



Documento técnico Programa Apoyo a la Investigación del proyecto Fibras

En el marco del proyecto Fibras desarrollado en conjunto entre el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y ECOPETROL S.A, se crea el programa de Apoyo a la Investigación, que tiene como objetivo general: **Generar conocimiento de la dinámica de la biodiversidad y sus interacciones en la Ecoreserva La Tribuna (Huila) a través de la implementación de información genética y la consolidación de una red de biomonitores locales.** Este programa cuenta con tres objetivos específicos:

1. Apoyar a dieciocho estudiantes -maestría y pregrado- de universidades colombianas, por 12 meses, que contribuyan a la generación de conocimiento en biodiversidad de la Ecoreserva La Tribuna, llevando a cabo sus proyectos de grado, en una de las siguientes líneas temáticas:

1. Caracterización y monitoreo de la comunidad de insectos con trampas Malaise: *Diptera*, *Hymenoptera*, *Coleoptera* y *Hemiptera*.
2. Caracterización y monitoreo de la comunidad de Lepidoptera, sus plantas hospederas y parasitoides asociados.
3. Caracterización y monitoreo de hormigas y especies asociadas.
4. Caracterización y monitoreo de macroinvertebrados acuáticos.
5. Caracterización y monitoreo de plantas y hongos.
6. Redes tróficas a partir de excrementos de aves y mamíferos.



2. Implementar un proyecto piloto de biomonitores al interior de la ecoreserva, inspirado en el proyecto BioAlfa en Costa Rica (<https://www.acguanacaste.ac.cr/bioalfa>), que busca empoderar a la comunidad local en el conocimiento de la biodiversidad. Para cumplir este objetivo los estudiantes estarán en estrecha interacción con ocho biomonitores y de esta forma se busca promover el intercambio de conocimiento y el levantamiento temporal de la información biológica.

3. Implementar la información genética como herramienta de caracterización y monitoreo de la biodiversidad en la Ecoreserva. A través de la taxonomía integrativa en los grupos seleccionados y enmarcados en la iniciativa de códigos de barras ADN se busca contribuir a las bases de referencia genética de la biodiversidad en Colombia. Todas las líneas temáticas propuestas cuentan con un componente genético que hará disponible la información taxonómica y genética en bases de datos públicas.

El programa busca una articulación entre las líneas temáticas propuestas y el trabajo conjunto de los estudiantes y biomonitores para garantizar la generación de conocimiento y su apropiación social. Cada uno de los estudiantes seleccionados tendrá el acompañamiento de un investigador del Instituto Humboldt como co-director de proyecto.



Apoyo a la investigación

Apoyo a estudiantes

El programa de apoyo a la investigación otorgará a 18 estudiantes colombianos que se encuentren inscritos en un programa de maestría o pregrado (últimos semestres), en áreas de ciencias biológicas, forestales, agrónomas o afines, un apoyo económico durante un año, cobertura de gastos de salidas de campo (según cronograma de cada línea temática), materiales para recolección de muestras y secuenciación genética (**revisar reglamento Programa Individual de Apoyo para la Investigación del Convenio Fibras <http://humboldt.org.co/fibras/documentos/reglamento-programa-apoyo-ingestigacion.pdf>**), a fin de que puedan desarrollar sus trabajos de grado en una de las líneas temáticas propuestas.

una primera cohorte que ya cuenta con la participación de **11 estudiantes** y una segunda cohorte de **7 estudiantes** que abre su convocatoria en mayo 2021. Las cohortes están distribuidas de la siguiente manera:

Líneas temáticas	Número de estudiantes	
	Primera convocatoria	Segunda convocatoria
1. Comunidad de insectos con trampas Malaise:		
Diptera	1	1
Coleoptera	1	1
Hemiptera	1	1
Hymenoptera	1	1
2. Lepidoptera	1	
Interacciones Planta - Lepidoptera - Parasitoide		1
3. Hormigas y especies asociadas	1	1
4. Macroinvertebrados acuáticos	1	1
5. Plantas	1	
Hongos	1	
6. Redes tróficas (metabarcoding) Aves	1	
Redes tróficas (metabarcoding) mamíferos	1	

Los estudiantes interesados en participar, presentarán una propuesta complementaria a la mencionada en este documento, la cual tendrá que articularse y responder a los objetivos de la línea a la que apliquen (revisar detalles de cada línea temática), e incluir en ella datos de caracterización y monitoreo por un periodo de hasta seis meses (a excepción de las líneas 5 y 6). Esta propuesta, además, incluirá preguntas adicionales que complementen el proyecto. Se espera en este punto conocer si el estudiante tiene interés en un grupo taxonómico particular sobre el cual quisiera profundizar el estudio o implementar alguna metodología adicional que le interesaría aplicar como complemento a la línea temática.



Productos esperados del estudiante:

1. Participación en taller de empalme entre cohortes y un taller final en formato simposio/congreso donde se socializarán los resultados parciales y finales con la comunidad.
2. Participación en jornadas de campo según lo previsto en cada línea. (Las fechas de las salidas a campo estarán sujetas a cambio, debido a la situación actual de la pandemia)
3. Material de transferencia para los biomonitores, manteniendo un canal de comunicación constante con ellos.
4. Identificación taxonómica de las muestras recolectadas.
- 5 Fotografías y archivos fotográficos organizados.
- 6 Submuestreo de material biológico para análisis genético.
- 7 Bases de datos de los especímenes recolectados, secuencias genéticas e información asociada en formato DwCore organizada para las plataformas BOLD (<http://boldsystems.org/> Ratnasingham and Hebert 2007) y SIB Colombia.
- 8 Participación en reuniones virtuales mensuales de seguimiento.
- 9 Informes trimestrales de avance de ejecución técnica.
10. Un reporte final con análisis y resultados en formato de publicación científica.
11. Especímenes biológicos y tejidos organizados para su depósito en colecciones registradas.
12. Incorporación y documentación en la Infraestructura Institucional de Datos - I2D de los productos generados en el marco del proyecto.

Formación de biomonitores

Cronograma general estudiantes (puede estar sujeto a modificaciones)

Actividad	2020				2021									2022														
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
Apertura convocatoria																												
Selección de estudiantes																												
Salida de campo																												
Informes de avance																												
Talleres y simposio final																												
	Primera cohorte																											
	Segunda cohorte																											

¿Quiénes son los biomonitores? Los biomonitores son personas adultas de comunidades locales, interesadas en aprender sobre la biodiversidad y dispuestas a continuar en un trabajo de inventario y monitoreo de la biodiversidad en la reserva. Los biomonitores contarán con espacios de transferencia de capacidades y acompañamiento durante un año, con el fin de que puedan realizar de manera continua la toma de datos biológicos, realizar la separación inicial de morfotipos, realizar una organización preliminar del material para el depósito en colecciones, aportar a los contenidos de historia natural de los especímenes y monitorear los cambios en las comunidades biológicas de estudio. Los estudiantes tienen un papel fundamental en la formación de los biomonitores y en el acompañamiento continuo para la toma de datos. La actividad de biomonitores y estudiantes tendrá inicio con un taller de transferencia de capacidades y establecimiento de las plataformas de muestreo donde se prevé contar con el acompañamiento de expertos taxónomos para cada uno de los grupos propuestos en las líneas temáticas.

Productos esperados de los biomonitores:

1. Recolección continua de muestras y datos asociados.
2. Fotografías.
3. Separación de muestras en morfotipos.
- 4 Apoyo al montaje de muestras y submuestreo de tejidos.
5. Aporte a los contenidos de información de los especímenes recolectados.
6. Participación en los talleres y jornadas de campo.

Generación de códigos de barras de ADN

Cronograma general biomonitores (puede estar sujeto a modificaciones)

Actividad	2020		2021										2022					
	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
Curso presencial para selección																		
Selección																		
Trabajo de campo																		
Talleres y simposio final																		

Los códigos de barras de ADN corresponden a una secuencia corta y estandarizada de ADN que permite identificar variaciones intra e inter específicas (Hebert et al. 2003). Esta información genética representa una herramienta para la identificación de especies y en el contexto de este programa es una herramienta particularmente útil para grupos taxonómicos difíciles de identificar por su tamaño, vacíos de conocimiento o incluso su estado de vida (juveniles sin caracteres diagnósticos asociados).

Se prevé la generación de códigos de barras de ADN a partir de material biológico recolectado por

estudiantes y biomonitores. Los marcadores previstos para secuenciación son: COI en animales, trnL en plantas e ITS en hongos. Estas secuencias integrarán los proyectos de investigación de los estudiantes y serán publicados en la plataforma BOLD (<http://boldsystems.org/> Ratnasingham and Hebert 2007) de manera que enriquezca el inventario genético nacional y así contribuir a la construcción de conocimiento global. El Instituto Humboldt se encargará de gestionar la generación de códigos de barras de ADN de manera articulada entre las líneas temáticas.



Área de estudio

La Ecoreserva La Tribuna está localizada en las veredas Tamarindo y San Francisco del Departamento del Huila, a 30 minutos de Neiva, y se encuentra en relictos de bosque seco tropical, uno de los ecosistemas más amenazados a nivel mundial. Cuenta con una variedad de coberturas como arbustal, herbazal, pastos enmalezados y tierras desnudas y degradadas (Figura 1), y fuentes hídricas, entre las cuales se encuentran la quebrada El Neme, afluente del río Baché; cascadas, nacimientos de agua y la Laguna Verde. Hace parte del campo petrolero San Francisco y desde el año 2012 se encuentra bajo el manejo de ECOPETROL S.A. Actualmente, cuenta con dos pozos activos, uno productor de petróleo y el otro como inyector de agua (Visite el micrositio La Tribuna) (Figura 1). Adicionalmente, a lo largo de la quebrada El Neme es posible encontrar afloramientos naturales de crudo.

La Ecoreserva cuenta con un área de 254 hectáreas, se encuentra en un rango de elevación entre los 500 y 700 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 24°C (Echeverry-Hernández y Méndez-Puentes 2017), y desde hace aproximadamente 30 años está destinada a la conservación, investigación y estudio in situ de la biodiversidad. Estudios previos han reportado 140 especies de mariposas, 123 de aves, 63 morfoespecies de arácnidos, 32 libélulas, 18 anfibios, 13 reptiles, 24 mamíferos y cerca de 64 especies forestales (Visite el micrositio La Tribuna).

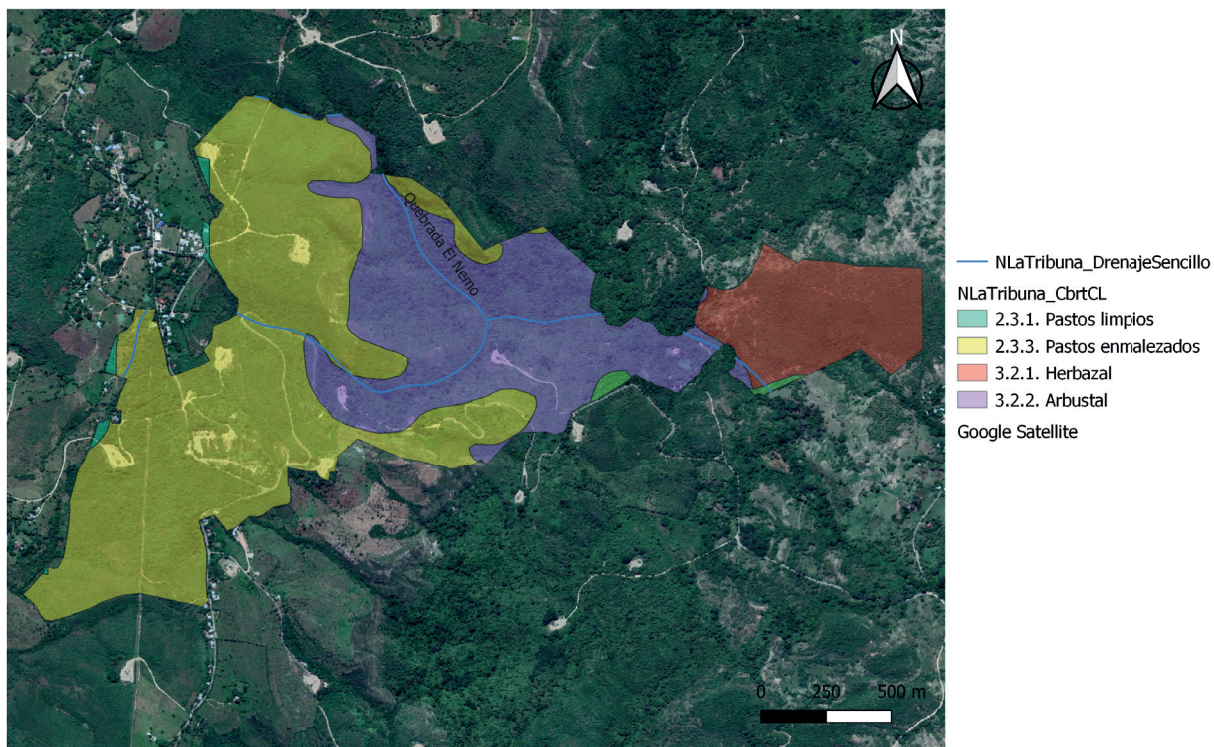


Figura 1. Ecoreserva La Tribuna, Huila. Se encuentran cuatro tipos de cobertura vegetal (clasificación según Corine Land Cover 2012 - IDEAM), con una predominancia de arbustal (morada), seguida de herbazal (verde), pastos enmalezados (azul) y en menor proporción tierras desnudas y degradadas (rosado).

Líneas temáticas

1. Caracterización y monitoreo de la comunidad de insectos con trampas Malaise: Diptera, Hymenoptera, Coleoptera y Hemiptera

Los insectos son un grupo animal diverso y abundante presente en gran número de hábitats en nuestro planeta y con gran potencial de impacto en humanos y otros organismos (Wilson 1999, Robinson et al. 2011). Se conocen dos grandes grupos de insectos de acuerdo a su metamorfosis: holometábolos y hemimetábolos. Los holometábolos son aquellos que presentan metamorfosis completa, en la cual el organismo sufre transformación y se desarrolla pasando por los estados de huevo, larva, pupa y adulto. Los hemimetábolos incluye los organismos con desarrollo gradual sin transformación completa, que omitiendo el estado de pupa, pasan de la etapa de huevo a diferentes estadios inmaduros conocidos como ninfas, estos se asemejan al adulto pero sin el desarrollo de las alas, y finalizando en el adulto. Las órdenes Coleoptera, Diptera, Hymenoptera y Lepidoptera son las más diversas de Holometabola (también conocidos como hiperdiversos) y Hemiptera al más diverso de Hemimetabola. Estos grupos han sido ampliamente utilizados como indicadores del estado de conservación de ecosistemas naturales globalmente, y en monitoreos de diversidad de insectos a nivel mundial.

La caracterización de insectos permite evaluar la calidad de hábitat, establecer líneas base y registrar patrones de cambios en las poblaciones, reconocer especies endémicas, detectar la presencia de especies protegidas, especies introducidas o migratorias, especies de interés en conservación o económico, como plagas, vectores médicos, veterinarios, forestales y agrícolas. Desde la perspectiva de servicios ecosistémicos, estos grupos de insectos son importantes en la valoración de servicios fundamentales como polinización, ciclado de nutrientes, control biológico, estructura del suelo, fuente de alimento, entre otros. Aunque existen diversas metodologías para la caracterización y estudio de

estos grupos, en esta línea se propone el uso de trampas Malaise con el fin de realizar un estudio de la dinámica temporal en los órdenes mencionados (Karlsson et al. 2020, Geiger et al. 2016).

Objetivos específicos a desarrollar en el transcurso del proyecto

1. Realizar la identificación taxonómica y genética de los individuos recolectados
2. Analizar la dinámica temporal de la comunidad de insectos (composición y estructura) en la Eco-reserva La Tribuna.
3. Analizar la comunidad de insectos entre los hábitats seleccionados, en función de variables ambientales y con respecto a otras áreas en bosque seco tropical.

En esta línea se espera llevar a cabo la identificación taxonómica y molecular de grupos de insectos recolectados en trampas Malaise en al menos dos puntos de muestreo. La identificación de insectos se realizará basada en los caracteres morfológicos de cada uno de los especímenes y la caracterización genética a través del uso de códigos de barras de ADN, en particular de la región COI (Hebert et al. 2003). Las trampas estarán disponibles para recolección de muestras por un periodo de una o dos semanas todos los meses del año según la densidad reportada en los primeros muestreos. Los estudiantes participarán en la recolección y separación inicial de muestras (mes 1), tendrán acceso a todo el material recolectado en la reserva, donde este será separado preliminarmente con ayuda de los biomonitores. El material será recolectado en alcohol al 96%, después de la separación inicial por parte de los biomonitores, se hará llegar el material a los estudiantes para el submuestreo del tejido que será enviado a extracción, amplificación y secuenciación de ADN por parte del Instituto Humboldt. Se espera que los estudiantes procedan a la identificación taxonómica y preparación del material para depósito en una colección registrada definida al iniciar el proyecto. Una vez obtenidas las secuencias, estas serán analizadas por los estudiantes para ser integradas en la determinación taxonómica y la resolución de preguntas del proyecto. Los biomonitores continuarán el proceso de recolección de datos en campo y separación del material con soporte de los estudiantes. Los estudiantes continuarán el trabajo de identificación de especies, resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y su importancia ecológica o ecosistémica. Se invita a que los estudiantes interesados en esta línea de trabajo presenten una propuesta complementaria donde puedan desarrollar otras preguntas de investigación en conservación, valoración de recursos naturales, ecología, sistemática, taxonomía, genética, entre otros a partir de los datos generados.



Número de estudiantes:

- Segunda cohorte 4 estudiantes
(1 estudiante para cada orden de insectos)

Días estimados de permanencia presencial en La Tribuna, Huila:

Empalme cohortes:

- Segunda cohorte taller de empalme y campo: 20 días (incluidos 7 días de taller)

Simposio de cierre primera y segunda cohorte: 5 días

Actividades adicionales de los estudiantes:

Desarrollar un proyecto de investigación en la Ecoreserva La Tribuna que utilice los datos recolectados de insectos en las trampas Malaise e integre su labor en la identificación taxonómica de especies con morfología e información genética, resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y la importancia ecológica o ecosistémica de las especies (reconocer especies endémicas, protegidas, introducidas, migratorias, plagas forestales, vectores o servicios ecosistémicos). Durante la visita inicial deberá asistir al montaje de las trampas Malaise y separación de muestras. Al finalizar deberá presentar la caracterización de insectos recolectados y los productos esperados comunes a todas las temáticas.

Biomonitores (número total: 4)

Actividades de los biomonitores: Participación en talleres de capacitación y de socialización, recolección de muestras de trampas Malaise. Montaje y etiquetado permanente de insectos, preparación de muestras para secuenciación genética. Identificación de insectos, fotografías y registros de insectos en plataformas digitales. Disponer de un canal de comunicación constante con los estudiantes.

2. Caracterización y monitoreo de la comunidad de Lepidoptera, sus plantas hospederas y parasitoides asociados

Lepidoptera es uno de los órdenes más diversos de insectos. Este grupo incluye las mariposas y polillas, que además de cautivar por sus atractivos colores, se reconocen por la presencia de “escamas” en las alas, las cuales contribuyen a sus patrones llamativos de coloración (French-Constant 2018). La mayoría de lepidópteros también se caracterizan por presentar un aparato bucal modificado con una estructura tubular llamada espiritrompa, que la mayoría utilizan para extraer néctar de flores. En el proceso de extracción de néctar, estos insectos juegan un papel fundamental en los ecosistemas como polinizadores, aunque también cumplen otros roles como plagas o fuente de alimento de otros organismos. En los ecosistemas, estos insectos establecen relaciones estrechas con sus plantas hospederas y son de gran relevancia para entender patrones de coevolución (Wahlberg et al. 2013). A su vez, las mariposas y polillas también tienen relaciones estrechas con parasitoides que son de gran importancia en relación con la regulación de las poblaciones (control biológico) y las relaciones tróficas a nivel local.

En las últimas décadas, trabajos enfocados a inventarios de biodiversidad a través del uso de ADN y la cría de lepidópteros han logrado poner en evidencia la gran variedad de relaciones entre planta hospedera-Lepidoptera-parasitoide y la sorprendente diversidad de especies crípticas de mariposas, polillas y sus parasitoides. Esta diversidad ha sido descubierta en procesos de cría de lepidópteros, entre los que se resalta el esfuerzo en Costa Rica en el Área de Conservación Guanacaste (ACG) donde la revisión de especies y morfoespecies han llevado a la detección de complejos de especies crípticas. En lepidópteros, 32 especies tradicionales de Saturniidae resultaron en la posible expansión de 49 especies luego de analizar datos de COI, morfología y ecología (Janzen et al. 2012). Janzen et al. (2017) encontraron a partir de COI, morfología, datos ecológicos y de historia natural que *Udranomia kikkawai* (Hesperidae) en realidad correspondía a un complejo de tres especies. En insectos parasitoides, el estudio con COI de 20 morfoespecies morfológicas de la mosca *Belvosia* (Tachinidae) mostró que en efecto se trataba de 32 morfoespecies y no de 20, puesto que tres especies anteriormente conocidas como generalistas resultaron ser un complejo críptico de especialistas (al formar grupos con los hospederos) y 17 de las morfoespecies reconocidos como huésped-específico permanecieron igual (Smith et al. 2006). Posteriormente, Smith et al. (2007) reconoció 73 linajes de la revisión de 16 morfoespecies generalistas de moscas de la familia Tachinidae, de los cuales 71 pueden reconocerse con códigos de barras de COI. En el orden Hymenoptera, Hansson et al. 2015 describieron 55 nuevas especies del género *Euplectrus* (Eulophidae) con morfología y análisis de secuencias COI disponibles. Arias-Penna et al. 2019 publicaron 136 nuevas especies del género de

avispa *Glyptapanteles* (Braconidae) con datos de COI, morfología y los registros de historia natural recolectados en la cría de lepidópteros en Costa Rica y Ecuador. Las actividades de inventario y la cría de lepidópteros de forma conjunta con la obtención y análisis de secuencias de ADN códigos de barra de las mariposas y los parasitoides ha permitido avanzar sustancialmente en el conocimiento de este grupo de insectos por lo cual se considera un aspecto importante en esta línea temática del proyecto. Al recolectar la mariposa en su hospedero permite identificar la especificidad de sus interacciones. En adición a la posibilidad de seguir el ciclo de vida de las mariposas, reconocer y conectar los estadios inmaduros con los adultos de cada especie, registrar el número de días que toma cada ciclo hasta adulto y también trabajar en la identificación y registro de plantas hospederas y en la detección de los parasitoides.



Objetivos específicos a desarrollar en el transcurso del proyecto segunda cohorte

1. Realizar la identificación taxonómica y genética de los individuos recolectados (parasitoides y plantas)
2. Analizar las interacciones Planta-Lepidoptera-Parasitoide en la Ecoreserva La Tribuna
3. Evaluar los registros de especies de parasitoides y plantas hospederas de Lepidoptera en la Ecoreserva La Tribuna respecto a otros ecosistemas en bosque seco tropical.

En esta línea se espera llevar a cabo la identificación morfológica y molecular de especies de lepidópteros, plantas hospederas y parasitoides. Los estudiantes establecerán transectos y metodologías estandarizadas que abordarán en compañía de los biomonitores para la toma de datos biológicos y ambientales, incluyendo la recolección y preparación del material para identificación y la obtención de datos morfológicos y moleculares. En estos transectos se hará muestreo de adultos e inmaduros. Las orugas serán recolectadas de la planta hospedera y llevadas a la estación para cría para ser estudiadas desde la perspectiva de ciclos de vida y relación con plantas hospederas y sus parasitoides. El biomonitor continuará permanentemente la búsqueda activa de orugas. El tesista de plantas hospederas y parasitoides asociados (segunda cohorte) deberá trabajar en las relaciones Planta-Lepidoptera-Parasitoide y las identificaciones de las muestras correspondientes y delimitación de especies si es necesario resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y su importancia ecológica o ecosistémica. Con las secuencias genéticas recibidas todos los tesistas deberán asignar códigos de barras para la identificación de especies. Los tesistas tendrán acceso a secuencias de ADN de los especímenes seleccionados de Lepidoptera y parasitoides (región COI). Además de las secuencias de plantas hospederas (región trnL). Los tesistas aparte de la caracterización de la biodiversidad y el desarrollo de temas prioritarios son invitados a presentar una propuesta complementaria donde podrán desarrollar preguntas de investigación en conservación, valoración de recur-

tos naturales, ecología, sistemática, taxonomía, genética, entre otros.



Número de estudiantes:

- Segunda cohorte 1 estudiante
(Interacciones Planta-Lepidoptera-Parasitoide)

Días estimados de permanencia presencial en La Tribuna, Huila:

Taller intermedio primera cohorte con empalme segunda:

- Segunda cohorte taller y campo: 20 días (incluidos 7 días de taller)
Simposio de cierre primera y segunda cohorte: 5 días

Estudiante 2

Grupos de interés: Plantas hospederas y parasitoides asociados a lepidópteros.

Actividades adicionales del estudiante: Desarrollar un proyecto de investigación en la Ecoreserva La Tribuna que utilice los datos recolectados e integre su labor en la identificación taxonómica de especies con morfología e información genética resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual), y la importancia ecológica o ecosistémica de las especies (reconocer especies endémicas, protegidas, introducidas, migratorias, plagas forestales, vectores o servicios ecosistémicos); además de integrar los registros de historia natural e interacciones Planta-Lepidoptera-Parasitoide. Prover material didáctico para biomonitores identificación y montaje de parasitoides, identificación plantas y preparación del material de herbario. Durante la visita inicial deberá participar activamente en la recolección de orugas en transectos establecidos y en soporte del montaje de cría de mariposas. Al finalizar deberá hacer la identificación de plantas hospederas y parasitoides asociados a lepidópteros y presentar los productos esperados comunes a todas las temáticas.

Biomonitores (número total: 1)

Actividades del biomonitor: Participación en talleres de capacitación y de socialización. Búsqueda, recolección de orugas en campo y cría. Observación y registro de insectos en cámaras de cría. Recolección de hojas para alimentación de orugas cada tres días. Recolección de mariposas en trampas cebadas (mínimo 6 meses). Montaje y etiquetado permanente de insectos y material de herbario, preparación de muestras animales y vegetales para secuenciación genética. Identificación de insectos y plantas, fotografiar y registrar insectos y plantas en plataforma digital. Tomar notas en campo. Por ejemplo, observaciones sobre en qué parte de la hoja están las orugas comiendo. ¿En qué parte de la planta están? ¿Cuántos huevos, larvas se observan en el hospedero? Anotaciones sobre coloración de las hojas, coloración de las orugas. Anotaciones sobre cambios en la coloración durante larva, pupa.

3. Caracterización y monitoreo de Hormigas y especies asociadas

Las hormigas son abundantes en las comunidades terrestres y han sido estudiadas en Colombia por varias décadas, de forma que parte de su taxonomía y diversidad está mejor estudiada en comparación con otros grupos de insectos (Fernández et al. 2019). Este grupo de organismos es reconocido

como bioindicadores de diversidad, perturbación del hábitat, estados sucesionales y efecto del uso del suelo (Fernández et al. 2019, Achury et al. 2020). Las hormigas cumplen un rol clave en la dispersión de semillas, polinización, control biológico y ciclo de nutrientes. Además, se han registrado varios tipos de asociaciones entre hormigas y otros organismos. Entre las más conocidas están la interacción entre hormigas y áfidos (Hemiptera) en plantas hospederas, donde las hormigas ofrecen protección a cambio de una sustancia azucarada producida por este otro tipo de insecto. Existe una gran diversidad en las relaciones entre hormigas y plantas donde las hormigas utilizan las plantas como refugio y en donde las plantas proveen estructuras como domacios. Adicionalmente se ha reportado en nidos subterráneos interacciones simbióticas entre hormigas con Staphylinidae y con hongos simbiote.

Objetivos específicos a desarrollar en el transcurso del proyecto (cohorte dos)

1. Realizar la identificación taxonómica y genética de los individuos hormigas y especies asociadas recolectadas
2. Analizar la dinámica de la comunidad de hormigas (composición y estructura) en la Ecoreserva La Tribuna.
3. Analizar la dinámica de las interacciones de hormigas con otros grupos biológicos (plantas, hongos, otros insectos)
4. Evaluar la dinámica de la comunidad de hormigas entre los hábitats seleccionados y respecto a otros ecosistemas en bosque seco tropical.

En esta línea se espera llevar a cabo la identificación taxonómica de hormigas con apoyo de morfología y la región código de barras COI (Smith et al. 2005) que serán recolectadas en transectos con captura directa y en trampas de caída, trampas con cebos y/o trampas Malaise (línea 1) ubicadas en diferentes hábitats de la reserva (Agosti et al. 2000, Smith et al. 2014). Las trampas Malaise (línea 1) estarán disponibles para recolección de muestras por un periodo de una o dos semanas todos los meses del año. Los estudiantes participarán en la recolección y separación inicial de muestras (mes 1), tendrán acceso a todo el material recolectado en la reserva que será separado preliminarmente con ayuda de los biomonitores. Además, tendrán acceso a secuencias de ADN de los especímenes seleccionados. Los biomonitores continuarán el proceso de recolección de datos en campo y separación del material con soporte de los tesisistas. Los tesisistas continuarán el trabajo de identificación de especies, resaltando diferencias entre hábitats, cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y su



importancia ecológica o ecosistémica. Los tesisistas aparte de la caracterización de la biodiversidad y el desarrollo de temas prioritarios deberán presentar una propuesta complementaria donde podrán desarrollar preguntas de investigación en conservación, valoración de recursos naturales, ecología, sistemática, taxonomía, genética, entre otros.



Número de estudiantes:

- Segunda cohorte 1 estudiante

Días estimados de permanencia presencial en La Tribuna, Huila:

Taller empalme cohortes:

- Segunda cohorte taller de empalme y campo: 20 días (incluidos 7 días de taller)

Simposio de cierre primera y segunda cohorte: 5 días

Actividades adicionales de los estudiantes: Desarrollar un proyecto de investigación en la Ecoreerva La Tribuna que utilice los datos recolectados e integre su labor en la identificación taxonómica de especies con morfología e información genética resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y la importancia ecológica o ecosistémica de las especies (reconocer especies endémicas, protegidas, introducidas, plagas forestales, vectores o servicios ecosistémicos). Durante la visita inicial deberá asistir en selección de transectos, el montaje de trampas y separación de muestras. Al finalizar deberá presentar la caracterización de insectos recolectados en La Tribuna y presentar los productos esperados comunes a todas las temáticas.

Biomonitor (número total: 1)

Actividades del biomonitor: Participación en talleres de capacitación y de socialización, recolección de muestras de trampas exclusivas de hormigas y colaboración con biomonitores Malaise para separación de hormigas y especies asociadas. Montaje y etiquetado permanente de insectos, preparación de muestras para secuenciación genética. Identificación de insectos, fotografiar y registrar insectos en plataforma digital. Disponer de un canal de comunicación constante con los tesisistas.

4. Caracterización y monitoreo de Macroinvertebrados acuáticos

Los macroinvertebrados acuáticos son organismos que incluyen animales no-vertebrados que habitan fuentes hídricas y tienen un tamaño “pequeño” pero no microscópico. En particular existen tres órdenes de insectos sensibles a los cambios ambientales por lo que se utilizan para monitorear la calidad del agua: Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera, también conocidos como EPT. A estos organismos que se pueden utilizar para monitorear cambios en un hábitat se les conoce como bioindicadores. Entre los macroinvertebrados estos tres órdenes EPT son los más sensibles a los cambios y por presentar diferentes rangos de tolerancia a contaminación del agua se han creado índices que los incluyen para monitoreo (Hinselhoff 1987, Sangunett 2000, Roldán-Pérez 2019).

Objetivos específicos a desarrollar en el transcurso del proyecto

1. Realizar la identificación taxonómica y genética de los individuos recolectados

2. Analizar la composición de especies de insectos acuáticos con énfasis en EPT (Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera) en los diferentes microhábitats en la Ecoreserva La Tribuna respecto a otros ecosistemas en bosque seco tropical.
3. Evaluar la respuesta de la comunidad de insectos a las temporadas secas y lluviosas.
4. Analizar el muestreo temporal mensual de la comunidad de órdenes EPT (Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera)

En esta línea se espera llevar a cabo la identificación taxonómica, morfológica y genética de insectos acuáticos con énfasis en Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera recolectados con captura directa y en trampas ubicadas en diferentes microhábitats de la reserva. Se espera hacer recolección de adultos con luz ultravioleta en bandeja con alcohol y/o en una sábana blanca. Además de recolección de inmaduros con redes acuáticas. La identificación se llevará a cabo con apoyo de la región código de barras COI y morfología. Además, los estudiantes deberán estimar los índices EPT para evaluar la calidad del agua en los puntos de recolección seleccionados que deben incluir diferentes tipos de sustrato, de corrientes lólicas y lénticas que garantice variación de microhábitats. El estudiante participará en la recolección y separación inicial de muestras (mes 1), tendrán acceso a todo el material recolectado en la reserva que será separado con ayuda de los biomonitores. Además, tendrán acceso a secuencias de ADN proveniente de los especímenes recolectados y provenientes de adultos capturados en trampas Malaise (línea 1). Este trabajo busca conectar la identificación de adultos con sus estadios inmaduros a partir de las secuencias de ADN. Los biomonitores continuarán el proceso de recolección de datos en campo y separación del material con soporte de los estudiantes. Los estudiantes aparte de la caracterización de la biodiversidad y el desarrollo de temas prioritarios deberán presentar una propuesta complementaria donde podrán desarrollar preguntas de investigación en conservación, valoración de recursos naturales, ecología, sistemática, taxonomía, genética, entre otros.



Número de estudiantes:

- Segunda cohorte 1 estudiante

Días estimados de permanencia presencial en La Tribuna, Huila:

Taller intermedio empalme cohortes:

- Segunda cohorte taller y campo: 20 días (incluidos 7 días de taller)
Simposio de cierre primera y segunda cohorte: 5 días

Actividades adicionales de los estudiantes:

Proponer y desarrollar un proyecto de investigación en la Ecoreserva La Tribuna que utilice los datos recolectados en captura directa/indirecta e integre su labor en la identificación taxonómica de especies con morfología e información genética resaltando cambios en el tiempo (monitoreo mensual) y la importancia ecológica o ecosistémica de las especies (reconocer especies endémicas, protegidas, introducidas, bioindicadoras o servicios ecosistémicos). Durante la visita inicial deberá asistir en recolección de insectos adultos e inmaduros, selección de puntos de muestreo y separación de muestras. Al finalizar deberá presentar la caracterización de insectos recolectados en La Tribuna y presentar los productos esperados comunes a todas las temáticas.

Biomonitor (número total: 1)

Actividades del biomonitor: Participación en talleres de capacitación y de socialización, recolección de muestras de trampas exclusivas de insectos acuáticos y colaboración con biomonitores Malaise para separación de Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera (EPT). Montaje y etiquetado permanente de insectos, preparación de muestras para secuenciación genética. Identificación de insectos, fotografiar y registrar insectos en plataforma digital. Disponer de un canal de comunicación constante con los tesisistas.



Literatura citada

Achury, R., Chacón de Ulloa, P., Arcila, Á. and Suarez, A.V. 2020. Habitat disturbance modifies dominance, coexistence, and competitive interactions in tropical ant communities. *Ecological Entomology*. DOI: 10.1111/een.12908

Agosti, D., Majer, J.D., Alonso, L.E. and Schultz, T.R., 2000. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Smithsonian Institution, Washington DC.

Arias-Penna, D.C., Whitfield, J.B., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Dyer, L.A., Smith, M.A., Hebert, P.D. and Fernández-Triana, J.L. 2019. A species-level taxonomic review and host associations of Glyptapanteles (Hymenoptera, Braconidae, Microgastrinae) with an emphasis on 136 new reared species from Costa Rica and Ecuador. *ZooKeys*, 890, 1-685. DOI: 10.3897/zookeys.890.35786

Ben-David, M. and Flaherty, E.A. 2012. Stable isotopes in mammalian research: a beginner's guide. *Journal of mammalogy*, 93(2), 312-328. DOI: 10.1644/11-MAMM-S-166.1

Bohmann, K., Monadjem, A., Noer, C.L., Rasmussen, M., Zeale, M.R., Clare, E., Jones, G., Willerslev, E. and Gilbert, M.T.P. 2011. Molecular diet analysis of two African free-tailed bats (Molossidae) using high throughput sequencing. *PloS one*, 6(6), 1-11.

Dulla, E.L., Kathera, C., Gurijala, H.K., Mallakuntla, T.R., Srinivasan, P., Prasad, V., Mopati, R.D. and Jasti, P.K. 2016. Highlights of DNA Barcoding in identification of salient microorganisms like fungi. *Journal de mycologie medicale*, 26(4), 291-297.

Echeverry-Hernández, S., and Méndez-Puentes, C.A. 2017. Estudio exploratorio de la microbiota edáfica en el Centro de Investigación y Educación Ambiental La Tribuna, Neiva-Huila. *Ingeniería y Región*, 18, 53-64.

Soininen, E.M., Ehrich, D., Lecomte, N., Yoccoz, N.G., Tarroux, A., Berteaux, D., Gauthier, G., Gielly, L., Brochmann, C., Gussarova, G. and Rolf A.I. 2014. Sources of variation in small rodent trophic niche: new insights from DNA metabarcoding and stable isotope analysis, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 50(3), 361-381. DOI: 10.1080/10256016.2014.915824

- Fernandez, F., Flórez, R.J.G. and Delsinne, T. 2019. Hormigas de Colombia. Universidad Nacional de Colombia.
- French-Constant, R.H. ed. 2018. Butterfly Wing Patterns and Mimicry. Academic Press.
- Hansson, C., Smith, M.A., Janzen, D.H. and Hallwachs, W. 2015. Integrative taxonomy of New World *Euplectrus* Westwood (Hymenoptera, Eulophidae), with focus on 55 new species from Area de Conservación Guanacaste, northwestern Costa Rica. *ZooKeys*, 485, 1-236. DOI: 10.3897/zookeys.458.9124
- Janzen, D.H., Hallwachs, W., Harvey, D.J., Darrow, K., Rougerie, R., Hajibabaei, M., Smith, M.A., Bertrand, C., Gamboa, I.C., Espinoza, B. and Sullivan, J.B. 2012. What happens to the traditional taxonomy when a well-known tropical saturniid moth fauna is DNA barcoded?. *Invertebrate Systematics*, 26(6), 478-505.
- Janzen, D.H., Burns, J.M., Cong, Q., Hallwachs, W., Dapkey, T., Manjunath, R., Hajibabaei, M., Hebert, P.D. and Grishin, N.V. 2017. Nuclear genomes distinguish cryptic species suggested by their DNA barcodes and ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(31), 8313-8318.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O., Brown, D.S., Jarman, S.N. and Taberlet, P. 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular ecology*, 21(8), 1931- 1950. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05403.x
- Robinson, G.E., Hackett, K.J., Purcell-Miramontes, M., Brown, S.J., Evans, J.D., Goldsmith, M.R., Lawson, D., Okamoto, J., Robertson, H.M. and Schneider, D.J. 2011. Creating a buzz about insect genomes. *Science*, 331(6023), 1386.
- Sanchez-Azofeifa, A., Kalacska, M.R., Quesada, M., Stoner, K.E., Lobo, J.A. and Arroyo-Mora, P. 2013. Tropical Dry Climates. En Schwartz, M.D (Ed), *Phenology: An Integrative Environmental Science* (pp. 157-171). Springer Dordrecht Heidelberg New York London.
- Smith, M.A., Fisher, B.L. and Hebert, P.D. 2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1825-1834. DOI: 10.1098/rstb.2005.1714
- Smith, M.A., Woodley, N.E., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(10), 3657-3662.
- Smith, M.A., Wood, D.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D. 2007. DNA barcodes affirm that 16 species of apparently generalist tropical parasitoid flies (Diptera, Tachinidae) are not all generalists. *Proceedings of the national academy of sciences*, 104(12), 4967-4972. Smith, M.A., Hallwachs, W. and Janzen, D.H. 2014. Diversity and phylogenetic community structure of ants along a Costa Rican elevational gradient. *Ecography*, 37(8), 720-731. DOI: 10.1111/j.1600-0587.2013.00631.x
- Taberlet, P., Coissac, E., Hajibabaei, M. and Rieseberg, L.H. 2012. Environmental DNA. *Molecular ecology*, 21(8), 1789-1793. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05542.x
- Villareal H., Álvarez, M., Córdoba, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., Mendoza, H., Ospina, M. and Umaña, A.M. 2006. Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Programa de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Segunda edición. Bogotá, Colombia. 236 p.

Wahlberg, N., Wheat, C.W. and Peña, C. 2013. Timing and patterns in the taxonomic diversification of Lepidoptera (butterflies and moths). PLOS one, 8(11), e80875. DOI: 10.1371/journal.pone.0080875

Wilson, E.O. 1999. The diversity of life. WW Norton and Company.

Links de interés

BioAlfa: <https://www.acguanacaste.ac.cr/bioalfa>

Website Daniel Janzen: <http://janzen.sas.upenn.edu>

Ecopetrol La Tribuna: <https://nuevoportal.ecopetrol.com.co/latribuna/>

BOLD Systems: <https://www.boldsystems.org/>

Manual BOLD / Barcode of Life Data Systems Handbook: http://www.barcodinglife.org/libhtml_v3/s-tatic/BOLD4_Documentation_Draft1.pdf

iBOL: <https://ibol.org/>

VI Simposio en códigos de barras ADN: <https://www.youtube.com/watch?v=KdKlTm4SXsk>

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt: <http://www.humboldt.org.co>

Fibras: convenio de cooperación no. 3025877 firmado entre Ecopetrol S.A. y el Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt

