

**Informe final\* del Proyecto R023**  
**Fragmentación de la Selva de los Tuxtlas y sus efectos genéticos y ecológicos en los**  
**escarabajos del estiércol (Coleoptera: Scarabaeinae)**

**Responsable:** Dr. Mario Enrique Favila Castillo  
**Institución:** Instituto de Ecología AC  
División de Ecología y Comportamiento Animal  
Departamento de Ecología y Comportamiento Animal  
**Dirección:** Km 2.5 Antigua Carretera a Coatepec # 351, Congregación El Haya,  
Xalapa, Ver, 91070 , México  
**Correo electrónico:** [scarab@sun.ieco.conacyt.mx](mailto:scarab@sun.ieco.conacyt.mx)  
**Teléfono/Fax:** Tel: 01(28)42 1800 ext. 4102 Fax: 01(28)42 3002, 01(28)42 1800,  
01(28)12 1897  
**Fecha de inicio:** Septiembre 30, 1998  
**Fecha de término:** Diciembre 15, 2000  
**Principales resultados:** Informe final  
**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Favila Castillo, M. E. 2001. Fragmentación de la Selva de los Tuxtlas y sus efectos genéticos y ecológicos en los escarabajos del estiércol (Coleoptera: Scarabaeinae). Instituto de Ecología AC. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. R023.** México D. F.

**Resumen:**

En este proyecto se analizará el efecto de la fragmentación de la selva de los Tuxtlas sobre la estructura génica de dos especies de escarabajos del estiércol (Scarabacidae: Scarabacinae), exclusivas de selvas, así como de dos especies que siendo de selvas, son capaces de salir de ella y transitar por los pastizales y por los cultivos. Al mismo tiempo se efectuará un estudio sobre el efecto de la fragmentación de la selva sobre la composición de especies y la estructura del gremio de los Scarabacinae, reconocidos por su importante función en los ecosistemas tropicales y por ser un excelente grupo de insectos para monitorear la biodiversidad. Para el análisis de la estructura génica de las especies en estudio se colectarán escarabajos en siete sitios entre el volcán San Martín, el Santa Marta y el San Martín Pajapan. Los escarabajos colectados de las 4 especies serán analizados con la técnica de amplificación aleatoria de segmentos polimórficos (RAPDs), para determinar que tan extensa es la diferenciación genética dentro y entre las poblaciones de cada una de las especies. En los mismos sitios y en otros fragmentos de selva de diferentes tamaños se colocará la fauna de escarabajos copro-necrófagos.

- 
- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
  - \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

## INTRODUCCIÓN

En el presente proyecto se analizó el efecto de la fragmentación de la selva de Los Tuxtlas, Ver., sobre la estructura génica de dos especies de escarabajos del estiércol (Scarabaeidae: Scarabaeinae) exclusivas de selvas, y de dos especies de selvas que son capaces de salir de ella y transitar por los pastizales y cultivos. Al mismo tiempo se llevó a cabo un estudio del efecto de la fragmentación de la selva sobre la composición de especies y la estructura del gremio de los Scarabaeinae, reconocido por su importante función en los ecosistemas tropicales y por ser un excelente grupo de insectos para monitorear la biodiversidad (Halfler y Favila, 1993; Favila y Halffter, 1997).

## METODOLOGÍA GENERAL

Después de las salidas de prospección (enero y febrero), se establecieron dos recorridos de trampeo. El primero abarcó el Volcán San Martín Tuxtla hasta las estribaciones de la Sierra de Santa Marta, por la zona de Coyame (recorrido I) (Fig. 1, véase Cuadro 1, en el que se da la información de las localidades), mientras que el segundo incluyó al Volcán San Martín Pajapan, los acahuales que lo unen con la Sierra de Santa Marta y las estribaciones de esta misma (recorrido II). En cada uno de los sitios, por salida, se colocaron dos juegos de cuatro trampas (dos cebadas con excremento humano y dos con pescado) separando cada juego 100 metros, con el objeto de reforzar nuestro muestreo y tener una mejor representatividad de las especies de cada sitio. Para la mayoría de los tipo de vegetación analizados también colectamos las especies de pastizales aledaños a los bosques, con lo que logramos tener una visión regional de las especies de la selva y de las áreas abiertas. Al igual que en los bosques, en cada pastizal colocamos dos juegos de cuatro trampas (dos copros y dos necros) separando 100 metros cada juego. Para evaluar el esfuerzo de captura en el presente análisis, se efectuó la comparación de las especies encontradas con las esperadas utilizando en la mayoría de los casos el estimador no paramétrico MMMean, ampliamente recomendado por Colwell y Coddington, 1995, y comunicación personal). Esto fue debido a que los datos fueron muy variables por sitio y a que cuando se utilizaron los modelos asintóticos propuestos por Soberón y Llorente (1993), los datos no siempre cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

De esta forma, se uniformizó el criterio con un solo estimador no paramétrico, aunque en los cuadros donde se presentan las comparaciones para evaluar el esfuerzo de captura se ponen otros estimadores e información adicional que sale de las corridas del programa EstimateS de Colwell (1997).

En cada sitio, tanto en selva como en pastizal, se registraron los parámetros ambientales propuestos en el proyecto: temperatura ambiental, temperatura del suelo, humedad relativa del ambiente, humedad relativa del suelo, velocidad del viento, dureza del suelo, hora de lectura de parámetros (Archivo: ambiente).

El recorrido 1 se efectuó siete veces (enero, abril, junio, agosto y octubre de 1999, y febrero del 2000). El recorrido 11 se efectuó tres veces (febrero y junio del 99, y agosto del 2000). Varias salidas al campo tuvieron que ser suspendidas, inclusive ya estando en campo, debido a las intensas lluvias en la región, que provocaron desbordamientos de ríos. Todo esto afectó el trabajo de campo y el número de sitios que finalmente se pudieron trabajar a lo largo del periodo vigente del proyecto (la figura 1 muestra todos los sitios recorridos, pero el cuadro 1 sólo los analizados). Sin embargo, se lograron cumplir los objetivos propuestos en el proyecto.

#### Nivel *genético*

El objetivo general de este apartado fue el evaluar si la estructura poblacional de las especies a estudiar se ajustaba a alguno de los tres modelos poblacionales siguientes: aislamiento por distancia, salto en piedra o panmictico. El análisis genético de cada especie seleccionada se realizó por medio de la técnica de amplificación aleatoria de segmentos polimórficos del ADN (RAPD). En este estudio se usaron primers diseñados al azar de 10-bases cada uno y con un contenido de G+C de 50%. El protocolo de extracción, concentración, purificación y amplificación de ADN de los escarabajos se presenta en el Apéndice 1.

En el planteamiento original del proyecto se propuso trabajar con las siguientes especies: *Canthon cyanellus cyanellus*, *Coprophanaeus telamon corythus*, representando ambas a especies de amplia distribución, y *Canthon femnoralis* y *Canthon euryscelis*, como especies restringidas a selvas. Durante los muestreos no fue posible capturar en un buen número de sitios a las dos últimas especies; empero, se encontraron dos especies que resultaron prácticamente exclusivas de selvas, pero ampliamente distribuidas en los fragmentos de bosque de diferente tamaño estudiados: *Canthidium*

*centrale* y *Deltotilurn pseudoparile*. De esta forma el grupo de especies finalmente analizado fue: *Canthon cyanellus cyanellus*, *Coprophaneus telamon corythus* especies eurióticas, y *Canthidium centrale* y *Deltotilurn pseudoparile*, especies exclusivas de selvas pero de amplia distribución en Los Tuxtlas (véase más adelante).

En los cuadros 2 y 3 se presentan los primers que resultaron ser polimórficos para tres de las cuatro especies que se analizaron. Se estableció un criterio de calidad de los resultados obtenidos con

cada primer, de forma tal que los que se analizaron finalmente fueron aquellos en los que las bandas se definieron claramente y además fueron primers claramente polimórficos.

A continuación se presentan los sitios por especie que se pudieron analizar con la técnica de RAPD. Los números de zona son los mismos que los de la figura 1 y del cuadro 1. Para todas las especies se trató de mantener el mismo número de ejemplares analizados por sitio para hacer una comparación más precisa, aunque no siempre se logró esto.

NO. DE LOCALIDAD	<i>Canthon cyanellus</i>	<i>Canthidium centrale</i>	<i>Coprophaneus tellamon</i>
5 Cerro Megallo			
8 Cerro El Gallo	x		
16 Pipiapan	x	x	
18 Cabaña del Tigre	x		
19 Barranca Magallanes	x		
22 Acahual Simplicio	x		
29 Acahual Canul	x		
34 Estación Biológica	x	x	
35 Rancho Buena Vista	x		
37 Acahual Gpe. Victoria	x		
38 Selva Gpe. Victoria	x		
40 Coyame	x		

Las distancias en metros entre los sitios de muestreo para cada especie se presenta en el Apéndice 3,A,B,C. La precisión de estos datos es de  $\pm 10$  metros y fueron obtenidos del Sistema de Información Geográfico de la región de Los Tuxtlas, por la Fis. Rosario Landgrave del Instituto de Ecología, A.C.

Las especies mejor representadas fueron *Canthidium centrale* y *Coprophaneus telamon*; sin embargo, los sitios en los que se encontraron ejemplares de *C. cyanellus*, permitieron también tener una buena

idea de la variabilidad genética intrapoblacional e interpoblacional de esta especie. El caso de *D. pseudoparile* fue muy desafortunado, ya que se colectó prácticamente en los mismo sitios de *G centrale*, pero no se pudieron encontrar primers polimórficos, esto podría tener una explicación biológica (véase resultados). Como se comentó en el informe número dos de este proyecto, las fuertes lluvias durante el periodo de estudio afectaron la actividad general del grupo de escarabajos copronecrófago estudiado, lo que dificultó la captura y el traslado de los ejemplares al laboratorio para su posterior análisis. Además, durante el desarrollo de proyecto se fueron cambiando las especies a estudiar debido a que nos se encontraban las que originalmente se habían propuesto, lo que provocó que no se tuvieran todos los ejemplares deseados para el análisis. Cabe comentar aquí, que otro problema que se nos presentó fue la falla del termociclador en el mejor momento del trabajo de laboratorio. Esto provocó que se buscara efectuar los análisis en otro aparato, pero aunque se efectuaron muchas pruebas, no se pudieron reproducir los resultados ya obtenidos, por lo que tuvimos que esperar, en el último periodo del proyecto, el termociclador para reiniciar los análisis, ya con un presupuesto muy limitado. Todo esto fue oportunamente comunicado a la CONABIO. A pesar de todos estos problemas, consideramos que los resultados obtenidos fueron muy buenos.

. Para probar los tres modelos poblacionales (aislamiento por distancia, salto en piedra o panmictico) se efectuaron los siguientes análisis:

Las bandas o marcadores RAPD se registraron como datos de presenciaausencia con lo que se construyó para cada especie una matriz de datos binarios (Apéndices 2A,B,C)\_ Para estudiar la variación de los individuos de cada población, a cada matriz se le aplicó el índice de Jaccard,  $F = \frac{M_{es}}{M_{es} + M_{xy} - N_{t}}$ , donde  $M_{es}$ , representa el número de bandas compartidas entre los pares de poblaciones,  $M$ , es el número total de bandas en la matriz de datos y  $M_{xy}$  es el número de bandas en las distintas comparaciones pareadas. La matriz resultado de aplicar el índice de Jaccard fue transformada a una matriz de distancias euclideanas con el objeto de comparar las poblaciones. Con esta matriz se efectuó un análisis molecular de la varianza (Excoffier et al., 1992), lo que dio la varianza dentro de las poblaciones (exclusiva de las poblaciones) y la varianza entre poblaciones (la que comparten las poblaciones). Se obtuvo el estadístico PHI, conocido como FST global . Si el valor de FST global es cero tendremos panmixia, es decir, todas las poblaciones son similares desde el punto de vista

genético, por lo que la variación entre poblaciones debe ser del 100%, por lo que la variación dentro de las poblaciones va a ser cero. Si  $F_{ST}$  es igual a 1 las poblaciones estarán totalmente aisladas, subdivididas, por lo que la varianza dentro de las poblaciones será igual al 100% y la varianza entre

poblaciones será cero.

El flujo génico o número de migrantes por generación ( $N_m$ ), se despejó a partir de la fórmula  $F_{ST} = 1 / (1 + 4N_m(n-1))$ , en donde  $n(n-1)$  es un factor de corrección cuando se tienen pocas poblaciones. Valores de  $N_m$  arriba de 1 reflejan un flujo génico importante, lo que promovería panmixia, valores por debajo de 1 implican la eventual subdivisión de las poblaciones por falta de flujo. Con las  $F_{ST}$ 's pareadas se construyó una matriz de distancias interpoblacional. Con esta matriz y utilizando el índice de coancestría, se obtuvo un dendrograma de distancias interpoblacionales con el método de agrupación del vecino más cercano. El dendrograma, nos permitió ver la relación entre las poblaciones, que fue analizado en un contexto espacial, ya que conocemos las distancias geográficas entre los sitios estudiados (véase apéndices 3A,B,C). Un análisis de componentes principales de sitios (ACP), a partir de la matriz de las  $F_{ST}$ 's pareadas nos permitió analizar también la relación entre poblaciones. Finalmente, se obtuvo la correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica con la prueba de Mantel después de 1000 permutaciones. Si hubiera una relación entre distancia geográfica y distancia genética, estamos ante un modelo de aislamiento por distancia; si la recta fuera paralela al eje de las x estaríamos ante un modelo de panmixia. Finalmente, si la relación fuera de 0.5 indicaría que estamos ante la presencia de un modelo de salto en piedra, en donde las poblaciones vecinas más próximas se estarían conectando, pero no las lejanas. Con toda esta información, fue redundante sacar el índice de diversidad de Shannon, por lo que se descartó en este análisis.

## RESULTADOS NIVEL GENÉTICO *Canthidium centrale*

El índice de Jaccard mostró (Fig. 2) que los individuos en general se agruparon por sitios, aunque algunos individuos se mezclaron entre las poblaciones. Esta variación fue absorbida en los siguientes análisis en los que los individuos de cada población fueron agrupados a cada sitio. El AMO VA dio una varianza entre poblaciones del 20.60% y una varianza dentro de poblaciones del 79.4%. Es decir un 20.60% de la varianza genética es compartida entre las poblaciones, y el resto de la varianza (79.4%) es exclusiva de las poblaciones. El hecho de que aproximadamente un 80% de la varianza sea exclusiva de las poblaciones, sugiere que las poblaciones de *Canthidium centrale* actualmente están quedando aisladas, posiblemente debido al efecto de la fragmentación, aunque hay que hacer más estudios (véanse recomendaciones más adelante) para poder afirmar con mayor certeza esto. Por otra parte, el que un 20% de la variación genética provenga de las diferentes poblaciones sugiere que *Canthidium centrale* ha compartido, desde una perspectiva histórica, un porcentaje de variación genética entre sus poblaciones en la región de Los Tuxtlas. El valor de  $F_{ST}$  fue de 0.26, significativamente diferente de cero ( $p < 0.001$ ), lo que refleja los resultados del AMO VA, e indica que las poblaciones están actualmente estructuradas, pero que todavía comparten cierta similitud genética (aprox. 20%).

El Nem (número de migrantes por población) fue de 0.76, menor a uno, lo que refleja también que las poblaciones pueden estar estructuradas y que hay un flujo reducido entre ellas. En el dendrograma obtenido con el coeficiente de coancestría (Fig. 3) se observa que las poblaciones más alejadas geográficamente [Estación (34) y Victoria (38)] son las más extremas en el dendrograma. Buena Vista (35), Coyame (40) y los cerros Megallo (5) y el Gallo (8) forman un grupo muy similar, lo que habla de una cierta continuidad genética entre estos sitios, que geográficamente están en línea, justo entre el cinturón de vegetación que une al Volcán San Martín Tuxtla y a la Sierra de Santa Marta (véase Fig. 1). Esto refleja la posible continuidad genética que hubo en el pasado, cuando la selva de la región era también un continuo de vegetación, Pipapan (16) que es parte de este corredor, pero próximo a la Sierra de Santa Marta, se unió a las poblaciones de esta sierra [Acahual Canul (29), Magallanes (21) y Selva Victoria (38)]. Una vez más, esto sugiere una continuidad entre poblaciones en un tiempo pretérito.

El ACP de sitios (Fig. 4) muestra claramente como las poblaciones del corredor San Martín Santa Marta [Megallo (5), El Gallo (8), Buena Vista (35), Pipapan (16) y Coyame (40)] formaron un grupo, que se relacionan con el Acahual Canul (29) de la Sierra de Santa Marta. La Estación (34) queda otra vez aislada y los sitios restantes de la zona del Santa Marta forman grupos independientes. Finalmente no se encontró una relación entre la distancia genética y la distancia geográfica con la prueba de Mantel ( $r = 0.13$ , Fig. 5) lo que apoya los datos del AMO VA y de Nem de que se empieza a notar cierto aislamiento o

estructuración de las poblaciones, pero que hubo cierta panmixia entre las poblaciones históricamente.

#### *Coprohanaeus telamon corythus*

El índice de Jaccard mostró también que los individuos en general se agruparon por sitios, aunque algunos individuos se mezclaron entre las poblaciones (Fig. 6). El AMOVA mostró que un 22.94% de la varianza genética es compartida entre las poblaciones, y el resto de la varianza (77.06%) es exclusiva de las poblaciones. Esto sugiere que para *Coprohanaeus telamon corythus* al igual que para *Canthidium centrale*, sus poblaciones han compartido, desde una perspectiva histórica, un porcentaje de variación genética entre sus poblaciones en la región de Los Tuxtlas; sin embargo, el hecho de que el 77% de la varianza sea exclusiva de las poblaciones sugiere que las poblaciones actualmente están quedando aisladas posiblemente debido al efecto de la fragmentación. El valor de  $F_{ST}$  fue de 0.26 que refleja los resultados del AMOVA, e indica que las poblaciones todavía comparten cierta similitud genética.

El  $N_m$  (número de migrantes por población) fue de 0.538, lo que indica un flujo reducido entre las poblaciones. El dendrograma obtenido con el coeficiente de coancestría (Fig. 7) muestra que las poblaciones más extremas geográficamente [Estación (34) y el Acahual Victoria (37)] son las más alejadas en el dendrograma. El Acahual Victoria se une a su población más cercana, el Acahual Simplicio (22), y a su vez estas dos poblaciones se unen a Pipiapan, que está en el corredor San Martín-Santa Marta, lo que indica también cierta continuidad genética de las poblaciones desde una perspectiva histórica, que aún se conserva. Buena Vista (35), que está en un sitio intermedio geográficamente se une al grupo anterior, sugiriendo fuertemente esta continuidad de las poblaciones, que ahora empiezan a fragmentarse. Claramente, el corredor San Martín-Santa Marta es un sitio estratégico de conservación para mantener el flujo génico entre las poblaciones.

El ACP de sitios (Fig. 8) muestra que las poblaciones del corredor San Martín-Santa Marta (Buena Vista y Pipapan) forman un grupo, que se relaciona con el Acahual Victoria y el Acahual Simplicio de la Sierra de Santa Marta. La Estación queda otra vez aislada. Finalmente no se encontró una relación entre la distancia genética y la distancia geográfica con la prueba de Mantel (Fig. 9); pero el valor de  $r = 0.33$ , es cercano a 0.5, lo que indica que podríamos estar ante un modelo de salto en piedra, con una estructuración en mosaico de las poblaciones, en donde cada una de ellas tiene más posibilidades de intercambiar sus genes con las más próximas, aunque los valores del AMOVA y del flujo génico manifiestan que se empieza a notar cierto aislamiento de las poblaciones.

### *Canthon cyanellus cyanellus*

El índice de Jaccard mostró también que los individuos en general se agruparon por sitios, aunque algunos individuos se mezclaron entre las poblaciones (Fig. 10). El AMO VA mostró que un 25% de la varianza genética es compartida entre las poblaciones, y el resto de la varianza (75.06%) es exclusiva de las poblaciones. Esto sugiere que las poblaciones de *Canthon cyanellus cyanellus* al igual que las de las otras especies estudiadas han compartido, desde una perspectiva histórica, un porcentaje de variación genética entre sus poblaciones en la región de Los Tuxtlas, sin embargo, el hecho de que el 75% de la varianza sea exclusiva de las poblaciones sugiere que las poblaciones actualmente están quedando aisladas posiblemente debido al efecto de la fragmentación. El valor de  $F_{ST}$  fue de 0.249, lo que refleja los resultados del AMO VA, e indica que las poblaciones todavía comparten cierta similitud genética.

El  $N_m$  (número de migrantes por población) fue de 0.33, lo que indica un flujo muy reducido entre las poblaciones, pero como fueron pocas poblaciones estudiadas, estos resultados hay que tomarlos con reserva. El dendrograma obtenido con el coeficiente de coancestría (Fig. 11) muestra que las poblaciones más extremas geográficamente [Estación (34) y Acahual Simplicio (22)] son las más alejadas en el dendrograma: mientras que el Acahual Simplicio se une a su población más cercana, la selva El Tigre (18), muy próxima a la Sierra de Santa Marta, pero del lado del corredor San Martín-Santa Marta (véase Fig. 1), lo que indica también cierta continuidad genética de las Poblaciones desde una perspectiva histórica, que aún se conserva. Se vuelve a manifestar la importancia del corredor San Martín-Santa Marta como un sitio estratégico de conservación para mantener el flujo génico entre las poblaciones.

El ACP de sitios (Fig. 12) con solo tres sitios es un poco difícil de interpretar, pero muestra a las poblaciones aisladas, lo que podría indicar un cierto aislamiento genético entre ellas. Finalmente la prueba de Mantel (Fig. 13), dio un valor de  $r$  que definitivamente no se puede interpretar hasta que se tengan más poblaciones de esta especie.

### Conclusiones generales para las tres especies estudiadas

1) Las poblaciones de *Canthidium centrale*, *Coprophanes telamon corythus* y *Canthon cyanellus cyanellus* reflejan cierto aislamiento, con un flujo génico reducido entre las poblaciones.

2) Las poblaciones de las tres especies en la Región de Los Tuxtlas aún comparten un porcentaje de variabilidad genética, lo que sugiere que anteriormente, cuando la selva era un

continuo, había más intercambio genético entre las poblaciones de lo que ocurre actualmente.

3) Si se incrementa el aislamiento entre las poblaciones, atribuido en este trabajo a la fragmentación, el valor de FST disminuirá, lo que provocará un menor flujo génico entre las poblaciones y un mayor aislamiento genético entre ellas.

4) Todo parece indicar que las poblaciones de estas tres especies se comportaban como una población panmictica en Los Tuxtlas cuando la selva era un continuo de vegetación en la región (aunque en el caso de *Coprophanaeus telamon corythus*, la estructura poblacional podría ser del tipo salto en piedra). Posiblemente esa continuidad poblacional y genética se está rompiendo actualmente y estamos empezando a ver las consecuencias de la fragmentación sobre estas especies, debido a que una parte importante de la variación genética se explica por la variación dentro de poblaciones, y a que hay un flujo génico reducido entre las poblaciones.

5) Es perentorio detener la fragmentación de la selva en la región para conservar las poblaciones en un buen estado de "salud genética y ecológica".

6) El corredor San Martín-Santa Marta es un sitio estratégico de conservación para mantener el flujo génico entre las poblaciones de los dos grandes macizos montañosos, San Martín Tuxtla y, Santa Marta. Todavía no hay suficiente información para la relación entre Santa Marta y, San Martín Pajapan, pero los Acahuals que aún quedan posiblemente están funcionando como corredores, ya que se agruparon tanto en los dendrogramas con el coeficiente de coancestría y en los gráficos de ordenación de sitios, lo que indica continuidad entre sus poblaciones.

7) Es igualmente importante continuar y profundizar este tipo de estudios para dar mejores elementos de conservación de la Región y en particular de la Reserva de la Biosfera "Los Tuxtlas".

## NIVEL ECOLÓGICO

En toda la región analizada se colectaron en total 44 especies de Scarabaeinae (Cuadro 4), además de otras especies coprófagas y necrófagas de las siguientes familias: Hybosorinae (2 especies) y Silphidae (1 especie). Especímenes de dos posibles especies de la familia Aphodidae fueron escasamente colectados, por lo que se excluyeron del trabajo. Favila y Díaz (1997) reportan 34 especies pertenecientes a la subfamilia Scarabaeinae para la estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas" de la UNAM, incluyendo las especies de pastizales aledaños. Es decir que en este trabajo se incrementa en un 22.73% el número de especies para la región. A pesar de esto, varias de las especies reportadas por Favila y Díaz (1997), no se colectaron durante este trabajo, muy posiblemente porque las lluvias afectó la actividad de los escarabajos durante el periodo de colectas. Estas especies fueron: *Pseudocanthon perplexes* (LeConte), *Eurysternus angustulus* (Harold), *Eurysternus mexicanus* Harold, *Sulcophanaeus chryseicollis* (Harold), y *Canthidium aff perceptibile* Howden y Young. El caso de las especies del género *Uroxys* es digno de comentarse. De acuerdo a Favila y Díaz (1997), basados en Morón (1979), existen en la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas" *Uroxys boneti* Pereira y Halfiter y *Uroxys bidentis* Howden y Young; sin embargo, durante el estudio de este proyecto se encontró que en realidad *Uroxys* es un conjunto de cuatro especies, tres de las cuales aún no han sido descritas y nombradas aquí *Uroxys sp. 1*, *Uroxys sp. 2* y *Uroxys sp. 3*, además de que se encontró a *U. transersifrons* (Cuadros 4 y 5). Es decir, de dos especies de *Uroxys* pasamos a 4 especies encontradas en la región de Los Tuxtlas. Morón y Blackaller (1997) reportan además a *Eurysternus velutinnus* Bates y a *Onthophagus nasicornis* Harold para la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas". De esta forma, podemos considerar que en la región de Los Tuxtlas hay unas 51 especies de la familia Scarabaeinae. Esta estimación coincide con el dato del índice MMMean para toda la región (Cuadro 6), que arrojó un valor de cerca de 51 especies copro-necrófagas, después de haber corrido el programa EstimateS (Colwell, 1997) para la matriz de todos los sitios estudiados y todas las colectas efectuadas. Considero, por mi experiencia, que bien podrían encontrarse conservadoramente hablando, unas cinco nuevas especies en la región con un muestreo más intensivo. *Scatimus ovatus* es un nuevo registro para Los Tuxtlas, y esto se debe a que se colectó en bosque mesófilo de montaña o en sitios próximos al bosque mesófilo de montaña. Análisis de sitios

En el cuadro 5 se presenta la matriz de presencia ausencia de las especies en cada uno de los sitios mejor maestreados. Los tipos de vegetación muestreados fueron: bosque mesófilo de montaña, encinal, selva alta perennifolia, selva mediana perennifolia y sus correspondientes acahuales y pastizales. Los sitios mejor colectados se agruparon por tipo de vegetación y tamaño de los fragmentos estudiados para empezar a entender mejor el sistema estudiado. Con base en los tipos de vegetación y tamaños de fragmentos se agruparon a las selvas y a los acahuales y para cada sitio se efectuaron corridas en el programa EstimateS para evaluar el esfuerzo de captura en cada uno de ellos, incluyendo sus pastizales próximos (Cuadro 6).

Los tamaños de las selvas fueron: G = más de 500 hectáreas; M = entre 100 y 300 hectáreas, CH = 60-90 hectáreas, F = menos de 40 hectáreas. Para los sitios de las selvas medianas grandes y utilizando únicamente en la mayoría de los casos el valor de MMMean se logró capturar aproximadamente el 63.5% de las especies esperadas, esto fue debido a que este conjunto de sitios se encontraba en la zona II (Santa Marta-San Martín Pajapan, que llamaremos aquí Pajapan), que como ya se explicó, no se pudo muestrear tan fuerte como los sitios de la zona I. En los sitios de las selvas medianas de tamaño intermedio se logró capturar el 78% de las especies potencialmente presentes en estos tipos de ambientes. En los sitios de colecta de las selvas medianas chicas logramos un 80.41% de eficiencia. En los fragmentos de selva mediana un 53%, pero este resultado debe de ser tomado con reserva, ya que son sitios muy pequeños (menos de 10 hectáreas), por lo que es difícil pensar que alberguen una gran cantidad de especies. Sin embargo, hay que reconocer, que por estar en la zona II, están realmente submuestreados. Para el caso de los sitios de las selvas altas grandes, medianas y chicas se logró una eficiencia de muestreo que osciló en un 80%, lo que manifiesta que estos sitios fueron mejor muestreados al estar en la zona I de trabajo.

En el cuadro 7 se presentan las especies más importantes de acuerdo a su abundancia relativa y a su biomasa para cada sitio, siguiendo la clasificación de selvas, acahuales y pastizales del cuadro 6. Aunque se observa cierta heterogeneidad en las especies importantes de cada sitio para las selvas medianas grandes (más de 500 hectáreas), *Deltochilum pseudoparile* y las dos especies de *Coprophanaeus* son las más importantes en términos generales, tanto por su abundancia relativa como por su biomasa. Es importante mencionar que *Coprophanaeus telamon corythus* fue considerada en este proyecto como una de las especies a analizar desde el punto de vista genético, debido a su amplia distribución en zonas tropicales (Halffter, Favila y Arelano, 1995). Sin embargo, en 1997, la especie es descompuesta en dos especies, *Coprophanaeus telamon corythus* y *Coprophanaeus gilli*. Es decir, que si esto no se hubiera hecho, en este momento estaríamos hablando de sólo una especie en los análisis y no de dos como ahora estamos haciéndolo. Yo considero, que la separación de la especie original en dos nuevas especies no es clara y que se requieren más estudios taxonómicos y ecológicos para tener una conclusión más satisfactoria. Si fuera el caso de que existan las dos especies, ambas podrían servir para estudios de competencia, ya que son prácticamente lo mismo y coexisten en muchos microhabitats de Los Tuxtlas. En los sitios de selvas altas grandes, una vez más, *D. pseudoparile* es muy importante, junto con *Canthidium centrale*, ambas fueron una gran sorpresa en este proyecto, por su amplia distribución en la región, pero limitada a selvas. Esta situación fue la razón por la que se cambiaron las especies a estudiar desde el punto de vista genético. Las especies importantes, aunque van variando en cada sitio del resto de las selvas, generalmente son *D. pseudoparile* y *Canthidium centrale*. El asunto cambia cuando se analiza a las selvas de menos de 40 hectáreas en donde, aunque se mantienen *C. centrale* y *C. relaman* como especies dominantes en la mayoría de ellas, hay una mayor heterogeneidad de especies

importantes, esto es todavía más claro en los acahuales pequeños de la región de Pajapan. Esto sugiere que los fragmentos pequeños de selva son los sistemas más inestables; sin embargo estudiarlos aisladamente, por el momento fue difícil.

Para tratar de entender mejor el comportamiento de esta diversidad de sitios, se efectuó un clasificación de dichos sitios en función de sus especies por medio de un análisis divisivo de la información (Ezcurra y Equihua, 1984 ). La *figura 14* muestra ocho *grupos de sitios, con las especies* que definieron cada agrupación. El grupo I estuvo conformado principalmente por acahuales menores de 10 hectáreas y sus pastizales aledaños de la región de Pajapan (sitios 21, 23, 27, 29, 31,43), aunque incluye a un pastizal del corredor San Martín-Santa Marta (sitio 44). Además, están en este grupo el bosque mesófilo de montaña (sitio 13) y el encinal cercano a este bosque (sitio 42). Seguramente si se hubieran formado más grupos estos dos últimos sitios hubieran quedado separados del grupo 1, El grupo 11 esta formado por pastizales (20 y 24) de la zona de Santa Marta; así que podemos considerar a estos dos grupos de la clasificación (I y II) como un conjunto casi exclusivo de acahuales pequeños y sus pastizales correspondientes de la región de Pajapan (véase figura 1, y cuadro 1). El grupo III, está formado prácticamente por pastizales del San Martín Tuxtla (sitios: 4, 5, 7, 11, 41); el sitio 36 forma parte de este conjunto y es un pastizal más próximo a la sierra de Santa Marta. En esencia, el grupo 1, II, y 111, está conformado en su mayoría por acahuales pequeños y *pastizales*. *Se observa una diferencia* entre pastizales de la zona del San Martin Tuxtla y de la región de Pajapan, aunque hay una mezcla de ambos en los grupos formados. *Onthophagus landoltí* es la especie que separó a los pastizales y acahuales de cada región. Esta especie serviría como indicadora para los pastizales del San Martin Tuxtla. El otro gran grupo de sitios va del IV al VIII, y se caracteriza por agrupar selvas grandes, medianas y chicas de acuerdo a nuestra clasificación. La especie que separa a las selvas de los pastizales y los acahuales muy pequeños es *Deltochilum pseudoparile*, una especie, que ya vimos es dominante en los diferentes tipos de selva. El grupo IV está formado en su gran mayoría por sitios de selvas o acahuales chicos (sitios: 6, 9,17,22 aunque incluye selvas de fragmentos grandes de vegetación (sitios 32, y 30). Lo que es importante hacer nota aquí es que la agrupación es más difusa y abarca sitios del San Martín Tuxtla (6, 9, 32), del corredor San Martín-Santa Marta (17) y de la zona de Pajapan (22, 30). El grupo V esta formado por dos sitios antagónicos, el 33 que es un bosque mesófilo (pero que forma parte de la reserva de "Los Tuxtlas" de la UNAM, y tiene elementos de selva) y el 19 que es un acahual pequeño de la zona de Pajapan. Una vez más, las selvas muestran un comportamiento difuso de agrupación. Los grupos restantes (VI al VIII) están caracterizados *por Coprophanaeus gilli*, *El grupo VI* es la selva de la resevra "Los Tuxtlas de la UNAM (sitio 34). El grupo Vil, es una vez más un conjunto heterogéneo de selvas, que van desde el San Martín Tuxtla (12 y 8), hasta la Sierra de Santa Marta (38), pasando por el corredor San Martín-Santa Marta (18, 35, 40). El último grupo, el VIII está formado por selvas del Volcán San Martin Pajapan (28 y 25).

De esta forma, podemos concluir que las selvas y acahuales grandes, medianos y chicos, de acuerdo a nuestro criterio, forman un conjunto difuso de vegetación para los Scarabaeinae por donde han podido transitar libremente, aunque seguramente hay especies muy restringidas a ciertos microambientes. Estos resultados apoyan las conclusiones de los estudios genéticos, en donde se propone que las poblaciones estaban antiguamente distribuidas por toda la región de Los Tuxtlas, pero que ya empieza a notarse los efectos de la fragmentación sobre el flujo de las poblaciones! Así mismo, los resultados de este apartado también ponen de manifiesto la importancia del corredor San Martín-Santa Marta en el mantenimiento de este flujo poblacional y en la continuidad de las selvas de Los Tuxtlas. Los fragmentos de selva pequeños son altamente inestables y albergan una mezcla de especies de selvas y pastizales, pero podrían ser importantes como corredores para algunas especies. Se requieren más estudios para poder entender mejor el funcionamiento, y la posible función de estos microambientes para el mantenimiento de la biodiversidad.

#### *Análisis por tipos de vegetación*

Con esta información se efectuó un análisis agrupando a los sitios de los diferentes tipos de vegetación; esto se decidió, ya que todo parece indicar que hay una mezcla de especies en las diferentes selvas estudiadas. De esta forma, se agruparon los sitios de selvas altas y medianas en los tamaños previamente dichos: G = más de 500 hectáreas; M = entre 100 y 300 hectáreas; CH = 60-90 hectáreas, F = menos de 40 hectáreas. Los sitios de los pastizales se agruparon en un solo bloque. Para cada tipo de selva se analizó su eficiencia de muestreo (Cuadro 8), y se encontró que se colectó entre el 86 % y el 94 % de las especies esperadas en prácticamente todos los tipos de vegetación, con excepción de los fragmentos de selva mediana que son los más pequeños y que en el análisis de sitios también mostraron ser los menos muestreados. Esto nos indica, una vez más que estos sitios son altamente inestables y que aunque hay problemas de muestreo, se observan patrones extraños, ya que de acuerdo al estimador MMMean, se esperaba encontrar unas 30 especies en los fragmentos de selva media (que en particular son de menos de 10 hectáreas), lo cual es muy difícil de aceptar. La interpretación, podría ser más bien que están reflejando su condición de inestabilidad, ya que en estos sitios se mezclan especies de selva con especies de zonas abiertas como los pastizales. Se observa también en el cuadro 8 que el número de especies colectadas disminuyó de las selvas grandes a las chicas entre un 15% a un 25%, inclusive para el caso de las selvas medianas la reducción de las selvas grandes a las de tamaño intermedio es del 33%.

La figura 15 muestra las curvas de importancia para los diferentes tipos de vegetación, utilizando como criterio de ordenación la abundancia relativa y la biomasa. Se trataron de ajustar estas curvas a algún tipo de modelo de abundancia-diversidad (Log-normal, Modelo de MacArthur o Vara Partida y Serie Geométrica), pero no se encontró ningún ajuste a estas distribuciones teóricas, por lo que se describe solo su comportamiento gráfico. Para el caso de las curvas por abundancia relativa se

observa que a partir de aproximadamente la especie 10 de importancia, las pendientes de las curvas son mayores conforme se pasa de selvas grandes a chicas (tanto para selvas altas como para selvas medianas). Una tendencia similar, pero más atenuada se observa cuando se considera la biomasa (Fig. 15). Los fragmentos muestran un comportamiento similar al de las selvas para las curvas de abundancia relativa, pero al considerar la biomasa se nota como difiere en su parte final al resto de las selvas. Esta parte final de la selva representa a las especies raras de los acahuales pequeños, y como la rareza es uno de los atributos principales de la biodiversidad, habría que estudiar más a fondo estas especies en trabajos futuros.

Las curvas de importancia para los pastizales (Fig. 15) se separaron por pastizales de altura (pastizales cercanos al bosque mesófilo) y lo que aquí se definió como pastizales de zonas medias, que son el resto de los pastizales que se encontraron entre 100 a 600 m s.n.m. El comportamiento de las curvas de importancia de los pastizales medios es similar al de las selvas, lo que coincide con lo encontrado por Halffter, Favila y Halffter (1992) en selvas mexicanas. Esto se explica de la siguiente forma. Al talarse la selva quedan zonas abiertas que son invadidas por aquellas pocas especies que son capaces de salir de la selva y que habitan principalmente en claros o en bordes de selvas (op, cit.). Conforme pasa el tiempo y con la introducción de ganado, llegan nuevos colonizadores y en los pastizales viejos se observa una sustitución de especies dominando, obviamente, especies tropicales de zonas abiertas. Así que con el tiempo se reestructura la comunidad, y encontramos en estos ambientes un gremio bien conformado, que se manifiesta en varios de sus atributos ecológicos, como es en este caso en su distribución de especies por su importancia relativa. Anexamos la curva de importancia de especies para el pastizal de altura, ya que se observa un comportamiento diferente, más claramente observado en su curva por biomasa. La caída tan fuerte de biomasa a partir de la especie 7, refleja otra condición ecológica, que más bien podría estar relacionado al hecho de que en zonas altas solo unas pocas especies pueden sobrevivir y serán sobredominantes, quedando el resto relegadas.

El cuadro 9 muestra las especies dominantes en cada tipo de vegetación. Para las selvas altas y medianas de tamaño grande y medio, la tendencia es que *D. pseudoparile* y las dos especies de *Coprophanæus* sean las más importantes por abundancia relativa y por biomasa. Para las selvas chicas las cosas empiezan a cambiar, ya que hay otras especies que dominan, principalmente por su abundancia; tal es el caso de *Canthidium* sp.1 y *Uroxys* sp 3., inclusive *Uroxys* sp. 1 por su abundancia relativa es muy importante en las selvas medianas de tamaños grandes. Así mismo, *Canthidium centrale*, es dominante en algunas de las selvas. La historia de los fragmentos es diferente, en los fragmentos de selvas altas dominan *C. centrale* y *Uroxys* sp. 3 por su abundancia

relativa, y por biomasa *Dichotomius colonicus* y *Copris sallei*. En el caso de los fragmentos de las selvas medianas las especies dominantes por su abundancia relativa son *C: anthon euryscelis*, *Canthidium sp. 1*, y por biomasa *C. telamon* y *Dichotomus satanas*. Estos resultados son muy interesantes ya que *Dichotomius colonicus* es una especie oportunista de zonas abiertas y de amplia distribución en el trópico mexicano (Halffter, Favila y Halffer, 1992), mientras que *Canthon euryscelis* es una especie exclusiva de selvas (Favila y Díaz, 1997). Es decir en los fragmentos pueden dominar, ya sea por abundancia relativa o por biomasa, especies de ambientes antagónicos, las selvas o los pastizales. Lo que muestra una vez más el carácter altamente inestable, pero más altamente interesante, de este tipo de vegetación.

Se compararon las curvas de importancia para selvas altas y medianas en su conjunto para ver si mostraban diferencias entre sí y con el pastizal. En la figura 16 se observa que las curvas de ambas selvas tienen un comportamiento similar, lo que indica que muy probablemente para los escarabajos ambos tipos de selvas representan en general un continuo de vegetación en donde viven y transitan. Los pastizales, por su abundancia relativa no se distinguen mucho de las selvas; empero, por su biomasa se observa otro patrón para las especies de menor abundancia, ya que la biomasa de las especies más raras tiende a caer súbitamente en la parte última de la curva. En las selvas altas y medias en general dominan por su abundancia relativa *Canthidium sp. 1* y *D. pseudoparile*, mientras que por biomasa las especies importantes son las dos especies de *Cs oprophanaeus* y *Copris sallei* (Cuadro 9), lo que pone de manifiesto que para los escarabajos ambos tipos de vegetación son un continuo. Si esto es así, ¿qué especies dominan en general en la selva de los Tuxtlas? De acuerdo a nuestros resultados, por su abundancia relativa son *Deltochilum pseudoparile* y *C anthidium sp.1*, y por biomasa *Coprohanaeus gilli* y *Coprohanaeus telamon*.

La comparación entre selvas y pastizales en su conjunto se hace en la figura 16, y se observa claramente como las selvas en su conjunto tienen más especies que los pastizales, y tienen un comportamiento que se asemeja más a una distribución normal que los pastizales, en donde se ve como hay una pendiente muy pronunciada de su curva por biomasa.

#### *Análisis del gremio*

Se comparó la proporción de especies cavadoras y rodadoras, de especies coprófagas y necrófagas, y de especies nocturnas y diurnas, para los diferentes tipos de vegetación analizados. En términos generales, para los tres atributos del gremio se encontró que aproximadamente el 80% de las especies fueron cavadoras, coprófagas y nocturnas. No se encontraron diferencias significativas entre selvas y pastizales en cada uno de los atributos estudiados, por lo que lo único que se puede decir es que estos atributos no variaron de un tipo de vegetación a otro, incluyendo los pastizales, aunque las

especies fueron diferentes.

#### *Análisis espacial*

Se realizó un análisis de componentes principales para los sitios tomando como atributo de cada sitio las especies (Fig. 17a) y los parámetros ambientales tomados durante este proyecto. El análisis de sitios por especies separó a las selvas de los pastizales claramente, quedando los acahuales inmersos, principalmente en las selvas, aunque algunos se mezclaron con los pastizales. El bosque *mesófilo* y *el entinar* quedaron en una posición un tanto ambigua, pero en estos sitios se colectaron pocas especies, por lo que no se comenta nada aquí al respecto. Las especies que definen por sus cargas, la agrupación de selvas fueron *Canthidium centrale*, *U. pseudoparile t: anthon morsei*, todas especies exclusivas de selvas. Las especies asociadas a los pastizales fueron *Canthidium aff, puncticole, Canthon indigaceus* y *Coprophanaeus gilli*. Las dos primeras especies son típicas de pastizales y la última es una gran oportunista, como se ha visto en este trabajo. Los tres primeros ejes explicaron el 46% de la varianza total de los datos.

El análisis de componentes principales de los sitios por sus parámetros ambientales (Fig. 17b), también separó a las selvas y los acahuales de los pastizales. Los tres primeros ejes explicaron el 72 % de la varianza total de los datos. Luminosidades altas, mayores velocidades del viento, mayor compactación del suelo y humedad baja del suelo separaron los pastizales de las selva *en el eje 1*. Mientras que la temperatura del ambiente separó a los sitios para el eje dos. Esto se relaciona con la microdistribución de las especies, ya que las *especies de selva* viven en ambientes más húmedos, menos luminosos, y con temperaturas del suelo más bajas y suelos menos compactados que en los pastizales. Al fragmentarse la selva estos factores tienden a incrementarse, lo que afecta dramáticamente la sobrevivencia de las especies de selva. El conocer los requerimientos básicos para la sobrevivencia de las especies de selva es un aspecto fundamental para poder protegerlas. Esta es un área del conocimiento que debe ser profundizada en este grupo de insectos.

#### *Bosque mesófilo y encinal*

durante este trabajo, se colectó sistemáticamente en el bosque mesófilo de montaña del volcán San Martín Tuxtla. Consideré que este tipo de vegetación también debería de ser considerado en el análisis. Sin embargo, encontramos sólo 7 especies de unas 11 o más que podría tener el bosque *mesófilo* (Cuadro 6). Las especies más importantes por su abundancia relativa fueron (*Canthidium sp. 1* y *Coprophanaeus gilli* y por su biomasa *Coprophanaeus gilli* y *Coprophanaeus telamon*, lo que coincide con las selvas analizadas; así que, por el momento generalizamos nuestras conclusiones de

las selvas al bosque mesófilo, aunque se requiere de un mayor esfuerzo de captura para poder sacar conclusiones más robustas. La Perla (sitio 33), es también un bosque mesófilo, pero por estar a menor altitud y por formar parte de la Reserva de "Los Tuxtlas" de la UNAM, seguramente es una zona de transición entre la selva alta y el bosque mesófilo. En el encinal sólo se colectó a *Nicrophorus olidus* un representante de la familia Silphidae. Se incorporó al estudio porque representa una sustitución de especies en un vacío ecológico dejado por los Scarabaeinae en este sitio. Nunca pudimos colectar representantes de la subfamilia Scarabaeinae en el encinal.

#### Conclusiones para el análisis ecológico

1) La región de Los Tuxtlas conserva al menos 47 especies de escarabajos copro-necrófagos típicos de selvas. Estas especies se encuentran distribuidas entre los grandes manchones de selva que quedan en los Volcanes San Martín Tuxtla, Santa Marta, y San Martín Pajapan, así como en fragmentos de selva de diferente tamaño en el corredor San Martín-Santa Marta, y en acahuales pequeños entre la sierra de Santa Marta y el San Martín Pajapan.

2) Hay una pérdida de especies conforme se van reduciendo los fragmentos de vegetación, y una sustitución de especies importantes cuando los fragmentos son chicos (menores de 40 hectáreas), o muy pequeños (menores de 10 hectáreas).

3) Los fragmentos pequeños sirven como refugio de algunas especies de selva, pero también son invadidos por especies de pastizales. Estos fragmentos podrían servir como corredores para los escarabajos y para otros organismos, por lo que es muy importante estudiar su dinámica temporal y espacial, para poder evaluar cual es el tamaño y la forma más conveniente para que funcionen como resguardo y vía de paso para especies de selva.

4) Aunque los fragmentos chicos y medianos, conservan un buen número de especies, es mejor tratar de unir estos fragmentos para que haya continuidad entre ellos, lo que mantendrá en buen estado a las poblaciones en su conjunto.

5) El corredor San Martín-Santa Marta, es un sitio estratégico de conservación para mantener esta continuidad de la selva de la región de Los Tuxtlas, que existió en el pasado, y que de alguna forma, para los escarabajos copro-necrófagos aún se mantiene, pero en un estado cada vez más frágil.

6) Los escarabajos copro-necrófagos de selvas tienen requerimientos ecológicos y ambientales muy estrictos, al destruir la selva estos requerimientos se pierden, lo que afecta la sobrevivencia de las poblaciones,

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

La selva de los Tuxtlas ha representado un continuo de vegetación para los escarabajos copronecrófagos. Las poblaciones seguramente transitaban por todo este mar de vegetación, cuando aún no se fragmentaba dramáticamente la selva. Esta continuidad se ve *aún reflejada por la* distribución actual de muchas de sus especies, aunque, algunas desde siempre han de haber tenido distribuciones restringidas aún dentro de la selva.

Los estudios genéticos y ecológicos sugieren que las poblaciones intercambiaban información genética en el pasado, pero actualmente se están empezando a aislar, ya que los estudios genéticos aquí efectuados indican que hay un porcentaje importante de la variabilidad genética que es exclusiva de las poblaciones analizadas para cada especie.

Fragmentos de vegetación mínimos de 90 o más hectáreas conservan una buena proporción de las especies de selvas, pero es mejor que se tengan fragmentos más grandes y que estén conectados para conservar en buen estado ecológico y genético a las poblaciones de escarabajos copra necrófagos. Se requieren más estudios para saber que pasa con otros grupos de organismos.

El corredor San Martín-Santa Marta, surge como un área prioritaria de conservación para mantenerlo como puente de unión entre las poblaciones del San Martín Tuxtla y la Sierra de Santa Marta. No se sabe aún que tan conectadas están las poblaciones de la sierra de Santa Marta y del San Martín Pajapan. Hay que hacer más estudios.

Este trabajo no hace más que asomarse a la punta del iceberg. Se requiere continuar con estos estudios para dar más elementos de conservación de la zona. Estudios comparativos con selvas bien conservadas son urgentes.

## Agradecimientos

El M. en C. Gonzalo Castillo, jefe del Departamento de Sistemática Vegetal del Instituto de Ecología, A.C., amablemente dio la información sobre el tipo de vegetación de cada sitio de muestreo. La Física Rosario Landgrave del Departamento de Ecología Vegetal, diseñó la figura 1 de este informe con base en una imagen de satélite previamente digitizada en su laboratorio, con la autorización del M. en C. Gonzalo Castillo y del Biól. Javier Laborde del Departamento de Ecología Vegetal del Instituto de Ecología, A.C. El Dr. Henry Howden del Canadian Museum of Nature, Ottawa, Canada, revisó las especies del género *Carnhidium*. La Dra. Gabriela Vázquez ayudó en la edición de las gráficas y figuras. Mis estudiantes: Maribel Ortiz, Olivia Márquez e Ivette Chamorro ayudaron enormemente en las bases de datos y en la edición final del trabajo escrito. A todas aquellas personas de la región de Los Tuxtlas que dieron facilidades para el desarrollo de este trabajo, mi más sincero agradecimiento.

## Bibliografía

Colwell, R. K. 1997. Estimates: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Versión 5.

Colwell, R.K. y J.A. Coddington. 1995. Estimating Terrestrial biodiversity through extrapolation. *In: Hawksworth, D.L. (ed.) Biodiversity: Measurement and Estimation*. Chapman and Hall. pp. 101-118.

Excoffier, L. P.E. Smouse, y J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes : applications to human mitochondria) DNA restriction *data*. *Genetics* 131: 479-491.

Ezcurra, E. y M. Equihua. 1984. La teoría de la información aplicada a la clasificación de datos biológicos. En: E. Ezcurra, M. Equihua, M. Kohiman, S. Sánchez (eds). *Métodos cuantitativos en la Biogeografía*. Instituto de Ecología, México, pp:13-39.

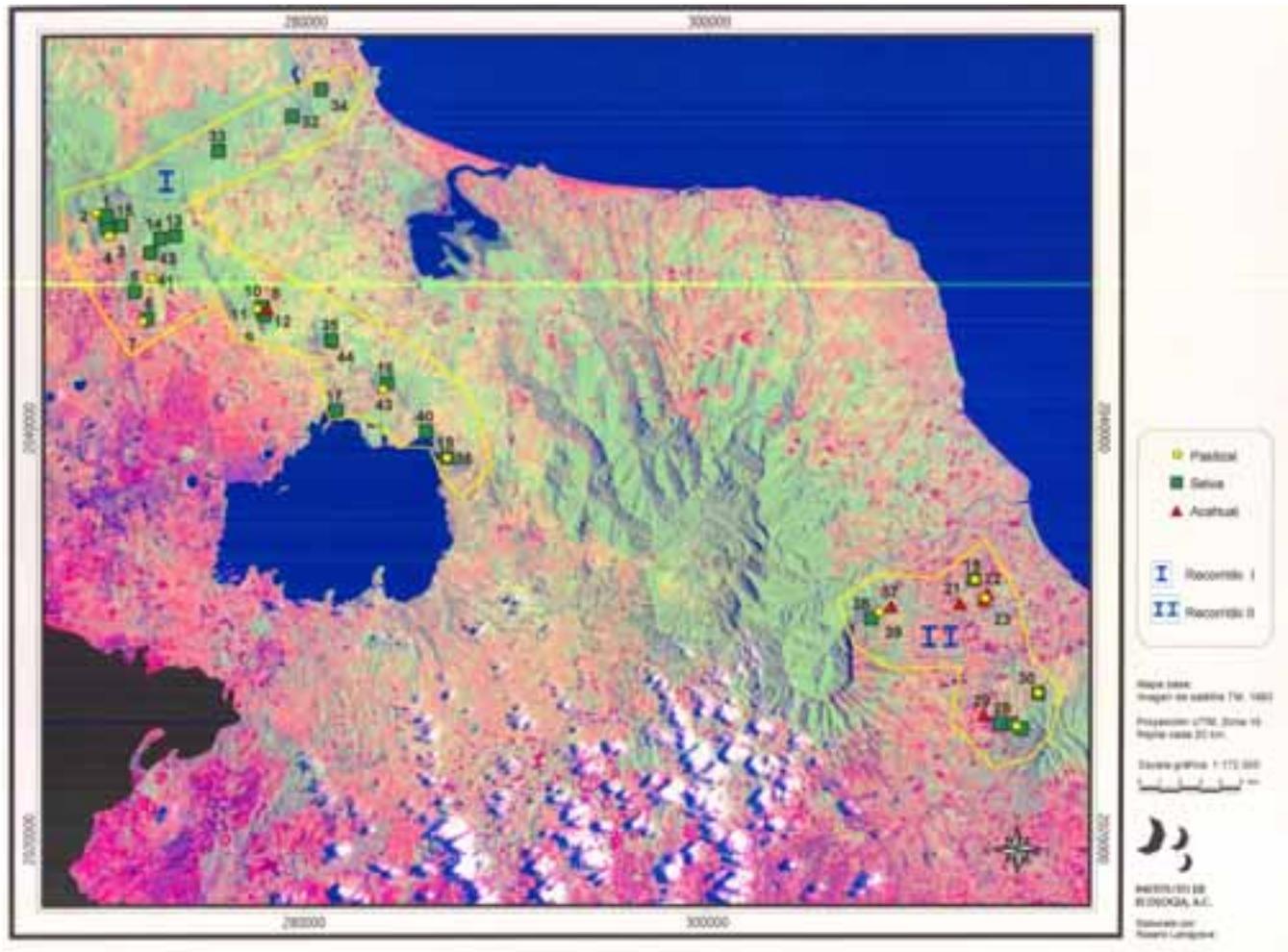
Favila, M.E. y A. Díaz. 1997. Los escarabajos coprófagos y necrófagos de *los Tuxtlas*. *In: E. González Soriano, R. Dirzo y R. Voght (Eds.). Historia Natural de los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México, pp:383-384.

Favila, M.E. y G. Halffter. 1997. The use of indicator groups for measuring biodiversity as related to community structure and function. *Acta Zoológica Mexicana* 72:1-25.

Halffter, G., M.E. Favila y L. Arellano. 1995 Spatial distribution of some coleopters in an altitudinal transect in the Mexica Transition Zone: its biogeographical implication. *Elytron*. 9: 151-185.

Halffter, G. y M.E. Favila. 1993. The Scarabaeinae (Insects: Coleoptera), an animal group for analyzing, inventorying and monitoring biodiversity in tropical rainforest and modified landscapes. *Biology International* 27: 15-21.

Figura 1. Sitios de colecta de escarabajos en la región de Los Tuxtlas. Los números corresponden a los del cuadro 1.



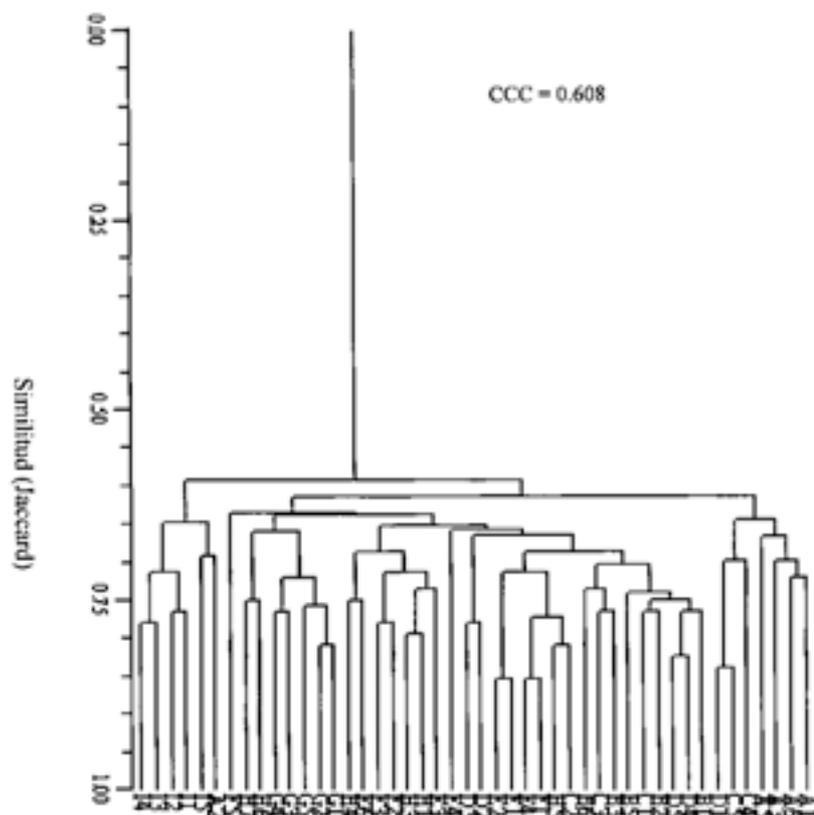


Figura 2. Dendrograma obtenido a partir del índice de Jaccard para los ejemplares de las diferentes poblaciones analizadas de *Canthidium centrale*.

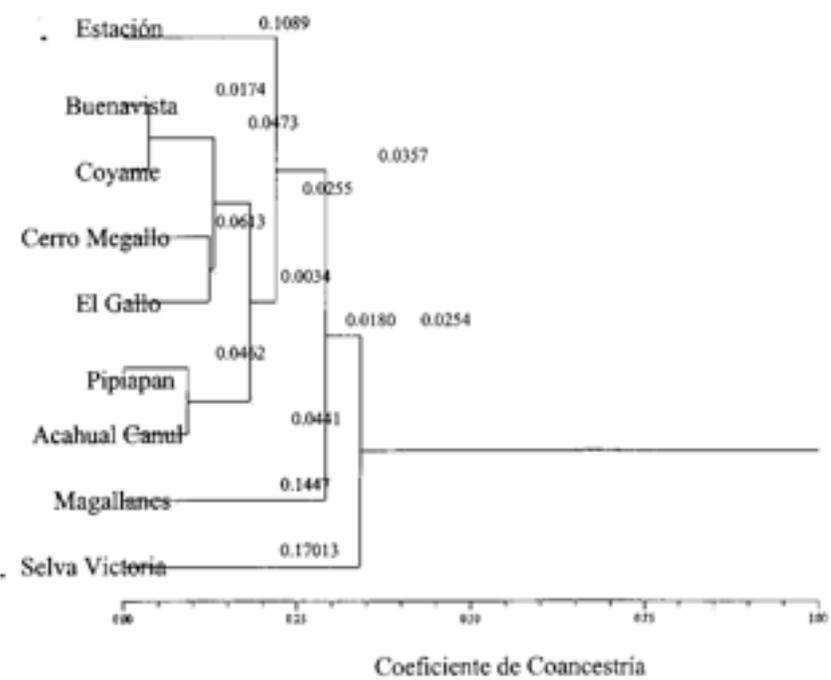


Figura 3. Dendrograma de sitios obtenido con coeficiente de coancestría para *Canthidium centrale*.

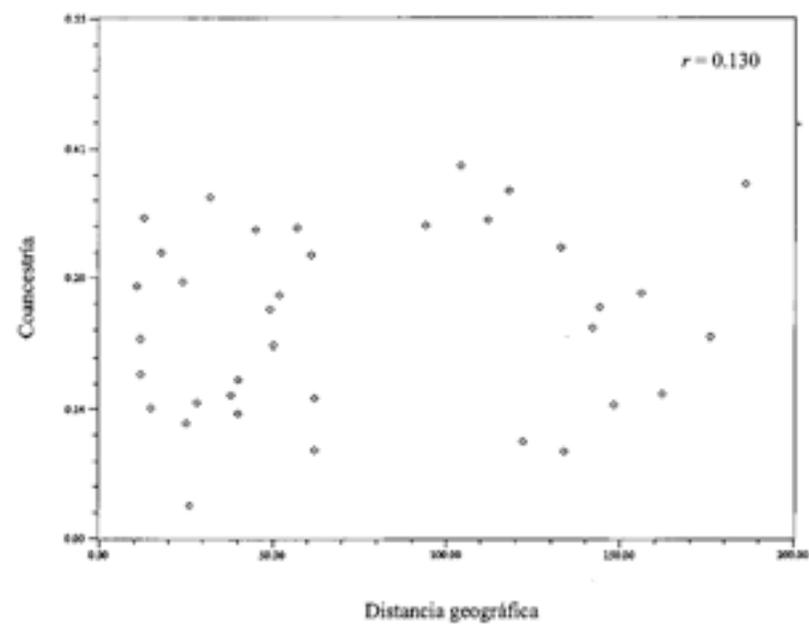


Figura 5. Correlación entre distancias génicas y distancias geográficas para *Conthidium centrale*.

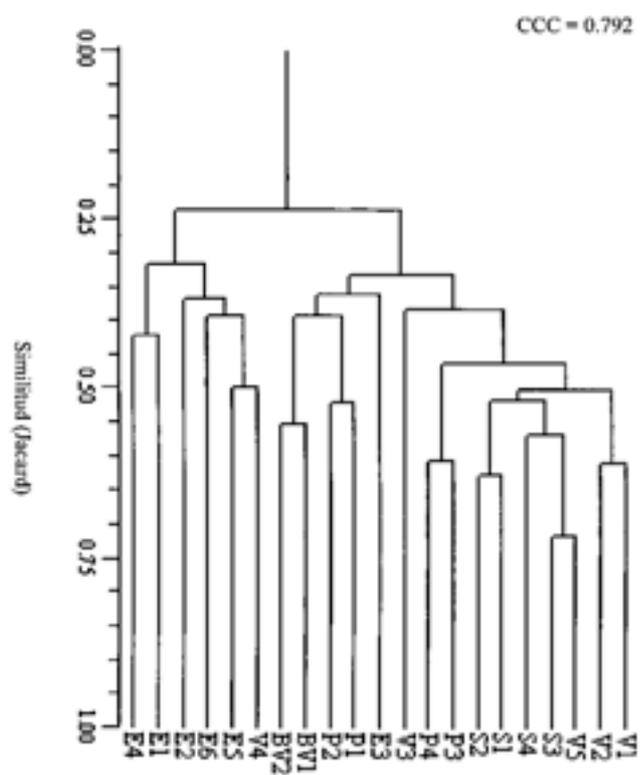


Figura 6. Dendrograma obtenido a partir de índice de Jaccard para los ejemplares de las diferentes poblaciones analizadas de *Coprophaneus telamon*.

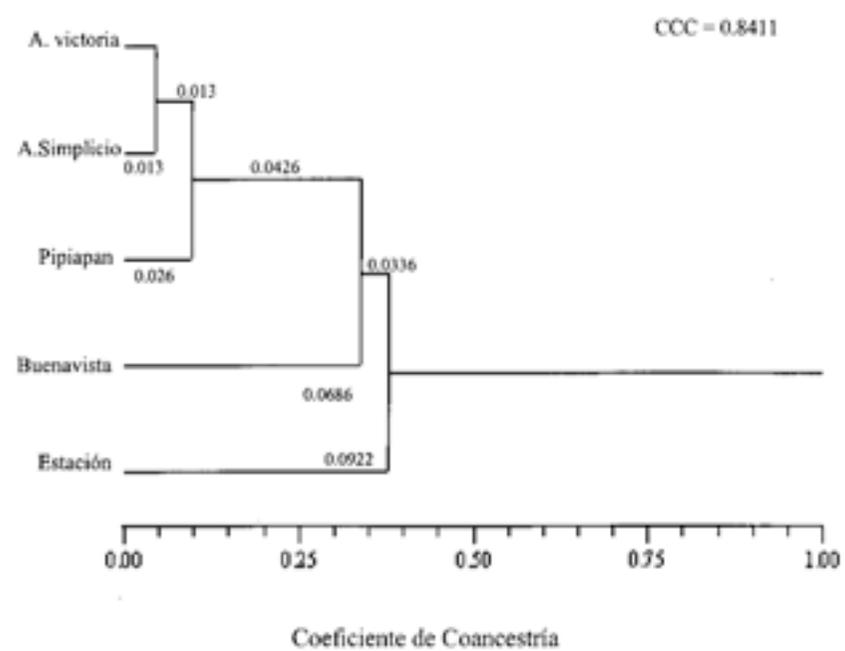


Figura 7. Dendrograma de sitios obtenido con coeficiente de coancestría para *Coprophaneus telamon*.

Análisis de Componentes Principales

i	%	% Varianza
0.1339	66.5	66.5497
0.1027	51.0	> 100%

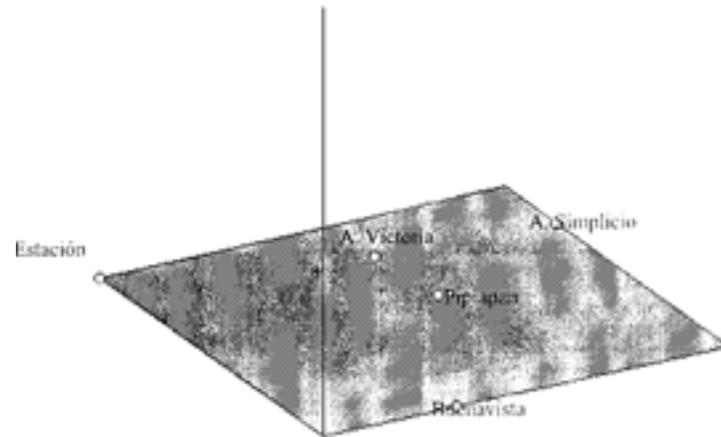


Figura 8. Análisis de Componentes Principales de los sitios (poblaciones) estudiados para *Coprophaneus telamon*.

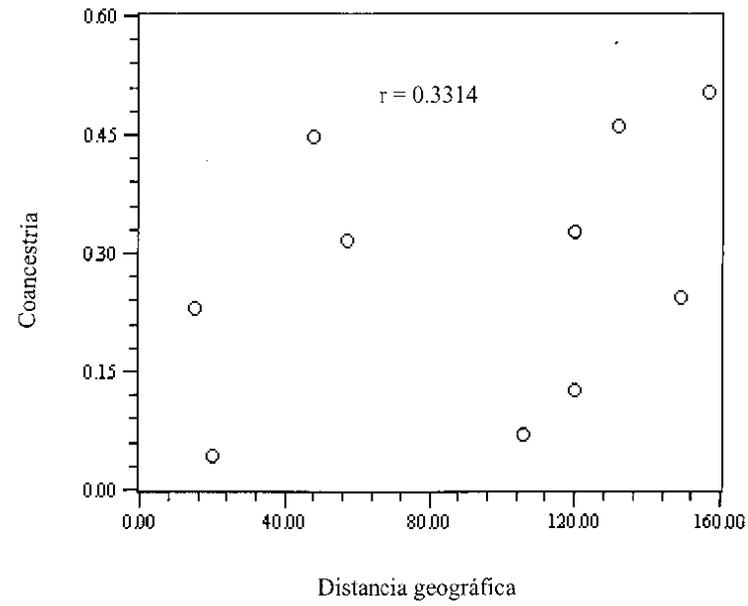


Figura 9. Correlación entre distancias génicas y distancias geográficas para *Coprophaneus telamon*.

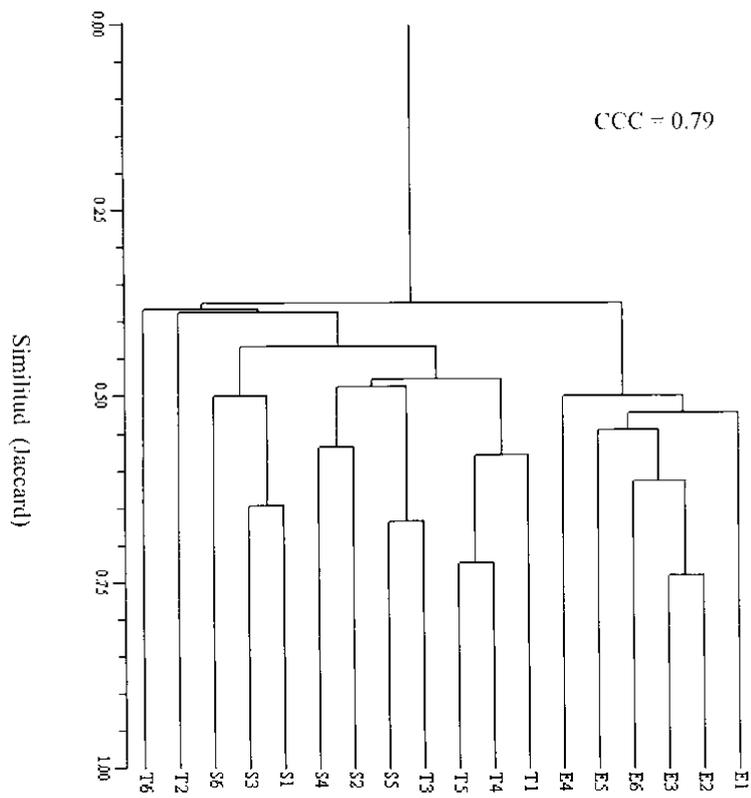


Figura 10. Dendrograma obtenido a partir de índice de Jaccard para los ejemplares de las diferentes poblaciones de *Canthon e. Cyanellus*.

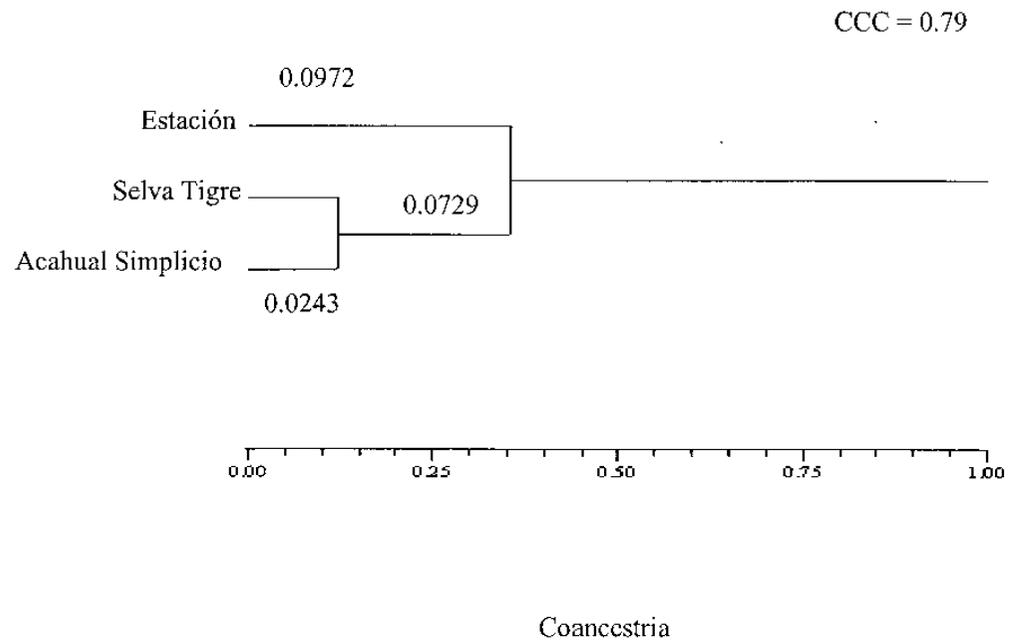


Figura 11. Dendrograma de sitios obtenido con coeficiente de coancestria para *Cantlaon c. cyanellus*.

Análisis de Componentes principales

i	Eigenvalores	% varianza	% varianza
	acum		
1	0.084	93.8	93.88
2	0.004	5.11	94.00
3	0.001	1.01	100.0

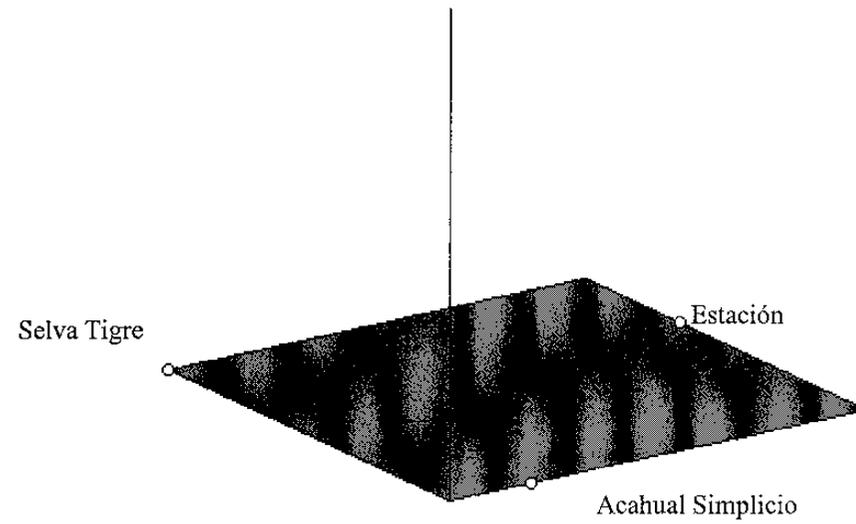


Figura 12. Análisis de Componentes Principales de los sitios (poblaciones) estudiados para *Canthon c. cyanellas*

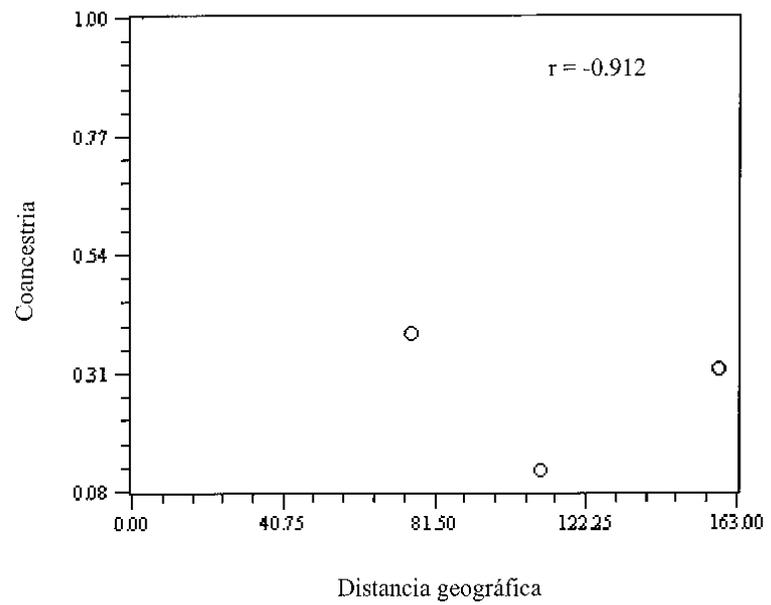


Figura 13. Correlación entre distancias génicas y distancias geográficas para *Canthon e. Cyanellus*.

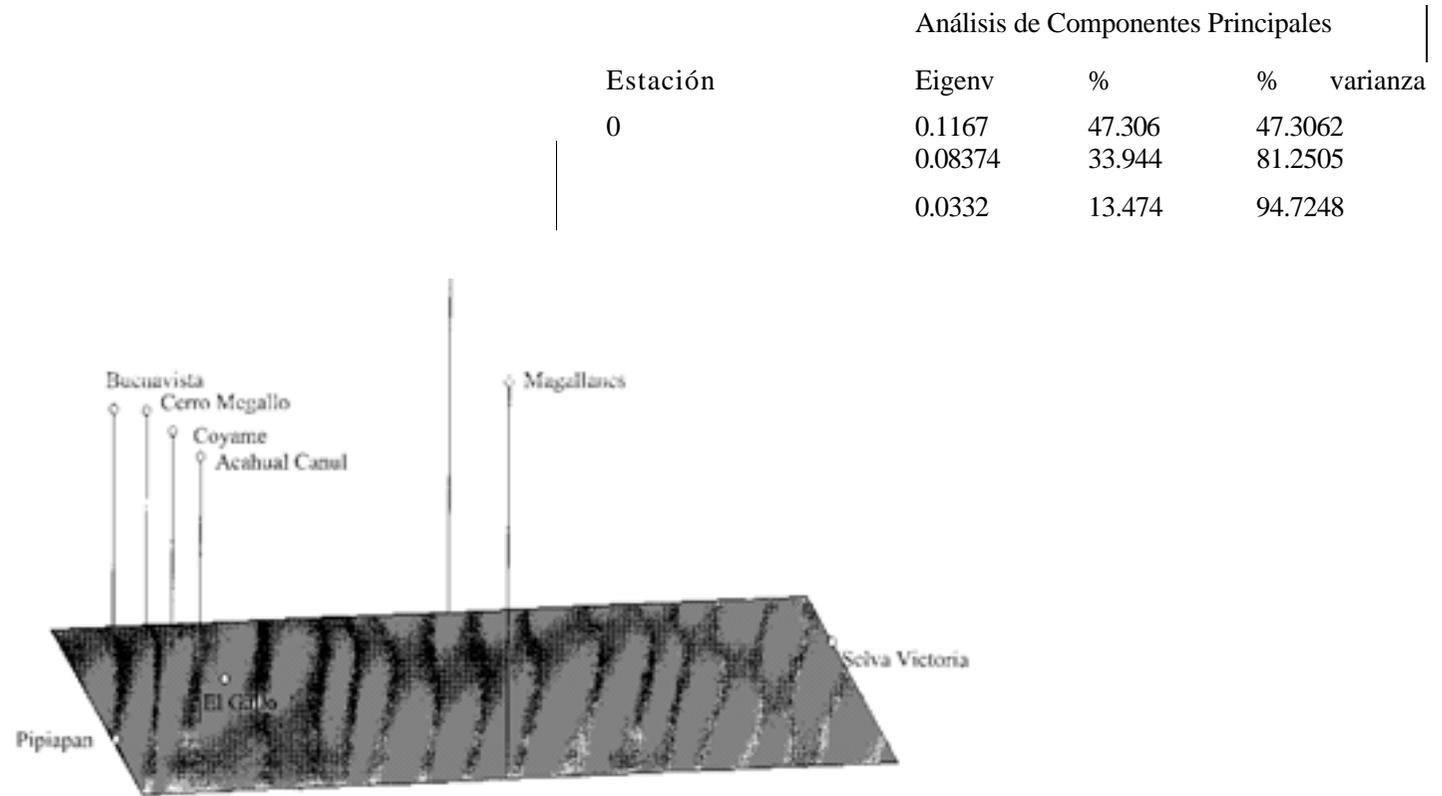


Figura 4. Análisis de Componentes Principales de los sitios (poblaciones) estudiados para *Cwathidium centrale*.

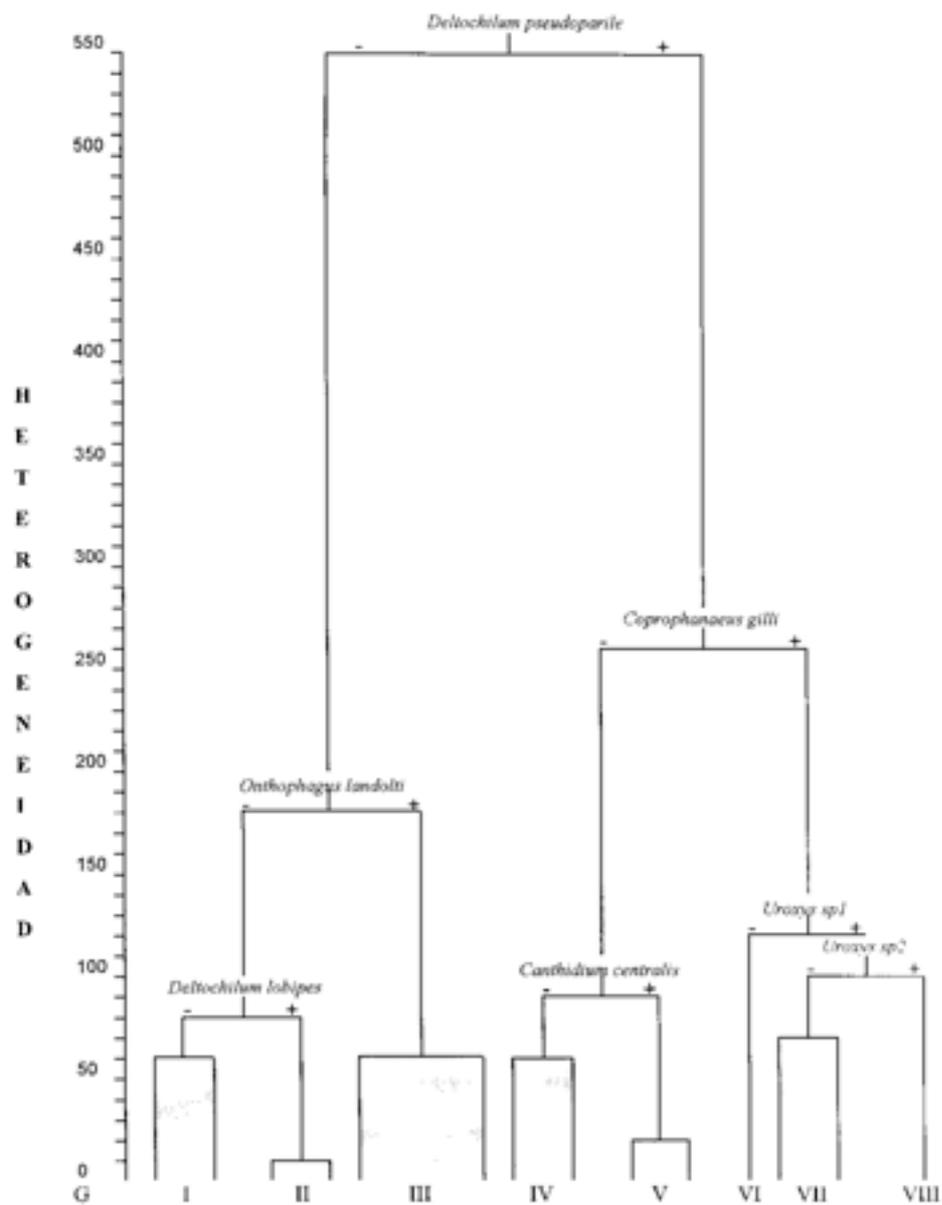


Figura 14. Dendrograma de sitios obtenidos con el estadístico de orden 2, con las especies indicadoras de cada grupo formado.

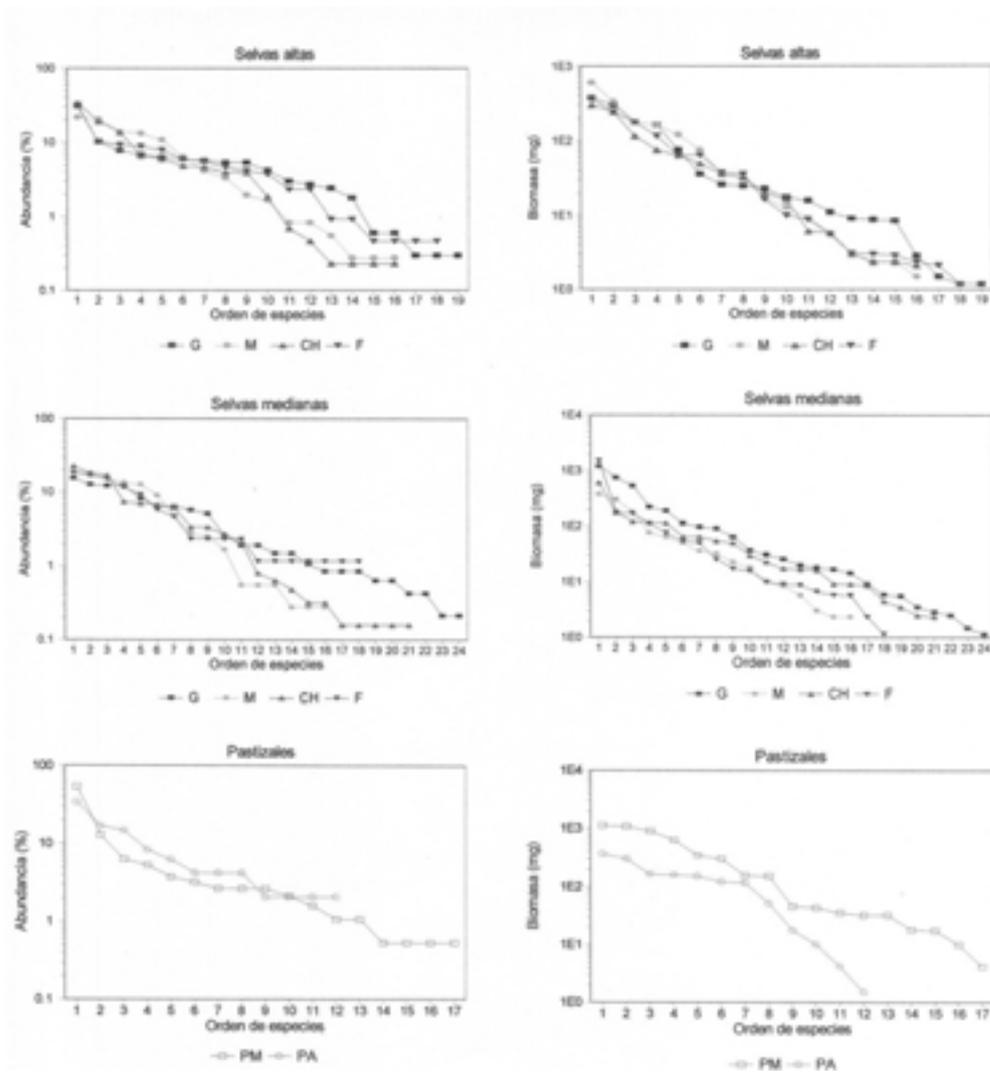


Figura 15 . Curvas de importancia por abundancia y biomasa para diferentes tipos de vegetación y diferentes tamaños de fragmentos. G- Selvas > 500 ha, M- selvas de 100 a 300 ha, CH- selvas de 60 a 90 ha, F- fragmentos de selva < 40 ha. PM- pastizales de zonas medias, de 100 a 600 m s.n.m., PA- pastizales de zonas altas, > 800 m s. n. m.

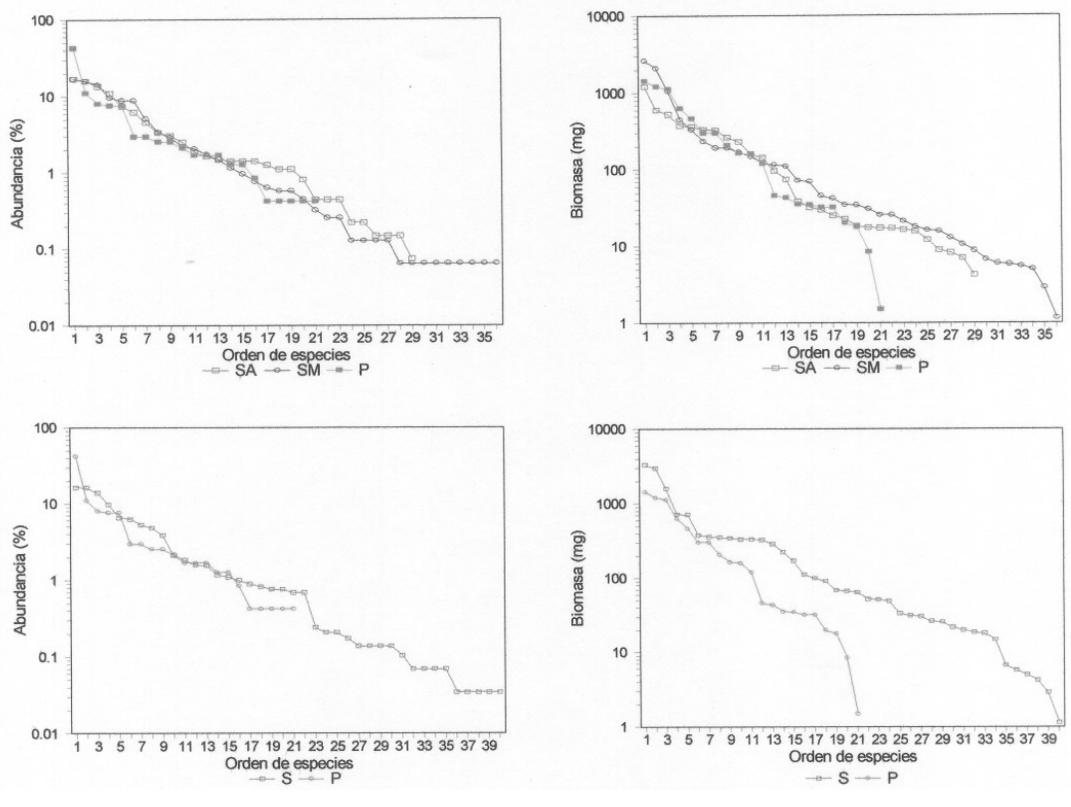


Figura 16. Curvas de importancia por abundancia y biomasa para selvas altas (SA), selvas medianas (SM), selvas en general (S) y pastizales (P) en la región de Los Tuxtlas.

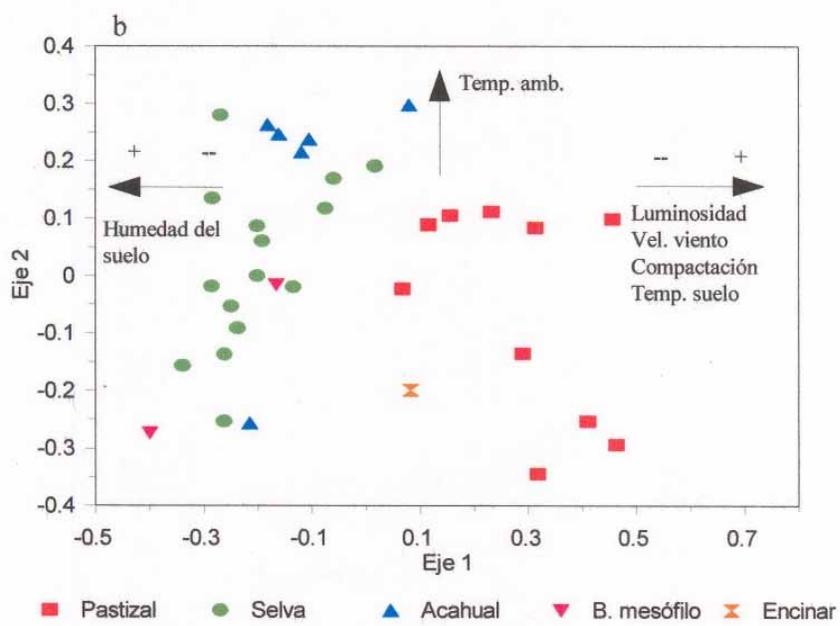
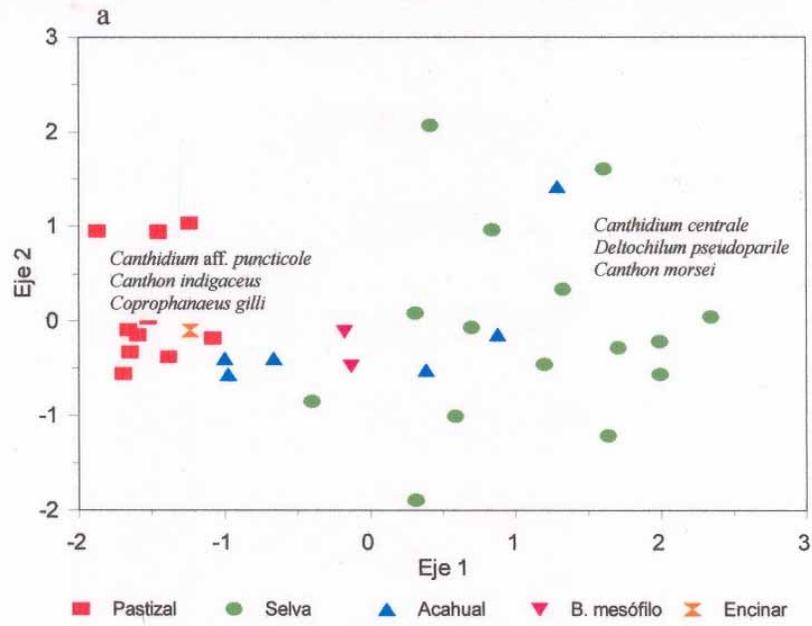


Figura 17. Ordenación de los sitios en función de la presencia de las especies a) y de los parámetros ambientales b) en la región de Los Tuxtlas, Ver,

## CUADROS

Cuadro 1. Localidades muestreadas durante el desarrollo del proyecto en la región de Los Tuxtlas, En la primera columna están los números consecutivos de cada sitio según se fueron registrando en el trabajo de campo. Algunos sitios solo se visitaron una vez, por lo que no se incluyen. Precisión del GPS  $\pm$  100 m.

No.	Localidad	Municipios	Altitud GPS	Lat-gdo	Lat-min	Lat-seg	Long-gdo	Long-min	Long-seg	Area (Ha)	Tipo de Vegetación
4	Predio Chininan	San Andrés Tuxtla	960	18	31	23.1	95	10	34		Pastizal de Bosque Mesófilo
5	Cerro Megallo	San Andrés Tuxtla	870	18	29	56.4	95	9	49.4	30	Acahual de Selva Alta Perennifolia
6	Cerro Sonpaso	San Andrés Tuxtla	690	18	29	12.5	95	9	27.6	40	Selva Alta Perennifolia
7	Pastizal Velasco	San Andrés Tuxtla	720	18	29	8.7	95	9	35.7		Pastizal de Selva Alta Perennifolia
8	Cerro El Gallo	Catemaco	810	18	29	32.2	95	6	13.2	280	Selva Alta Perennifolia
9	Acahual Cortez	Catemaco	790	18	29	26.1	95	6	12.8	90	Acahual de Selva Alta Perennifolia
11	Pastizal Cortez	Catemaco	720	18	29	23.2	95	6	14.4		Pastizal de Selva Alta Perennifolia
12	Cerro Jegal	Catemaco	720	18	29	19.6	95	6	10.2	60	Selva Mediana Perennifolia
13	Ruiz Cortinez	San Andrés Tuxtla	1020	18	31	24.7	95	8	40.5	4440	Acahual de Bosque Mesófilo de
16	Pipiapan	Catemaco	360	18	27	35.6	95	2	41.6	510	Selva Mediana Perennifolia
17	Nanciyaga	Catemaco	150	18	26	50.8	95	4	6.7	80	Selva Mediana Perennifolia
18	La Cabaña del Tigre	Catemaco	300	18	25	38.6	95	0	59	230	Selva Mediana Perennifolia
19	Barranca Magallanes	Tatahuicapan	60	18	22	34.7	94	46	7.5	10	Selva Mediana Perennifolia
20	Pastizal Magallanes	Tatahuicapan	90	18	22	34.5	94	46	6.4		Pastizal de Selva Mediana
21	Acahual Magallanes	Tatahuicapan	210	18	21	57	94	46	29.6	3	Acahual de Selva Mediana
22	Acahual Simplicio I	Tatahuicapan	270	18	22	12.8	94	45	43.6	2	Acahual de Selva Mediana
23	Acahual Simplicio II	Tatahuicapan	240	18	22	3.2	94	45	49.8	2	Acahual de Selva Mediana
24	Pastizal Simplicio	Tatahuicapan	360	18	22	6.3	94	45	47.8		Pastizal de Selva Mediana
25	San Martín Pajapan	Mecayapan	660	18	18	47.1	94	45	2.1	1840	Selva Mediana Perennifolia
27	Pastizal Pajapan	Mecayapan	570	18	18	43.9	94	44	53.2		Pastizal de Selva Mediana
28	Barranca Pajapan	Mecayapan	360	18	18	48.1	94	45	20.8	1840	Selva Mediana Perennifolia
29	Acahual Canul	Mecayapan	240	18	19	0.4	94	45	47.5	7	Acahual de Selva Mediana
30	Selva La Valentina	Mecayapan	480	18	19	35.6	94	44	16.7	1840	Selva Mediana Perennifolia
31	Pastizal La Valentina	Mecayapan	480	18	19	36.5	94	44	17.7		Pastizal de Selva Mediana
32	Lázaro Cárdenas	San Andrés Tuxtla	270	18	34	35.3	95	5	27.4	560	Selva Alta Perennifolia
33	La Perla de San Martín	San Andrés Tuxtla	810	18	33	38.8	95	7	30.1	560	Bosque Mesófilo de Montaña
34	Estación Biológica	San Andrés Tuxtla	180	18	35	18	95	4	38.8	560	Selva Alta Perennifolia
35	Cerro Buena Vista	Catemaco	540	18	28	34.5	95	4	13.1	156	Selva Alta
36	Pastizal Tigre	Catemaco	330	18	25	39.2	95	0	59.2		Pastizal de Selva Alta
37	Acahual Gpe. Victoria	Tatahuicapan	750	18	21	51.1	94	48	26.3	105	Acahual de Selva Mediana
38	Selva Gpe. Victoria	Tatahuicapan	750	18	21	32.4	94	48	58.5	14488	Selva Mediana Perennifolia
40	Cerro Coyame	Catemaco	480	18	26	16.6	95	1	24.2	87	Selva Mediana Perennifolia
41	Pastizal Megallo	San Andrés Tuxtla	870	18	29	56.4	95	9	49.4	30	Pastizal de Selva Alta Perennifolia
42	El Encinal	San Andrés Tuxtla	1030	18	31	15.4	95	9	47.1	10	Bosque de Encino
43	Pastizal Pipiapan	Catemaco	360	18	27	35.6	95	2	41.6		Pastizal de Selva Mediana
44	Pastizal Buena Vista	Catemaco	540	18	28	34.5	95	4	13.1		Pastizal de Selva Alta

Cuadro 2. Resumen de primers probados para *Canthon c. cyanellus* y *Canthidium centrale*.

los primers utilizados fueron de la marca Genosys y Gibco. En negritas los primers utilizados para cada especie.

PRIMER	SECUENCIA	<i>C. cyanellus</i>	<i>C. centrale</i>
1.1	5'-GGAAGACAAC	<b>POLIMÓRFICO</b>	NO AMPLIFICA
1.2	5'-TCCGACGTAT	NO POLIMÓRFICO	NO POLIMORFICO
1.3	5'-AGGTTCTAGC	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
1.4	5'-CGGATAACTG	<b>POLIMÓRFICO</b>	NO POLIMORFICO
1.5	5'-TCCCTTTAGC	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
1.6	5'-AGGATACGTG	<b>POLIMORFICO</b>	NO AMPLIFICÓ
1.7	5'-CAATGCGTCT	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
1.8	5'-GTGCAATGAG	<b>POLIMORFICO</b>	<b>POLIMORFICO</b>
1.9	5'-CCATTTACGC	NO AMPLIFICÓ	<b>POLIMORFICO</b>
1.10	5'-AGAAGCGATG	NO POLIMORFICO	<b>POLIMORFICO</b>
2.1	5'-AAATCGGAGC	POLIMORFICO	<b>POLIMORFICO</b>
2.2	5'-GTCCATAGCA	<b>POLIMORFICO</b>	<b>POLIMORFICO</b>
2.3	5'-TACACTAGCG	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.4	5'-CATAGCCCTT	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
2.5	5'-CTACTAGGGT	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
2.6	5'-AGTGAATGCG	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
2.7	5'-ACGATTCCTG	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.8	5'-TTTACGGTGG	NO AMPLIFICÓ	NO POLIMORFICO
2.9	5'-ATGGTGTAGC	NO POLIMORFICO	NO AMPLIFICÓ
2.10	5'-AATCACACC	POLIMÓRFICO	POLIMORFICO

Cuadro 3. Resumen de primers probados para *C. ophrophanaeus telamon* y *Deltochilum pseudoparile*.

Los primers utilizados fueron de las marcas Genosys y Gibco. En negritas los primers utilizados para cada especie.

PRIMER	SECUENCIA	<i>C. telamon</i>	<i>D. pseudoparile</i>
1.1	5'-GGAAGACAAC	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
1.2	5'-TCCGACGTAT	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
1.3	5'-AGGTTCTAGC	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
1.4	5'-CGGATAACTG	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
1.5	5'-TCCCTTTAGC	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
1.6	5'-AGGATACGTG	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
1.7	5'-CAATGCGTCT	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
1.8	5'-GTGCAATGAG	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
1.9	5'-CCATTTACGC	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
1.10	5'-AGAAGCGATG	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.1	5'-AAATCGGAGC	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
2.2	5'-GTCCATAGCA	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.3	5'-TACACTAGCG	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.4	5'-CATAGCCCTT	<b>POLIMORFICO</b>	NO POLIMORFICO
2.5	5'-CTACTAGGGT	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
2.6	5'-AGTGAATGCG	NO AMPLIFICÓ	NO AMPLIFICÓ
2.7	5'-ACGATTCCTG	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.8	5'-TTTACGGTGG	POLIMORFICO	NO POLIMORFICO
2.9	5'-ATGGTGTAGC	NO AMPLIFICA	NO POLIMORFICO
2.10	5'-AATCACACCC	NO POLIMORFICO	NO POLIMORFICO

NOTA:

Se asignaron los números de marca a los primers para fines prácticos de reconocimiento durante el trabajo de laboratorio.

Cuadro 4. Lista de todas las especies de escarabajos copra-necrófagos encontradas en Los Tuxtlas, Ver.

Familia Hybosorinae (\*); Familia Silphidae (\*\*), el resto Familia Scarabaeidae, Subfamilia Scarabaeinae

Especie

---

*Anaides laticollis* Harold\* *Ateuchus illaesum* Harold *Bdelyroptis newtoni* Howden *Canthidium aff. ardens*  
Bates *Canthidium aff. puncticolle* Harold *Canthidium centrale* Boucomont *Canthidium sp. I*  
*Canthon cyanellus cyanellus* LeConte  
*Canthon indigaceus chiapas* Robinson *Canthon morsel* Howden *Canthon euryscelis* Bates *Canthon femoralis*  
(Chevrolat)  
*Canthon leechi* Martinez, Halfpeter y Halfpeter *Canthon srehhyalinus* Harold  
*Canthon vasquezae* Martinez, Halfpeter y Halfpeter *Copris laeviceps* Harold *Copris lughris* Boheman *Copris*  
*sallei* Harold  
*Coprophanaeus gilli* Arnaud  
(*Coprophanaeus telamon corythus* Harold *Coprophaneus pluto* (Harold)  
*Chaetodus aff lacandonicus* Martinez y Morón\* *Delthochihem .scahriusculum* Bates *Deltochilum lohlpes*  
Bates *Deltochilum pseudoparile* Paulian *Dichotomius amplicollis* (Harold) *Dichotomius colonicus* (Say)  
*Dichotomius satanas* (Harold) *Digitonthophagus gazella* Fabricius *Eurysternus carióaeus* (Herbst) *Eurysternus*  
*velutinus* Bates *Nicrophorus olidus* Matthews\* \* *Ontherus mexicanus* Harold *Onthophagus batesi* Howden y  
Cartwright *Onthophagus incensus* (Say) *Onthophagus landolti* Harold *Onthophagus rhinolophus* Harold *Phanaeus*  
*endymion* Harold *Phanaeus mexicanus* Harold *Phanaeus sallei* Harold  
*Phanaeus tridens* Laporte *Scatimus ovatus* Harold *Uroxys* sp. 1  
*Uroxys* sp. 2  
*Uroxys* sp. 3

Cuadro 5. Matriz de presencia-ausencia de las especies de escarabajos copro-necrófagos encontrados en Los

Tuxtlas, Ver.	Los	números	de	los	sitios	son	los	mismos										
Especie/Sitios	4	5	6	7	8	9	11	12	13	16	17	18	19	20	21	22	23	24
<i>Anaides laticollis</i>		x	x		x	x		x	x	x	x	x						
<i>Ateuchus illaesum</i>		x		x		x	x	x		x	x	x				x		
<i>Bdelyroptis newtoni</i>										x								
<i>Canthidium aff. ardens</i>			x		x	x		x		x	x	x						
<i>C. aff. puncticolle</i>														x			x	x
<i>C. centrale</i>		x	x		x	x		x		x	x	x			x	x		x
<i>C. sp. 1</i>			x		x	x		x	x	x	x	x	x			x		
<i>Canthon c. cyanellus</i>												x						x
<i>C. i. chiapas</i>	x			x			x						x	x				x
<i>C. morsei</i>					x					x	x	x						
<i>C. euryscelis</i>										x					x	x		
<i>C. femoralis</i>													x					
<i>C. leechi</i>														x				x
<i>C. subhyalinus</i>			x															
<i>C. v. vasquezae</i>									x	x								
<i>Copris laeviceps</i>						x		x			x	x				x	x	
<i>C. lugubris</i>	x	x					x	x										x
<i>C. sallei</i>		x	x	x	x	x		x	x									
<i>Coprophanaeus gilli</i>					x		x	x	x	x		x						
<i>C. t. corythus</i>									x			x	x	x		x	x	x
<i>C. pluto</i>	x																	
<i>Chaetodus aff. lacandonicus</i>		x	x				x	x	x	x		x						
<i>Delthochilum scabriusculum</i>					x													
<i>D. lobipes</i>														x				x
<i>D. pseudoparile</i>			x		x	x		x		x	x	x	x			x		
<i>D. c. colonicus</i>		x		x			x											x
<i>D. satanas</i>		x			x					x	x				x			
<i>Digitonthophagus gazella</i>																		x
<i>Eurysternus caribaeus</i>										x								
<i>Nicrophorus olidus</i>	x																	
<i>Onthophagus batesi</i>	x		x	x										x				
<i>O. incensus</i>	x	x						x										
<i>O. landolti</i>	x	x		x		x	x											
<i>O. rhinolophus</i>										x		x	x					
<i>Phanaeus endymion</i>																x		
<i>P. mexicanus</i>	x						x											
<i>P. sallei</i>				x														
<i>P. tridens</i>				x														

que

los del Cuadro 1.

Continúa Cuadro 5.

Especie/Sitios	25	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	40	41	42	43	44
<i>Anaides laticollis</i>								x		x		x	x					
<i>Ateuchus illaesum</i>	x									x				x				
<i>Bdelyroptis newtoni</i>														x				
<i>Canthidium aff. ardens</i>	x				x					x				x				
<i>C. aff. puncticolle</i>		x				x												x
<i>C. centrale</i>	x		x	x			x		x	x		x	x	x				
<i>C. sp. 1</i>	x		x		x		x			x		x	x	x				
<i>Canthon c. cyanellus</i>		x							x		x			x				
<i>C. i. chiapas</i>											x				x		x	
<i>C. morsei</i>	x							x	x	x				x				
<i>C. euryscelis</i>							x		x					x				
<i>C. femoralis</i>									x									
<i>C. leechi</i>		x				x												
<i>C. subhyalinus</i>							x		x				x					
<i>C. v. vasquezae</i>	x						x	x	x	x								
<i>Copris laeviceps</i>									x			x						
<i>C. lugubris</i>						x										x		
<i>Coprophanaeus gilli</i>	x		x						x	x	x		x	x	x			x
<i>C. t. corythus</i>	x		x	x					x		x							
<i>C. pluto</i>																		x
<i>Chaetodus aff. lacandonicus</i>	x		x											x				
<i>D. pseudoparile</i>	x		x		x		x	x	x	x		x	x	x				
<i>Dichotomius amplicollis</i>				x														
<i>D. c. colonicus</i>											x							
<i>D. satanas</i>	x							x	x				x	x				
<i>Digitonthophagus gazella</i>						x												
<i>Eurysternus caribaeus</i>	x																	
<i>E. velutinus</i>													x					
<i>Nicrophorus olidus</i>																x		
<i>Ontherus mexicanus</i>													x					
<i>Onthophagus batesi</i>									x		x				x		x	
<i>O. landolti</i>											x				x			
<i>O. rhinolophus</i>	x		x						x	x		x	x	x				
<i>Phanaeus endymion</i>	x		x															
<i>P. mexicanus</i>																x		
<i>P. sallei</i>									x	x								
<i>Scatimus ovatus</i>				x														
<i>Uroxys sp. 1</i>	x		x		x		x			x		x	x	x				
<i>U. sp. 2</i>					x		x			x		x	x	x				
<i>U. sp. 3</i>							x							x	x			
<i>U. transversifrons</i>	x												x					

Cuadro 6. Resultados de las corridas en el programa Estimates para todos los sitios estudiados en la región de Los Tuxtlas, Ver.

Sitios/Tipodevegetación	Sing	Dou	U	A	I	C	C	M	A	Sh	Si
E Num.	letons	bletons	nicos	CE	CE	haol	hao2	MMean	lpha	annon	mpson
Selva mediana(G)											
Pipiapan (16)	3	1	3	1	1	21	1	19.	4	2.3	9
Selva Pajapan (25)	5	6	5	2	2	18	1	24.	6	2.2	6.
B. Pajapan (28)	5	1	8	1	3	22	0	19.	5	1.9	7.
Selva Valentina	0	1	0	5	5	5	5	6.6	1	1.3	3.
Selva Victoria (38)	3	4	6	1	1	15	1	27.	5	2.3	9.
Selva alta (G)	3	0	4	1	1	0	0	11.	2	1.7	4.
Lamo Cardenas Estación (34)	3	1	5	1.68	3.12	1	19	2.22	17.57	3	2.274
Selva mediana											
(M)											
El Tigre (18)	5	1	5	2	2	28	2	16.8	3	2.2	7.
Achual Victoria	5	1	5	2	1	20	2	14.0	3	1.3	2.
Selva alta (M)	1	2	2	1	1	13	1	15.	2	2.0	6.
El Gallo (8)	3		3.46	4.26	.25	3.67	.07	16.95	5	1.755	3.
Buenavista (35)	4	2	4	1	1	17	1	16.	3	1.7	3.
Selva mediana											
(CH)											
Nanciyaga (17)	3	1	3	1	1	15	1	12.	2	1.5	3.
Cerro Coyame (40)	6	1	7	2	2	34	2	21.	4	1.8	3.
Selva alta (CH)	3	3	4	1	1	13	1	14.	3	1.6	3.
Achual Cortez (9)	2		4.99	6.16	.5	4.67	.67	18.11	5	1.847	3.
Cerro legal (12)	5	0	5	2	1	0	2	18.	3	1.8	3.
Selva mediana (F)											
< 40 he											
6. Magallanes (19)	5	1	6	2	2	20	0	15.	3	1.4	3.
Achual	1	0	2	3	6.	0	5	7.7	1	0.8	2.
Am Simplicio-	3	2	6	1	1	11	1	36.	4	1.9	7.

Continúa Cuadro

Aca Simplicio-II	4	1	2		4	6	4	5	10	3	1.3	5
Acahual Canul	4	2	1		5	1	6	0	10	3.	1.2	5
Selva alta (F)	13	6	1		2	2	31	0	17	4.	2.0	6
Curo Megallo (5)				1.05	7.66			.64	85	4	.09	
Cerro Sonpaso (6)	11	2	0		1	1	0	13	13	2.	2.0	6
Pastizales	8	3	1		1	1	12	9.	15	3.	1.6	3
Pastizal Velazco				0.06	0.79	.5	13	.3	65	3	.9	
Pastizal Cortez	8	5	1		2	2	2	26	22	5.	1.6	4
Pastizal	4	4	0		0	0	0	0	0	0	0	0
Pastizal Simplicio	11	3	2		1	2	1	17	17	3.	1.1	1
Pastizal Paianan	3	1	0		4	3.	0	0	3.	0.	0.6	1
Pastizal	4	1	1		4	1	4.	0	7.	1.	0.8	1
Pastizal Pipiapan	3	1	1		4	7	3.	0	4.	1.	0.8	2
Pastizal Megallo	7	2	4		8	9.	7.	8.	16	4.	1.7	5
Bosque mesófilo	7	2	1		8	9.	9	9.	11	2.	1.6	4
Ruiz Cortinez (13)				.28	8		25	.23	77	2	.51	
Encinat (42)	1											
Pastizal Chinina	8	3	2		1	1	1	20	12	3.	1.3	2
Regional	46	3	3		4	4	4	52	5	7.	2.6	7

Cuadro 7. Especies importantes de acuerdo a su abundancia relativa y biomasa en todos los sitios con selva estudiados en la región de Los Tuxtlas, Ver.

Localidad	Abundancia relativa	Biomasa
<i>Pipiapan (16)</i>	<i>Uroxys sp. 1</i> <i>Canthidium centrale</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
San Martín Pajapan	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium aff. arden</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
Barranca Pajapan	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Onthophagus rhinolophus</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Selva La Valentina	<i>Uroxys sp. 2</i> <i>Canthidium aff. ardens</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Uroxys sp. 2</i>
Selva Victoria (38)	<i>Canthidium ardens</i> <i>Canthon subhyalinus</i>	<i>Dichotomius satanas</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Selva Lázaro	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium centrale</i>
Estación Biológica	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
La cabaña del tigre (18)	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Onthophagus rhinolophus</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
Acahual Gpe.	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium centrale</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium centrale</i>
<i>El Gallo (8)</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Deltochilum scabriusculum</i>
Rancho Buena Vista	<i>Canthidium centrale</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
Nanciyaga (17)	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Uroxys sp. 3</i>	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Anaides laticollis</i>
<i>Coyame (40)</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Onthophagus rhinolophus</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Canthidium centrale</i>
<i>Acahual Cortéz (9)</i>	<i>Uroxys sp. 3</i> <i>Uroxys sp. 2</i>	<i>Anaides laticollis</i> <i>Copra sallei</i>
<i>Cerro Jégál (12)</i>	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Uroxys sp. 2</i>	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Uroxys sp. 2</i>
Barranca Magallanes	<i>Onthophagus rhinolophus</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Onthophagus rhinolophus</i>

Continua Cuadro 7.

<i>Acahual Magallanes</i>	<i>Canthon euryscelis</i> <i>Canthidium centrale</i>	<i>Dichotomius satanas</i> <i>Canthidium centrale</i>
<i>Acahual Simplicio 1</i>	<i>Canthon euryscelis</i> <i>Canthidium sp. I</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Phanaeus endymion</i>
<i>Acahual Simplicio 11</i>	<i>Copris laeyiceps</i> <i>Canthidium aff punticole</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Copris laeyiceps</i>
<i>Acahual Canul (29)</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Scatimus ovatus</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Dichotomius amplicollis</i>
<i>Cerro de Megallo (5)</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Uroxys sp. 2</i>	<i>Dichotomius satanas</i> <i>Canthidium centrale</i>
<i>Cerro Sonpaso (6)</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Canthidium aff. arden</i>	<i>Canthidium centrale</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>
<i>Pastizal Velásco (7)</i>	<i>Onthophagus batesi</i> <i>Canthon i. chiapas</i>	<i>Onthophagus batesi</i> <i>Canthon i. chiapas</i>
<i>Pastizal Cortéz (11)</i>	<i>Onthophagus landolti</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Dichotomius colonicus</i>
<i>Pastizal Magallanes</i>	<i>Canthidium aff. punticole</i> <i>Canthon i. chiapas</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Deltochilum lobipes</i>
<i>Pastizal Simplicio</i>	<i>Canthidium aff. punticole</i> <i>Canthidium centrale</i>	<i>Canthidium aff. punticole</i> <i>Canthidium centrale</i>
<i>Pastizal Pajapan (27)</i>	<i>Canthidium aff. punticole</i> <i>Canthon (GI.) leechi</i>	<i>Canthidium aff punticole</i> <i>Canthon (GI) leechi</i>
<i>Pastizal La</i>	<i>Copris lugubris</i> <i>Canthidium aff punticole</i>	<i>Copris lugubris</i> <i>Digitonthophagus gazella</i>
<i>Pastizal Tigre (36)</i>	<i>Canthon e. cyanellus</i> <i>Canthon i. chiapas</i>	<i>Canthon c. cyanellus</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>
<i>Pastizal Megallo (41)</i>	<i>Onthophagus landolti</i> <i>Canthon i. chiapas</i>	<i>Phanaeus mexicanus</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
<i>Pastizal Pipiapan (43)</i>	<i>Canthidium aff. punticole</i> <i>Canthon i. chiapas</i>	<i>Canthon i. chiapas</i> <i>Canthidium aff punticole</i>
<i>Pastizal Buena Vista</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Coprophaneus pluto</i>	<i>Coprophanaeus pluto</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>

---

Cuadro 9. Especies importantes de acuerdo a su abundancia relativa y biomasa en todos los tipos de vegetación en la región de Los Tuxtlas, Ver.

Localidad	Abundancia relativa	Biomasa
Selvas altas		
Grandes	<i>Deltochilum pseudonarile</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>	<i>Copronhanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Medias	<i>Canthidium centrale</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Deltochilum</i>
Chicas	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Uroxys sp. 3</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Copris sallei</i>
Fragmentos	<i>Canthidium centrale</i> <i>Uroxys sp. 3</i>	<i>Dichotomius carolinus</i> <i>Copris sallei</i>
Selvas altas (resumen)	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Copris sallei</i>
Selvas medianas		
Grandes	<i>Deltochilum pseudonarile</i> <i>Uroxys sp. 1</i>	<i>Copronhanaeus gilli</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>
Medias	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Chicas	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Dichotomius satanas</i>
Fragmentos	<i>Canthon euryscelis</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Dichotomius satanas</i>
Selvas medianas (resumen)	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Selvas (resumen)	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>
Pastizales (resumen)	<i>Canthidium aff. puncticole</i>	<i>Dichotomius carolinus</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>

Cuadro 9. Especies importantes de acuerdo a su abundancia relativa y biomasa en todos los tipos de vegetación en la región de Los Tuxtlas, Ver.

Localidad	Abundancia relativa	Biomasa
Selvas altas		
Grandes	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>	<i>Coprophanaeus telamnn</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Medias	<i>Canthidium centrale</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Deltochilum</i>
Chicas	<i>Canrhidium sp. 1</i> <i>Uroxys sp. 3</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Copris sallei</i>
Fragmentos	<i>Canthidium centrale</i> <i>Uroxys sp. 3</i>	<i>Dichotomius carolinus</i> <i>Copris sallei</i>
Selvas altas (resumen)	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Deltochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Copris sallei</i>
Selvas medianas		
Grandes	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Uroxys sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>
Medias	<i>Deltochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Chicas	<i>Canthidium sp. 1</i> <i>Delthochilum pseudoparile</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Dichotoinius satanas</i>
Fragmentos	<i>Canthon euryscelis</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamnn</i> <i>Dichotomius satanas</i>
Selvas medianas (resumen)	<i>Delthochilum pseudoparile</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus telamon</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>
Selvas (resumen)	<i>Delthochilum</i> <i>Canthidium sp. 1</i>	<i>Coprophanaeus gilli</i> <i>Coprophanaeus telamon</i>
Pastizales (resumen)	<i>Canthidium aff. puncticole</i> <i>Copris lugubris</i>	<i>Dichotomius carolinus</i> <i>Coprophanaeus gilli</i>

## APÉNDICES

Apéndice 1. Protocolo para la extracción de ADN de tejido fresco (modificado para *Canthon e. cyanellus* y otras especies de Scarabaeinae)

1) Limpiar perfectamente el escarabajo y lavarlo al chorro de agua. 2) Congelarlo 10 min.

3) Se eliminan las patas y la cabeza (en esas zonas existen reservorios de bacterias) y se lava con agua corriente.

4) Colocarlo en etanol al 70% y con agitación durante dos minutos, secarlo sobre papel absorbente.

5) Pesarlo.

6) Macerar con 350 microlitros de Buffer de extracción en un tubo desechable de 1.5 ml (eppendorf) valiéndose como pistilo de una punta de pipeta a la que previamente se le ha cerrado el agujero con fuego. Adicionar 400 microlitros de buffer de extracción (Vol, total 700  $\mu$ l). NOTA: El ADN aunque es una molécula relativamente estable, puede ser susceptible de degradación bajo un manejo brusco o inadecuado, la maceración debe ser lenta y cuidando de que el buffer esté siempre en contacto con el tejido.

7) Agitar manual brevemente y dejar reposar a temperatura ambiente al menos dos horas, la extracción puede continuarse toda la noche, sin embargo se obtienen más productos de degradación.

8) Agitar por inversión 30 segundos o en el vortex brevemente. 9) Centrifugar a 10 000 rpm pr 2 minuto.

10) Recuperar el extracto con 50 microlitros como margen.

11) Al extracto adicionar 500 microlitros de cloroformo-alcohol isoamilico (24:1 vlv). 12) Mantener la emulsión por 5 min invirtiendo el tubo suavemente (ocupar el timer). 1-3) Centrifugar a 13 000 rpm por 10 mi n.

14) Transferir la fase acuosa (fase superior) a un tubo epp limpio (con puntas chicas). 15) agregar 21 microlitros de acetato de sodio 3M.

16) Adicionar 1 ml de etanol absoluto frío y dejar que precipite a -20 C al menos 1 hora (es aconsejable dejar toda una noche).

17) Centrifugar a 13 000 rpm por 10 min.

18) Decantar el sobrenadante y lavar con etanol al 70 % frío (Cuidadosamente abrir los tubos para evitar el derrame del etoh).

19) Eliminar el etanol por inversión (es conveniente invertir el tubo completamente, siempre y cuando el botón de precipitado no se mueva, para eliminar al máximo el etanol y agilizar la evaporación), se puede absorber el exceso de et-oh tocando el solvente con un pequeño triángulo de papel filtro cuidando de no tocar el precipitado.

20) Secar en el evaporador rotatorio (el proceso dura de 10 a 15 min). 1°). Se enciende la temperatura del evaporador, 2°) se enciende la bomba de vacío, 3°) se enciende la trampa de la bomba y 4° se abre la llave del vacío y 5 ° se enciende la centrifuga. Sonará un click para asegurar la tapa, para apagar proceder al revés y esperar que se quite el seguro para abrir la tapa.

21) Resuspender el PP en 40 microlitros de Buffer tris - EDTA. Para agilizar este paso se puede agitar brevemente en el vortex y poner en el baño María a 40 C.

NOTA: Es aconsejable resuspender el pp en la menor cantidad de buffer TE, con el fin de purificar toda la muestra en una sola sesión.

#### Verificación de la concentración del ADN en el precipitado

1) Se preparan de 120 a 150 ml de agarosa (for routine use de sigma) al 0.8 % en buffer tris base  
NOTA: La agarosa se mezcla y se lleva a ebullición por al menos 5 min para asegurar la disolución (en este punto se puede utilizar agarosa reciclada que igualmente debe de redisolverse a ebullición, ya que el objetivo sólo es checar la concentración del ADN).

2) Dejar enfriar a 60 C y add. 7.5 microlitros de bromuro de etidio (manejar con cuidado, muy tóxico). Mezclar con movimientos rotatorios muy suaves para evitar la formación de burbujas. Si es agarosa reciclada sólo se add. 5 microlitros de bromuro de etidio.

3) Vaciar el gel muy cuidadosamente, para evitar las burbujas, en el molde para electroforesis

(especial para la extracción) y colocar los peines, esperar a que solidifique (45 min).

4) Vaciar 1 litro de buffer tris base en la cuba de electroforesis y colocar la bandeja del gel con mucho cuidado.

5) Colocar sobre parafilm 3 microlitros de ficol+azul de bromocresol (Loading buffer al 20%)+ 5 microlitros de la muestra o control, se puede usar como control 3 microlitros de lambda ADN 62.4 microgramos por ml, valiéndose de la micropipeta (subiendo y bajando el volumen total de la mezcla) se homogeneiza bien.

6) Tomar la mezcla con la misma punta con la que se vertió la muestra y con mucho cuidado depositar en un pozo de la placa de agarosa.

7) Correr 30 min a 60 volts y comparar contra el control bajo luz uv, se deberá observar una banda naranja fluorescente delgada a la misma altura que la banda del control, esta banda tiene resolución y migra a poca distancia del punto de colocación. La existencia de una banda gruesa que migra a mayor distancia es debida al RNA. Asimismo otras bandas de menor concentración que se observa como un barrido son impurezas debido a la degradación de los nucleótidos.

8) En caso de baja concentración volver a extraer el tejido macerado, que se debe de almacenar bajo -20°C.

9) Una vez checada la presencia de ADN en buena concentración el extracto se almacena a -20°C, para su posterior purificación.

#### Purificación de ADN del extracto de tejido de *Canthon c. cyanellus* y otros scarabaeinae

1) Preparar 1 litro de buffer TBE 1 X, (100 ml de buffer 14X + 900 ml de agua destilada), agitar con el magneto sobre la parrilla.

2) Pesar 0.3 g de agarosa low melting point de sigma y disolverlos en 50 ml de buffer TBE 1 X, llevarlo a ebullición con agitación en la placa (concentración de la agarosa= 0.6%).

3) Dejarlo enfriar a 60°C y adicionar 2.5 microlitros de bromuro de etidio (las puntas utilizadas para verter este reactivo deben ser desechadas en la mezcla de KMnO4 preparada para este fin, o en hipoclorito de sodio al 5%= clorox). Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente.

4) Enjuagar con H<sub>2</sub>O destilada la cuba de electroforesis destinada para purificación (cuba B), el molde, la bandeja y el peine, y dejar escurrir.

5) Preparar un pedazo de unicel como contenedor con parafilm, ya que sólo se utiliza <sup>a</sup> de la longitud total del molde (Vol.=50 ml). Colocarlo en el molde y la bandeja. Verificar que quede a presión para que no se corra la agarosa por abajo. Puede utilizarse un poco de agarosa rutinaria al 1% para sellar y evitar el corrimiento de la agarosa diluida. Nota: es aconsejable dejar que el gel quede grueso porque se puede purificar todo el volumen de extracto de una sólo vez.

6) Verter la agarosa fría, en el molde.

7) Poner el resto del buffer TBE I X en la cuba de electroforesis.

8) *Dejar* que solidifique al menos 30 min. Pasarlo al refrigerador 5 min.

9) Retirar los peines con sumo cuidado, evitando moverlos hacia los lados (de un solo jalón y muy lentamente), Sacar el molde de la bandeja y colocarlo en la cuba con el buffer.

10) Sobre una tira de parafilm colocar 8 veces 5 microlitros de loading buffer, uno para el control y 7 para las muestras.

11) Colocar en el primer pozo 5 microlitros de LAMBDA ADN 62.4 microgramos/ml (con el loading buffer).

12) Dejar entre muestra y muestra un pozo vacío, para evitar contaminación. NOTA: Colocar las muestras cuidando de no perforar las celdas o romper la placa de agarosa.

13) En los restantes pozos colocar 20 a 30 microlitros de muestra (con loading buffer). 14) Colocar la tapa de electroforesis y correr 1 1/2 Hrs, a 60 Volts.

15) Observar (alt 230-niu) que no se hubieran perforado o roto las celdas (enseguida se observa un corrimiento lateral de la mezcla).

16) Preparar navajas del cutter estériles y lavadas con etanol abs. (o espátulas).

17) Observar en el iluminador con luz uv, y checar que no ocurrió contaminación, Se deberá observar una banda de ADN en c/u de las muestras al mismo nivel que el control. Calcular al grosso modo la conc. De ADN de las muestras mediante la intensidad de la fluorescencia naranja emitida, comparando con la intensidad de la fluorescencia del control, tomando en cuenta que se colocaron 5pl del ADN 62.4 pg/ml (62.4 pg en 1000 pl, o 0.312 jig en el pozo=312 ng, en la banda).

18) Cortar el cuadrito de ADN de c/u de las muestras con una diferente navaja y colocarlos en tubos epp previamente etiquetados con los datos de c/individuo. Anotar la concentración.

19) Fundir en baño María el pedacito de gel y anotar al volumen final (comparar con los estandares de volumen utilizados para la ultracentrifuga), hacer el cálculo de concentración y en caso necesario diluir con agua destilada estéril, para obtener finalmente una concentración de 1.5 a 2.0 ng de ADN del escarabajo en 1 pl, necesario para los RAPDs-PCR.

20) Anotar en la etiqueta la concentración de ADN y la fecha de purificación, y almacenar los tubos a -20° C.

Protocolo general para rapds-pcr (random amplified polymorphic dnas-polymerase chain reaction)

1) Las muestras de ADN (estandarizadas a la concentración ideal de 1 a 2 ng/microlitro) se colocan en baño María, para homogeneizar antes de mezclarlas, en el vortex. Poner a temperatura ambiente el buffer de reacción, el primer, y la mezcla de nucleótidos. Trabajar en la campana de extracción.

2) Previamente se debe tener lista una mezcla de los 4 nucleótidos (125 pl de c/u para un volumen total de 500 µl), que se almacena en refrigeración y es suficiente para varios días.

Mezcla por muestra de ADN para amplificar

4. 3  $\mu$ l de agua destilada esteril.

2.5  $\mu$ l de buffer de reaccion (con MgCl<sub>2</sub> 10 mM, Perkin Elmer). 10  $\mu$ l de mezcla de nucleótidos (dNTP).

0.2  $\mu$ l de polimerasa (Amplitaq ADN polymerase, Perkin Elmer). 3  $\mu$ L de primer (10  $\mu$ M) (Genosys).

5  $\mu$ l de muestra de ADN del escarabajo (ajustada de 1.5 a 2 ng/ $\mu$ l = templado). 25  $\mu$ l volumen total.

1) Preparar una mezcla en un tubo de rx que contenga los reactivos en volumen suficiente para todas las muestras a amplificar, se colocan todos los reactivos, excepto la muestra de ADN, la enzima polimerasa se adiciona justo antes de poner la reacción y se mantiene en refrigeración hasta el momento de ocuparla. Para todos los reactivos se ocupan las micropipetas que tienen la etiqueta de PCR, para la muestra se ocupa una micropipeta común.

2) Las muestras de ADN deben mantenerse en baño María caliente, y se deben homogeneizar en el vortex, antes de colocar la reacción. Una vez colocada la enzima polimerasa en la mezcla de reacción, el total se homogeneiza en el vortex.

3) Colocar 20  $\mu$ l de la mezcla de reacción en c/u de los tubos de reacción.

4) Adicionar 5  $\mu$ l de muestra de ADN.

5) Homogeneizar en el vortex.

6) Centrifugar brevemente.

7) Añadir 15  $\mu$ l de aceite mineral (nujol) Perkin-Elmer, para evitar que la muestra se evapore por la alta temperatura.

8) El programa utilizado en el termociclador Perkin-Elmer constó de los siguientes ciclos: 1 ciclo (tres etapas): 2.5 min a 94 °C, 1.5 min a 37 °C y 1 min a 70 °C. 44 ciclos (tres etapas) : 1 min a 94 °C, 1 min a 37 °C y 1 min a 70 °C. Soak : 4 °C.

9) Una vez amplificadas las reacciones se almacenan a -20 °C hasta correr la electroforesis. Preparación del gel para reacciones de amplificación 1) Preparar 1 l de buffer TBE 1 X .

2) Pesar 2.1 g de agarosa de wide range de Sigma y disolverlos en 150 ml del buffer TBE 1 X, llevar a ebullición con agitación (conc. De la agarosa = 1.4%). Para una placa de agarosa completa.

3) Dejar enfriar a 65°C y add. 7.5 µl de bromuro de etidio y mezclar cuidadosamente.

4) Lavar y enjuagar con agua destilada la cámara de electroforesis, la bandeja, el molde y los peines para PCR, y dejarlos escurrir.

5) Verter en el molde la agarosa y dejar que solidifique al menos 30 min.

6) Poner el refrigerador 5 min.

7) Quitar con mucho cuidado los peines (este gel es menos elástico que el de purificación). 8) Vaciar el resto del buffer en la cámara de electroforesis y colocar el gel con cuidado.

9) En un trozo de parafilm colocar 5 µl de loading buffer al 50% para cada muestra y para cada control.

10) Se utilizarán 3 tipos de controles: En los pozos de cada extremo se coloca 6 µl de Lambda ADN de cono. = 50 ng/µl (peso total 300 ng). En el 2º pozo se coloca 10 µL de Lambda ADN

digerido por las enzimas ECOR I y HIND III. En el pozo de enmedio se coloca 3.5 µl de ADN Ladder 123 bp (pares de bases), marca Sigma (en total 4 controles).

11) Agregar la muestra al loading buffer y mezclar, subiendo y bajando el volumen con la micropipeta, y colocar inmediatamente la muestra en un pozo del gel. NOTA: El aceite adicionado provoca que no se tome la muestra totalmente, se *debe* de evitar llevarse lo menos posible de aceite y lo más posible de la reacción. NOTA2: Al colocar la muestra debe evitarse romper el gel o perforar el pozo.

12) Correr a 63 Volts por 3 horas (verificar las xys. al cabo de 1. hora, si se ven bandas amplificadas de ADN, dejarla correr las otras 2 h).

13) Se deben observar bandas de ADN con resolución (no barridas) a varias distancias del punto de colocación y deben de ser preferentemente diferentes entre los individuos para que puedan ser comparadas. De ser así, el gel se fotografía y se guarda la imagen en una PC con el programa adecuado para PCR-RAPDs

Causas de que no exista amplificación ( no se observen bandas):

1) Baja concentración de ADN en la muestra (tomar más volumen en las siguientes rxs.),

2) Alta concentración de ADN en la muestra (por lo que debe de verificarse la concentración y diluir).

3) Las tiras de ADN que no tengan la secuencia del primer elegido (en dado caso, descartarlo). 4) Errores de pipeteo, (no bajar o tomar completamente los volúmenes), 5) No homogeneizar ni mezclar adecuadamente los reactivos y muestras.

Continúa Cuadro 5.

Especie/Sitios	25	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	40	41	42	43	44
<i>Anaides laticollis</i>								x		x		x	x					
<i>Ateuchus illaesum</i>	x										x			x				
<i>Bdelyroopsis newtoni</i>															x			
<i>Canthidium aff. ardens</i>	x				x					x				x				
<i>C. aff. puncticolle</i>		x				x											x	
<i>C. centrale</i>	x		x	x			x		x	x		x	x	x				
<i>C. sp. 1</i>	x		x		x		x		x	x		x	x	x				
<i>Canthon c. cyanellus</i>		x							x		x			x				
<i>C. i. chiapas</i>											x				x		x	
<i>C. morsei</i>	x							x	x	x				x				
<i>C. euryscelis</i>							x		x					x				
<i>C. femoralis</i>									x									
<i>C. leechi</i>		x				x												
<i>C. subhyalinus</i>							x		x				x					
<i>C. v. vasquezae</i>	x						x	x	x	x								
<i>Copris laeviceps</i>									x			x						
<i>C. lugubris</i>						x											x	
<i>Coprophanaeus gilli</i>	x		x						x	x	x		x	x	x			x
<i>C. t. corythus</i>	x		x	x					x		x							
<i>C. pluto</i>																		x
<i>Chaetodus aff. lacandonicus</i>	x		x												x			
<i>D. pseudoparile</i>	x		x		x		x	x	x	x		x	x	x				
<i>Dichotomius amplicollis</i>				x														
<i>D. c. colonicus</i>											x							
<i>D. satanas</i>	x							x	x				x	x				
<i>Digitonthophagus gazella</i>						x												
<i>Eurysternus caribaeus</i>	x																	
<i>E. velutinus</i>													x					
<i>Nicrophorus olidus</i>																	x	
<i>Ontherus mexicanus</i>													x					
<i>Onthophagus batesi</i>									x		x				x		x	
<i>O. landolti</i>											x				x			
<i>O. rhinolophus</i>	x		x						x	x		x	x	x				
<i>Phanaeus endymion</i>	x		x															
<i>P. mexicanus</i>																	x	
<i>P. sallei</i>									x	x								
<i>Scatimus ovatus</i>				x														
<i>Uroxys sp. 1</i>	x		x		x		x			x		x	x	x				
<i>U. sp. 2</i>					x		x			x		x	x	x				
<i>U. sp. 3</i>							x								x	x		
<i>U. transversifrons</i>	x												x					



Apéndice 2B. Matriz de presencia ausencia de los primers utilizados para el análisis RAPD para cinco poblaciones de *Coprophanæus telamon corythus*. V = Acahual Victoria (37) S = Acahual Simplicio (22), E = Estación (34), P = Pipiapan, BV=Pastizal Buena Vista (44)

V1	V2	V3	V4	V5	S1	S2	S3	S4	E1	E2	E3	E4	E5	E6	P1	P2	P3	P4	BV1	BV2
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1
0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0
1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0
0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0
1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1
0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1
1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0





Distancia entre puntos de muestreo *Canthidium* (m)

271560	2046628	Cerro Megallo
277889	2045815	Cerro El Gallo
284039	2042177	Pipiapan
313115	2032616	Barranca
313638	2026000	Acahual Canul
280770	2056422	Estación
281305	2044253	Buena Vista
308076	2030729	Selva Victoria
286005	2039822	Cerro Coyame

	5-t	8-t	16-t	19-t	29-t	34-t	35-t	38-t	40-t
5	0	6381	13249	43854	46862	13444	10030	39827	15968
8	6381	0	7145	37618	40873	10991	3756	33747	10089
16	13249	7145	0	30608	33731	14615	3433	26624	3068
19	43854	37618	30608	0	6637	40161	33872	5381	28051
29	46862	40873	33731	6637	0	44786	37129	7301	30897
34	13444	10991	14615	40161	44786	0	12181	37493	17406
35	10030	3756	3433	33872	37129	12181	0	29993	6459
38	39827	33747	26624	5381	7301	37493	29993	0	23871
40	15968	10089	3068	28051	30897	17406	6459	23871	0

Apéndice 3A. Distancia geográficas en metros (m) de los sitios de muestreo para los análisis genéticos de *Canthidiuni centrale*.

Distancia entre puntos de muestreo *Coprophaneus* (m)

280770	2056422	Estación
284039	2042177	Piapiapan
309051	2031303	Acahual
313813	2031933	Acahual
281305	2044253	Buena

	34-t	16-t	37-t	22-t	35-t	
3		0	14615	37826	41128	12181
1		14615	0	27274	31487	3433
3		37826	27274	0	4803	30619
2		41128	31487	4803	0	34764
3		12181	3433	30619	34764	0

Apéndice 3B. Distancia geográficas en metros (m) de los sitios de muestreo para los análisis genéticos de *Coprophanaeus telamosn corythus*.

Distancia entre puntos de muestreo *Cyanellus* (m)

28	2056422	34	
28	2038546	18	El Tigre

Apéndice 3C. Distancia geográficas en metros (m) de los sitios de muestreo para los análisis genéticos de *Canthon cyanellus cyanellu s.*

31	2031933	22	<i>Simpli</i>
3813		<i>Acahual</i>	<i>cio</i>
	<i>34-t</i>	<i>18-t</i>	<i>22-t</i>
	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>2</i>
	18938	0	2
	41128	2	0

Apéndice 3C. Distancia geográficas en metros (m) de los sitios de muestreo para los análisis genéticos de *Canthon cyanellus cyanellu s.*