durante los meses de diciembre hasta abril. Las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* emergen normalmente a finales de primavera, durante las primeras precipitaciones en los meses de mayo y junio (Borrór, 1998; Capinera, Scott, & Walker, 2004), se reportan periodos de hasta seis semanas para convertirse en adultos (Sibly & Monk, 1987; B. P. Uvarov, 1927), por lo que los muestreos se emplearan entre los meses de agosto y septiembre para evitar fluctuaciones muy fuertes en precipitación y encontrar los insectos adultos en una fase de maduración sexual.

Para realizar la caracterización de los sitios de estudio se emplearon los meses en los cuales se realizó el muestreo ya que la precipitación presenta comportamientos más irregulares que la temperatura, esto afecta el cálculo del índice de aridez (IA). En la

tabla 8, se muestra la estadística descriptiva de los siete sitios de estudio empleando las variables climáticas.

**Tabla 8.-** Estadística descriptiva de los sitios de estudio en base a sus variables climáticas

	Prec.	T. Med.	IA	VV	DV	Rad. G.	HR
VU	87.26	19.74	0.23	2.64	188.95	549.03	66.89
P	100.77	19.29	0.29	3.28	217.15	526.80	70.14
CR	102.57	20.04	0.18	5.15	234.60	512.94	64.30
NB	110.20	19.09	0.18	3.52	187.13	543.37	68.09
SJ	79.90	19.37	0.19	5.03	166.36	535.22	63.89
CR	86.40	19.63	0.16	7.14	175.51	530.75	58.30
Y	73.17	20.82	0.18	4.86	201.58	501.79	53.26
media	91.47	19.71	0.20	4.51	195.90	528.56	63.55
Desv. Est	13.37	0.58	0.05	1.51	23.79	16.59	5.91

Prec=Precipitación (mm agua), T.med= Temperatura media (°C), IA=Índice de aridez, VV=Velocidad viento (Km/h), DV=Dirección viento (orientación), Rad. G= Radiación (w/m<sup>2</sup>), HR=Humedad Relativa

Como se observa en la tabla 8, el índice de aridez es una variable obtenida a partir de la diferencia de temperaturas máximas y mínimas, y afectados por la precipitación, por lo que en los meses de diciembre a mayo donde las diferencias entre temperaturas máximas y mínimas es muy cercana y las precipitaciones son prácticamente escasas se tienen valores de índice de aridez muy altos, lo cual se ha relacionado con poca presencia de chapulines en otros estudios, como los realizados por Nath (2010), donde a valores de IA de 0.1 presentan la mayor cantidad de individuos presentes, en un estudio donde se realizaron colectas de diversas especies de chapulines en la zona de Darjeeling en Nepal (Nath et al., 2010), coincidiendo es ciertas características climáticas con respecto a los sitios de estudio, presentándose en Nepal precipitaciones promedio de 200mm de lluvia promedio al año, temperaturas entre los 10 y 27°C comparadas con las presentadas en la tabla 8 para los sitios de Durango. Por su parte Köhler (1999) demostró que al usar la temperatura máxima y mínima anual y la precipitación media anual no se encontró relación de este índice de aridez con respecto a las poblaciones de las especies *Gomphocerus rufus*, *Euthystira brachyptera*

y *Gomphocerus rufus* pero al usar índices de aridez de manera mensual de los meses en los cuales emergen los huevos (mayo) para identificar el número de ninfas y de los meses de julio-septiembre para identificar el número de adultos, lo cual da como resultado correlaciones positivas y estadísticamente significativas, aunque el usar este tipo de índices está en función de la especie y su relación con otros factores (Köhler, Perner, & Schumacher, 1999).

### 7.3.1 Análisis de varianza para identificar diferencia entre grupos

Con el objetivo de caracterizar los sitios de estudio, es necesario realizar un análisis de varianza ANOVA (tabla 9) para identificar si hay diferencia entre las diferentes poblaciones con respecto a las variables climáticas.

**Tabla 9.-** Análisis de Varianza para los siete sitios y sus variables climáticas

			Suma de cuadrados	df	Mediad e cuadrados	F	Sig.
PREC	Entre grupos	(Combinado)	6435.760	6	1072.627	.409	.868
	Termino lineal	Contraste	1881.362	1	1881.362	.717	.403
		Desviación	4554.398	5	910.880	.347	.880
	Dentro de grupos		91784.373	35	2622.411		
	Total		98220.133	41			
TEMP	Entre grupos	(Combinado)	12.203	6	2.034	1.223	.318
	Termino lineal	Contraste	2.291	1	2.291	1.378	.248
		Desviación	9.912	5	1.982	1.192	.333
	Dentro de grupos			35	1.663		
	Total			41			
IA	Entre grupos	(Combinado)	.076	6	.013	.330	.917
	Termino lineal	Contraste	.039	1	.039	1.009	.322
		Desviación	.037	5	.007	.194	.963
	Dentro de grupos			35	.038		
	Total			41			
VV	Entre grupos	(Combinado)	82.364	6	13.727	10.656	.000
	Termino lineal	Contraste	43.676	1	43.676	33.904	.000
		Desviación	38.688	5	7.738	6.006	.000
	Dentro de grupos			35	1.288		
	Total			41			

DV	Entre grupos	(Combinado)	20369.865	6	3394.977	.506	.799
	Termino lineal	Contraste	2766.728	1	2766.728	.413	.525
		Desviación	17603.136	5	3520.627	.525	.756
	Dentro de grupos			35	6703.914		
	Total			41			
RAD	Entre grupos	(Combinado)	9905.742	6	1650.957	.760	.606
	Termino lineal	Contraste	2665.886	1	2665.886	1.227	.276
		Desviación	7239.856	5	1447.971	.666	.651
	Dentro de grupos			35	2172.743		
	Total			41			
HR	Entre grupos	(Combinado)	1255.357	6	209.226	2.883	.022
	Termino lineal	Contraste	904.058	1	904.058	12.457	.001
		Desviación	351.299	5	70.260	.968	.451
	Dentro de grupos			35	72.574		
	Total			41			

Donde se observa que no existen diferencias significativas con respecto a las variables de precipitación, temperatura, índice de aridez, dirección del viento y Radiación, pero se encuentra diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en las variables de velocidad del viento y de Humedad Relativa. La velocidad del viento ha sido más estudiada para especies con patrones de migración y facultades para volar, donde usan la dirección y velocidad del viento para realizar dichas migraciones, dependiendo del tipo de ortóptero, la ocurrencia de estas velocidades, ya sean diurnas o nocturnas, por lo que ha falta de esta información es imposible justificar el uso de esta variable para entender su efecto sobre las poblaciones de chapulines en el estado de Durango. Se aplicó la prueba de tukey para identificar los distintos grupos en las variables (anexo 2) pero solo se muestra en la tabla 10, los representados para la variable de humedad relativa para identificar que poblaciones se agrupan de acuerdo a esta prueba.

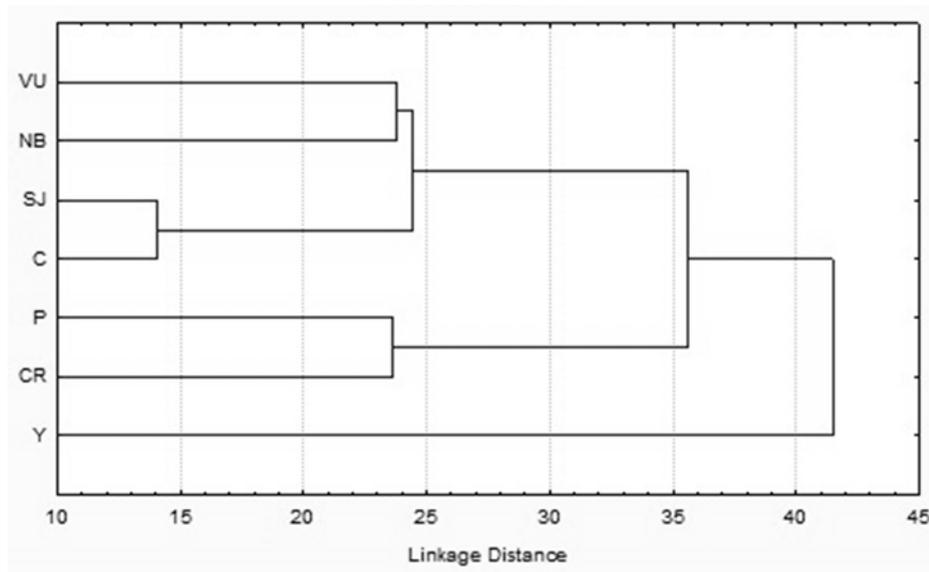
**Tabla 10.-** Prueba de tukey para la variable de Humedad relativa de los siete sitios de estudio

		N	Alfa = 0.05	
sitio			1	2
Tukey	Y	6	53.2600	
HSD <sup>a</sup>	C	6	58.3000	58.3000
	SJ	6	63.8867	63.8867
	CR	6	64.2950	64.2950
	VU	6	66.8850	66.8850
	NB	6	68.0917	68.0917
	P	6		70.1350
	Sig.			.065

Donde se pueden observar tres grupos, donde las poblaciones de P y Y forman grupos aislados y el resto de las poblaciones se agrupan dentro de un mismo conglomerado, cabe mencionar que esta variable es un efecto tanto de la temperatura, la precipitación, la radiación entre otras, por lo que la formación de estos grupos con respecto a esta variable no es necesariamente el factor que influya más en estos sitios, por lo que es necesario un agrupamiento con todas las variables y su correlación.

### 7.3.2.- Análisis de agrupamiento de los sitios de estudio empleando variables climáticas

Para poder observar el comportamiento que tienen todas las variables sobre el agrupamiento de los sitios se realizó un análisis de agrupamiento usando el programa Statistica 7 (figura 11), donde se puede observar que la única población que se aísla para formar un grupo es la de Y, datos que coinciden con el resultado de la prueba de tukey para la variable de humedad relativa.



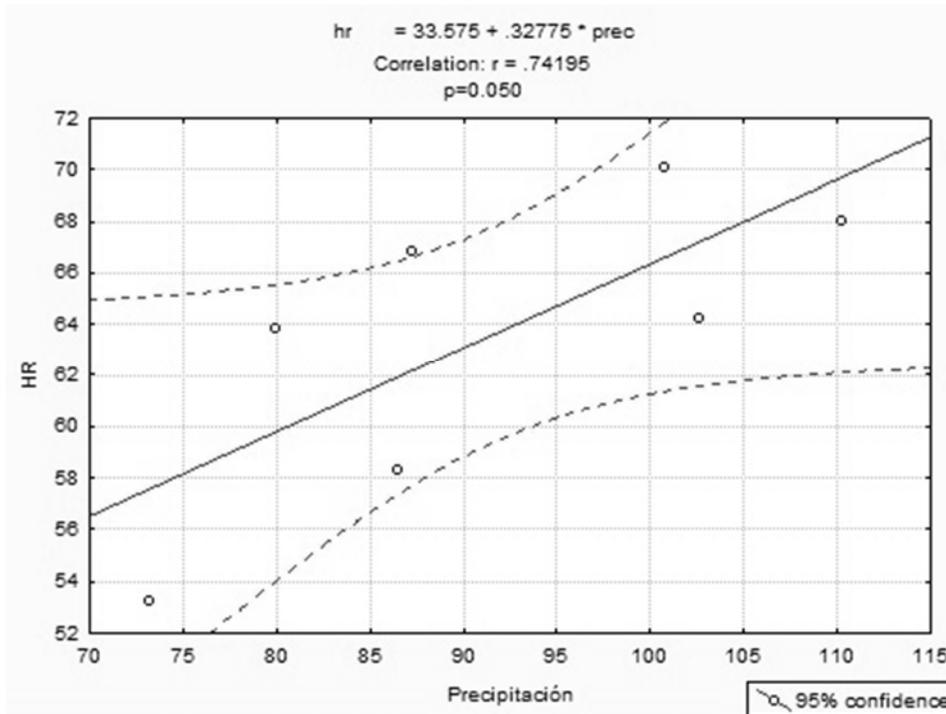
**Figura 11.-** Análisis de agrupamiento de los siete sitios de estudio empleando variables climáticas

Se puede observar la formación de cuatro grupos, donde VU y NB forman el primero, SJ y C forman el segundo grupo, el tercer grupo formado por P y CR y la población de Y formando un grupo aislado. Al observar el análisis de varianza y no encontrar diferencias estadísticamente significativas que expliquen con mayor claridad este agrupamiento, es importante realizar tanto un análisis de correlación de Pearson para identificar el grado de correlación entre las variables, su significancia y su efecto sobre este comportamiento, además de un análisis de componentes principales para identificar qué factores intervienen dentro de estos comportamientos y que variables están jugando un papel importante en los sitios de estudio en base a sus variables climáticas.

### 7.3.3.- Análisis de correlación de Pearson de variables climáticas

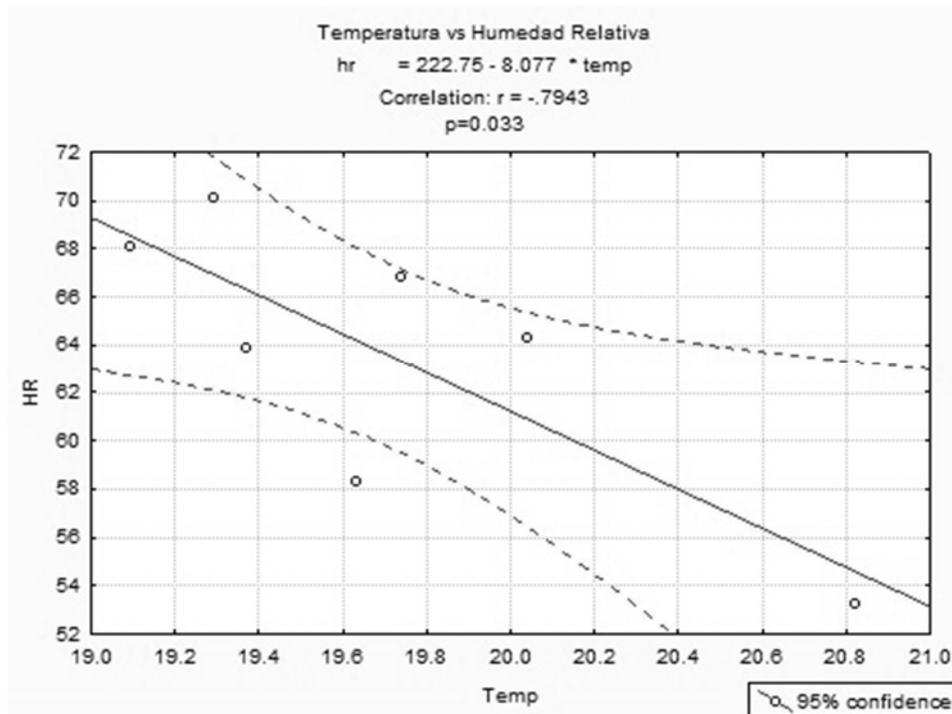
Se realizó el análisis de normalidad de las variables climáticas (Anexo 3), una vez identificado el comportamiento de las variables se realizó la correlación de Pearson ya que se observó un comportamiento normal de acuerdo a la prueba de Shapiro-Wilks (Anexo 3). Los valores de correlación y significancia de las variables climáticas se presentan en el anexo 4, en esta sección se muestran los gráficos de correlación de aquellas interacciones con índices de correlación estadísticamente significativos

( $p < 0.05$ ). En la figura se muestra la correlación presentada entre la variable Prec y la variable HR ( $r = 0.74$ ,  $p = 0.05$ ).



**Figura 12.-** Correlación de Pearson de las variables precipitación y Humedad Relativa

También se observó una correlación estadísticamente significativa entre las variables de HR y temp, aunque está presentando un comportamiento inverso como se muestra en la figura 13. No se encontró relación entre las variables climáticas y la densidad de los insectos, las correlaciones encontradas son el comportamiento normal que se espera por la naturaleza de estas variables



**Figura 13.-** Análisis de correlación de Pearson entre variables temp y HR

#### 7.3.4.- Análisis de componentes principales para las variables climáticas

Con ayuda del análisis de componentes principales se obtuvieron aquellos factores formados por la interacción y efecto de las variables climáticas, con lo que podemos observar en la tabla 11 el efecto de dichos factores sobre la varianza total.

**Tabla 11.-** Análisis de componentes principales empleando variables climáticas

Componente	Eigenvalues iniciales			Suma de la extracción de cuadrados		
	Total	% de varianza	% Acumulado %	Total	% de varianza	% Acumulado %
1	3.589	51.265	51.265	3.589	51.265	51.265
2	1.866	26.660	77.925	1.866	26.660	77.925
3	1.012	14.459	92.384	1.012	14.459	92.384
4	.392	5.596	97.980			
5	.093	1.326	99.306			
6	.049	.694	100.000			
7	.000	.000	100.000			

Como se puede observar en la tabla 11, dos de los factores obtenidos aportan el 77.9% de la varianza total del estudio, por lo que mediante el mismo programa obtuvimos la matriz de componentes (tabla 12) donde se agrupan las variables involucradas en cada factor y el efecto o influencia que tienen dentro de ellos.

**Tabla 12.-** Matriz de componentes de las variables climáticas

	Componente		
	1	2	3
HR	.981	.074	.076
Temperatura	-.817	.451	-.243
Radiación	.718	-.631	-.111
Precipitación	.715	.246	.630
Velocidad Viento	-.712	-.313	.482
Índice de aridez	.649	.434	-.491
Dirección Viento	.072	.955	.255

Se puede observar que dentro del primer componente la HR (0.981) es la variable que explica en mayor proporción la varianza del primer componente, y la variable de Dirección del Viento (0.955), se empleó una normalización de las variables empleando tres componentes los cuales explican el 92.4% de la varianza total. Empleando la Varianza máxima como factor de rotación, usando seis iteraciones y proponiendo un valor mínimo de 0.6 en aportación de las variables, esta rotación de componentes se muestra en la tabla 13.

**Tabla 13.-** Matriz de componentes rotados de las variables climáticas

	Componente		
	1	2	3
Precipitación	.965		
Humedad Relativa	.747		
temperatura	-.714		.624
índice aridez		.910	
Velocidad Viento		-.895	
Dirección Viento			.909
Radiación			-.840

Como se muestra en la tabla 13, la normalización de los componentes muestran que la variable de precipitación ahora tiene mayor efecto sobre el primer componente (0.965), y la variable del índice de aridez se presenta como el de mayor influencia en el segundo (0.910), la temperatura y la dirección del viento conforman la mayor influencia del tercer componente. La temperatura puede tener efectos sobre aquellas especies que presentan polimorfismos en el color, como el que presentan las hembras de *B. nubilum* ya que estudios realizados en la especie *Atractomorpha lata* la cual presenta ciertos comportamientos con respecto a su coloración entre machos y hembras influenciados principalmente por condiciones ambientales, la única variable que tuvo efectos sobre la coloración fue la temperatura donde el color café más oscuro se presentó en temperaturas mayores (Tanaka, 2008). Otro estudio es el llevado a cabo sobre *Schistocerca americana* el cual reportó diferencia en color en sus ninfas de acuerdo a diferentes rangos de temperatura. Estos efectos del clima pueden influenciar un efecto sobre la selección natural de estos, ya que en muchos es un patrón de defensa contra depredadores o para adaptarse a ciertas condiciones ambientales (Chapman & Joern, 1990; Harris, McQuillan, & Hughes, 2012; Tanaka, 2008). Se ha reportado que en condiciones normales de precipitación, la temperatura afecta el tiempo en el cual los huevos emergen afectando posteriormente a su desarrollo ya que no encontraran condiciones favorables de vegetación (Tu et al.,

2014). El efecto tanto de la variable precipitación como el índice de aridez están mayormente relacionados con las condiciones vegetales, la cual afectara indirectamente el comportamiento y la estructura poblacional los chapulines de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus*.

#### 7.4.- Caracterización de los sitios de estudio empleando variables de vegetación de los sitios

En la tabla 14 se muestra una caracterización de los sitios en base a la cobertura basal así como la presencia de las cuatro especies vegetales con mayor presencia en los sitios. Observándose una relación entre el número identificado de especies vegetales (8 y 12) de acuerdo con las líneas canfield en los siete sitios, los sitios comparten ciertas características de vegetación entre las más importantes se encuentra la presencia de *B. gracilis* presente en todos los sitios como uno de los componentes mayoritarios constituyendo el 19% en promedio de la densidad total de cada sitio.

**Tabla 14.-** Caracterización de sitios de estudio mostrando número de especies y sus coberturas y especies más abundantes

Sitio	n	Cobertura (%)		Veg	Suelo desnudo (%)	A. <i>adscensionis</i>	B. <i>curtipendula</i>	B. <i>gracilis</i>	C. <i>virgata</i>
		Pastos	hierbas						
VU	9	55	11	PMA	34	0	0	0.3	0.04
P	11	53	14	PMA	33	0.15	0	0.18	0.14
				PHA					
CR	9	53	11	PMA	36	0	0.01	0.17	0.28
				MME					
NB	12	50	11	MME	39	0.24	0.03	0.09	0
				MME					
SJ	9	54	6	MME	40	0.21	0	0.16	0
				MME					
C	8	28	26	PMA	46	0	0.04	0.23	0
				PMA					
Y	10	56	5	PMA	39	0.04	0.02	0.2	0.28
media	10	49	13		38	0.09	0.04	0.19	0.10

PMA=Pastizal mediano arbosurfrutescente, PHA= Pastizal mediano halófilo, MME=Matorral mediano

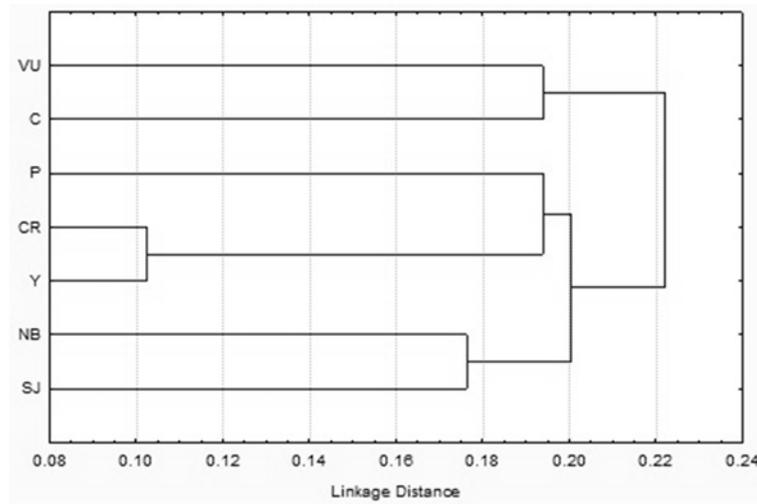
La presencia de la especie *B. gracilis* es indicador de un pastizal de buena calidad y al estar acompañado aunque en menor proporción por la especie *B. curtipendula* en las

poblaciones de CR, NB, C y Y indica que no existe disturbio en estos sitios. Una de las especies vegetales encontradas en estas poblaciones es *Cholirs virgata* una gramínea de baja calidad forrajera presentándose en densidades altas en los sitios de P, Y y CR. La presencia de esta especie vegetal puede estar relacionada con el sobre pastoreo además del cambio de uso de suelo de estos sitios lo cual podría indicar señales de disturbio. Cabe mencionar que la presencia de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* se encuentran en áreas del pastizal arbosufrutescente, el cual se encuentra ampliamente extendido en la región central y sur del Estado, zona que soporta la mayor cantidad de la agricultura de temporal de la entidad, estos tipos de vegetaciones cubren la mayor parte de los valles de Cacaria, Guadiana, Llano Grande y de Poanas. Este tipo de vegetaciones son ideales para la presencia y propagación de estas especies de chapulines, según estudios realizados por Pfadt (1994) *B. nubilum* puede habitar varios tipos de pastizal, incluyendo praderas mixtas, pastizales cortos y praderas desérticas, mientras que *M. lakinus* también presenta por zonas de pastizales con características más arbustivas (R. E. Pfadt, 1994).

La frecuencia de las especies vegetales puede ejercer cierto nivel de influencia sobre el comportamiento de los chapulines, ya que si especies como *B. gracilis* se encuentran en frecuencias altas como en los sitios analizados, estas estarán a mayor disposición de los insectos, creando competencia directa con el ganado y ocasionando pérdidas económicas, pero si por alguna razón estas especies bajan su frecuencia los insectos deberán comportarse y adaptarse a nuevos alimentos.

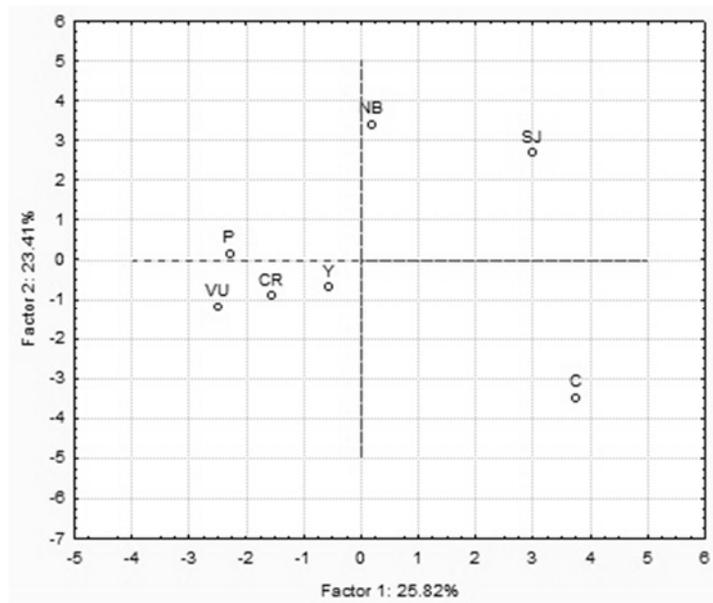
#### 7.4.1 Análisis de agrupamiento empelando las frecuencias vegetales de los sitios

En base a las frecuencias vegetales se construyó un dendograma con ayuda del programa PAST para poder identificar algún agrupamiento de los sitios con respecto a esta variable



**Figura 14.-** Análisis de agrupamiento para los sitios empleando frecuencias vegetales

Como se puede observar en la figura 14 las poblaciones que presentan mayores frecuencias de *C. virgata* indicadora de un área disturbada se agrupan en un mismo clado (P, CR, Y). Empleando del mismo modo las frecuencias vegetales se realizó un análisis de agrupamiento empleando la técnica de componentes principales, en la figura 15 se observa el agrupamiento similar al presentado en la figura 14,



**Figura 15.-** Análisis de componentes principales empleando frecuencias vegetales

Se observa en la figura 15 que los dos factores principales formados solo explican el 49.23% de la varianza total del análisis usando la variable de frecuencias vegetales por lo que no se recomienda usarlos en un estudio de correlación.

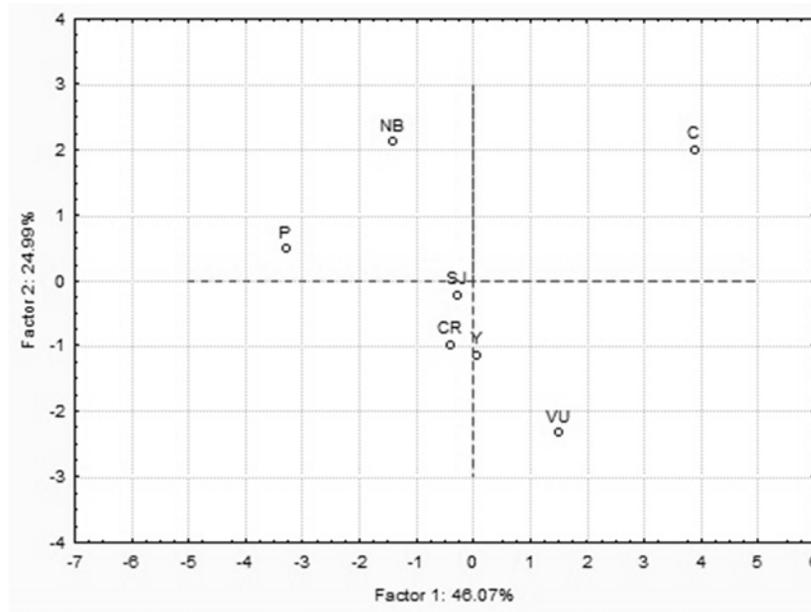
#### 7.4.2.- Análisis de diversidad de los sitios

Para poder relacionar el comportamiento genético de estas especies se necesitaran los valores de diversidad de los sitios como el índice de Shannon, el índice de Simpson y el de dominancia como se empleó en los trabajos de Essl (2012) (Essl & Dirnböck, 2012). En la tabla se presenta un resumen del análisis de diversidad de los sitios basado en las tablas de frecuencias vegetales.

**Tabla 15.-** Análisis de la diversidad vegetal de los sitios de estudio

Sitio	Dominancia_D	Simpson_1-D	Shannon_H
VU	0,3023	0,6977	1,51
P	0,1902	0,8098	1,923
CR	0,2466	0,7534	1,624
NB	0,2537	0,7463	1,767
SJ	0,2609	0,7391	1,564
C	0,2868	0,7132	1,525
Y	0,2688	0,7312	1,56

Se puede observar que los valores de Shannon indica que las poblaciones se presentan de una manera equitativa, y por lo que los valores de dominancia son relativamente bajos, tanto para D como para el índice de Simpson, entonces la presencia de alguna especie en particular no es suficiente para explicar el comportamiento de las especies de chapulines, en la figura se observa el agrupamiento de los sitios utilizando el análisis de componentes principales usando los índices de diversidad y las frecuencias de cobertura y suelo desnudo como variables.



**Figura 16.-** Análisis de componentes principales usando índices de diversidad

Como se puede observar en la figura 16, los factores obtenidos ahora responden al 71.1% de la varianza total del análisis, siendo las variables de índice de Shannon (0.849) y Simpson (0.854) las variables que más aportan en el factor 1, y la variable de cobertura de pastos (0.817) la que más influye en el factor 2.

En base a los análisis de agrupamiento de las variables de frecuencia vegetal y de índices de diversidad se pueden observar tres grupos. Coincidiendo solamente en la separación de la población de C, esta se localiza en la zona semi desértica del Estado, y fue la que presento menor cantidad de especies vegetales y una densidad menor de pastos (26%).

#### 7.5.- Captura e identificación de chapulines de la especie *M. lakinus* y *B. nubilum*

Se recolectaron 96 individuos de las especies *Boopedon nubilum* y 88 de la especie *Melanoplus lakinus* de los diferentes sitios de estudio, las especies fueron descritas por sus principales características morfológicas que las hacía fácil identificar en el campo, toda la información complementaria para su plena identificación se basó en las guías ya mencionadas de Capinera (1982;2004) y Pfadt (1994)(Capinera et al., 2004; Capinera & Sechrist, 1982; R. E. Pfadt, 1994).

### 7.5.1.- *Boopedon nubilum*

Se identificaron machos de color negro y las hembras se observaron en color café e incluso negro como se puede observar en la figura 17, las hembras presentaron longitudes mayores que los machos, estas especies se localizaron principalmente en pastizales mostrando una preferencia por especies graminícolas, coincidiendo con las descripciones hechas por (E. R. García, 2006b; Rivera-García, 2011).



Figura 17.- Derecha: hembras *B. nubilum*, izquierda: machos *B. nubilum*

### 7.5.2.- *Melanoplus lakinus*

Esta especie presentó longitudes de 17.5-19mm en machos y de 19-23mm en hembras, siendo cafés con ciertas marcas claras, alas cortas y una línea característica en su tibia anterior de color azul y rasgos amarillos (figura 18), se encontró en sitios donde se encuentran mezclas de vegetación herbicola y arbustiva, coincidiendo con su descripción hecha por García (2006) (E. R. García, 2006b).



**Figura 18.-** Hembra de la especie *M. lakinus*

#### 7.6.- Comparación de los métodos de extracción de ADN de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus*

Ambos métodos de extracción fueron reproducibles en el total de las muestras analizadas, el tiempo de extracción varió de 3 horas promedio para el método de CTAB y de 4 horas para el método de SDS. Para determinar si existe diferencia entre los distintos métodos evaluados se empleó una prueba t para muestras independientes. En la tabla se puede observar la prueba de Levene para igualdad de varianzas, así como la significancia de la prueba y sus estadísticas descriptivas.

**Tabla 16.-** Prueba de igualdad de varianzas y comparación de muestras independientes de los métodos de extracción

	Método de Levene		t-test igualdad de medias			Descriptivas			
	F	Sig.	t	df	Sig.	Método	N	media	des. Est
Pureza (260/280)	.39	.53	5.3	78	.00	sds	40	1.82	.30
						ctab	40	1.41	.36
Cantidad (ng/ $\mu$ L)	1.00	.32	-2.6	78	.01	sds	40	247.38	230.61
						ctab	40	402.61	302.26

Como se puede observar en la tabla 16, de acuerdo a la prueba de Levene las dos variables presentan homocedasticidad ( $\text{sig} > 0.05$ ). El análisis de medias para muestras

independientes mostró que existe diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los distintos métodos para ambas variables, como se puede observar la pureza del ADN del método de SDS (1.82) presentó valores mayores a los del método por CTAB (1.41) esto debido al uso de proteinasa K en el método de SDS favoreciendo la inactivación de las nucleasas lo que evitó la degradación de los ácidos nucleicos además de ayudar a la desnaturalización de proteínas presentes y por lo tanto la obtención de ADN de mejor calidad (Crowe et al., 1991). La pureza obtenida con las muestras de *B. nubilum* y *M. lakinus* presentaron en promedio (1.82) valores mayores por medio de este protocolo a los reportados por Aljabani (1997) (1.7) lo cual se pudo deber al aumento en el tiempo de incubación que duró de 2 a 3 horas a 65°C.

En cuanto a la cantidad de ADN se pudo extraer mayor cantidad por medio del método CTAB (402.6ng/μL) en comparación del método de SDS (247.3 ng/μL), ya que al usar cloroformo en el método de CTAB se forma una división de fases, permitiendo separar exactamente la solución acuosa de la solución orgánica, recuperando en promedio 500 μL usando pipetas Pasteur, mientras que en el protocolo de SDS no se forma tal división de fases.

#### 7.6.1.- Integridad y pureza de ADN por electroforesis

La integridad del ADN se visualizó en geles de agarosa al 1% en la figura se observa una mayor degradación de las muestras de ADN obtenidas por el método de CTAB, en las cuales se puede ver un barrido o *Background* que pueden indicar la presencia de endo nucleasas, algunas proteínas e incluso carbohidratos, en las muestras obtenidas por el método de SDS se observa en la parte superior ADN de gran intensidad sin barrido y presencia de residuos al final de los carriles, lo cual podrían ser restos de ARN

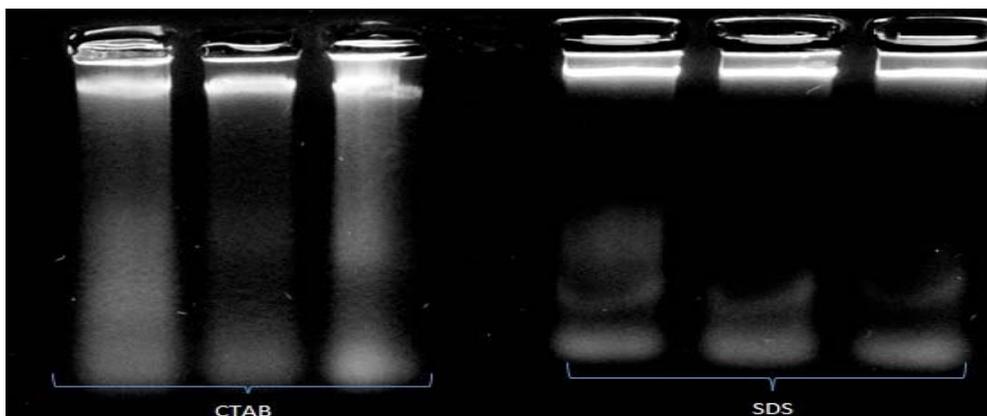


Figura 19.- Visualización de integridad de ADN de muestras de *B. nubilum* mediante dos protocolos de extracción de ADN

#### 7.7.- Identificación de las especies por medio del gen COI

A partir de una muestra de chapulines caracterizados morfológicamente como *Boopedon nubilum*, se construyó una biblioteca de germoplasma para el análisis de la estructura poblacional y la filogenia molecular de esta especie.

Se generaron cebadores de PCR universales para el orden ortóptero como se describió en la metodología. A partir de secuencias relacionadas de ortópteros como *Boopedon faviventris*, *Melanoplus marshalli*, *M. pinicola*, y *Gomphocerippus rufus*. La región blanco cubre aproximadamente 1200 pb y la mayor parte de la región codificante de este gene, incluyendo el dominio catalítico hemo (resultados no mostrados).

La localización de los cebadores está marcada en nucleótido 90-116 pb para el forward y 1182-1207 pb para el reverse de la secuencia relacionada de *Boopedon flaviventris* (No. accesión AF229011). La secuencia final de los cebadores quedo como sigue:

*For*to-CO1:5´TTACCACCATCACTAACCCTTTTACTT3´

*Ror*to-CO1:5´ATTATTCTTTCTCATAAAATTTAAAT3´.

Los diferentes productos de PCR obtenidos fueron separados utilizando la técnica de SSCP para diferenciar a través de su polimorfismo los diferentes alelos del gene CO1 presentes en la población. A partir de las bandas (productos de PCR) purificados de los geles de agarosa y acrilamida, se procedió a realizar la secuenciación directa como se describió en la metodología. Las bandas obtenidas estuvieron de acuerdo al tamaño

esperado, y el reporte BLASTA indicó que se trata del gen CO1 (datos no mostrados). La longitud de la secuencia obtenida es consistente con los resultados del gene CO1 de *Gastrimargus marmoratus* (1542pb) y *Oedaleus asiaticus* (1539pb) (Ma *et al.*, 2009).

A partir de los productos de PCR y sus secuencias de COI se obtuvo el dendograma (figura 20) donde se relacionaron las secuencias obtenidas con otras especies estrechamente relacionadas. Esta figura permite observar que existen al menos 4 haplotipos diferentes del gene CO1 para la especie *Boopedon nubilum*, obtenidos de las muestras 2, 4, 10 y 11. Aunque el número mínimo de alelos presentes del gene CO1 en *Boopedon nubilum* aún permanece por ser investigado. También es posible identificar un clado específico para estos alelos, sugiriendo la diversificación evolutiva de esta especie con respecto a *B. faviventris* y especies de *Melanoplus* spp. La presencia de diversos haplotipos para el gene CO1 en especies relacionadas a especie *Boopedon nubilum* ha sido confirmado previamente por Lui (2010). De igual forma, Trewick (2008) identificó varios haplotipos únicos y región-específicos para el gene CO1 en *Sigauss australis*.

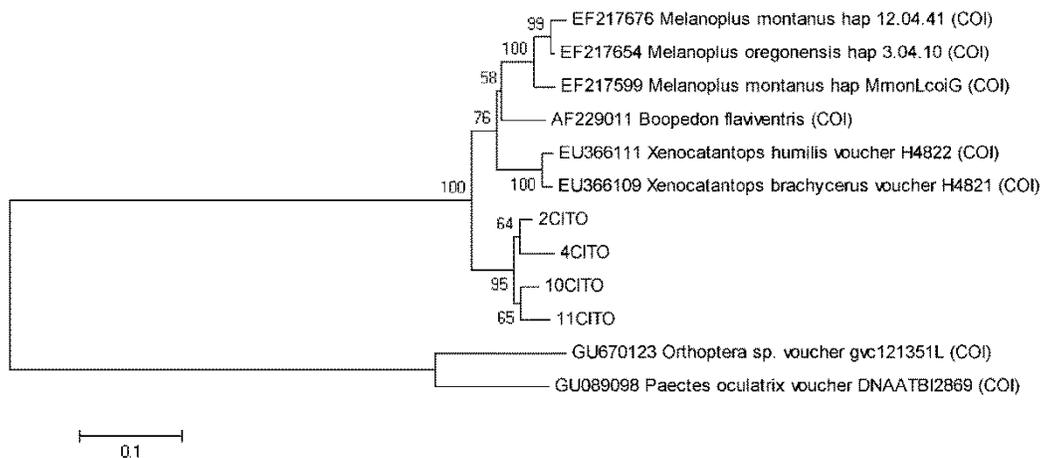


Figura 20.- Árbol filogenético utilizando el algoritmo de mínima evolución mostrando la localización de los haplotipos del gene CO1 para *Boopedon nubilum* (xCITOs) en relación a las especies cercanas *Boopedon faviventris*, *Melanoplus marshalli*, *M. pinicola*, y otros

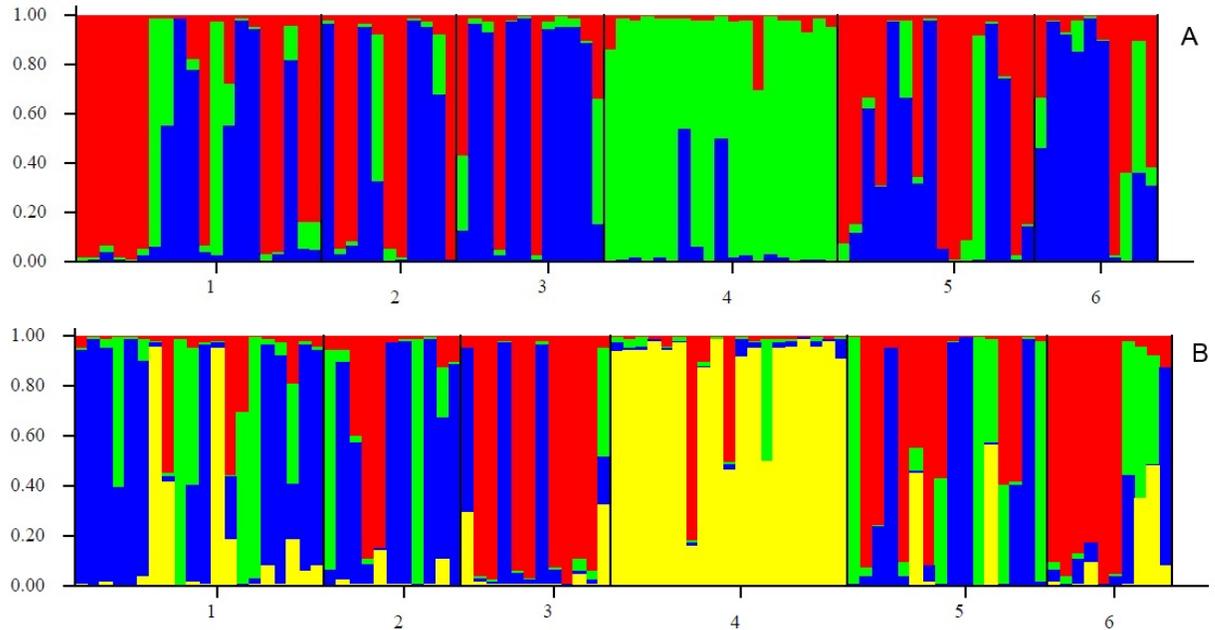
## 7.8.- Estudios de estructura genética y variabilidad de las especies *Boopedon nubilum* y *Melanoplus lakinus* de poblaciones del Estado de Durango, usando AFLPs

Se lograron analizar 88 de los 96 individuos de la especie *B. nubilum*, repartidos en seis poblaciones, obteniendo 138 bandas (71-596 pb), de las cuales un 47 al 48% resultaron ser polimórficas. Por su parte el 100% de los individuos de la especie *M. lakinus* (88) fueron analizados, obteniendo un total de 284 bandas (78-585 pb), de las cuales el 42.68% fueron polimórficas. El porcentaje de Loci polimórficos en el presente trabajo fue mayor que los obtenidos por Sword (2005) empleando las mismas combinaciones de cebadores con +4 en el número de bases extras, Sword reportó 37% de Loci polimórficos como porcentaje más alto usando la combinación (EcoRI+CTCC, TruI+CAAT), mientras que la combinación (EcoRI+CTCC, TruI+CCTG) en el presente trabajo presentó los porcentajes antes mencionados para cada especie.

### 7.8.1.- Análisis de la estructura genética y variabilidad de las poblaciones de la especie *Boopedon nubilum* empleando AFLPs

De acuerdo a la prueba de Mantel no existe relación entre la distancia geográfica con respecto a la distancia genética ( $R=0.04$ ,  $p=0.425$ ) por lo que el aislamiento por distancia no tiene un efecto sobre las poblaciones de *B. nubilum* para el área estudiada. En base a las frecuencias alélicas se determinó su estructura poblacional, mediante un análisis de agrupamiento utilizando el programa STRUCTURE 2.3.4, se consideraron  $K=3,4,5$ . El número de clusters se determinó en base a los resultados de los análisis de agrupamiento presentado en las figuras 8, 11 y 14 en las que se usaron las variables estudiadas, ya que el número de grupos varía de 3 a 5. De acuerdo al programa STRUCTURE considerando 4000 repeticiones, mostró que el valor de  $K=3$  es el que presenta mayor valor de probabilidad de agrupamiento ( $\ln \text{likelihood}=4867$ ). De acuerdo a los estadísticos de  $F$  de Wright de  $F_{st}=0.3360$  se puede observar una gran diferencia aparente entre las frecuencias alélicas entre las poblaciones, este valor de diversidad entre poblaciones representa un valor alto para ciertos Orthopteros, como es el caso del estudio de (Klappert, Butlin, & Reinhold, 2007) donde la *Chorthippus biguttulus* presentó un valor de  $F_{st}=0.052$ , indicando que las poblaciones de esta especie en Alemania se comportan de una manera uniforme, teniendo distancia entre ellos de 50km, cabe mencionar que existen casi 200km de distancia

entre las poblaciones más alejadas de este estudio lo que evitaría el flujo genético a un grado mayor, teniendo esto como consecuencia una separación de las poblaciones del presente estudio. Estudios donde se presentaban distancias mayores entre las poblaciones presentan valores similares a los obtenidos en el presente estudio ( $F_{st}=0.3360$ ) como los presentados por (Tao Li et al., 2010) donde obtuvieron valores de  $F_{st}=0.412$  entre las poblaciones más cercanas (100km distancia) y hasta  $F_{st}=0.765$  en las más alejadas (alrededor de 500km). De acuerdo al análisis se obtuvo que existe una heterocigosidad esperada entre los clusters de  $H=0.097$  en promedio. En la figura se muestra el agrupamiento de los subgrupos formados por el programa STRUCTURE EMPLEANDO  $k=3$  Y  $k=4$  para observar que no se identifican mayores diferencias, de esta manera se puede estimar el grado de estructura genética que presentan las poblaciones de *B. nubilum* en el Estado de Durango



**Figura 21.-** Estructura genética estimada de *B. nubilum* para  $K=3$ (A) y  $K=4$ (B) obtenida con el programa STRUCTURE. Cada individuo es presentado por una barra y cada cluster por un color, poblaciones por números (1:Y,2:C,3:P,4:VU,5:CR,6:SJ)

Como se puede observar en la figura 21, las poblaciones de *B. nubilum* si presentan estructura genética debido a que las poblaciones presentan un intercambio genético importante, es importante observar que la población 4:VU, es la que presenta menos variabilidad dentro de la misma, en las demás poblaciones los individuos comparten ciertos atributos (frecuencias alélicas) entre clusters. El color verde (figura 21 (A)) corresponde al cluster 1 donde podemos observar se concentra mayormente en la población 4 (VU). Debido a que la prueba de Mantel no mostró relación entre la distancia y la diversidad genética se pudo considerar otro tipo de variables que afecten la poca diversidad presente en la población 4:VU. De acuerdo a los valores de  $F_{st}$  se calculó el flujo genético de cada grupo, el cluster 1 (verde) presentó un valor de  $F_{st}=0.4136$ , de manera indirecta se estima que el flujo genético entre los demás grupos es de  $N_m=0.35$ , comparado con el cluster 3 (azul figura 21 A) presentó un valor de  $F_{st}=0.2319$ , y su  $N_m$  calculado es de  $N_m=0.82$ . Esto nos indica que las frecuencias alélicas del grupo 3 donde se concentra la mayor cantidad de los individuos de la población VU (4) están sufriendo por algún tipo de barrera natural o antropológica, se observó en general que las poblaciones de *B. nubilum* presentan gran flujo genético, con la ya mencionada situación localizada en la zona donde se encuentra la población de VU.

7.8.2.- Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para determinar diferencias entre poblaciones de *Boopedon nubilum*

Para determinar si el valor de  $F_{st}$  (0.3360) presentado para la especie *B. nubilum* es estadísticamente significativo se realizó un AMOVA. En la tabla se observan los datos obtenidos de dicho análisis

**Tabla 17.-** Análisis molecular de varianza (AMOVA) de poblaciones de *B. nubilum* basados en datos de AFLPs

Fuente Variación	Suma de cuadrados	gl	Varianza de componentes	p (sig)	Porcentaje de variación
Entre Poblaciones	74.9	5	14.9	0.00	6.0
Dentro Poblaciones	637.8	82	7.7	0.00	93.1
Total	712.7	87	8.1		100

Como se puede observar en la tabla 17, existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las poblaciones, aunque la estructura genética de *B. nubilum* solo está repartida en un 6% entre grupos, por lo que la máxima variabilidad se encuentra dentro de las mismas poblaciones con un 93.1%, esto nos permite identificar que no existe ningún tipo de restricción en el apareamiento dentro de las poblaciones y el intercambio genético puede favorecer la variabilidad de la especie y tener problemas de segregación o pérdida de la identidad genética de *B. nubilum* a lo largo del estado de Durango.

#### 7.8.3- Análisis descriptivo de las poblaciones de *B. nubilum* mediante variables genéticas

Para identificar que efecto tiene las frecuencias alélicas en el agrupamiento de las poblaciones se determinaran su niveles de diversidad ( $H_e$ ,  $H_s$ ,  $N_a$ ,  $N_e$ ) así como sus distancias genéticas para identificar que poblaciones son diferentes o presentan patrones diferentes.

En la tabla 18 se presentan los valores obtenidos a partir de las frecuencias alélicas

**Tabla 18.-** Parámetros de la genética poblacional de seis poblaciones de *B. nubilum* analizados con AFLPs

Sitio	He	Nei	Na	Ne
CR	0.10 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	1.49 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>
SJ	0.09 <sup>ab</sup>	0.09 <sup>ab</sup>	1.47 <sup>a</sup>	1.13 <sup>a</sup>
Y	0.08 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	1.42 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>
P	0.08 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	1.39 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>
C	0.08 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	1.37 <sup>a</sup>	1.10 <sup>a</sup>
VU	0.08 <sup>b</sup>	0.08 <sup>b</sup>	1.36 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>

He.- Diversidad genética, Nei=índice de nei, PIC, índice de loci polimorficos, Na=Num de alelos, Ne=Numero efectivo de alelos. Valores con letras distintas muestran diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) (Wilcoxon,  $p = 0.033$ )

El análisis no paramétrico de Wilcoxon ( $p = 0.033$ ) indicó que existen diferencias entre las poblaciones, de acuerdo a esto las poblaciones presentan el mismo comportamiento de diversidad al emplear las variables de Heterocigosidad esperada, índice de Nei y el contenido de Loci polimórficos. La población de CR es la que presenta el mayor nivel de variabilidad ( $He = 0.10$  y  $Nei = 0.11$ ), esta población se localiza en el centro del área de estudio, favoreciendo esto su conexión entre todas los sitios, la localidad de VU presento los valores más bajos ( $He = 0.08$  y  $Nei = 0.08$ ), coincidiendo con los resultados obtenidos de la estructura genética, donde la población de VU en la figura 21 mostraba un intercambio genético muy bajo con respecto a los demás grupos (clusters).

Con ayuda el programa de alelos en el espacio se determinó en base a las frecuencias alélicas un gráfico de superficie donde se muestran en el eje z, la distancia genética en base de sus coordenadas geográficas Figura 22.

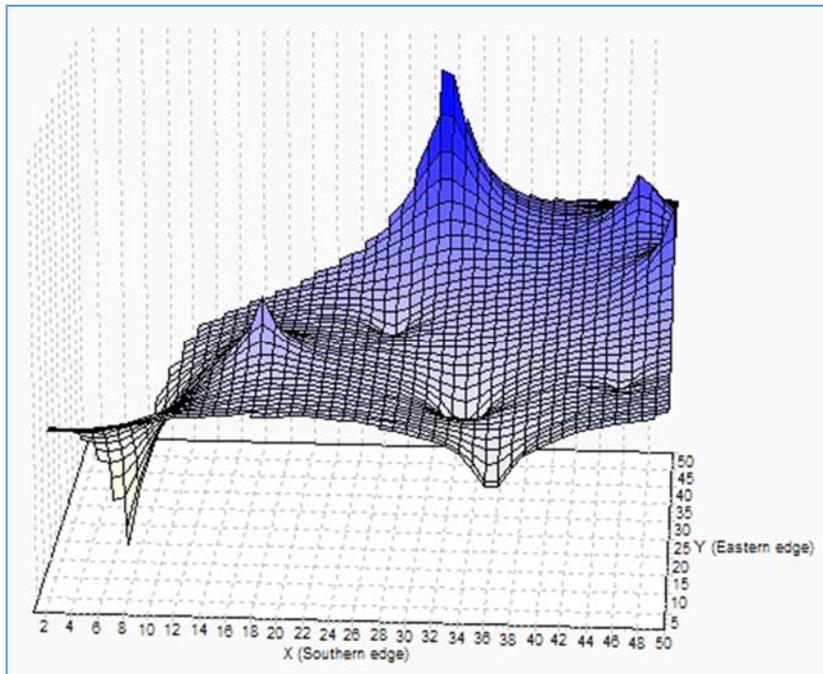


Figura 22.- Gráfico de superficie de las distancias genéticas a partir de la interpolación de las distancias genéticas (altura, eje:Z) empleando triangulaciones de Delaunay basándose en las frecuencias alélicas de *Boopedon nubilum*

Como se puede observar existen puntos en los cuales sobre pasa la superficie media de los análisis, ya que la prueba de Mantel no demostró diferencia de aislamiento por distancia ( $p > 0.05$ ) se observa una superficie sin una tendencia muy marcada, pero los puntos en los cuales el valor de Z es más alto son aquellos donde la distancia genética es mayor, por lo que es estos sitios debe existir alguna variable que este influenciando genéticamente en las poblaciones de *B. nubilum*, Las coordenadas donde se presentaron los mayores niveles de diferencia genética fueron X 2699007, Y: 590925.5 (UTM13N) y las coordenadas para donde se encuentra la menor distancia genética se encontraron en X:2696366, Y:560738 (UTM13N). En la figura 23 se observa la ubicación de estos puntos junto con el grafico de superficie de las distancias para identificar las posibles causas del aumento o la disminución de las distancias genéticas.

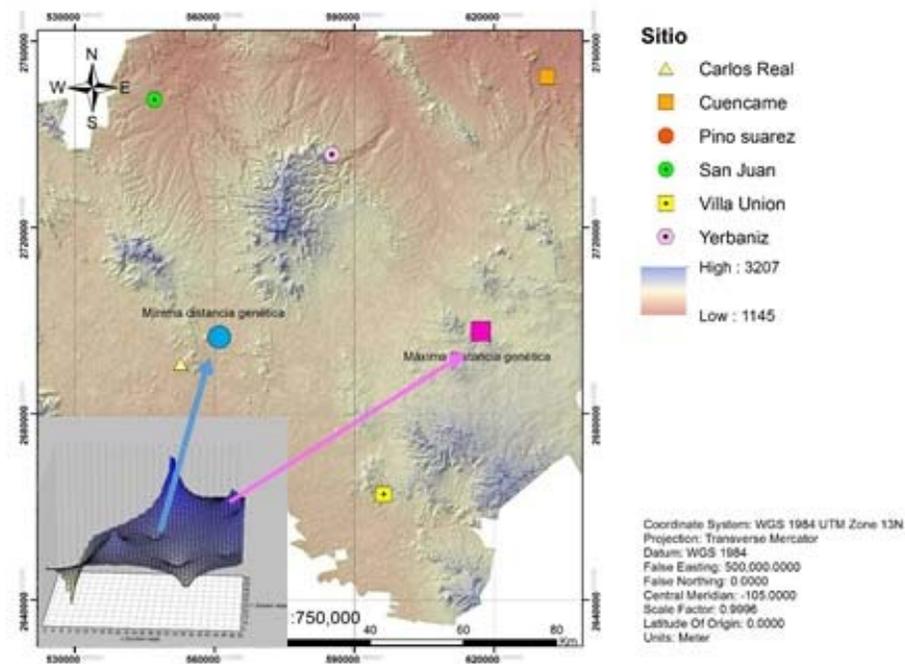
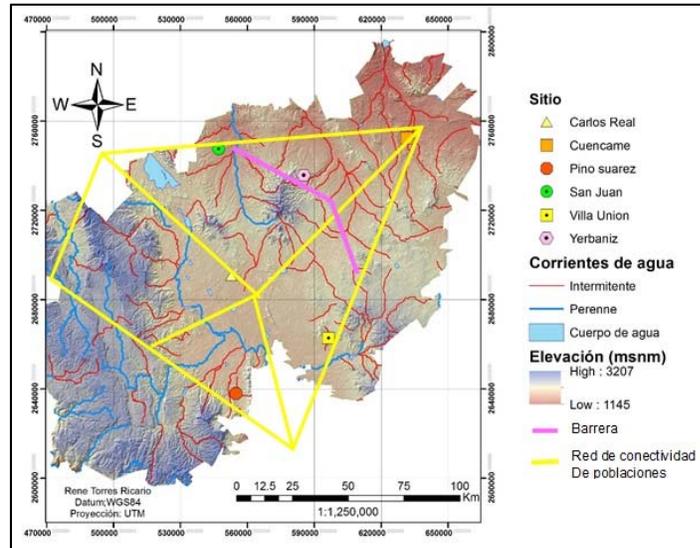


Figura 23.- Ubicación de los puntos de máxima y mínima distancia genética de la especie *B. nubilum*

Como se puede observar en la figura 23, el punto de mínima distancia genética coincide con la localidad de CR la cual había presentado los valores máximos de Diversidad genética (tabla 18), se puede observar que la zona de máxima distancia genética se localiza en una zona donde las elevaciones empiezan a ser mayores, además de ser una zona cercana a la zona semi desértica del Estado, también se puede ver una tendencia en el gráfico de superficie de distancias genéticas de aumentar conforme se avanza hacia el norte.

Para identificar alguna barrera que este interactuando con estas poblaciones se empleó el algoritmo de Monmonier de máxima diferencia para identificar alguna barrera e identificarla gráficamente en un mapa de distribución de las especies. En base a las triangulaciones de Delauny se creó una red de conectividad de las poblaciones basándose en los datos de AFLPs y sus coordenadas geográficas en unidades UTM, y en base a las diferencias genéticas y sus distancias geográficas en la figura se observa las barreras que afectan estas poblaciones, cabe mencionar que

el programa no puede identificar la naturaleza de la barrera, ya que puede ser natural o no.



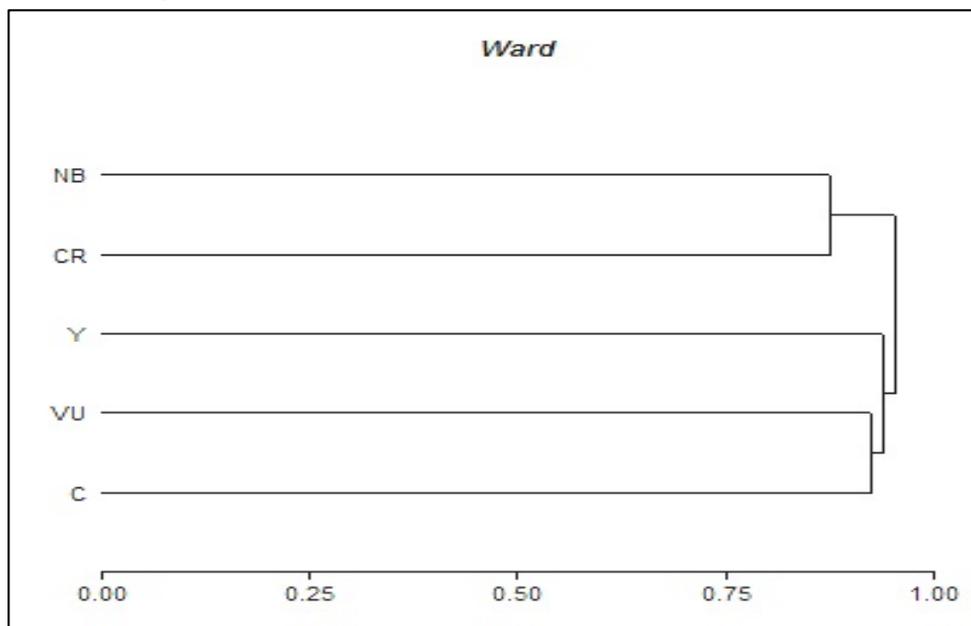
**Figura 24.-** Red de conectividad de las poblaciones y barrera obtenida mediante el algoritmo de Monmonier para las poblaciones de la especie *B. nubilum*

Como se puede observar en el mapa perteneciente a la figura 24, el algoritmo de Monmonier identifica una sola barrera, esta separa en dos grupos, las poblaciones de Y y de C se localizan en uno de los grupos separados por la barrera aunque comparten el segmento con la población de SJ, las población de C se encuentra dentro de la zona semi desértica, mientras que la de Y se encuentra en una zona denominada de transición entre la zona de los valles y la zona semi desértica por lo que se observa está siendo afectada por esta barrera, en el mapa se muestran aquellos ríos y cuerpos de agua presentes en la zona, dentro de la barrera propuesta no está afectada por ninguna de estas variables ya que solo se presentan ríos intermitentes, aunque si se puede observar que a los extremos de la barrera se encuentran zonas montañosas con valores alrededor de los 2500msnm en color azul, a lo largo de esa línea imaginaria (ROSA) se encuentran áreas de cultivo y de agostadero por lo que el efecto antropológico puede estar creando una división entre las poblaciones del norte, centro y sur del Estado, el uso de pesticidas, el cambio de uso de suelo y la construcción de

vías de comunicación estarían contribuyendo a este efecto, como se observó en la figura 21, la población de VU ubicada en la parte sur del Estado presentaba la menor cantidad de flujo genético de entre todas las localidades, esta localidad se encuentra en los límites del área de cultivos de la zona de los valles y se observa tener efectos de la zona montañosa donde se presentaron los valores máximos de distancia genética, por lo que es difícil para las especies lograr comunicación con esta localidad.

#### 7.8.3.1- Análisis de agrupamiento de las poblaciones de *B. nubilum* utilizando frecuencias alélicas

De acuerdo a las frecuencias alélicas presentes en las poblaciones de *B. nubilum* se obtuvo un dendograma para identificar los grupos formados y así observar si son consistentes a los comportamientos observados por los análisis previos, en la figura se muestran estos grupos.



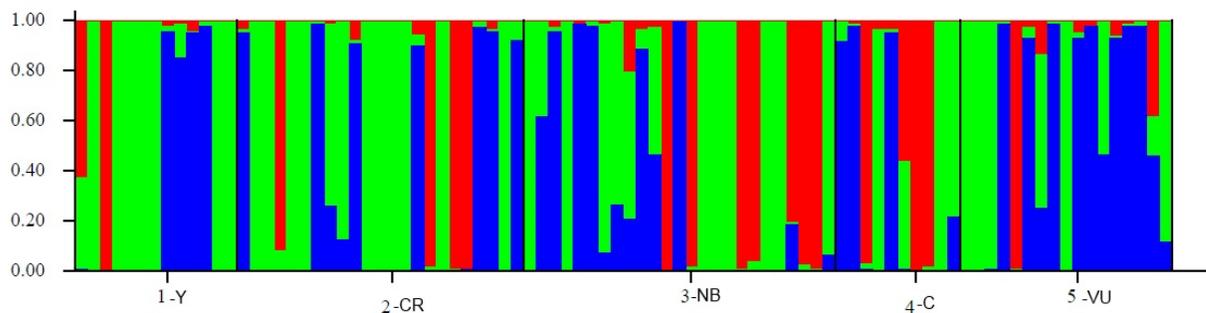
**Figura 25.-** Análisis de agrupamiento usando frecuencias alélicas de la especie *B. nubilum*, mediante distancias euclidianas

De acuerdo a sus frecuencias alélicas se puede observar que la formación de 3 grupos, lo cual coincide con el análisis de la estructura genética de  $K=3$ , la población de CR se localiza como un grupo independiente, ya que es la población con un nivel de variabilidad más alto, las poblaciones de VU y P se agrupan dentro de un mismo clado, estas localidades se encuentran al sur del Estado y las localidades situadas al norte

coinciden en su agrupamiento SJ, Y y C. Las localidades de Y y C se encuentran separadas por la barrera determinada por el algoritmo de Monmonier, a pesar de que la prueba de Mantel no mostró relación entre la distancia geográfica con respecto a la distancia genética, este dendograma muestra que las localidades que comparten geográficamente algunos factores se agrupan entre ellas, por lo que el efecto combinado de ciertas variables podrán ayudar a comprender un poco más este fenómeno. Por medio de las variables de índice de diversidad, índice de Nei, Contenido de Loci polimórficos, número esperado y efectivo de alelos se aplicó un análisis de componentes principales para ver qué efecto tienen sobre el agrupamiento y sobre el comportamiento de las poblaciones de *B. nubilum*. Donde se observó que dos factores responden el 97% de la varianza total, se observó que las cinco variables pertenecen al primer factor y su grado de influencia es por encima de 0.90, por lo que el efecto de estas variables es igual de importante para el estudio.

#### 7.8.4.- Estudio de la estructura genética y variabilidad de la especie *M. lakinus* en el Estado de Durango usando AFLPs

Se lograron analizar 88 individuos de la especie *M. lakinus* repartidos en cinco localidades, la prueba de Mantel no mostró significancia ( $p=0.44$ ) por lo que el aislamiento por distancia no parece afectar a las poblaciones de *M. lakinus*. Existe una distancia promedio de 80km entre las poblaciones. De acuerdo al método bayesiano para determinar la estructura genética de la especie *M. lakinus* el número sugerido de grupos es  $K=3$ . En la figura se observa el comportamiento de las poblaciones de acuerdo al programa STRUCTURE.



**Figura 26.-** Estructura genética estimada de *Melanoplus lakinus* para  $K=3$ , obtenida con el programa STRUCTURE. Cada individuo es presentado por una barra y cada cluster por un color

En la figura 26 no se observa algún patrón que pueda limitar la estructura genética de las especies

7.8.2.1.-Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para determinar la estructura genética explicada de las especies de *M. kalinus* en el Estado de Durango, usando AFLPs

Al parecer las poblaciones de la especie *M. lakinus* se comportan similar entre todas ellas, sin observarse algún patrón que identifique a alguna de las poblaciones, de acuerdo a los estadísticos de Wright (Fst) obtenidos para cada cluster se obtuvo un valor promedio de  $F_{st}=0.4604$ , lo cual indica una gran diversidad entre las poblaciones, es necesario un análisis molecular de Varianza para determinar si esta diferencia se presenta entre o dentro de las mismas.

**Tabla 19.-** Análisis molecular de varianza (AMOVA) de poblaciones de *M. lakinus* basados en datos de AFLPs

Fuente Variación	Suma de cuadrados	gl	Varianza de componentes	p (sig)	Porcentaje de variación
Entre Poblaciones	36.42	4	9.1	0.4	0
Dentro Poblaciones	756.07	83	9.11	0.4	100
Total	792.49	87	9.11		100

Como se puede observar en la tabla 19, de acuerdo al AMOVA no se observan diferencias significativas entre poblaciones ( $p=0.4$ ) y la variación dentro de las especies no presenta diferencia entre las diferentes poblaciones pero explica el 100% de la variabilidad de la especie, como se observó en la figura 26, la diferencia entre las frecuencias alélicas entre las poblaciones es debida a la gran diversidad dentro de ellas.

### 7.8.2.2.- Análisis descriptivo de las poblaciones de *M. lakinus* mediante variables genéticas

Se determinaron los índices de variabilidad genética de la especie *M. lakinus* para observar algún comportamiento de acuerdo a estos, ya que la especie se parece comportar con niveles bajos de identidad genética, se determinaron los índices de He (heterocigosidad esperada,  $H' = \text{índice de nei}$ ,  $N_a = \text{Número de alelos}$  y  $N_e = \text{número efectivo de alelos}$ )

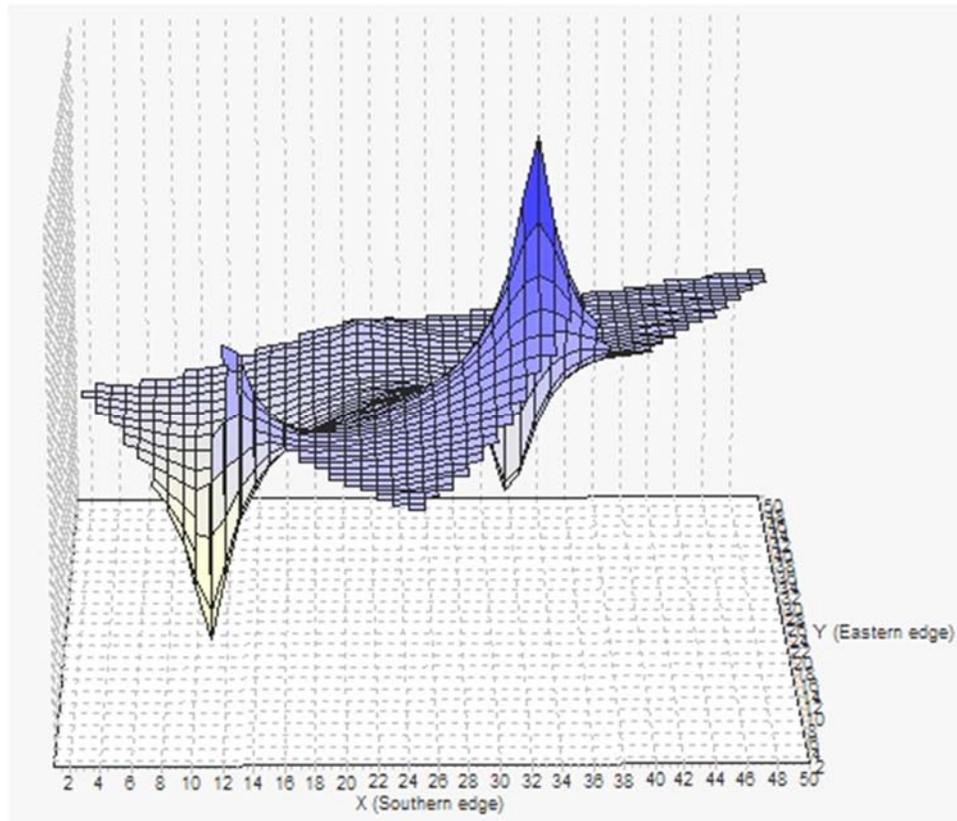
**Tabla 20.-** Parámetros de la genética poblacional de seis poblaciones de *M. lakinus* analizados con AFLPs

Sitio	He	Nei	Na	Ne
NB	0.07 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	1.56 <sup>a</sup>	1.09 <sup>a</sup>
C	0.07 <sup>ab</sup>	0.07 <sup>ab</sup>	1.31 <sup>a</sup>	1.09 <sup>a</sup>
CR	0.06 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>ab</sup>	1.52 <sup>b</sup>	1.08 <sup>a</sup>
VU	0.06 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	1.42 <sup>c</sup>	1.08 <sup>a</sup>
Y	0.05 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	1.33 <sup>c</sup>	1.06 <sup>a</sup>

He.- Diversidad genética, Nei=índice de nei, PIC, índice de loci polimorficos,  $N_a = \text{Num de alelos}$ ,  $N_e = \text{Numero efectivo de alelos}$ . Valores con letras distintas muestran diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) (Wilcoxon,  $p = 0.000$ )

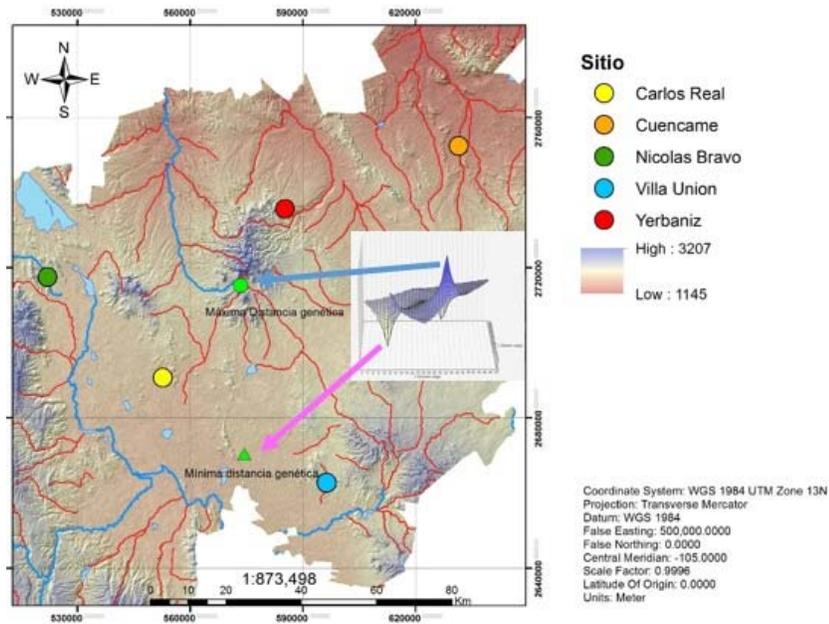
Como se puede observar en la tabla 20, con respecto al análisis paramétrico de Wilcoxon se puede identificar que existen diferencias entre las poblaciones en base a sus índices de variabilidad, la variable que más afecto es la del número de alelos, pero el número efectivo de alelos no presenta diferencias, esta variable nos indica que entre todas las poblaciones el número efectivo de alelos que comparten es similar por lo que no se observan diferencias entre las poblaciones ya que es un valor bajo y constante entre ellas.

Por medio del análisis de interpolación de superficie de las distancias genéticas se determinaron aquellos puntos en los cuales se concentran la mayor distancia genética de las poblaciones de *M. lalkinus*, y el punto de mayor diversidad genética debido a la menos distancia genética.



**Figura 27.-** Gráfico de superficie de las distancias genéticas a partir de la interpolación de las distancias genéticas (altura, eje:Z) empleando triangulaciones de Delaunay basándose en las frecuencias alélicas de *M. lakinus*.

De acuerdo a la figura 27 se observan dos sitios en los cuales la distancia genética es más baja y donde se puede encontrar mayor variabilidad, estos se localizan en las coordenadas ((X: 2670379, Y: 574401.5) (X:2712146, Y:584284) UTM13N) y a su vez existe un punto máximo de distancia genética donde se pueden encontrar valores de diversidad muy bajos, localizado en las coordenadas (X:2715159, Y:573372) UTM13N. La superficie presenta un comportamiento casi uniforme, estos picos en cuanto a niveles altos y bajos de diversidad deben estar influenciados por condiciones específicas en estos puntos, ya que no se ve alteraciones similares en todo el gráfico. Para identificar qué factores pueden estar provocando estos saltos drásticos en la distancia genética se proyectaron las coordenadas de estos puntos en un mapa del área de estudio.



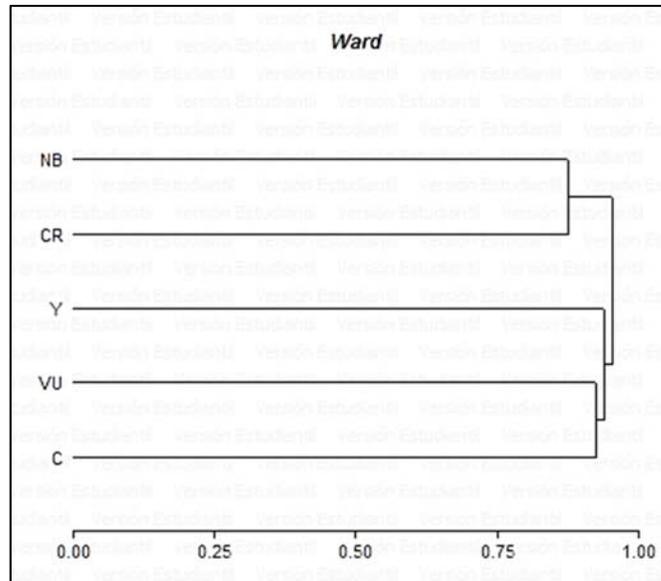
**Figura 28.-** Ubicación de los puntos de máxima y mínima distancia genética de la especie *M. lakinus*

Como se puede observar en la figura 28, la población de Y se ubica cerca de los sitios donde se estimaron los valores de máxima distancia genética, esta población también presenta los valores más bajos de diversidad genética ( $H_e=0.05$ ) (tabla 20), de acuerdo a la gráfica de superficie de distancias genéticas, las poblaciones que se encuentran hacia el sur del estado van presentando menos distancias genéticas, lo que puede deberse a que en estas zonas se encuentran condiciones vegetales favorables para esta especie, por lo que en las próximas secciones analizaremos la relación de estas variables con respecto a su diversidad genética. El análisis por medio del logaritmo de Monmonier no mostró barreras que estén afectando la comunicación entre las diferentes poblaciones de *M. Lakinus* a lo largo del estado Durango.

#### 7.8.2.3 Análisis de agrupamiento de las poblaciones de *M. lakinus* utilizando frecuencias alélicas

En base a las frecuencias alélicas presentes dentro de cada población se aplicó un análisis de agrupamiento en base a distancias euclidianas para observar los patrones

de agrupamiento de las poblaciones de *M. lakinus* en el estado de Durango, el dendograma obtenido se muestra en la figura 29.



**Figura 29.-** Análisis de agrupamiento usando frecuencias alélicas de la especie *M. lakinus* mediante distancias euclidianas

Como se puede observar las poblaciones de CR y NB se agrupan dentro de un mismo grupo, al igual que las poblaciones de C y VU, estos grupos no comparten el mismo nivel de variabilidad según la tabla 20 por lo que no parece observarse algún patrón definido sobre *M. lakinus* con respecto a sus frecuencias alélicas, la única población aislada mediante este método es la de C, la cual se encuentra dentro de la zona semi desértica el Estado de Durango. El resto de las localidades se encuentran dentro de la zona de los valles por lo que debe existir más relación entre ellas.

Mediante un análisis de componentes principales empleando los índices de variabilidad genética obtenidos se observó que al igual que la especie *B. nubilum* las cinco variables ejercen la misma influencia sobre la varianza total del estudio, el agrupamiento mostró un comportamiento similar al presentado por medio del dendograma, excluyendo a la población de C del análisis.

#### 7.9 Análisis de la variabilidad genética empleando Microsatelites

El marcador codominante no fue reproducible para la especie *B. nubilum* por lo que los presentes resultados solo corresponden a la especie *M. lakinus* en localidades

previamente estudiadas donde se tenían conocimientos de su localización, variando en las poblaciones de La Ermita y La Constancia donde no se encontraron suficientes individuos de la especie *B. nubilum* por lo que no se consideraron en los estudios de AFLPS. Tres de los once microsatélites (B, C and D) utilizados fueron polimórficos y utilizados para los estudios de diversidad genética (Tabla 2), Obteniendo entre 18 y 23 alelos por locus. El análisis de variabilidad genética mostró valores altos del índice de diversidad de Nei para todas las poblaciones, indicando un alto considerable de variabilidad genética entre las poblaciones. Los resultados del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) mostraron que dos de las siete localidades no estuvieron en equilibrio ( $p < 0.05$ ) (Tabla 21) de acuerdo al análisis con la chi cuadrada.

**Tabla 21.-** Análisis Multi-locus para equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) calculados con GENPOP usando el método de Markov para siete poblaciones de *M. lakinus*

Pop ID	n	EHW	gl	Chi-cuadrada	Prob**
CR	9	1	3	8.29	0.040
NB	4	0.488	3	1.56	0.668
VU	9	0.573	3	3.88	0.274
LC	11	0.741	3	6.99	0.072
Y	11	0.930	3	9.04	0.028
E	5	0.523	3	3.72	0.292
C	7	0.333	3	2.15	0.542

EHW= Equilibrio de Hardy Weinberg, \*\*P<0.05

**Tabla 22.-** Estadísticos F (Wright) y flujo genético, calculado por Genepop usando tres marcadores (Microsatélites) de *M. lakinus* en Durango

Locus	Tamaño muestra	Fis	Fit	Fst	Nm*
B	112	0.4541	0.5926	0.2538	0.735
C	112	4.4389	0.5655	0.1721	1.203
D	112	0.4417	0.5736	0.2363	0.808
Mean	112	0.4445	0.5676	0.2217	0.8778

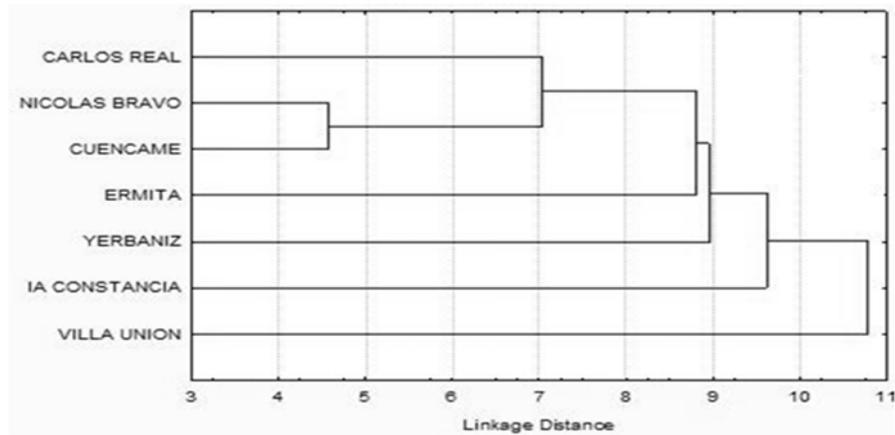
\*Nm = Flujo genético estimado desde  $Fst = 0.25(1 - Fst)/Fst$ .

El análisis de estructura genética de las poblaciones usando los estadísticos F de Wright (Tabla 22) mostraron un alto grado de diversidad genética entre poblaciones ( $F_{ST}=0.2217$ ) así como un alto flujo genético entre las poblaciones en promedio ( $Nm=0.877$ ). Las distancias genéticas entre las poblaciones mostraron la relación que existe entre la distancia e identidad genética de las diferentes poblaciones. (Tabla 23), con ayuda de estos valores se construyó un árbol filogenético para observar el comportamiento de esta variabilidad genética y las diferentes poblaciones.

**Tabla 23.-** Valores de identidad y distancia genética de Nei de *M. lakinus* obtenido de las frecuencias alélicas de tres microsatelites (Distancia genética debajo de la diagonal, Identidad genética por encima de la diagonal)

SITIO	CR	NB	VU	LC	Y	E	C
CR	****	0.853	0.353	0.491	0.792	0.629	0.901
NB	0.158	****	0.332	0.443	0.733	0.584	0.847
VU	1.039	1.101	****	0.193	0.333	0.324	0.362
LC	0.712	0.812	1.643	****	0.587	0.683	0.598
Y	0.226	0.316	1.097	0.532	****	0.614	0.866
E	0.462	0.536	1.126	0.449	0.487	****	0.683
C	0.103	0.166	1.014	0.513	0.143	0.3852	****

El análisis de agrupamiento con el algoritmo de neighbor joining construido a partir de los valores de identidad y distancias genéticas de Nei reveló la formación de tres grupos (figura 30), El análisis de K-medias también reveló la formación de tres grupos con algunas coincidencias con respecto al árbol filogenético.



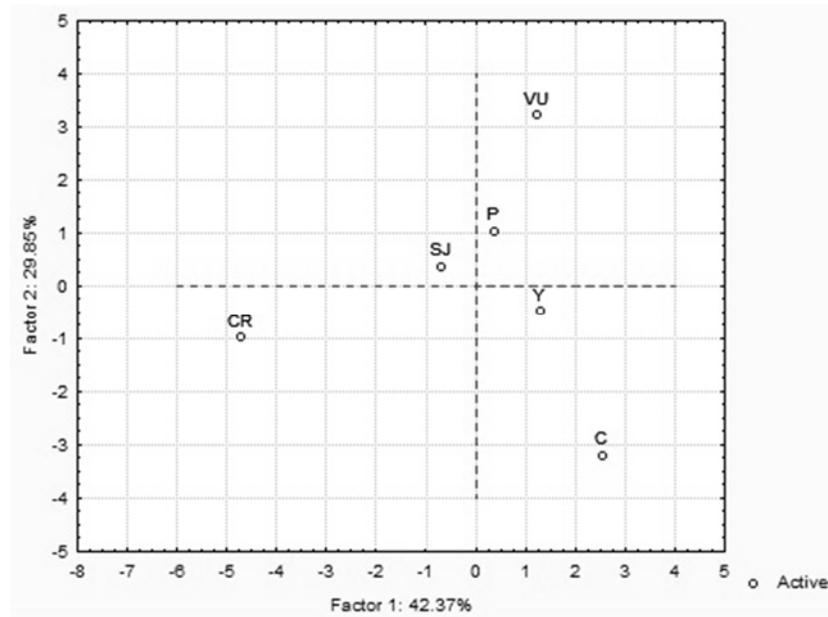
**Figura 30.-** Árbol filogenético a partir de las frecuencias alélicas de *M. lakinus* usando distancias euclidianas, obtenidas de tres microsatelites

#### 7.10.- Análisis de correlación de variables genéticas contra variables bióticas y abióticas

Para reducir el número de factores involucrados en el efecto de las variables sobre la variabilidad genética se determinó la correlación de las variables genéticas por cada grupo de variables por separado, para poder observar mejor el efecto de cada conjunto de variables y posteriormente identificar el efecto conjunto sobre la variabilidad de las especies *M. lakinus* y *B. nubium*

##### 7.10.1.- Determinación del efecto de las variables bióticas y abióticas de las poblaciones de *B. nubium* y *M. lakinus* sobre su comportamiento genético

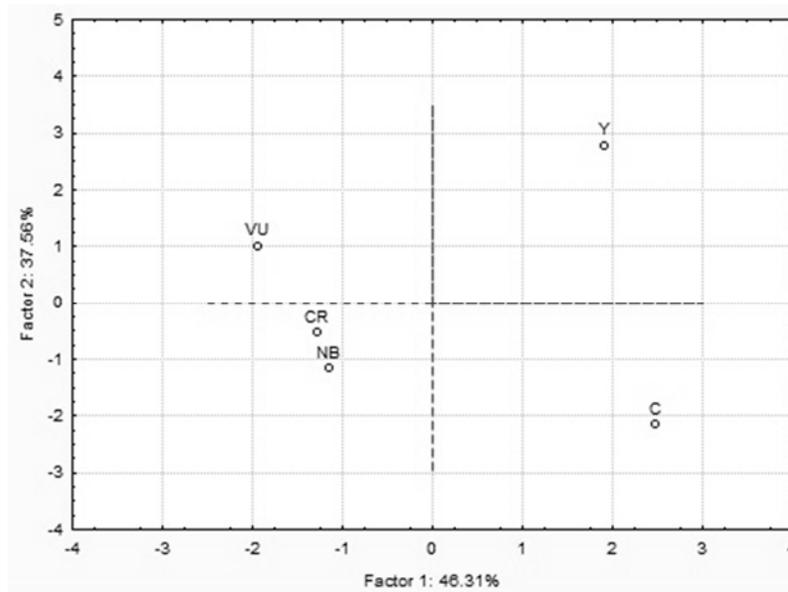
De acuerdo a los análisis de correlación de Pearson y de Spearman para las variables que no presentan distribución normal, no se observó algún tipo de correlación estadísticamente significativa de acuerdo a los parámetros establecidos, por lo que el tipo de efecto de los conjuntos de variables debe estar inducido por la acción de dos o más variables, por lo que se determinaran por medio de un análisis de componentes principales de cada conjunto de variables su posterior análisis dentro de un análisis Canónico de Correlación.



**Figura 31.-** Análisis de Componentes Principales a partir de las variables de suelo y genéticas de *B. nubilum*

En la figura 31 se observa que el análisis de componentes principales proporciona dos componentes que responden alrededor del 72% de la varianza total del estudio, se puede observar como la población de CR se aleja formando lo que pareciera un grupo individual, como se mencionó en el apartado 7.8.1.1 en la tabla 18, la población de CR es la que presentaba mayor índice de diversidad genética y la localidad VU es la que presentaba el valor más bajo de esta variable. De acuerdo a la matriz de componentes obtenida se observa que las variables de Materia orgánica (0.671) y Humedad del suelo (0.890) son las que mayor influencia tienen dentro del primer factor, dentro del segundo factor se encuentran las variables Conductividad Eléctrica (0.839) y contenido o porcentaje de Arena (0.901) esta última relacionada con la textura de los suelos, estas variables coinciden con las obtenidas en diversos estudios previos, donde la humedad del suelo siempre ha mostrado una importancia principalmente relacionándose en procesos de ovoposición de ortópteros como (Huizenga et al., 2008) que identificó que las hembras de la especie *Romalea microptera* (Orthoptera: Acrididae) favorece su ovoposición en suelos relativamente secos y de una textura dura o como es característica de los suelos arenosos-arcillosos como los que se

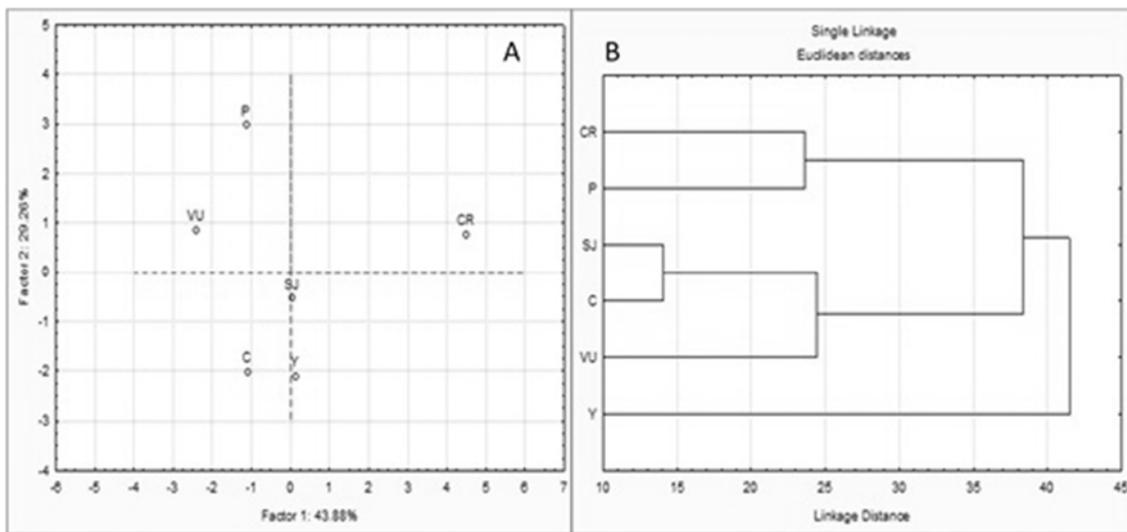
presentan en las localidades de *B. nubilum* el efecto que tendría dentro de las poblaciones de *B. nubilum* es que los procesos de ovoposición afectaran el proceso de diapausa ya que el efecto de las condiciones climáticas llega a los huevos a través del suelo, un suelo con humedad alta facilitara el enfriamiento y afectara la viabilidad de los insectos como lo demostró (Stauffer, Hatle, & Whitman, 2011) donde en condiciones ambientales y de laboratorio observaron el efecto de la humedad sobre la supervivencia de dos especies de chapulines, donde los individuos expuestos a humedades de carga de hasta tres meses pueden retrasar su proceso para emerger en hasta 61 días de diferencia. La variable de cantidad de arena promedio en los sitios ejerce una cualidad de textura y por lo tanto en el tipo de suelos el cual puede soportar ciertas características de vegetación, por lo que esta variable actúa de manera indirecta sobre el comportamiento genético de la especie *Boopedon nubilum*. El análisis canónico de correlación mostró que el efecto de las variables de suelo (Humedad, Cond Elc, MO y %Arena) presento una  $R=0.999$  ( $p=0.119$ ) por lo que el efecto no es significativo. Para la especie *M. lakinus* se observa muestra su análisis de componentes principales en la figura 32.



**Figura 32.-** Análisis de Componentes Principales a partir de las variables de suelo y genéticas de la especie *M. lakinus*

En la figura 32 se observa que el efecto de los dos primeros factores es del 83% de la varianza total del estudio, aunque comparten las mismas variables en los factores con respecto a *B. nubilum*, aunque mediante el análisis canónico correlacional se obtuvo una  $R=0.66$  y una  $p=0.15$ , por lo que tampoco se observó un efecto de las variables del suelo sobre las variables genéticas.

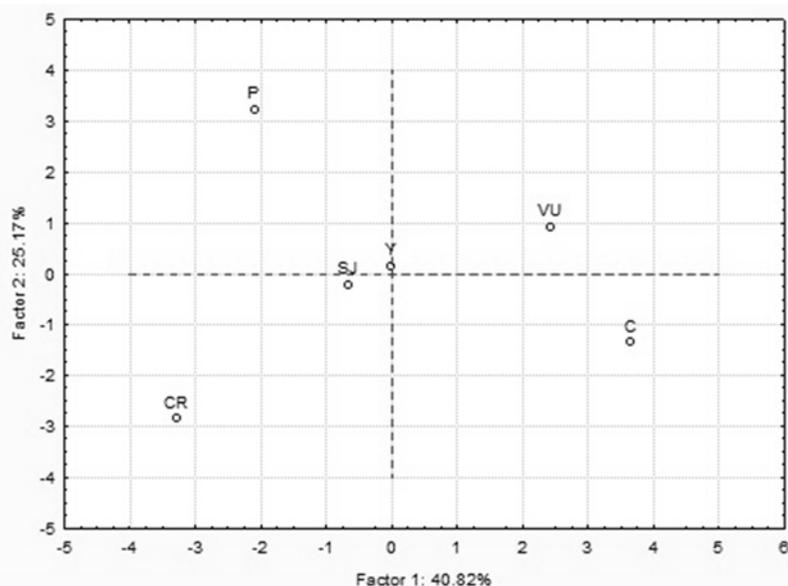
En cuestión del efecto de las variables climáticas en la figura se presenta el efecto de los factores obtenidos por medio del análisis de componentes principales



**Figura 33.-** Análisis de Componentes Principales (A) y Análisis de agrupamiento (B) de las especie *B. nubilum* empleando variables genéticas y climáticas

Como se puede observar en la figura 32 se obtuvieron dos factores que responden al 73.4% de la varianza total de la interacción de las variables climáticas con respecto a las variables genéticas, de acuerdo a la matriz de componentes, la variable de Índice de aridez (0.979) es la que tiene mayor efecto sobre el factor 1, mientras que la variable Radiación son las que mayor efecto aportan al componente 2. La importancia del índice de aridez ha sido reportada por varios autores, como en los trabajos de (Andersen, Ludwig, Lowe, & Rentz, 2001) y (Nath et al., 2010) donde la magnitud de este índice ofreció una visión más amplia del efecto que tiene el clima sobre las poblaciones de chapulines, mostrando que una disminución en el IA está relacionado

con un aumento en el tamaño de las poblaciones de los chapulines, al estar relacionado con la precipitación esta coincide en los tiempos en los cuales los insectos son adultos, favoreciendo el crecimiento vegetal y creando condiciones ideales de alimentación, copulación e incluso ovoposición de los mismos. El análisis de canónico de correlación mostro una  $R=0.99$  con una significancia de  $p=0.00$  por lo que se ve un efecto estadísticamente significativo de las variables climáticas sobre las variables genéticas. Para la especie *M. lakinus* se encontró que los dos primeros factores responden el 72% de la varianza total y al igual que la especie *B. nubilum* las variables de índice de aridez y de Radiación son las que tienen mayor efecto sobre los factores, por su parte el análisis canónico correlacional mostro una  $R=.95$  y una  $p=0.00$ , por lo que el efecto de las condiciones climáticas también muestra un efecto sobre las variables genéticas de las poblaciones de *M. lakinus*. Las condiciones de clima y suelo tienen un efecto directo en las condiciones vegetales de los sitios, por lo que esta variable se encuentra en total dependencia sobre las primeras dos, pero el efecto que tendrá sobre el comportamiento genético ha sido ampliamente estudiado, por lo que es importante identificar este tipo de interacciones en las poblaciones de *B. nubilum* en el Estado de Durango, en la figura 33 se observa el análisis de componentes principales empleado en las variables de tipo vegetal y las variables genéticas.



**Figura 34.-** Análisis de Componentes Principales de las variables de vegetación y variables genéticas de la especie *B. nubilum*

En la figura 33 se observa la formación de dos factores que tienen un 87.7% de la varianza total del análisis, de los cuales a partir de la matriz de componentes de los factores se obtuvo que la diversidad de especies (índice de Shannon) es la que mayor peso tiene sobre el primer factor y la variable de cobertura vegetal (NDVI) presenta la mayor influencia sobre el factor número dos. A pesar de ser una relación ampliamente estudiada, ha presentado valores contradictorios con respecto a diversos estudios ya que (Branson, 2011) encontró una relación positiva con respecto a la diversidad de plantas en Montana con respecto a la diversidad de chapulines empleando el índice de Shannon, mientras que (Wachter, O'Neill, & Kemp, 1998) no encontró relación entre la diversidad de plantas y la diversidad de los insectos, la naturaleza de los insectos es un factor determinante en encontrar una relación positiva entre estas variables, ya que si un chapulin presenta comportamiento especialista su posibilidad de encontrar una correlación positiva y significativa es mayor que aquellos que se comportan de manera generalista, como es el caso de *B. nubilum*, Estudios realizados por (Tao Li et al., 2010) demostró que poblaciones de *Oxya japonica* que presentaban diferencias entre el uso de plantas hospederas, presentaron diferencias genéticas. Por lo que identificar a grandes rasgos algún efecto de la diversidad vegetal sobre el comportamiento genético es un gran paso para identificar que especies actuaran directamente sobre la estructura genética de *B. nubilum*. El análisis Canónico de Correlación mostró una  $R=0.98$  con una  $p=0.002$ , por lo que el efecto de las variables vegetales influye también en el comportamiento de la especie *B. nubilum*. Para la especie *M. lakinus* se observaron los datos similares a los presentados para la especie *B. nubilum* en cuestión de las variables de peso y su nivel de correlación canónica por lo que también estas variables tienen efecto sobre el comportamiento genético de la especie *M. lakinus*.

## VIII. Conclusiones

Se identificó la presencia de las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* en zonas de pastizales del Estado de Durango, concentrándose mayormente dentro de la zona de los valles, la densidad de chapulines por metro cuadrado en los sitios localizados en la zona de los valles es de entre 7 y 9 individuos de las dos especies, contrastando con los 4.2 individuos por metro cuadrado presentados en la población de Cuencame que se ubica en la zona del semi desierto.

La caracterización con respecto a las variables del suelo se determinó, con ayuda de un análisis de componentes principales, obteniéndose que las variables de Materia Orgánica y Conductividad Eléctrica ejercen una influencia dentro del agrupamiento de los sitios. Aunque la variable de Conductividad Eléctrica es la única que presento valores de correlación significantes (-.821,  $p=0.021$ ) de acuerdo al análisis de correlación de Pearson.

La mayoría de los sitios presentaron una textura Arcillo-Arenosa con excepción del sitio Pino Suarez que presento una textura solamente Arcillosa. En general, todos los sitios de muestreo presentaron una media de 0.2324 en su conductividad eléctrica lo cual es indicador de suelos no salinos.

La caracterización de los sitios de estudio mediante variables climáticas muestra que estos presentan una precipitación media durante los meses de muestreo de 91.47mm, un índice de aridez de 0.20, radiaciones de 528 ( $w/m^2$ ) y un promedio de humedades relativas de 63.55. Se observó que las variables de Velocidad del Viento y Humedad Relativa son las únicas que presentan diferencias significativas ( $p<0.05$ ) entre los grupos. De acuerdo al análisis de agrupamiento la población Y se separa de todas las poblaciones formando un grupo aislado, indicando que este sitio fue el que presentó los valores más bajos de precipitación (73mm), radiación ( $501 w/m^2$ ) y humedad relativa (53%). Cabe mencionar que la variable Humedad relativa está en función de la precipitación, la temperatura y la radiación, por lo que en conjunto estas variables podrán ejercer mayor efecto en el agrupamiento que una variable individual. En base al análisis de componente principales se observó que dos factores explican el 77.9% de la varianza total del comportamiento de estos sitios, de acuerdo a las matrices de componentes se identificó, mediante una normalización de las variables, que la

---

precipitación (0.965) es el componente que mayor efecto ejerce sobre el factor uno, mientras que el índice de aridez (0.910) es la que mayor efecto presenta en el segundo. La caracterización por medio de variables vegetales mostró que los sitios presentan valores promedios de cobertura en pastos de 49%, en hierbas de un 11% y en suelos desnudos de un 38%. Cinco de los sitios se encontraron en áreas de pastizales y dos en zonas de matorrales y se observó un promedio de 10 especies vegetales por sitio, en las que *Bouteloua gracilis* fue la de mayor proporción con un 19% en promedio en cada sitio. Aunque en los sitios de CR y Y se encontraron presencias altas de *Chloris virgata* una especie indicadora de disturbio, con un 28% del total de las especies vegetales de esos sitios, gracias a las frecuencias vegetales se obtuvieron los índices de diversidad vegetal donde se observó que estos presentaron valores de Dominancia de entre 0.1902 (P) a 0.3023 (VU), y valores de índice de diversidad de Shannon de 1.51 (VU) hasta 1.93 (P). De acuerdo al análisis de componente principales, las variables índice de Shannon (0.849) y Simpson (0.854) son las que mayor influencia ejercen sobre los factores obtenidos, los cuales son responsables del 71.1% de la varianza total en la interacción de estas variables, por lo que la diversidad vegetal puede influir en el comportamiento genético de las especies estudiadas.

El comportamiento genético de las especies fue determinado con ayuda de los marcadores AFLPs. Para la especie *B. nubilum* el análisis molecular de Varianza mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre y dentro las poblaciones, aunque solo 6% de la varianza se encuentra entre las poblaciones y el resto entre las poblaciones. En base al análisis de agrupamiento con el programa STRUCTURE se observó la formación de tres grupos, donde la población VU mostró un valor de  $F_{st} = 0.413$  (media  $F_{st} = 0.33$ ) presentando una mayor diversidad genética entre las poblaciones, esta población mostró los valores más bajo de  $H_e$  (0.08) y de índice de Nei (0.08), así como un valor de flujo genético  $N_m = 0.35$  (media  $N_m = 0.50$ ) por lo que se puede identificar algún tipo de efecto sobre esta población que está evitando el intercambio genético entre esta población y el resto. Gracias al gráfico de superficie de distancias genéticas se identificó que la población de VU se encuentra cerca del punto de máxima distancia genética. Otra población cercana a este punto es la de Cuencame la cual presenta valores similares de  $H_e$  y Nei con respecto a VU. Con ayuda del algoritmo de

Monmonier se identificó una barrera localizada cerca de esta población, separando las poblaciones del norte del estado con las del sur, esta barrera coincide con el punto de máxima distancia genética, de acuerdo a los registros y visitas de campo se identifica una gran área agrícola, por lo que la introducción de cultivos, manejo de tierras y cambio de uso de suelo de pastizal a cultivo es lo que estará afectando el comportamiento de la especie *B. nubilum* lo cual podemos observar en los cambios en las frecuencias alélicas de esta población con respecto a las demás. De acuerdo al análisis Canónico Correlacional las variables vegetales y climáticas afectan significativamente ( $p < 0.05$ ) el comportamiento genético de *B. nubilum*. El análisis de agrupamiento con respecto a sus frecuencias alélicas mostró que las poblaciones más cercanas son las que se agrupan entre ellas, por lo que una interacción de estas variables influyen en su comportamiento genético, en específico las variables del índice de aridez, la radiación y los índices de Shannon indican que la diversidad vegetal es un factor a considerar en estudios posteriores, una identificación más completa del comportamiento de estas especies con respecto a sus patrones alimenticios así como las plantas que utilizan como protección y para copular ayudaría a identificar patrones de dispersión y de posibles efectos económicos de estas especies. Por lo que se llega a la conclusión de que la especie *B. nubilum* puede ser afectada por variables de tipo ambiental y de vegetación, así como por causas antropológicas ya que los sitios donde se observaron valores bajos de flujo genético y de diversidad genética son localidades donde se cambió su uso de suelo, afectando así su nicho ecológico.

A diferencia de la especie *B. nubilum*, la especie *M. lakinus* no presentó diferencias entre su poblaciones ( $p > 0.05$ ), observándose que el 95% de la variabilidad se encuentra dentro de las poblaciones, por lo que esta especie presente homogeneidad genética en sus poblaciones a lo largo del estado de Durango.

## **IX. Recomendaciones**

Se recomienda aumentar el área de estudio para tener una idea más clara del comportamiento de la especie *B. nubilum* y *M. lakinus*

Se recomienda realizar un estudio más completo en cuestiones de tiempo, donde se pueda estudiar el periodo de ovoposición de los insectos, de fechas en las cuales emergen los huevos y desarrollo de ninfas de ambas especies, identificando plantas involucradas en cada etapa de desarrollo de las mismas para poder identificar patrones vegetales más detallados de estas especies.

Gracias al desarrollo positivo de la técnica de AFLPs se recomienda su uso en estudios posteriores en una gran diversidad de insectos plaga en el Estado de Durango. Se recomienda el uso de grupos externos para poder comparar de acuerdo a los estudios posteriores.

---

## X. Bibliografía

- Alacs, A., Spencer, P. B. S., Tores, P. J., Krauss, S. L. (2010). Population genetic structure of island and mainland populations of the quokka, *Setonix brachyurus* (Macropodidae): a comparison of AFLP and microsatellite markers. *Conservation Genetics*, 12(1), 297-309. doi: 10.1007/s10592-010-0140-6
- Aljanabi, S. M., Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25(22), 4692-4693.
- Andersen, A. N., Ludwig, J. A., Lowe, L. M., Rentz, D. (2001). Grasshopper biodiversity and bioindicators in Australian tropical savannas: responses to disturbance in Kakadu National Park. *Austral Ecology*, 26(3), 213-222.
- Appel, H. M., Joern, A. (1998). Gut physicochemistry of grassland grasshoppers. *Journal of insect physiology*, 44(7), 693-700.
- Apple, J. L., Grace, T., Joern, A., St Amand, P., Wisely, S. M. (2010). Comparative genome scan detects host-related divergent selection in the grasshopper *Hesperotettix viridis*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Mol Ecol*, 19(18), 4012-4028. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04792.x
- Balzarini M.G., D. R. J. A. (2013). InfoGen versión 2013 FCA. *Universidad Nacional de Córdoba, Argentina*.
- Barragan-Valencia, G., Almaraz-Abarca, N., Alvarez-Zagoya, R., Delgado-Alvarado, A. E., Pérez-Domínguez, J. F. (2009). DNA Isolation from *Diabrotica Virgifera Zee* Krysan and Smith and *Diabrotica Virgifera Virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae) by a CTAB Simplified Procedure. *Southwestern Entomologist*, 34(3), 289-294.
- Berthier, K., Loiseau, A., Streiff, R., Arlettaz, R. (2008). Eleven polymorphic microsatellite markers for *Oedaleus decorus* (Orthoptera, Acrididae) an endangered grasshopper in Central Europe. *Mol Ecol Resour*, 8, 1363-1366. doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02301.x
- Bland, R. G., Nutting, W. L. (1969). A Histological and Bionietrical Study of Wing Development in the Grasshopper *Melanoplus lakinus*. *Annals of the Entomological Society of America*, 62(2), 419-436.
-

- 
- Borrór, D. J. (1998). A field guide to insects: America north of Mexico (Vol. 19): Houghton Mifflin Harcourt.
- Branson, D. H. (2011). Relationships between Plant Diversity and Grasshopper Diversity and Abundance in the Little Missouri National Grassland. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2011, 1-7. doi: 10.1155/2011/748635
- Branson, D. H., Sword, G. A. (2009). Grasshopper Herbivory Affects Native Plant Diversity and Abundance in a Grassland Dominated by the Exotic Grass *Agropyron cristatum*. *Restoration Ecology*, 17(1), 89-96. doi: 10.1111/j.1526-100X.2007.00343.x
- Bright, K. L., Bernays, E. A., Moran, C. V. (1994). Foraging Patterns and Dietary Mixing in the Field by the Generalist Grasshopper *Brachystola magna* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Insect Behavior*, 7(6), 779-793.
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., Laake, J. L. (1980). Estimation of density from line transect sampling of biological populations. *Wildlife monographs*, 3-202.
- Caballero, A., Quesada, H., Rolán-Alvarez, E. (2008). Impact of amplified fragment length polymorphism size homoplasy on the estimation of population genetic diversity and the detection of selective loci. *Genetics*, 179(1), 539-554.
- Calpas, J. T., & Johnson, D. (2003). *Grasshopper management: Alberta Agriculture, Food and Rural Development*.
- Canfield, R. H. (1941). Application of the Line Interception Method in Sampling Range Vegetation. *Journal of Forestry*, 39(4), 338-394.
- Capinera, J. L., Scott, R. D., Walker, T. J. (2004). Field guide to grasshoppers, crickets, and katydids of the United States.
- Capinera, J. L., Sechrist, T. (1982). Grasshoppers (Acrididae) of Colorado: identification, biology and management.
- Clarke, G. M., Spier-Ashcroft, F. (2003). *A review of the conservation status of selected Australian non-marine invertebrates*: Department of the Environment and Heritage.
- Coffin, D. P., Lauenroth, W. K. (1991). Effects of competition on spatial distribution of roots of blue grama. *Journal of Range Management*, 68-71.
-

- 
- COTECOCA., S. (1979). Coeficientes de Agostadero de la República Mexicana. *Memorias de coeficientes de agostadero para Durango. Ed. Calypso, S. A. México, D.F. p. 67-117.*
- Coudun, C., Gégout, J. C. (2007). Quantitative prediction of the distribution and abundance of *Vaccinium myrtillus* with climatic and edaphic factors. *Journal of Vegetation Science, 18(4)*, 517-524.
- Crowe, J., Cooper, H., Smith, M., Sims, M., Parker, D., Gewert, D. (1991). Improved cloning efficiency of polymerase chain reaction (PCR) products after proteinase K digestion. *Nucleic acids research, 19(1)*, 184-184.
- Chan, T. W. V. (1992). Extraction of nucleic acids from clinical samples and cultured cells. In: *Diagnostic Molecular Pathology. A Practical Approach. IRL Press, Oxford*, pp. 1-23.
- Chapman, R. F., Joern, A. (1990). *Biology of grasshoppers*: John Wiley & Sons.
- Cuapuis, M. P., Lecoq, M., Michalakis, Y., Loiseau, A., Sword, G., Piry, S., Estoup, A. (2008). Do outbreaks affect genetic population structure? A worldwide survey in *Locusta migratoria*, a pest plagued by microsatellite null alleles. *Mol Ecol, 17(16)*, 3640-3653.
- Chapuis, M. P., Streiff, R., Sword, G. (2012). Long microsatellites and unusually high levels of genetic diversity in the Orthoptera. *Insect molecular biology, 21(2)*, 181-186.
- Chintauan-Marquier, I. C., Jordan, S., Berthier, P., Amedegnato, C., Pompanon, F. (2011). Evolutionary history and taxonomy of a short-horned grasshopper subfamily: the Melanoplinae (Orthoptera: Acrididae). *Mol Phylogenet Evol, 58(1)*, 22-32. doi: 10.1016/j.ympev.2010.07.003
- Eaton, E. R., & Kaufman, K. (2007). *Kaufman field guide to insects of North America*: Houghton Mifflin Harcourt.
- Espino Cháirez, P. (2013). La fertilidad de los suelos y su correlación con las poblaciones de hongos micorrízicos y bacterias heterótrofas del suelo. *Tesis de Maestría CIIDIR IPN Durango.*
- ESRI. (2011). ArcGIS Desktop: Release 10.1. *Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.*
-

- 
- Essl, F., Dirnböck, T. (2012). What determines Orthoptera species distribution and richness in temperate semi-natural dry grassland remnants? *Biodiversity and Conservation*, 21(10), 2525-2537.
- Evans, E. W. (1984). Fire as a natural disturbance to grasshopper assemblages of tallgrass prairie. *Oikos*, 43, 9–16.
- Evans, E. W. (1988). Grasshopper (Insecta: Orthoptera: Acrididae) assemblages of tallgrass prairie: influences of fire frequency, topography, and vegetation. *Canadian Journal of Zoology*, 66, 1495–1501.
- Franco, L., De la Cruz, G., Cruz, A., Rocha, A., Navarrete, N., Flores, G., Bedia, S. (1985). Manual de ecología. *Trillas. México*, 101-107.
- Frankham, R. (2002). *Introduction to conservation genetics*: Cambridge University Press.
- Galindo, J., Morán, P., ROLÁN-ALVAREZ, E. (2009). Comparing geographical genetic differentiation between candidate and noncandidate loci for adaptation strengthens support for parallel ecological divergence in the marine snail *Littorina saxatilis*. *Mol Ecol*, 18(5), 919-930.
- García, E. R. (2006a). An annotated checklist of some orthopteroid insects of Mapimi Biosphere Reserve (Chihuahuan desert), Mexico. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 22(3), 131-149.
- García, G. C., Chairez, H. I., Rivera, G., Gurrola, R. J. N., González, M. (2006). Chapulines (Orthoptera:Acridoidae) de pastizales de la región de los llanos en Durango, México. *Folia Entomologica Mexicana*, 45(003), 273-282.
- Garza, U. (2005). El Chapulin *Melanoplus* sp. y su Manejo en la Planicie Huasteca. *Campo Experimental Ébano. INIFAP-CIRNE. San Luis Potosí, México*, 11, 15.
- Gonzales-Elizondo, M., Márquez-Linares, M., Gonzalez-Elizondo, M. (2007). *Vegetación y ecorregiones de Durango*: Plaza y Valdés- IPN, México, D.F. 219pp.
- Guo, Z.-W., Li, H.-C., Gan, Y.-L. (2006). Grasshopper (Orthoptera: Acrididae) biodiversity and grassland ecosystems. *Insect Science*, 13(3), 221-227. doi: 10.1111/j.1744-7917.2006.00086.x
-

- 
- Gurrola-Reyes, J. N. (2007). Consumo de Biomasa y preferencia alimenticia de *Brachystola magna* (Girard), *Boopedon nubilum* (Say) y *Melanoplus lakinus* (Scudder) (Orthoptera:Acrididae) En pastizales de Durango. *Tesis de Doctorado. Universidad Autonoma de Zacatecas. Unidad Academica de Medicina Veterinaria y Zootecnia.*
- Hammer, O., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1), 9pp.
- Harris, R., McQuillan, P., Hughes, L. (2012). Patterns in body size and melanism along a latitudinal cline in the wingless grasshopper, *Phaulacridium vittatum*. *Journal of Biogeography*, 39(8), 1450-1461.
- Herrera Arrieta, Y., Cortés Ortiz, A. (2009). Diversidad de las gramíneas de Durango, México. *Polibotánica*(28), 49-68.
- Hijmans, R., Guarino, L., Cruz, M., Rojas, E. (2001). Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 15-19.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15), 1965-1978.
- Holzhauser, S. I. J., Wolff, K., Wolters, V. (2008). Changes in land use and habitat availability affect the population genetic structure of *Metrioptera roeselii* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Journal of Insect Conservation*, 13(5), 543-552. doi: 10.1007/s10841-008-9201-2
- Huizenga, K. M., Shaidle, M. D., Brinton, J. S., Gore, L. N. A., Ebo, M. A., Solliday, A. J., Juliano, S. A. (2008). Geographic differences in the body sizes of adult *Romalea microptera*. *Journal of Orthoptera Research*, 17(2), 135-139.
- INEGI. (2014). Fecha de consulta 30 de abril de 2014, de <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/default.aspx>.
- INIFAP. (2012). INIFAP Agroclimatic Networks <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/> Fecha de consulta 30 de abril de 2014..
-

- 
- Klappert, K., Butlin, R. K., Reinhold, K. (2007). The attractiveness fragment AFLP analysis of local adaptation and sexual selection in a caeliferan grasshopper, *Chorthippus biguttulus*. *Naturwissenschaften*, *94*(8), 667-674.
- Knowles, L. L., Richards, C. L. (2005). Importance of genetic drift during Pleistocene divergence as revealed by analyses of genomic variation. *Mol Ecol*, *14*(13), 4023-4032.
- Köhler, G., Perner, J., Schumacher, J. (1999). Grasshopper population dynamics and meteorological parameters-lessons from a case study. *Ecography*, *22*(2), 205-212.
- Lagisz, M., Port, G., Wolff, K. (2010). A cost-effective, simple and high-throughput method for DNA extraction from insects. *Insect Science*, *17*(5), 465-470.
- Lazar, I. (2010). <http://www.gelanalyzer.com>.
- Li, T., Geng, Y.-p., Zhong, Y., Zhang, M., Ren, Z.-m., Ma, J., .Ma, E.-b. (2010). Host-associated genetic differentiation in rice grasshopper, *Oxya japonica*, on wild vs. cultivated rice. *Biochemical Systematics and Ecology*, *38*(5), 958-963. doi: 10.1016/j.bse.2010.05.003
- Li, T., Zhang, M., Qu, Y., Ren, Z., Zhang, J., Guo, Y., . Ma, E. (2011). Population genetic structure and phylogeographical pattern of rice grasshopper, *Oxya hyla intricata*, across Southeast Asia. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Genetica*, *139*(4), 511-524. doi: 10.1007/s10709-011-9573-1
- Lucas, R., Davis, J. F. (1961). Relationships between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Science*, *92*(3), 177-182.
- Miller, M. (2005). Alleles In Space (AIS): computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information. *Journal of Heredity*, *96*(6), 722-724.
- Nath, S., Rai, A., Bhattacharya, S., Saha, A. (2010). The correlation of meteorological parameters with grasshopper populations in Darjeeling. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *13*(4), 375-378. doi: 10.1016/j.aspen.2010.05.001
- Ni, S.-X., Wang, J.-C., Jiang, J.-J., Zha, Y. (2007). Rangeland Grasshoppers in Relation to Soils in the Qinghai Lake Region, China. *Pedosphere*, *17*(1), 84-89. doi: 10.1016/s1002-0160(07)60011-3
-

- 
- Pfadt, R. (1997a). Ebony Grasshopper, *Boopedon nubilum* (Say). *Field Guide to Common Western Grasshoppers, Third Edition. Wyoming Agriculture Experimental Station. Bulletin, 912(3)*.
- Pfadt, R. (1997b). Lakin Grasshopper. *Melanoplus lakinus* (Scudder). *Field Guide to Common Western Grasshoppers, Third Edition. Wyoming Agriculture Experimental Station. Bulletin, 912(3)*.
- Pfadt, R. E. (1994). *Field guide to common western grasshoppers* (Vol. 912): Wyoming Agricultural Experiment Station.
- Powell, L. R., Berg, A. A., Johnson, D. L., Warland, J. S. (2007). Relationships of pest grasshopper populations in Alberta, Canada to soil moisture and climate variables. *Agricultural and Forest Meteorology, 144(1-2)*, 73-84. doi: 10.1016/j.agrformet.2007.01.013
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics, 155(2)*, 945-959.
- Quinn, M. A., Kepner, R., Walgenbach, D., Bohls, R., Pooler, P., Foster, R. N., Swain, J. (1991). Habitat characteristics and grasshopper community dynamics on mixed-grass rangeland. *The Canadian Entomologist, 123(01)*, 89-105.
- Quinn, M. A., Walgenbach, D. (1990). Influence of grazing history on the community structure of grasshoppers of a mixed-grass prairie. *Environmental Entomology, 19(6)*, 1756-1766.
- Raynaud, X., Leadley, P. W. (2004). Soil characteristics play a key role in modeling nutrient competition in plant communities. *Ecology, 85(8)*, 2200-2214.
- Retana, J. A. (2000). Relación entre algunos aspectos climatológicos y el desarrollo de la langosta centroamericana *Schistocerca piceifrons piceifrons* en el Pacífico Norte de Costa Rica durante la fase cálida del fenómeno El Niño-Oscilación Sur (ENOS). *Tópicos Meteorológicos y Oceanográficos, 7*, 73-87.
- Reuter, J., Perdue, E. (1977). Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta, 41(2)*, 325-334.
- Rivera-García, E. (2011). Predators of *boopedon nubilum* (say) swarms (orthoptera: acrididae: gomphocerinae), during three driest years in a tobosa grass prairie in durango, mexico. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie), 27(3)*, 867-870.
-

- 
- Rochelle, P. A. (2001). *Environmental molecular microbiology: protocols and applications*: Horizon Scientific Press.
- Rodríguez-Muñoz, R., Mirol, P. M., Segelbacher, G., Fernández, A., Tregenza, T. (2006). Genetic differentiation of an endangered capercaillie (*Tetrao urogallus*) population at the Southern edge of the species range. *Conservation Genetics*, 8(3), 659-670. doi: 10.1007/s10592-006-9212-z
- Rodríguez-Romero, A., Posos Ponce, P., Peteira, B., Suris, M. (2011). Evaluación de tres protocolos de extracción de ADN en insectos del orden Thysanoptera. *Revista de Protección Vegetal*, 26(3), 187-190.
- Rong, J., Dian-Mo, L., Bao-Yu, X., Zhe, L., Dong-Li, M. (2006). Spatial distribution of oriental migratory locust (Orthoptera: Acrididae) egg pod populations: Implications for site-specific pest management. *Environmental Entomology*, 35(5), 1244-1248.
- Rousset, F. (2008). Genepop 007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106 doi: 110.1111/j.1471-8286.2007.01931.x.
- Sambrook, J. J., Russell, D. D. W. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Vol. 2: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shapiro, S. S., Wilk, M. B. (1964). *An analysis of variance test for normality(complete samples)*. JSTOR.
- Sibly, R., Monk, K. (1987). A theory of grasshopper life cycles. *Oikos*, 186-194.
- StatSoft, I. (2004). STATISTICA (data analysis software system) version 7 . [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Stauffer, T. W., Hatle, J. D., Whitman, D. W. (2011). Divergent Egg Physiologies in Two Closely Related Grasshopper Species: *Taeniopoda eques* versus *Romalea microptera* (Orthoptera: Romaleidae). *Environmental Entomology*, 40(1), 157.
- Štys, P., Kerzhner, I. (1975). The rank and nomenclature of higher taxa in recent Heteroptera. *Acta Ent Bohemoslov*, 72, 65-79.
- Sword, G., Joern, A., & Senior, L. (2005). Host plant-associated genetic differentiation in the snakeweed grasshopper, *Hesperotettix viridis* (Orthoptera: Acrididae). *Mol Ecol*, 14(7), 2197-2205.
-

- 
- Sword, G. A., Joern, A., Senior, L. B. (2005). Host plant-associated genetic differentiation in the snakeweed grasshopper, *Hesperotettix viridis* (Orthoptera: Acrididae). [Comparative Study]. *Mol Ecol*, 14(7), 2197-2205. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02546.x
- Tanaka, Y. (2008). Effects of temperature on body color change in the grasshopper *Atractomorpha lata* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) with reference to sex differences in color morph frequencies. *Entomological science*, 11(1), 49-54.
- Teng, Z.-Q., Kang, L. E. (2007). Microsatellites reveal the genetic structure of thelytokous strains of the migratory locust. *Insect Science*, 14(3), 193-199. doi: 10.1111/j.1744-7917.2007.00143.x
- Toro, M. A., Caballero, A. (2005). Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 360(1459), 1367-1378. doi: 10.1098/rstb.2005.1680
- Torrusio, S., Cigliano, M. M., Wysiecki, M. L. (2002). Grasshopper (Orthoptera Acridoidea) and plant community relationships in the Argentine pampas. *Journal of Biogeography*, 29, 221-229.
- Tu, X., Li, Z., Wang, J., Huang, X., Yang, J., Fan, C., . Zhang, Z. (2014). Improving the Degree-Day Model for Forecasting *Locusta migratoria manilensis* (Meyen)(Orthoptera: Acridoidea). *PLoS One*, 9(3), e89523.
- Ueckert. (1968). Seasonal dry weight composition in grasshopper diets on Colorado herbland. *Annals of the Entomological Society of America*, 61(6), 1539-1544.
- Ueckert, D., Hansen, R., Terwilliger Jr, C. (1972). Influence of plant frequency and certain morphological variations on diets of rangeland grasshoppers. *Journal of Range Management*, 61-65.
- Unsicker, S. B., Oswald, A., Köhler, G., Weisser, W. W. (2008). Complementarity effects through dietary mixing enhance the performance of a generalist insect herbivore. *Oecologia*, 156(2), 313-324.
- Uvarov, B. (1977). *Grasshoppers and locusts. A handbook of general acridology. Volume 2. Behaviour, ecology, biogeography, population dynamics*: Centre for Overseas Pest Research.
-

- Uvarov, B. P. (1927). Locusts and Grasshoppers. A Handbook for their Study and Control. *Locusts and Grasshoppers. A Handbook for their Study and Control*.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van De Lee, T., Hornes, M., Kuiper, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407-4414.
- Wachter, D. H., O'Neill, K. M., Kemp, W. P. (1998). Grasshopper (Orthoptera: Acrididae) communities on an elevational gradient in southwestern Montana. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 35-43.
- Whitmore, A., Bradbury, N., Johnson, P. (1992). Potential contribution of ploughed grassland to nitrate leaching. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 39(3), 221-233.

## XI. Anexo

Anexo 1.- Datos recolectados de los sitios de muestreo para las especies *B. nubilum* y *M. lakinus* en el estado de Durango

SI TI O	ALT ITU D	LON GDE C	LAT DE C	Localidad	<i>B.</i> <i>nubilum</i>	<i>M.</i> <i>lakinus</i>	<i>B.</i> <i>Mag</i> <i>na</i>	<i>Otra</i> <i>s</i> <i>spp.</i>	<i>Chapul</i> <i>ines/m2</i>	Tpr om	Precip itacion	Clima	Vegetación	Suelo	Is ot m	Is oy t	n v di
1	190 7	- 103. 923	24. 590	Luis Moya	1	1	1	1	6	18. 47	36.33	BS1kw	Pastizal mediano abierto	Vertisol	16	50 0	1 1 0
2	193 7	- 103. 860	24. 699	Yerbaniz	1	1	0	1	6	18. 55	34.00	BWchw	Matorral bajo subespinoso	Xerosol	20	30 0	9 8
3	193 4	- 103. 854	24. 712	Zona transición	1	1	1	1	6	18. 55	34.00	BS1kw	Matorral bajo subespinoso	Xerosol	16	50 0	7 0
4	160 6	- 103. 699	24. 881	Cuencame	1	1	1	1	9	19. 88	33.67	BS1kw	Matorral bajo subespinoso	Rendzin a	16	50 0	1 1 4
5	145 7	- 103. 741	24. 987	Sitio 5	0	0	0	1	0	20. 37	30.67	BWchw	Matorral bajo subespinoso	Xerosol	20	30 0	5 9
6	130 8	- 103. 806	25. 130	Cuatillos	0	1	0	1	0	20. 95	25.33	BWchw	Matorral bajo subespinoso	Caztaño zem	20	30 0	7 2
7	124 1	- 104. 025	25. 293	Paso Nacional	0	0	1	0	0	21. 08	26.00	BS1kw	Matorral bajo subespinoso		20	30 0	1 9 4
8	129 5	- 104. 142	25. 299	Nazas	0	1	0	1	1	21. 03	26.67	BWchw	Matorral bajo subespinoso	Xerosol	20	30 0	1 2 1
9	142 6	- 104. 226	25. 389	San Luis del Cordero	0	0	0	1	0	20. 95	26.33	BWchw	Matorral mediano subespinoso	Litosol	20	30 0	1 3 5

10	157 4	- 104. 303	25. 424	San Pedro del Gallo	0	1	1	0	0	20. 78	24.00	BSohw	Matorral mediano espinoso	Litosol	20	30 0	1 6 6
11	161 8	- 104. 293	25. 488	San Luis del Cordero 2	0	0	0	1	0	20. 78	24.00	BSohw	Matorral bajo subespinoso	Rendzin a	20	30 0	1 4 6
12	168 0	- 104. 297	25. 748	Cinco de Mayo	0	0	1	1	1	19. 82	32.67	BSohw	Matorral mediano espinoso	Rendzin a	20	50 0	1 8 5
13	174 7	- 104. 411	25. 819	Dury	0	1	1	0	0	19. 43	36.33	BS1kw	Pastizal mediano abierto	Litosol	16	50 0	1 6 3
14	177 6	- 104. 468	25. 810	Dury 2	0	1	1	0	0	19. 02	38.33	BS1kw	Pastizal mediano arbofrutes cente	Litosol	16	50 0	1 6 2
15	182 9	- 104. 677	25. 796	Sitio 15 Dury-Zarca	0	1	1	1	0	18. 45	47.00	BS1kw	Pastizal mediano arbofrutes cente	Feozem	16	50 0	1 7 1
16	189 2	- 104. 721	25. 725	La Zarca	1	1	1	1	6	18. 23	48.33	BS1kw	Pastizal mediano arbofrutes cente	Litosol	16	50 0	2 0 1
17	191 7	- 104. 597	25. 463	El Casco	0	0	1	0	0	19. 43	35.00	BS1kw	Pastizal mediano arbofrutes cente	Vertisol	16	50 0	2 0 4
18	152 0	- 104. 612	25. 381	Tejada	0	1	1	0	4	20. 30	32.33	BS1kw	Pastizal mediano arbofrutes cente	Vertisol	16	50 0	1 9 7
19	141 1	- 104. 631	25. 018	Cuencas	0	0	1	0	0	19. 42	39.67	BS1kw	Matorral mediano arbofrutes cente	Rendzin a	16	50 0	1 6 5
20	138 9	- 104. 546	25. 145	Rodeo	1	1	1	1	7	20. 77	33.67	BS1kw	Pastizal halófito abierto	Vertisol	16	50 0	1 5 1

21	1716	-104.511	24.989	Balcazar	0	0	0	0	0	19.90	41.33	BS1kw	Pastizal amacollado arbosufrutescente	Litosol	16	500	198
22	1913	-104.516	23.899	López Rayón	0	1	1	0	3	17.00	52.00	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Vertisol	16	500	182
23	1916	-104.462	23.852	Pino Suarez	0	1	1	1	4	17.45	50.00	BS1kw	Pastizal mediano abierto	Feozem	16	500	152
24	1927	-104.436	23.788	Boca del Mezquital 1	0	1	1	1	3	16.93	49.33	BS1kw	Matorral mediano arbosufrutescente	Rendzina	16	500	74
25	1984	-104.411	23.745	Boca del Mezquital 2	0	1	1	1	0	18.35	42.67	BS1kw	Pastizal halófito abierto	Litosol	16	500	164
26	1880	-104.395	23.692	Boca del Mezquital 3	0	1	1	1	0	18.35	42.67	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Xerosol	16	500	162
27	1598	-104.376	23.641	Atotonilco	1	1	0	0	1	20.20	40.33	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Rendzina	16	500	157
28	1876	-104.432	23.975	Ojo de Agua	1	1	0	0	1	17.68	53.00	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Litosol	16	500	165
29	1900	-104.375	23.995	Sitio 29	1	1	1	0	3	16.62	51.67	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Planosol	16	500	152
30	1854	-104.291	23.946	El Saltito	0	1	1	1	0	18.02	47.67	BS1kw	Pastizal halófito arbosufrutescente	Litosol	16	500	181

31	179 4	- 104. 258	23. 884	La Constancia	1	1	1	0	9	18. 20	44.00	BS1kw	Matorral mediano arbosufrutes cent	Xerosol	16	50 0	1 5 4
32	172 9	- 104. 251	23. 854	Nombre de Dios	0	0	1	1	4	18. 20	44.00	BS1kw	Pastizal halófito abierto	Litosol	16	50 0	1 6 4
33	182 4	- 104. 189	23. 843	Amado Nervo	1	1	0	1	9.6	18. 32	42.00	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutes cente	Xerosol	16	50 0	1 6 2
34	186 3	- 104. 134	23. 898	Lauro del Villar	1	1	0	0	7.5	17. 78	41.33	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutes cente	Rendzin a	16	50 0	1 5 7
35	187 2	- 104. 141	23. 961	La Colorada	0	1	1	1	11	17. 62	43.00	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutes cente	Vertisol	16	50 0	1 9 7
36	190 6	- 104. 055	23. 959	Villa Unión	0	0	1	1	0	17. 27	42.33	BS1kw	Matorral mediano arbosufrutes cente	Rendzin a	16	50 0	1 6 5
37	202 1	- 104. 053	24. 074	Cieneguilla	1	1	1	0	8	16. 52	45.33	BS1kw	Pastizal halófito abierto	Vertisol	16	50 0	1 5 1
38	210 3	- 104. 028	24. 145	El Ojo	0	1	0	0	0	15. 78	48.00	BS1kw	Pastizal amacollado arbosufrutes cente	Litosol	16	50 0	1 9 8
39	193 2	- 104. 481	24. 329	Carlos Real	1	1	0	1	4.2	18. 03	53.00	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutes cente	Litosol	16	50 0	1 8 2
40	192 7	- 104. 696	24. 384	Nicolas Bravo	1	1	1	1	5	18. 55	49.00	BS1kw	Pastizal mediano abierto	Feozem	16	50 0	1 5 2

41	1940	-104.674	24.082	El Obelisco	0	0	0	0	0	17.12	47.67	BS1kw	Matorral mediano arbosufrutescente	Rendzina	16	500	74
42	1901	-104.315	23.886	La Ermita	1	1	1	1	5.4	18.20	44.00	BS1kw	Pastizal halófito abierto	Litosol	16	500	164
43	1941	-104.891	25.956	Cruces	0	0	0	0	0	17.62	45.67	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Xerosol	16	500	162
44	1950	-104.6412	24.7019	10 de Octubre	1	1	0	1	7	18.05	49.67	BS1kw	Pastizal mediano arbosufrutescente	Rendzina	16	500	157
45	1734	-104.478	24.759	San Juan del Rio	1	1	1	1	7.2	20.15	44.00	BS1kw	Pastizal mediano abierto	Feozem	16	500	152

### Anexo 2.- Prueba de normalidad de variables climáticas

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Prec	.195	7	.200 <sup>*</sup>	.953	7	.756
temp	.195	7	.200 <sup>*</sup>	.910	7	.397
VV	.195	7	.200 <sup>*</sup>	.937	7	.610
Rad	.172	7	.200 <sup>*</sup>	.961	7	.831
HR	.237	7	.200 <sup>*</sup>	.924	7	.502
DV	.186	7	.200 <sup>*</sup>	.963	7	.844
INDICE ARIDEZ	.316	7	.054	.801	7	.052

**Anexo 3.-** Tabla de correlaciones de Pearson de las variables climáticas y su significancia (p)

		Prec	temp	VV	Rad	HR	DV	INDICE ARIDEZ
Prec	Pearson Correlation	1	-.600	-.336	.303	.742	.437	.224
	Sig. (2-tailed)		.154	.461	.509	.056	.327	.630
temp	Pearson Correlation	-.600	1	.244	-.781*	-.794*	.326	-.301
	Sig. (2-tailed)	.154		.598	.038	.033	.475	.512
VV	Pearson Correlation	-.336	.244	1	-.405	-.665	-.216	-.687
	Sig. (2-tailed)	.461	.598		.368	.103	.641	.088
Rad	Pearson Correlation	.303	-.781*	-.405	1	.644	-.552	.193
	Sig. (2-tailed)	.509	.038	.368		.119	.199	.679
HR	Pearson Correlation	.742	-.794*	-.665	.644	1	.172	.634
	Sig. (2-tailed)	.056	.033	.103	.119		.713	.126
DV	Pearson Correlation	.437	.326	-.216	-.552	.172	1	.331
	Sig. (2-tailed)	.327	.475	.641	.199	.713		.468
INDICE ARIDEZ	Pearson Correlation	.224	-.301	-.687	.193	.634	.331	1

---

	Sig. (2-tailed)	.630	.512	.088	.679	.126	.468	
--	-----------------	------	------	------	------	------	------	--

