



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

BIOLOGÍA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS
MARIPOSAS MONARCA (*Danaus plexippus* L)
MIGRATORIAS Y LOCALES EN MÉXICO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN ECOLOGÍA BÁSICA

PRESENTA

ENEIDA BEATRIZ MONTESINOS PATIÑO

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Juan Servando Núñez Farfán

MÉXICO, D. F.

Agosto 2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
Director General de
Administración Escolar
Presente.

Por la presente me permito informar a usted que en reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el 1 de julio de 2002, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de **Maestría en Ecología Básica** de la alumna **ENEIDA BEATRIZ MONTESINOS PATIÑO**, con No. de Cta. 87040016 y Exp. 30971085 con la tesis titulada: **"Biología y Estructura Genética de las Mariposas Monarca (*Danaus plexippus* L) Migratorias y Locales en México"**, bajo la dirección del **Dr. Juan Servando Núñez Farfán**.

Presidente: Dr. Daniel Piñero Dalmau
Secretario: Dr. Juan Servando Núñez Farfán
Vocal: Dr. Manuel Artemio Balcázar Lara
Suplente: Dr. Eduardo Morales Guillaumin
Suplente: Dr. Raúl Cueva del Castillo

Sin otro particular quedo de usted.

Atentamente.
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D. F., 21 de abril de 2003

DR. RODOLFO DIRZO MINJAREZ
Responsable de la Entidad Académica

DRA. TILA MARIA PEREZ ORTIZ
Coordinadora

Agradecimientos

Este proyecto fue posible gracias al apoyo logístico proporcionado por el Dr. Juan Núñez Farfán y su laboratorio, a una beca del Instituto de Ecología de la UNAM y apoyo financiero proveniente del laboratorio de Ecología de Monarcas de la Universidad de Minnesota a cargo de la Dra. Karen Oberhauser.

Le agradezco de manera muy especial a mi director de tesis Dr. Juan Núñez Farfán por aceptarme con este proyecto en su laboratorio y brindarme las facilidades para concluirlo. Por todos sus comentarios tanto escritos, como en las presentaciones de los avances, por sus asesorías en el análisis genético y muchos otros aspectos de la tesis, incluyendo las "clases de isoenzimas", así como por esas reuniones tan amenas.

Al Dr. Daniel Piñero por sus valiosas revisiones a la tesis, le agradezco aceptará formar parte del jurado. Al Dr. Eduardo Morales por sus revisiones y sugerencias y muchos detalles que mejoraron esta tesis. A Raúl Cueva del Castillo por las correcciones a esta tesis, las buenas pláticas y hasta discusiones.

Agradezco al Dr. Manuel Balcazar por sus comentarios y correcciones a esta tesis y por permitirme el acceso a la base de Datos de la Colección Nacional de Insectos de IBUNAM.

A la Dra. América Castañeda por sus comentarios a la tesis en especial al capítulo de genética. Al Dr. Ken Oyama con quién inicié este proyecto y cuyos primeros resultados fueron presentados en la Reunión de América del Norte sobre Mariposa Monarca.

A Juan Fornoni quien amablemente resolvió mis dudas en estadística, me dio excelentes recomendaciones y contribuyó a la presentación de ésta tesis en el Congreso de Monarcas en Kansas.

Al Maestro Armando Luis Martínez por proporcionarme la información de *Danaus plexippus* de la base de datos del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias y por todo su valiosa información de monarcas, de mariposas del D.F y las buenas anécdotas de mariposas.

A mi amiga Georgina Santos y a "Gus" de la Facultad de Ciencias, por su apoyo en las salidas de campo a Guerrero y Michoacán. A Rafael Torres, Judith y Oscar Becerra por su apoyo en las colectas.

El trabajo de desarrollo de larvas en el laboratorio fue posible gracias al enorme apoyo de Armando López lavando hojas y alimentando a "nuestras" larvas a las altas horas de la madrugada. A Margarita y a Miguel por darle sus vueltas a nuestras larvas .

Los trabajos arduos de las pruebas y decenas de corridas realizadas en el Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución no hubieran sido posible sin la valiosísima ayuda de mi mano derecha y amigo Oscar Rodríguez Ávila, además las molidas de mariposas sin tan amena plática con Oscar no hubieran sido tan divertidas.

Al personal del Herbario MEXU del Instituto de Biología de la UNAM (IBUNAM) y Herbario del Instituto Nacional de Ecología A.C. del Bajío en Pátzcuaro, Michoacán por permitirme acceder a la colección de *Asclepias* para revisar los ejemplares.

A José Luis Salinas Gutiérrez por su ayuda en la localización de monarcas en el D.F, Chiapas y en Edo. de México, así como su apoyo para completar la base de datos de *Danaus* y de *Curassavica* y la elaboración de los mapas de distribución en Geomedia. Por ser un amigo incondicional, por echarme porras tantas veces y por recordarme todos los días: "Tienes que escribir".

A la Dra. Karen Oberhauser y Dr. Don Alstad de la Universidad de Minnesota por su apoyo moral, académico y económico para localizar las poblaciones de monarcas, por su revisión a mis presentaciones y por confiar en este proyecto y sus resultados.

A Michelle Prisby por proporcionarme los datos de mortalidad de larvas por taquinidos. A Gina Hupton por sus comentarios y pláticas sobre monarcas.

A mis amigos entrañables e hiperactivos: Salomón Hernández, Fernando H. y Pablo H. (Los tres Hernández) y Alfonso Reyes, quienes me acompañaron a localizar poblaciones de monarcas desde Nayarit hasta Michoacán, sobre todo a Salomón por tener tan mal humor, entendible por los cientos de kilómetros manejados, pero al final siempre dispuesto a localizar a esas monarcas hasta en las puestas de sol de Vallarta.

No puedo dejar de agradecer el enorme apoyo de Chelito Barrientos Piñón por facilitar mis búsquedas en la Biblioteca pero también por las buenas pláticas, a doña Chivis Barrientos y a Oscar Rodríguez por compartir conmigo tan buenos ratos. A Carolina Espinosa por su enorme ayuda en los trámites y todo lo que requería en el postgrado.

A mi amigo Carlos Cabello por apoyarme tanto en lo académico como en lo personal y por que sus logros eran mi recordatorio para titularme, gracias infinitas por ser mi amigo todo este tiempo.

Gracias a mi mamá, papá, hermanos, a Arturo, Estrella, Candelaria y Chabonefe por estar conmigo en todo momento.

Y gracias por todo el cariño a mi Ángel Martínez por aparecer en mi vida y darme esa lucecita que necesitaba.

Resumen

El fenómeno de migración de la mariposa monarca es afectado por la fragmentación y degradación de los ecosistemas boscosos en México. Las condiciones climáticas de los bosques heterogéneos afectan la sobrevivencia de éstas mariposas, principalmente por un gasto excesivo de lípidos. Al finalizar la hibernación, se han encontrado mariposas con menos de 21 mg de lípidos, cantidad insuficiente para completar el viaje migratorio. Estas mariposas podrían formar poblaciones locales en México o establecer un alto flujo genético entre las poblaciones migrantes y residentes.

No hay estudios formales que determinen la existencia de poblaciones locales en México. En este sentido, el presente trabajo estableció la distribución geográfica de *Danaus plexippus* en 26 Estados de la República Mexicana. Se encontró que las poblaciones permanentes se localizan en estados cercanos al Eje Neovolcánico. La distribución mensual permite suponer una ampliación de la distribución por factores ecológicos, así como por la presencia de las poblaciones hibernantes.

Se determinó la existencia de variación en características fenotípicas y respuestas ecológicas (a parasitoides), para conocer si podrían ser atribuidas a diferenciación genética entre poblaciones locales y migratorias. Se estimó el tiempo de desarrollo de mariposas de Guerrero, Michoacán y Morelos. No se encontraron diferencias significativas en el tiempo de desarrollo entre estas poblaciones (ANDEVA $F_{(2,83)} = 3.05$, $p > 0.05$), pero sí en el tamaño promedio de los adultos (longitud de las alas). El promedio de parasitoides (Diptera: Tachinidae) por larva difiere entre las poblaciones locales (ANDEVA $F_{(2,50)} = 8.86$, $p < 0.001$), siendo más alta para Michoacán. En México, la mortalidad de monarcas por parasitoides fue hasta del 90%, mientras que en poblaciones de Estados Unidos se reporta entre 17 y 23%. Los patrones fenotípicos observados no reflejan diferenciación genética entre las poblaciones locales y migratorias, probablemente debido a la presencia de plasticidad fenotípica.

Se analizó la estructura genética de tres poblaciones locales y tres migratorias por medio de ocho loci enzimáticos para establecer si la población norteamericana es una población panmíctica o poblaciones geográficamente aisladas. Así como la variabilidad, los niveles de diferenciación y el grado de flujo genético entre la población migratoria que hiberna en nuestro país y las poblaciones locales en México. Con la frecuencia genotípica se obtuvieron los estadísticos de Wright (F_{IT} , F_{IS} , F_{ST}), se estimó el flujo genético entre las poblaciones utilizando F_{ST} , así como por el método de alelos exclusivos. Los valores de F_{ST} indican que la población norteamericana no se encuentra diferenciada. Aun cuando las áreas de reproducción son geográficamente independientes, las poblaciones migratorias se comportan como una población panmíctica. Las poblaciones locales y migratorias no se encuentran diferenciadas y sólo el 2% de la variación se debe a variación propia de las poblaciones. La identidad genética es alta ($I > 97\%$) posiblemente como resultado del elevado flujo genético entre ellas ($Nm = 9.68$).

Las poblaciones locales no se comportan como una población "sink", y presentan poblaciones pequeñas mientras no hay colonias de hibernación. Sin embargo, al ingresar nuevos migrantes (provenientes de las colonias de hibernación), la población si se comporta como un "sink" ya que se evita la extinción local. El elevado flujo genético evita la diferenciación y adaptación de las poblaciones locales mexicanas ya que cada temporada de hibernación ingresan nuevos individuos adaptados a las condiciones de las grandes praderas norteamericanas.

Los resultados indican que mariposas migratorias se quedan en México al no poder completar el viaje migratorio, de tal manera que a largo plazo se podría pensar en la desaparición del fenómeno migratorio y en el establecimiento de poblaciones locales tropicales.

Índice

I. Introducción General: Planteamiento del problema	
1.1 La mariposa monarca migratoria	1
1.2 Los sitios de hibernación Mexicanos	3
1.3 Mortalidad de la monarca en relación con la estructura del bosque de oyamel	5
1.4 Depleción lipídica de las mariposas y su relación con los bosques de oyamel	6
1.5 El fenómeno de migración de la mariposa monarca en peligro	9
Literatura citada	12
II. Distribución geográfica, variación morfológica y ecología de las poblaciones de <i>Danaus plexippus</i>.	
I. Introducción	17
1.1 Poblaciones locales en México y su relación con las migrantes	17
1.2 Diferenciación local de las monarcas: Variación fenotípica	18
1.3 Diferenciación local: Ecología, respuesta al parasitoidismo	19
II. Objetivos	21
III. Método	21
3.1 Distribución de poblaciones locales mexicanas de mariposa monarca	21
3.2 Colecta y tiempo de desarrollo de las monarcas locales mexicanas	22
3.3 Diferencias morfológicas en las poblaciones locales y migratorias mexicanas	23
3.4 Parasitoidismo en monarcas locales	24
3.5 Análisis estadístico	25
IV. Resultados	26
4.1 Distribución de poblaciones locales mexicanas de mariposa monarca	26
4.2 Colecta y tiempo de desarrollo de las monarcas locales mexicanas	33
4.3 Diferencias morfológicas en las poblaciones locales y migratorias mexicanas	35
4.4 Parasitoidismo en monarcas locales	37
V. Discusión	39
5.1 Registro de poblaciones locales mexicanas de monarcas	39
5.2 Colecta de las monarcas locales	41
5.3 Diferencias morfológicas entre las poblaciones locales y migratorias (tamaño y tiempo de desarrollo (locales)	42
5.4 Diferencias morfológicas intrapoblacionales (peso)	47
5.5 Parasitoidismo en monarcas locales	48
5.6 Consideraciones finales	50
Literatura Citada	51

III. Estructura y Variabilidad Genética de las poblaciones migratorias norteamericanas y las poblaciones locales de mariposa monarca (<i>Danaus plexippus</i> L.) en México.	
I. Introducción	54
1.1. La población Norteamericana : metapoblación o panmítica	54
1.2. Fragmentación de los sitios de reproducción e hibernación: Conservación de la diversidad Genética	56
1.3. Flujo genético y adaptación local	58
1.4. Poblaciones fuente y poblaciones sink (sumidero)	59
1.5. Antecedentes de la estructura genética de la mariposa monarca	61
II. Objetivos	64
III. Método	65
3.1 Colecta de monarcas migratorias	65
3.2 Colecta de monarcas locales mexicanas	65
3.3 Electroforesis de proteínas	66
3.4 Análisis genético	67
3.4.1 Variabilidad genética	67
3.4.2 Estructura Genética	68
Coeficiente de endogamia	68
Estadísticos F de Wrigth	69
Estadísticos f, f y de Weir y Cockerham	70
Flujo Genético	71
Distancia e identidades Genéticas	74
IV. Resultados	76
4.1 variabilidad genética de las poblaciones de mariposas migratorias y locales	76
Frecuencias alélicas	76
Medidas de Variabilidad genética	79
4.2 Estructura genética	80
Coeficiente de Endogamia	80
Estadísticos F de Wrigth	80
4.3 Distancias e identidades genéticas	84
4.4 Relaciones Filogenéticas	84
4.5 Flujo genético	86
V. Discusión	88
5.1 La Población Norteamericana de <i>Danaus plexippus</i>	88
5.2. Poblaciones locales en México y su relación con las monarcas migratorias	90
5.3 Espectro fuente-sink	93
5.4 Prevención de la adaptación local	95
5.5 Consideraciones Finales	97
Literatura Citada	99

I. Introducción General: Planteamiento del problema

1.1 *La mariposa monarca migratoria*

La mariposa monarca (*Danaus plexippus* L. Lepidoptera: Nymphalidae) es uno de los insectos más populares, esto se debe a que emigran desde el sur de Canadá y norte de Estados Unidos, hasta México (Fig. 1.1), formando espectaculares agrupaciones de hibernación en las montañas del Eje Neovolcánico Mexicano. Han sido de gran interés científico debido a que la migración no es una conducta aprendida, su orientación a las áreas de hibernación ha generado diversas hipótesis para su explicación (Etheredge *et al.* 1999, Mouritsen y Frost 2002), y por que uno de los intereses más controversiales ha sido la pérdida de las áreas de hibernación en México (revisión en Hoth *et al.* 1999, Brower *et al.* 2002) y la posibilidad de riesgos en las áreas de reproducción en Estados Unidos como la alimentación con polen transgénico (Hansen y Obrycki 2000, Shelton y Sears 2001, Sears *et al.* 2001).

El origen de esta mariposa se remonta a 1.75 millones de años en el Viejo Mundo, donde se desarrolló el ancestro del subgénero *Danaus* (Kitching 1986), y cuyas relaciones sistemáticas sugieren que América del Sur es el lugar donde evolucionó la especie *D. plexippus*. Es un insecto cosmopolita, con registros en Asia, Australia y en América se distribuye a partir de los Grandes Lagos en Canadá, hasta Perú (Urquhart 1960).

Esta distribución ha generado diversas ideas sobre su expansión. Por ejemplo, Vane-Wright (1993) sugiere que la distribución actual de la monarca en América se originó en respuesta al fenómeno de deforestación, el cual se inició en Norteamérica a finales del siglo XVIII a causa de la colonización Europea. Esto probablemente favoreció la explosión de las poblaciones de asclepias (*Asclepias* spp), las plantas hospederas de las larvas de las monarcas (Wells y Wells 1992, Brower y Glazier 1975, Brower 1984, Malcolm y Brower 1989 y Nelson 1993). Estas plantas son muy diversas y se encuentran ampliamente distribuidas en Norteamérica (Woodson 1954). Esto podría explicar porqué las poblaciones norteamericanas de monarcas son las más grandes en el mundo.

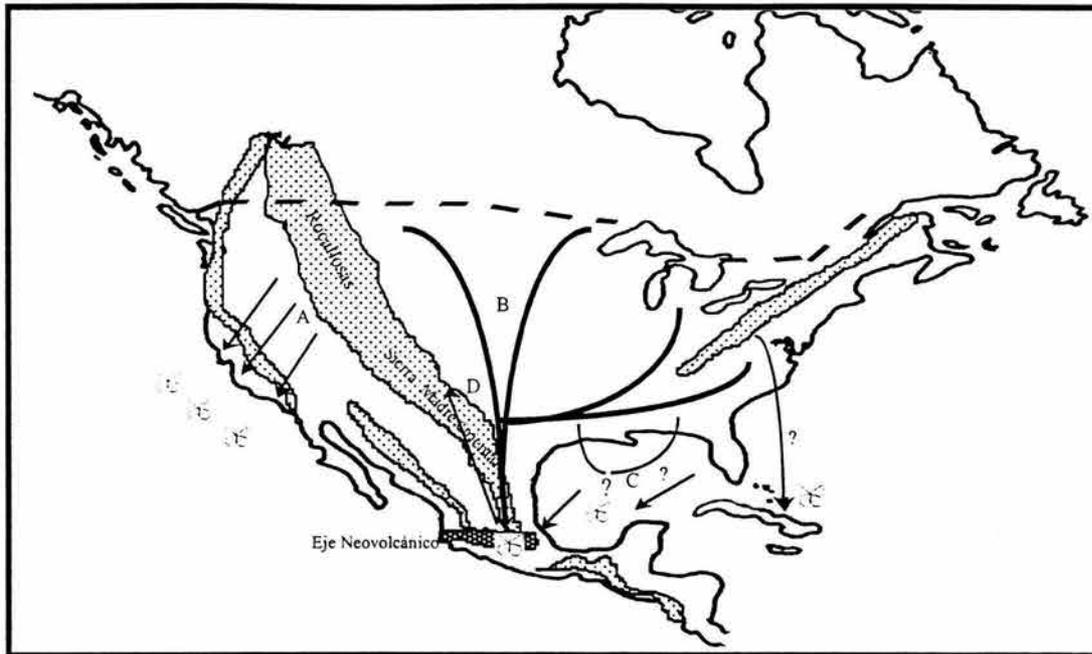


Figura 1.1 Rutas de migración de la mariposa monarca norteamericana. Las mariposas que emergen entre agosto y septiembre migran a las costas de California (A), y al Eje Neovolcánico Mexicano entre los estados de México y Michoacán (B). Se ha propuesto una ruta de migración a través del Golfo de México, sin embargo no se conocen sitios de hibernación o si estas mariposas forman poblaciones locales en Cuba o en las costas del Golfo (C). Al final de la temporada de hibernación en México las monarcas emigran a los Estados Unidos (principalmente Texas y Louisiana) donde ovipositan sobre *A. viridis* (D). Se cree que una o dos generaciones se desarrollan al sur de los Estados Unidos, éstas continúan con la repoblación y dan origen a la generación que madurará en el Norte (Cockrell *et al.* 1993). La línea punteada corresponde al límite de distribución de las asclepias

Las poblaciones de mariposas norteamericanas se distribuyen principalmente donde se encuentran las especies *Asclepias syriaca*, *A. asperula*, *A. capricornus* y *A. viridis* (Malcolm *et al.* 1993). Los adultos ovipositan en estas plantas y las larvas se alimentan de hojas, tallos e inflorescencias, de ellas obtienen glucósidos cardiacos que almacenan en su exocutícula y funcionan como defensa antidepredadores (Roeske *et al.* 1976, Fink y Brower 1981, Brower y Fink 1985, Malcolm 1992, Holzinger y Wink 1996, James 2000).

El ciclo de vida de estas mariposas se completa aproximadamente en un mes, sin embargo, a bajas temperaturas el desarrollo larval puede ser más lento (Zalucki 1982, Brower y Fink 1985, Malcolm 1992). Brower (1985) sugiere que la fenología, distribución y abundancia de las asclepias como recurso para las larvas, determinan aspectos de la historia de vida de la monarca, tales como la migración o la ocupación local, así como la distribución de las poblaciones y su densidad poblacional.

La migración de millones de monarcas durante el otoño se origina por la falta de alimento para las larvas ya que las asclepias (*Asclepias* sp) pierden las partes aéreas. Otro factor que determina la migración son las bajas temperaturas ocasionadas por las masas de aire polar provenientes del norte.

La población migratoria presenta diferencias fisiológicas respecto a poblaciones establecidas en otras regiones del mundo; sus órganos sexuales no se desarrollan debido a la carencia de hormona juvenil, lo que permite una excepcional longevidad (Herman *et al.* 1989, Herman y Tatar 2001), viven hasta ocho meses, durante los cuales migrarán, hibernarán, se reproducirán y finalmente reemigrarán al sur de los Estados Unidos. Acumulan grandes cantidades de lípidos conforme migran a las áreas de hibernación, llegan a incrementar en más de 100 mg sus reservas lipídicas durante el viaje; (Brower 1985, Masters *et al.* 1988, Calvert y Lawton 1993, Gibo y McCurdy 1993, Wells *et al.* 1993).

Las bajas temperaturas y la humedad de los bosques mexicanos de oyamel (*Abies religiosa* H.B.K), donde se forman las colonias, permiten que las monarcas permanezcan en inactividad (Calvert *et al.* 1989) y utilizan lentamente sus lípidos durante el periodo de hibernación (Leong *et al.* 1991, James 1993). Sin embargo, algunas mariposas calientan los músculos del tórax y vuelan a fuentes de agua (Masters *et al.* 1988), este tipo de conducta hace que las monarcas consuman sus reservas de lípidos más rápido.

1.2 Los sitios de hibernación mexicanos

Las colonias de hibernación de la mariposa monarca se forman en bosques compuestos principalmente por oyamel a altitudes entre los 2800 y los 3100 msnm (obs. pers). Calvert y Brower (1986) mencionaron que estos bosques brindan las características climáticas y fisiográficas que las monarcas requieren para sobrevivir durante los 135 días que dura la hibernación.

Las altitudes de estos sitios proveen temperaturas lo suficientemente bajas para que las mariposas permanezcan en un estado de diapausa reproductiva y conserven sus reservas energéticas (Brower 1985). Además, las masas de aire subtropical provenientes del

pacífico son lo suficientemente húmedas para que las mariposas no se desequen, y son moderadamente fríos como para evitar la muerte de las mariposas por congelación.

Con el hallazgo de los sitios de hibernación (Urquhart 1976), las autoridades, científicos y la comunidad en general se interesaron por el fenómeno de este lepidóptero y en 1980 se decretan como sitios de reserva y refugio de la vida silvestre (Diario Oficial de la Federación 1980). Sin embargo, debido a la carencia de información social y científica se replantea el decreto y el 9 de octubre de 1986 se establece la Reserva Especial de la Biosfera Mariposa Monarca REBMM (Diario Oficial de la Federación 1986), comprendiendo una superficie de 16,110 hectáreas entre los estados de México y Michoacán. Bajo este decreto se protegen cinco santuarios ubicados entre los 19° 20' y 20° 00' de latitud norte y los 100° 08' y 100° 25' de longitud oeste (Fig. 1.2). Diversas reuniones científicas y con autoridades han llevado a un tercer decreto como Área Natural Protegida con el carácter de Reserva de la Biosfera con una superficie total de 56, 259 hectáreas (Diario Oficial de la Federación 2000).

Hasta antes del decreto de 1986, las extracciones madereras fueron continuas y sin ningún tipo de ordenamiento ecológico (Snook 1993), de tal manera que en la región se encuentran bosques heterogéneos o con diferentes grados de apertura del dosel. Para entender la heterogeneidad del bosque de oyamel conviene describir que generalmente se encuentra constituido por cuatro estratos: el estrato arbóreo, compuesto principalmente por *Abies religiosa*, *Pinus pseudostrobus* y *Cupressus lindleyi*; además de otras especies arbóreas de menor altura como *Buddleja cordata* y *B. lanceolata*; el estrato arbustivo esta compuesto por especies con una altura máxima de 5 metros, entre las cuales se encuentra plantas del género *Senecio*, el estrato herbáceo está constituido por especies con una altura promedio de 1.5 m, de los géneros *Senecio* y *Salvia*; y en el estrato rasante habitan numerosas especies de musgos, hongos y líquenes (obs. pers.).

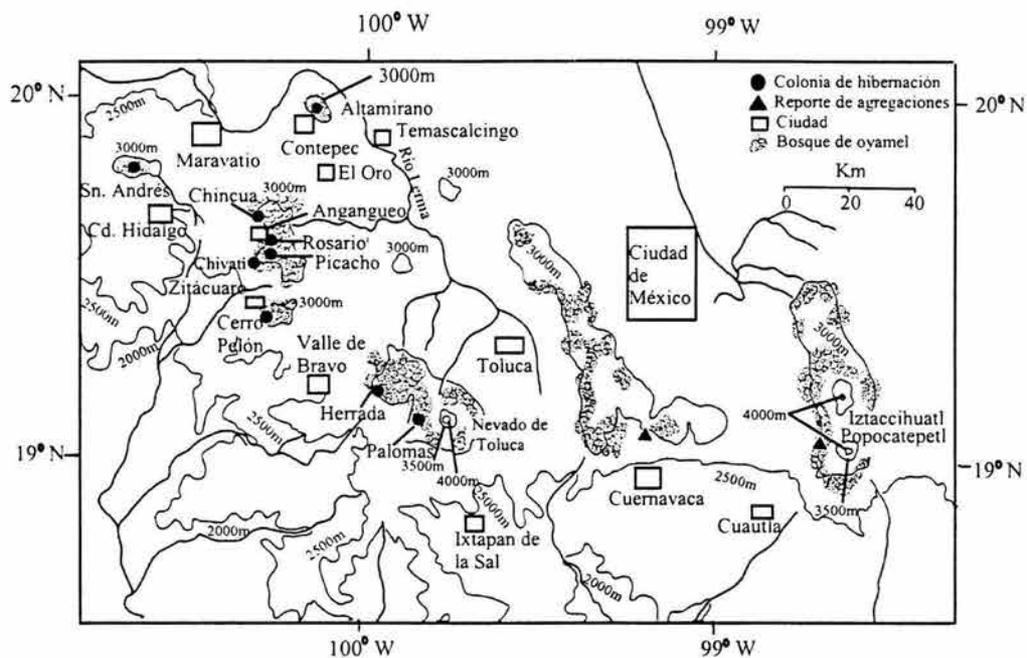


Figura 1.2. Localización de colonias de hibernación de monarcas. El decreto de REBMM de 1986 protegía los santuarios Chincua, Rosario, Chivatí, Cerro Pelón y Altamirano. Estos se forman por la zona núcleo donde las vedas de aprovechamiento forestal son permanentes y la zona de amortiguamiento donde se pueden realizar actividades económicamente productivas.

Los bosques de oyamel tienen una distribución restringida en nuestro país, con altas tasas de extracción y aclaramiento para su conversión a tierras de cultivo (Rzedowski 1983). En la reserva de la monarca el estrato arbóreo está compuesto principalmente por esta especie, enfrentándose a las mismas condiciones que en el resto del país, de tal manera que en las zonas de hibernación se tienen áreas donde predomina más el estrato arbustivo y herbáceo debido a los aclareamientos que se hicieron antes de los 80's. Así, las mariposas monarcas hibernan en bosques con diferentes grados de apertura o heterogéneos

1.3 Mortalidad de la monarca en relación con la estructura del bosque de oyamel

Las monarcas en los sitios de hibernación se enfrentan a diferentes causas de mortalidad. Por ejemplo, las condiciones climáticas extremas tales como las bajas temperaturas, lluvia, nieve, granizos y tormentas que pueden ocurrir en los sitios de hibernación, ocasionan un incremento en la mortalidad. La depredación por aves es otra causa de mortalidad de la mariposa en los sitios de hibernación, especialmente por calandrias (*Icterus galbula abeillei* Lesson e *I. parisorum*), así como por el pinzón *Pheucticus melanocephalus* Swainson, aunque también puede ocurrir depredación por ratones del género *Peromyscus* y por ardillas (obs. pers.)

Para determinar cómo la apertura de los bosques de oyamel afectaba la sobrevivencia de las monarcas, Calvert y Brower (1981) mostraron que muchas de las monarcas que formaron sus agrupaciones en áreas abiertas del bosque, morían por congelamiento en comparación con las monarcas que se agruparon en bosques cerrados.

Se han manifestado diferentes presiones políticas y económicas para que el gobierno considere la autorización de los permisos de aprovechamientos forestales. Es por ello que los trabajos de investigación ecológica han intentado relacionar sus resultados con estrategias de conservación para la Reserva. Alonso-Mejía *et al.* (1998) determinaron la estructura del bosque de oyamel donde se estableció una colonia de hibernación de monarcas, con base en: a) densidad arbórea, b) área basal total y c) porcentaje de cobertura del dosel del bosque. Con estas variables se obtuvo un índice de apertura de bosque clasificándose en sitios abiertos y cerrados; en éstos se estimó la mortalidad por aves, encontrándose que es más intensa en bosques abiertos, indicando que la dinámica de depredación está cambiando por las condiciones actuales del bosque.

1.4 Disminución lipídica de las mariposas y su relación con los bosques de oyamel

Durante la temporada de hibernación 1993-1994, Alonso-Mejía *et al.* (1998) mostraron que en la colonia Sierra Chincua en Michoacán, la tasa de pérdida de humedad fue significativamente más alta en zonas abiertas del bosque, por lo que las mariposas agrupadas en estos sitios tienen la necesidad de acudir más veces a las fuentes de agua para evitar la desecación, y como consecuencia presentan un mayor gasto energético. Las monarcas agrupadas en áreas abiertas también se exponen a una mayor entrada de radiación solar, ésta calienta los músculos del tórax y las mariposas vuelan; consumiendo más rápido sus reservas lipídicas, inclusive las que necesitaran para la reemigración al sur de los EUA (Master *et al.* 1988, Brower y Malcolm 1991, Alonso-Mejía *et al.* 1997).

Alonso-Mejía *et al.* (1997) encontraron que las monarcas agrupadas en zonas cerradas tenían significativamente un mayor contenido de lípidos que las monarcas de sitios abiertos. Las monarcas de sitios abiertos perdieron 56.8 mg de lípidos en promedio durante la hibernación, mientras que las monarcas de sitios cerrados tan sólo habían perdido 27.6 mg de lípidos.

Las reservas energéticas obtenidas por las larvas son generalmente destinadas para el mantenimiento somático de los adultos no migrantes, mientras que la energía obtenida por el estado adulto y la obtenida a través de los espermátóforos transferidos a hembras es exclusivamente para producción de huevos (Oberhauser 1992; 1997). En las mariposas monarcas migratorias, los lípidos almacenados durante el viaje de emigración son utilizados para la sobrevivencia del adulto durante la hibernación y la energía obtenida por los espermátóforos transferidos durante los múltiples apareamientos de las monarcas en las colonias de hibernación, son utilizados para la producción de huevos.

Si las monarcas conservan la cantidad de lípidos óptima para la reemigración, tan sólo buscarán obtener energía (por la transferencia de espermátóforos) para la producción de huevos. Sin embargo, si las mariposas no poseen los lípidos suficientes para este viaje, existe una disyuntiva: la sobrevivencia o la reproducción.

En los sitios de hibernación se han observado mariposas que intentan alimentarse por lo que Alonso-Mejía *et. al.* (1997) proponen que éstas pertenecen a una generación anterior a la migrante. Estas mariposas llegaron hasta los sitios de hibernación y acuden a las fuentes de néctar debido a que son mariposas reproductivamente maduras y requieren de la adquisición de nutrientes para la producción de huevos. Aunque también existe la posibilidad de que mariposas hibernantes rompan su diapausa reproductiva (debido a un incremento en la temperatura del medio) antes de que termine el período de hibernación y requieran también alimentarse.

La Tabla 1.1a,b nos permite comparar el contenido lipídico de las monarcas reproductivas de Norteamérica (no migrantes) y de las migratorias, entre las cuales hay una diferencia lipídica de más de 50 mg. Los lípidos de las mariposas migrantes son utilizados durante el período de hibernación en México; al final de éste, las mariposas conservan en promedio 56 mg. de lípidos (Tabla 1.1c, mariposas perchadas). Se ha estimado que ésta cantidad de lípidos les permite llegar hasta el sur de los Estados Unidos y conservar en promedio 27 mg. de grasa (Tabla 1.1d). Sin embargo, el promedio de lípidos al final de la temporada de hibernación de las mariposas que visitaron flores fue de 21 mg. con los cuales seguramente no alcanzarán a completar el viaje de reemigración, ya que durante éste se gastan aproximadamente 28 mg. de lípidos (Tabla 1.1c, mariposas de néctar).

Tabla 1.1 Contenido lipídico de las monarcas de Norteamérica. Lípidos (mg) de mariposas norteamericanas con un ciclo de vida de entre 3 y 5 semanas (a), mariposas que emprenderán el viaje migratorio (b).

a) Contenido lipídico de las monarcas reproductivas norteamericanas

Sitio de reproducción	Fecha	n	lípidos (mg)	Cita
Wisconsin	Junio 1985	605	12	Malcolm <i>et al.</i> en prep.
Wisconsin	Junio 1986	159	20	Malcolm <i>et al.</i> en prep.
Wisconsin	Junio 1994	333	10	Brower <i>et al.</i> en prep.
Massachusetts	Julio 1979	109	18	Walford 1980
Massachusetts	Agosto 1979	174	23	Walford 1980
Massachusetts	Agosto 1979	230	19	Brower 1985
Ontario	Agosto 1986	79	54	Gibo y McCurdy 1993
promedio de contenido lipídico			22.3	

b) Mariposas migratorias de otoño

Sitio de colecta	Fecha	n	lípidos (mg)	Cita
Ontario	Sept 1941	122	66	Beall 1948
Ontario	Sept 1943	180	102	Beall 1948
Missouri	Sept. 1972	10	137	Brown y Chippendale 1974
Ontario	Sept 1986	73	79	Gibo y McCurdy 1993
Ontario	Sept 1986	82	35	Gibo y McCurdy 1993
Virginia oeste	Oct. 1970	5	100	Cenedella 1971
Hidalgo, Mexico	Oct. 1977	101	146	Waldford 1980
Texas	Oct. 1979	42	112	Waldford 1980
Texas	Oct. 1979	66	100	Waldford 1980
Florida	Oct. 1979	108	29	Waldford 1980
Texas	Oct. 1982	59	77	Brower <i>et al.</i> en prep.
Texas	Oct. 1993	132	120	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
Georgia	Nov. 1980	46	20	Brower <i>et al.</i> en prep.
Florida	Nov. 1982	120	19	Brower <i>et al.</i> en prep.
Promedio de contenido lipídico			74.8	

Tabla 1.1 continuación..Contenido lipídico de las monarcas de Norteamérica mariposas migratorias colectadas en sitios de hibernación en México (c) y mariposas emigrantes colectadas al sur de los Estados Unidos (d).

c) Mariposas migratorias en los sitios de hibernación, mariposas perchadas y de néctar

Mariposas	Fecha	n	lípidos (mg)	Cita
perchadas	Nov. 1993	100	133	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
perchadas	Dic. 1993	100	113	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
perchadas	Enero 1994	100	101	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
perchadas	Feb. 1994	100	58	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
perchadas	Marzo 1994	100	56	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
Néctar	Dic. 1993	100	53	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
Néctar	Enero 1994	100	24	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
Néctar	Feb. 1994	100	21	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997
Néctar	Marzo 1994	100	21	Alonso-Mejía <i>et al.</i> 1997

d) Contenido lipídico de las mariposas reemigrantes que ovipositan en el sur de los EUA

Sitio de colecta	Fecha	n	lípidos (mg)	Cita
Texas-Louisiana	Abril 1985	129	17	Malcolm <i>et al.</i> en prep.
Texas-Louisiana	Abril 1986	167	27	Malcolm <i>et al.</i> en prep.
Texas-Oklahoma	Mayo 1985	116	35	Malcolm <i>et al.</i> en prep.
Texas-Oklahoma	Mayo 1986	431	29	Malcolm <i>et al.</i> en prep.

promedio de contenido lipídico 27

Si en las áreas de hibernación existen a) mariposas que se enfrentan a condiciones desfavorables, y conservan una cantidad de lípidos inferior a los 25 mg. al final de la temporada de hibernación, b) mariposas pertenecientes a otra generación o c) aquellas que rompieron la diapausa reproductiva antes de finalizar el periodo de hibernación y que no pueden utilizar la energía obtenida por el néctar para almacenarla en forma de lípidos (ya que ésta será para la producción de huevos), entonces existiría la posibilidad de que no puedan completar el viaje de reemigración por lo que la reproducción se vuelve el elemento más importante, y podrían ovipositar en asclepias cercanas a los sitios de hibernación .

1.5 El fenómeno de migración de la mariposa monarca en peligro

Brower y Malcolm (1991) definieron un nuevo paradigma en la biología de la conservación: “El fenómeno biológico en peligro”, como un aspecto espectacular de la historia de vida de un organismo (que involucra a una gran cantidad de individuos) que se ve amenazado, la especie *per se* no se encuentra necesariamente en peligro de extinción pero sí el fenómeno que muestra. Estos autores definieron este concepto con

base en la situación actual de la monarca, la especie *Danaus plexippus* puede no estar en peligro de extinción, debido a la amplia distribución de poblaciones no migratorias, sin embargo, la espectacular migración de las mariposas norteamericanas puede estarlo si no existen hábitats de hibernación adecuados para su sobrevivencia.

La migración de la monarca es un fenómeno especializado y único: Es una de las migraciones más largas registradas para insectos, los sitios de hibernación no son los de reproducción (como sucede en muchas aves migratorias) por lo que para iniciar la reemigración, la sobrevivencia de los migrantes es crucial, y para completarla se requiere de una serie de generaciones posteriores a la hibernante.

Una de las principales preocupaciones respecto al fenómeno de la monarca es la referente a las áreas de hibernación, donde problemas tales como la extracción comercial de madera, la expansión de las zonas rurales, incremento de fuegos naturales y provocados, prácticas de extracción ilegal de madera (tala hormiga), plagas forestales y ecoturismo, afectan la sobrevivencia de las mariposas migratorias. Brower *et al.* 2002. muestran que entre 1971 y 1999 se ha fragmentado el 44% del bosque que anteriormente era considerado como bosque conservado en las áreas de hibernación, considerando esto una de los principales amenazas para el fenómeno de hibernación y migración.

Es probable que las mariposas seleccionen los sitios del bosque donde las condiciones microclimáticas garanticen su sobrevivencia, sin embargo, ésta selección puede verse limitada por la disponibilidad de sitios en las áreas de hibernación. La selección puede estar relacionada con el tiempo de llegada a los bosques, de tal manera que las que llegan primero son las que tendrán la oportunidad de elegir estos sitios. Este fenómeno ha sido documentado para aves migratorias, Moeller (1994) encontró una relación entre fenotipo, llegada temprana a los sitios de hibernación y calidad del sitio elegido, respecto el éxito reproductivo.

Los individuos de mejor calidad fenotípica podrían ser los que llegarán primero a los sitios de hibernación evitando así una fuerte competencia por sitios, por ejemplo, las aves que llegan primero a las áreas de reproducción son los que exhiben una mejor calidad fenotípica y como consecuencia una mejor adecuación (Francis y Cook 1986,

Lozano *et al.* 1996, Kokko 1999). De tal manera que la llegada temprana a los sitios de hibernación podría garantizar un menor costo respecto al gasto de reservas energéticas.

Si el costo de sobrevivencia es muy alto, es posible que no completen el viaje de reemigración al sur de los EU. Estas mariposas podrían formar poblaciones locales en México o establecer un alto flujo genético. El fenómeno de migración podría desaparecer, así como la población reproductiva norteamericana y establecerse definitivamente como poblaciones locales tropicales que no presenten el fenómeno de migración.

Para abordar estas hipótesis primero determiné la existencia y permanencia de poblaciones locales de mariposa monarca en México, posteriormente se conocerán algunos aspectos de historia de vida (tiempo de desarrollo), morfología y ecología (parasitoidismo). Y el elemento más importante del presente trabajo es conocer el patrón genético de las mariposas migratorias. Los elementos morfológicos y ecológicos pueden resultar interesantes ya que por ejemplo Baughman *et al.* (1990) encontró que las poblaciones norteamericanas de la mariposa *Euphydryas editha* mostraban homogeneidad alélica a pesar de las diferencias morfológica y ecológicas. Respecto al patrón genético se ha encontrado que las especies pueden mostrar heterogeneidad genética si los movimientos interpopulacionales son restringidos (Loxdale *et al.* 1998, Loxdale y Lushai 1999).

De la Maza (1995) sugiere que entre las poblaciones migratorias y locales de mariposas monarcas hay restricciones que impiden el intercambio genético, tales como barreras geográficas y diapausa reproductiva (en las migratorias). Este trabajo pretende determinar si hay intercambio genético entre las poblaciones migratorias y locales mexicanas debido a que el viaje reemigratorio no puede ser completado por las bajas reservas energéticas al finalizar el periodo de hibernación.

Literatura Citada

- Alonso-Mejía, A. E. Rendón-Salinas, E. Montesinos-Patiño y L.P. Brower. 1997. Use of lipid reserves by monarch butterflies overwintering in Mexico: Implications for conservation. **Ecological Applications** 7: 934-947.
- Alonso-Mejía A., E. Montesinos-Patiño, E. Rendón-Salinas, L.P. Brower y K. Oyama. 1998. Influence of forest canopy closure on rates of bird predation on overwintering Monarch butterflies *Danaus plexippus* L. **Biological Conservation** 85: 151-159.
- Baughman J.F., D.D. Murphy y P.R. Ehrlich. 1990. A reexamination of hilltopping in *Euphydras edhita*. **Oecologia** 83: 259-260
- Beall G. 1948. The fat content of a butterfly *Danaus plexippus* Linn. as affected by migration. **Ecology** 29: 80-94
- Brower L.P. 1984. Chemical defences in butterflies. En: Vane-Wright R.I. y P.R. Ackery (eds.) The biology of butterflies. Academic Press, London, pp. 109-134.
- Brower L.P. 1985. New perspectives on the migration biology of the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L. En: Rankin M.A. (ed.). Migration: Mechanisms and adaptive significance. University of Texas Marine Science Institute. Contributions Marine Science 27 (Suplemento): 748-785.
- Brower L.P. y S.C. Glazier. 1975. Localization of heart poisons in the monarch butterfly. **Science** 206:83-84.
- Brower L.P. y L.S. Fink. 1985. A natural toxic defense system in butterflies vs. birds . **Annals of the New York Academy of Sciences** 443:171-186.
- Brower L.P. y S. B. Malcolm. 1991. Animal migrations: endangered phenomena. **American Zoologist** 31: 265-276
- Brower L.P., G. Castilleja, A. Peralta, J. López-García, L. Bojórquez-Tapia, S. Díaz, D. Malgarejo y M. Missrie. 2002. Quantitative changes in forest quality in a principal overwintering area of the monarch butterfly in Mexico, 1971-1999. **Conservation Biology** 16:346-359
- Brown J.J. y G.M. Chippendale. 1974. Migration of the monarch butterfly, *Danaus plexippus* : Energy source. **Journal of Insect Physiology** 20: 1117-1130.
- Calvert W.H. y L.P. Brower. 1981. The importance of forest cover for the survival of overwintering monarch butterflies (*Danaus plexippus*, Danaidae). **Journal of the Lepidopterists' Society** 35: 216-225
- Calvert W.H. y L.P. Brower. 1986. The location of monarch butterfly (*Danaus plexippus* L.) overwintering colonies in Mexico in relation to topography and climate. **Journal of the Lepidopterist's Society** 2: 164-187
- Calvert W.H., S.B. Malcolm., J. I. Glendinning., L.P. Brower., M.P. Zalucki., T. Van-Hook., J.B. Anderson y L.C. Snook. 1989. Conservation biology of monarch butterfly overwintering sites in Mexico. **Vida Silvestre Neotropical** 2: 38-48.
- Calvert W.H. y R.O. Lawton. 1993. Comparative phenology of variation in size, weight, and water content of eastern North American monarch butterflies at five overwintering sites in Mexico. En:

- Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 299-307.
- Cenedella R.J. 1971. The lipids of the female monarch butterfly, *Danaus plexippus* during fall migration. **Insect Biochemistry** 1: 244-247.
- Cockrell B.J., S.B. Malcolm y L.P. Brower. 1993. Time, temperature and latitudinal constrains on the annual recolonization of eastern North America by the monarch butterfly. En: Malcolm S.B. y Zalucki (eds.) Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County pp. 233-252
- De la Maza-Elvira R. G. 1995. La monarca del vuelo. **Ciencias** 37:4-18.
- Diario Oficial de la Federación. 1980. Decreto por el que por causa de utilidad pública se establece zona de reserva y refugio silvestre los lugares donde la mariposa conocida con el nombre de monarca hiberna y se reproduce. 25 de marzo 1980:106-107.
- Diario Oficial de la Federación. 1986. Decreto por el por razones de orden público e interés social, se declaran áreas naturales protegidas para los fines de la migración, invernación y reproducción de la Mariposa Monarca, así como la conservación de sus condiciones ambientales la superficie de 16, 110-14-50 hectáreas, ubicadas en los municipios que se indican, pertenecientes a los estados de Michoacán y el Estado de México. Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, México. D.F. 9 de octubre 1986, 398:33-41
- Diario Oficial de la Federación. 2000. Decreto por el que se declara área natural protegida, con el carácter de reserva de la biosfera, la región denominada Mariposa Monarca, ubicada en los municipios de Temascalcingo, San Felipe del Progreso, Donato Guerra y Villa de Allende en el Estado de México, así como en los municipios de Contepec, Senguio, Angangueo, Ocampo, Zitácuaro y Aporo en el Estado de Michoacán, con una superficie total de 56,259-05-07.275 hectáreas. Secretaria Mexicana de Agricultura, Recursos Naturales, Agua y Pesca, México, D.F. 10 Noviembre 2000:6-29.
- Etheredge J.A, S.M. Perez, O.R. Taylor, R. Jander. 1999. Monarch butterflies (*Danaus plexippus* L.) use a magnetic compass for navigation. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 24: 13845-13846.
- Fink L.S. y L.P. Brower. 1981. Birds can overcome the cardenolide defense of monarch butterflies in Mexico. **Nature** 291:67-70.
- Francis C.M. y F. Cook. 1986. Differential timing of spring migrations in wood warblers. **The Auk** 103: 548-556
- Gibo D.L. y J.A. McCurdy. 1993. Lipid acumulation by migrating monarch butterflies (*Danaus plexippus* L.). **Canadian Journal of Zoology** 71: 76-82
- Hansen L.C. y J.J. Obrycki. 2000. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. **Oecologia** 2:241-248.
- Herman W.S., L.P. Brower y W.H. Calvert. 1989. Reproductive tract development in monarch butterflies overwintering in California and México. **Journal of the Lepidopterists' Society** 43:50-58
- Herman W.S. y M.Tatar. 2001. Juvenile hormone regulation of longevity in the migratory monarch butterfly. **Proceedings of the Royal Society of London** 1485: 2509-2514.

- Holzinger F. y M. Wink. 1996. Mediation of cardiac glycoside insensitivity in the monarch butterfly (*Danaus plexippus*): Role of an amino acid substitution in the ouabain binding site of Na super(+), K super(+)-ATPase. **Journal of Chemical Ecology** 10: 1921-1937.
- Hoth J., L. Merino, K. Oberhauser, I. Pisanty, S. Price y T. Wilkinson. (Eds). 1999. 1997 North American conference on the monarch butterfly. Paper presentations: Biology, conservation, sustainability and development. environmental education. Commission for Environmental Cooperation, Montreal.
- James D.G. 1993. Migration biology of the monarch butterfly in Australia. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 189-200
- James D.G. 2000. Feeding on larvae of *Danaus plexippus* (L.) (Lepidoptera:Nymphalidae) causes mortality in the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* Walker (Hemiptera: Reduviidae) **Australian Entomologist** 1:5-8.
- Kitching I.J. 1986. Allozyme variation in the milkweed butterflies (Lepidoptera: Danainae). **Zoological Journal of the Linnean Society** 86:367-389.
- Kokko H. 1999. Competition for early arrival in migratory birds. **Journal of Animal Ecology** 68:940-950.
- Leong K.H.L., D. Frey, G. Brenner, S. Baker y D. Fox. 1991. Use of multivariate analyses to characterize the monarch (Lepidoptera: Danaidae) winter habitat. **Annals of the Entomological Society of America** 84: 263-267
- Loxdale H.D., C.P. Brookes , I.R. Wynne y S.J. Clark. 1998. Genetic variability within and between English populationsof the damson-hop aphid, *Phorodon humuli* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to esterases associated with insecticide resistance. **Bulletin of Entomology Research** 88:513-526
- Loxdale H.D. y G. Lushai. 1999. Slaves of the environment: the movement of herbivorous insects in relation to their ecology and genotype. **Philosophical Transactions of The Royal Society** 354: 1479-1495
- Lozano G.A., S. Perreault y R.E. Lemon. 1996. Age arrival date and reproductive success of male American redstarsts se *setophaga ruticilla*. **Journal of Avian Biology** 27:164-170
- Malcolm S.B. 1992. Prey defense and predator foraging. En: M.J. Crawley (ed.). Natural enemies: The Population Biology of Predators, Parasites and Diseases. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England. pp 458-475.
- Malcolm S.B. y L.P. Brower 1989. Evolutionary and ecological implications of cardenolide sequestration in the monarch butterfly. **Experientia** 45: 284-294.
- Malcolm S.B., B.J. Cockrell y L.P. Brower. 1993. Spring recolonization of eastern North America by the monarch butterfly successive brood or single sweep migration?. En. Malcolm S.B. y Zalucki M.P. Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County pp 253-267.
- Masters A.R., S.B. Malcolm y L.P. Brower. 1988. Thermoregulatory behaviour and adaptations for overwintering in the monarch butterfly (*Danaus plexippus*) in Mexico. **Ecology** 69: 458-467

- Moeller A.P. 1994. Phenotype-dependent arrival time and its consequences in a migratory bird. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 2:115-122
- Mouritsen H. y B.J. Frost. 2002. Virtual migration in tethered flying monarch butterflies reveals their orientation mechanisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 15: 10162-10166.
- Nelson C.J. 1993. Sequestration and storage of cardenolides and cardenolides glycosides by *Danaus plexippus* y *Danaus chrysippus petelia* when reared on *Asclepias fruticosa*: with a review of some factors that influence sequestration. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 91-105.
- Oberhauser K.S. 1992. Rate of ejaculate breakdown and intermating intervals in monarch butterflies. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 31: 367-373
- Oberhauser K.S. 1997. Fecundity, lifespan and egg mass in butterflies: effects of male-derived nutrients and female size. **Functional Ecology** 11: 1-9.
- Roeske C.N., J.N. Seiber, L.P. Brower y C.M. Moffit. 1976. Milkweed cardenolides and their comparative processing by monarch butterflies. **Recent Advances in Phytochemistry** 10: 93-167.
- Rzedowski J. 1983. Vegetación de México. Limusa (Ed.). 432 pp.
- Sears M.K, R.L. Hellmich, D.E Stanley-Horn, K.S. Oberhauser, J.M Pleasants, H.R Mattila, B.D Siegfried, G.P Dively. 2001. Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 21: 11937-11942.
- Shelton A.M. y M.K. Sears. 2001. The monarch butterfly controversy: scientific interpretations of a phenomenon. **Plant Journal** 6:483-488.
- Snook L. 1993. Conservation of the monarch butterfly reserve in Mexico. Focus of the forest. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 363-376
- Urquhart F.A. 1960. The monarch Butterfly. University Toronto Press.
- Urquhart F.A. 1976. Found at last: the monarch's winter home. **National Geographic**. 150: 160-173.
- Vane-Wright R.I. 1993. The Columbus hypothesis. An explanation for the dramatic 19th century range expansion of the monarch butterfly. En: Malcolm S.B. y Zalucky (eds.) Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County pp. 179-187.
- Walford P. 1980. Lipids in the life cycle of the monarch butterfly (*Danaus plexippus*). Senior Honor Thesis. Amherst College, Amherst. Massachusetts USA.
- Wells H. y P.H. Wells. 1992. The monarch butterfly: A review. **Bulletin Southern California Academic Sciences**. 91: 1-25
- Wells H., P.H. Wells y S.H. Rogers. 1993. Is multiple mating an adaptive feature of monarch butterfly winter aggregation?. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 61-68.

- Woodson R.E. Jr. 1954. The North American species of *Asclepias* L. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 41:1-211.
- Zalucki M.P. 1982. Temperature and rate of development in *Danaus plexippus* L. and *Danaus chrysippus* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). **Journal of Australian Entomological Society** 21: 241-246.

II. Distribución geográfica, variación morfológica y ecología de las poblaciones de *Danaus plexippus*.

I. Introducción

1.1 Poblaciones locales en México y su relación con las migrantes

Las investigaciones sobre monarcas se han centrado básicamente en las poblaciones migratorias y la poblaciones residentes de Estados Unidos. En México, su estudio se ha limitado a la biología y ecología en las áreas de hibernación; mientras que de las poblaciones locales no se tiene prácticamente ninguna información.

México posee una alta diversidad de especies de asclepias (Woodson 1954) las cuales podrían ser hospederas potenciales para las mariposas monarcas, sin embargo, no hay estudios formales que documenten la presencia de poblaciones locales. De la Maza (1995) sugiere que hay diversas poblaciones locales en los Estados de Morelos, México, Guerrero, Chiapas y San Luis Potosí, aunque, no menciona si hay ejemplares depositados en colecciones científicas producto de colectas; o bien, si las mariposas sólo fueron observadas en el campo.

De existir poblaciones locales podríamos suponer que no presentan el tipo de conducta, ni la diapausa reproductiva que caracterizan a las mariposas migrantes. Las características fisiográficas de México, permitirían la presencia de plantas hospederas todo el año y la producción de hormona juvenil en las mariposas.

De la Maza (1995) menciona también que no hay evidencias reales de intercambio genético entre las poblaciones locales mexicanas y migratorias, ya que hay una barrera altitudinal entre éstas. Las mariposas migratorias ocupan altitudes comprendidas entre los 2700 y 3000 msnm (altitud donde forman las colonias de hibernación en los bosques de oyamel), mientras que las locales podrían ocupar altitudes hasta los 1700 msnm (altitud promedio máxima de distribución de algunas especies de asclepias; Woodson 1954); lo que impediría el flujo genético entre éstas poblaciones.

La fisiología de la monarcas migratorias es otra explicación; éstas llegan a los sitios de hibernación en un estado de diapausa reproductiva, lo que impediría el intercambio con las poblaciones locales. Si bien la diapausa se rompe a principios de abril cuando la temperatura del medio se incrementa (Herman *et al.* 1989) se ha sugerido que los apareamientos sólo ocurren en las áreas de hibernación y no entre poblaciones locales (Van Hook 1993).

La concentración de millones de mariposas durante la hibernación es una oportunidad única para el apareamiento. Por ejemplo, las hembras tiene la posibilidad de copular varias veces con diferentes machos, los espermatozoides transferidos permiten la obtención de energía para la producción de huevos y parte del mantenimiento somático, además, de la posibilidad de elección del semen fecundante (Oberhauser 1988; 1989). Por lo que el éxito reproductivo, el viaje de reemigración y la oviposición en el norte dependen del apareamiento en lo sitios de hibernación (Wells *et al.* 1993). Es por ello que se piensa que las hembras pueden completar exitosamente el viaje migratorio para repoblar las tierras norteamericanas y no ovipositar en México.

1.2 Diferenciación local de las monarcas: Variación fenotípica

Las poblaciones de *Danaus plexippus* se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo, estas poblaciones deben ser genéticamente diferentes debido a procesos tales como deriva genética, efecto fundador y selección natural (Hedrick 2000). Esta variación puede estudiarse por marcadores moleculares tales como las isoenzimas (Capítulo III Estructura y variabilidad genética) o bien por características fenotípicas y ecológicas que involucren interacciones particulares.

La variación fenotípica que se observa en las poblaciones puede deberse a la variación espacial y temporal del medio ambiente (plasticidad fenotípica; Schlichting y Pigliucci 1998) y por la variación genética intrínseca de cada población (Grant y Grant 2000). La variación fenotípica por lo tanto, es un reflejo del componente genético de una población. Sin embargo, un genotipo puede presentar un rango de expresión fenotípica dependiendo de la diversidad de ambientes donde se encuentren los descendientes ya que muchas características cuantitativas (e.g. peso, tamaño, etc.) son variables porque los ambientes son

diversos y heterogéneos en espacio y tiempo (Via 1993, Schlichting y Pigliucci 1998, Grant y Grant 2000).

La plasticidad fenotípica es importante ya que disminuye los efectos de la selección natural, manteniendo la variabilidad genética y evitando la diferenciación local (Via 1993). Van Valen (1965) argumenta que la variación fenotípica es adaptativa, de tal forma que los individuos de una población que presentan diferentes fenotipos tienen diferente adecuación cuando explotan el mismo ambiente. Muchas características fisiológicas, morfológicas y de historias de vida pueden tener una variación que es heredable. Si el medio ambiente permanece constante los alelos ventajosos se pueden fijar y por lo tanto las características que están más relacionadas con la adecuación pueden tener menor variación genética

Sin embargo, el fenotipo de un organismo no está determinado únicamente por el genotipo y las condiciones ambientales; también es considerable el efecto del ambiente materno, es decir, los componentes debido al ambiente de los padres y al genotipo de los mismos (Mousseau y Dingle 1991, Rossiter 1996). Por ejemplo, los productos provenientes de glándulas accesorias son transmitidos por el macho a la hembra a través de los espermátóforos y estos son utilizados para la producción de huevos (Boggs 1986).

Así que si el fenotipo de los descendientes está determinado por estos efectos se pueden tener diferentes respuestas a la selección, acelerando o retrasando la respuesta de la población a su medio y enmascarando las diferencias genéticas de los individuos (Rossiter 1996).

1.3 Diferenciación Local: Respuesta al parasitoidismo

Las poblaciones naturales de monarcas son afectadas por diversos parásitos como bacterias, (obs. pers.) protozoarios (Altizer 2001) y parasitoides (Hawkins 1994), éstos últimos causan un fuerte impacto en las poblaciones por la alta mortalidad que ocurre en el estado larvario. Para las poblaciones de monarcas en Norteamérica el taquinido *Lespesia archippivora* (Prysby 2001) es uno de los principales parasitoides y en Australia, Clarke y Zalucki (2001) mencionan al taquinido *Sturmia convergens*.

El nicho de alimentación de la larva puede determinar su vulnerabilidad a los parasitoides, de manera tal que las plantas proporcionan un refugio físico que hace más difícil la localización del huésped (Hawkins 1994). Sin embargo, la planta hospedera de las larvas también pueden ser el blanco para conseguir la infección de los huéspedes.

De manera general, los parasitoides pertenecen principalmente al orden Hymenoptera y Diptera y biológicamente son clasificados como idiobiontes y koinobiontes (Haeselbarth 1979 en Hawkins 1994, Askew y Shaw 1986). Esta clasificación es muy útil para entender la interacción parasitoide-huésped ya que los idiobiontes matan o paralizan permanentemente a sus presas durante la oviposición. Es una asociación poco común en huéspedes expuestos, debido a que tanto el parasitoide como el huésped son vulnerables a la depredación. Sin embargo, son más comunes entre huéspedes que se alimentan dentro de los tejidos de la planta hospedera, por ejemplo los formadores de galerías.

Los koinobiontes no matan de inmediato al huésped y permiten se siga alimentando y desarrollando, generalmente parasitan a huéspedes expuestos, se desarrollan dentro éste (endoparasitoides), y por su estrecha relación con su fisiología suelen ser más especializados que los idiobiontes (Askew y Shaw 1986).

Los efectos ambientales maternos también son un componente importante en el parasitoidismo (Resetarits 1996), ya que influyen en la sobrevivencia de los descendientes. El ambiente del padre puede ser óptimo para los parasitoides, como la exposición de los huevos para ser parasitados. Mientras que otros factores como la calidad nutricional y de compuestos secundarios de las plantas hospederas, pueden permitir a los descendientes desarrollar su sistema inmune o toxicidad para evitar el parasitoidismo.

II. Objetivos

El objetivo general de este capítulo es conocer la distribución de las poblaciones locales de mariposa monarca en México, así como la variación en ciertas características fenotípicas y respuestas ecológicas, y tratar de evaluar si esta variabilidad puede atribuirse a diferenciación genética de las poblaciones locales y migratorias de mariposas.

Los objetivos particulares son los siguientes:

- Conocer la distribución de las poblaciones locales de *Danaus plexippus* L. en México, con base en revisión de colecciones científicas, así como de colectas directas.
- Estimar el tiempo de desarrollo de cada estado de las mariposas locales en México.
- Conocer si hay variación fenotípica entre las poblaciones locales y migratorias (tamaño de las alas) y a nivel intrapoblacional (peso).
- Conocer el grado de parasitoidismo por taquínidos en los diferentes estados de desarrollo de las monarcas locales, y el porcentaje de parasitoidismo de poblaciones locales y migratorias.

III. Método

3.1 Distribución de poblaciones locales mexicanas de mariposa monarca

Para conocer la distribución probable de *D. plexippus* en México, se realizó una revisión de Herbario del género *Asclepias* sp. (Herbario MEXU del Instituto de Biología de la UNAM (IBUNAM) y Herbario del Instituto Nacional de Ecología A.C. del Bajío en Pátzcuaro, Michoacán. Conociendo la distribución del género se detectó que la especie *A. curassavica* presenta una amplia distribución en México (a diferencia de otras especies que han sido reportadas como hospederas). Ésta podría ser utilizada preferentemente como planta hospedera para las larvas ya que posee concentraciones intermedias de compuestos secundarios (Malcolm y Brower 1986, Nelson 1993a y b) que no afectarán la sobrevivencia de las larvas; además, estas plantas se encuentran durante todo el año, sobre todo si se

distribuyen cerca de cuerpos de agua (obs. pers.), de tal manera que podrían representar un recurso abundante.

Obteniendo la distribución geográfica de *A. curassavica* se realizaron diversas salidas al campo con la finalidad de localizar poblaciones de monarcas, se revisaron las plantas tratando de localizar huevos o larvas, así como adultos volando. Las salidas se hacían mensualmente para determinar la permanencia de las poblaciones y considerarlas como poblaciones locales. Además, de la información de la planta hospedera, se obtuvo la distribución de *Danaus plexippus* L. en México de la Colección Nacional de Insectos (CNIN) del IBUNAM y la base de datos del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM (Luis-Martínez *et al.* 2003).

Con la información geográfica y curatorial de los ejemplares se creó una base de datos mediante el manejador de bases ACCESS97 (Microsoft Corporation 1997). Ésta consistió de dos tablas o entidades: *DANAUS* (20 campos) con 643 registros y *CURASSAVICA* (17 campos) con 471 registros. Los mapas de distribución de *A. curassavica* y *Danaus plexippus* residentes y migratorias (Fig. 4.1) se crearon usando el programa Geo Media Profesional 3.0 (Intergraph Corporation 1999) y mapas temáticos de México (<http://www.conabio.gob.mx>).

Se obtuvieron también los mapas de distribución para cada mes con la finalidad de conocer la permanencia de las poblaciones durante todo el año para el país (Fig. 4.2). La distribución de *Danaus plexippus* en México se relacionó con el mapa de hipsometría (Fig. 4.4) y el de vegetación para México (Fig. 4.3), obtenidos con el el programa Geo Media Profesional 3.0 (Intergraph Corporation 1999)

3.2 Colecta y tiempo de desarrollo de las monarcas locales

En el Apéndice 1 se muestran las localidades donde se registra *Danaus plexippus* en México, sin embargo, una gran parte de los datos corresponden a menos de 5 individuos (Tabla 4.1). Durante las salidas al campo solo se encontraban unos cuantos ejemplares

durante pocos meses del año, por ésta razón se eligieron localidades que tuvieran poblaciones con más de 30 individuos (Tabla 4.1), además, de considerar el aspecto logístico para la colecta.

Con base en lo anterior se seleccionaron 3 poblaciones locales: Guerrero, Michoacán y Morelos (Fig.3.1). Estas localidades se eligieron ya que se detectaron poblaciones de monarcas durante todo el año y las poblaciones eran relativamente densas. Las localidades de Michoacán correspondieron a las más cercanas a los sitios de hibernación, mientras que Guerrero y Morelos fueron considerados sitios alejados de éstas áreas.

En estas localidades se revisaron cuidadosamente plantas de *A. curassavica* y de ellas se colectaron las hojas que tuvieran huevos de *D. plexippus*, así como las larvas de cualquier estadio de desarrollo. Las hojas con los huevos se depositaron individualmente en cajas Petri (60 x 10 mm) con un algodón húmedo para evitar que ésta se deshidratara. Las larvas de 1er y 2do estadio se colocaron en cajas Petri (100 x 15 mm) con hojas de *A. curassavica* para que las larvas se alimentaran de ellas, y las larvas de 3er y 4to estadio se colocaron en vasos desechables tapados con tela.

Los ejemplares se metieron en cámaras de desarrollo con fotoperiodo de 10 horas luz a 28°C y a 23°C durante la noche. La selección de temperatura se hizo con base en los registros promedio de las localidades. Las monarcas fueron alimentadas con hojas frescas de *A. curassavica*, previamente lavadas con cepillo y desinfectadas para evitar a los parasitoides (ver sección 3.4) o bacterias. Se tomaron datos de tiempo de desarrollo (en días) desde la eclosión de las larvas de primer estadio hasta la emergencia de la mariposa adulto.

3. 3 Diferencias morfológicas en las poblaciones locales y migratorias

Entre el 25 de febrero y el 3 de marzo de 1999, se colectaron 30 machos y 30 hembras de mariposas migratorias en las colonias de hibernación Sierra Chincua, Rosario y Cerro Pelón en el estado de Michoacán (Fig. 3.1). Las poblaciones locales, como ya se mencionó, se colectaron como huevos o larvas en Guerrero, Michoacán y Morelos y los adultos fueron obtenidos en el laboratorio.

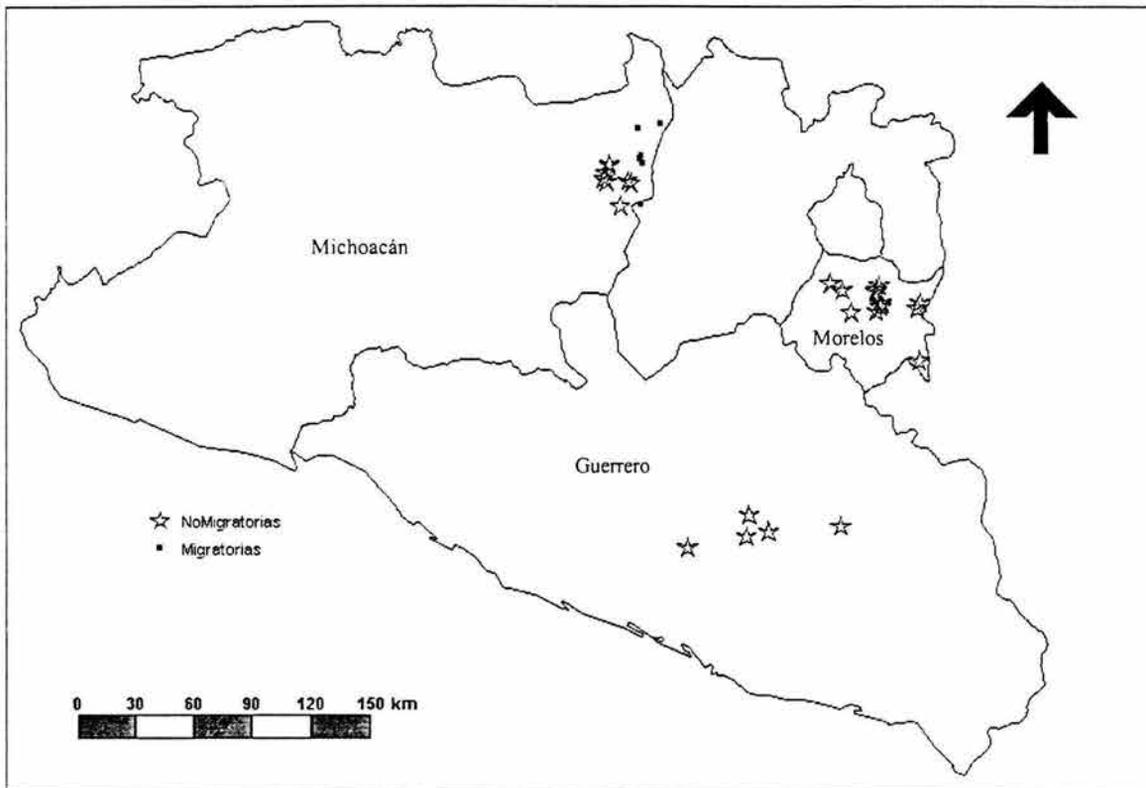


Figura 3.1 Localidades de colecta de mariposas locales y migratorias. Las mariposas residentes fueron colectadas en Guerrero, Michoacán y Morelos y las migratorias en las áreas de hibernación de Michoacán.

Las mariposa residentes y migratorias fueron pesadas en una balanza granataria (Explorer Ohaus), se midió el ala delantera derecha y el ala delantera izquierda de cada mariposa a partir de la inserción de éstas al tórax (región cercana al segundo par de apéndices) hasta su ápice; los datos de peso y tamaño se obtuvieron para cada sexo y población.

3.4 Parasitoidismo en las monarcas locales y en poblaciones norteamericanas

Se colectaron huevos de monarcas en las poblaciones locales ya mencionadas. Las larvas que emergieron fueron puestas en las mismas condiciones de laboratorio ya descritas (ver sección 3.2.) con la excepción de que éstas no fueron alimentadas con hojas lavadas y desinfectadas, ya que los parasitoides depositan sus huevos en el haz de las hojas de *A. curassavica* (obs. pers.). Cada población de monarcas se alimentó con hojas provenientes de sus respectivas localidades.

Las monarcas infectadas morían cuando los parasitoides habían completado su desarrollo larval y salían de la huésped para pupar. Se registró el número de parasitoides presentes por individuo y el estado de desarrollo de la monarca al momento de su muerte.

El laboratorio de Ecología de la Universidad de Minnesota, a través de la M. en E. Michelle Prysby, proporcionó los datos de porcentaje de parasitoidismo por el taquinido *Lespesia archippivora* (Riley) para los años de 1999 y 2000, para compararlos con los obtenidos para las poblaciones locales de monarcas en México.

3.5 Análisis estadístico

Para asegurar la normalidad de los valores obtenidos como tiempo de desarrollo (días), se realizó una prueba de normalidad Shapiro-Wilk (Sokal y Rohlf 1995), los residuales para el tiempo de desarrollo se distribuyeron normalmente ($W= 0.96$, $p > 0.05$, $N= 86$) por lo que los datos no fueron transformados. Se utilizó un modelo univariado de análisis de varianza (ANDEVA) para detectar diferencias en el tiempo de desarrollo entre las poblaciones locales.

La variable tamaño de alas no se distribuyó normalmente, por lo que fue transformada con raíz cuadrada para asegurar la normalidad ($W= 0.97$, $p > 0.05$, $N= 307$). El análisis de varianza (ANDEVA) no detectó diferencias significativas entre el tamaño de ala izquierda y ala derecha ($F_{(1,626)}= 0.068$, $p>0.5$), así que se utilizó el promedio entre las dos alas para detectar diferencias entre mariposas migratorias y locales.

Se realizó un ANDEVA anidado mixto (ANDEVA SS Tipo III; SAS 1995) donde la variable sexo de las mariposas fue considerada como el efecto fijo, mientras que la procedencia de las mariposas (migratoria o local), así como la localidad a la que pertenecían las mariposas migratorias (Chincua, Rosario, Cerro Pelón) y locales (Guerrero, Michoacán y Morelos) fueron considerados como los efectos aleatorios (Sokal y Rohlf 1995).

La variable peso se analizó separadamente entre mariposas locales y migratorias ya que el peso de las mariposas migratorias está conformado por los lípidos obtenidos y almacenados

durante el viaje de migración. Debido a que fueron colectadas al final de la temporada de hibernación, también representan las reservas que quedaron para el viaje de reemigración. El peso de las mariposas locales incluye las reservas energéticas que éstas adquirieron como larvas (Oberhauser 1997).

El peso se distribuyó normalmente de acuerdo a la prueba de Shapiro-Wilk (Sokal y Rohlf 1995) aplicada para los residuales (mariposas locales $W= 0.97$, $p>0.5$ $N= 108$; migratorias $W= 0.97$, $p>0.5$ $N= 205$), el ANDEVA mixto de dos vías (Tipo III; SAS 1995) aplicado para cada grupo consideró la variable sexo y sitio de procedencia como el factor fijo y aleatorio respectivamente.

De las colectas realizadas para el experimento de parasitoidismo, se obtuvo la proporción de mortalidad de monarcas por parasitoides en cada localidad. Ésta fue comparada con la proporción de parasitoidismo encontrado para las poblaciones de norteamérica, de las cuales provienen las mariposas migratorias. El número de parasitoides por mariposa por localidad, fue comparado usando un ANDEVA de una vía, asegurando inicialmente la normalidad de los datos con la prueba aplicada a los residuales ($W= 0.95$, $p>0.5$ $N= 53$). La emergencia de parasitoides por estado de desarrollo (larvas de diferentes estadios, pupas o adultos) entre las localidades mexicanas, fue analizada por una prueba de Chi-cuadrada (χ^2 ; Zar 1984).

IV. Resultados

4.1 Distribución geográfica de poblaciones locales

Con base en la información obtenida de la base de datos de *A. curassavica* se realizaron diversas salidas al campo para localizar poblaciones de monarcas. La visita a localidades en 18 estados de la República permitió registrar monarcas en 11 de ellos (Tabla 4.1), mientras que para localidades en los estados de Guanajuato, Hidalgo, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, Tabasco y Tlaxcala no se registró ninguna monarca.

Entre los 11 Estados donde se registraron monarcas se hicieron observaciones de adultos y se localizaron estados inmaduros, sin embargo, las poblaciones contaron con pocos

individuos ($5 \geq 30$) y tan solo tres poblaciones (Guerrero, Michoacán y Morelos) presentaron más de treinta individuos durante todos los meses del año (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Registros de *Danaus plexippus* en México con base en observaciones directas y colectas.

Estado de la República	No. de localidades/Estado	No. de registros totales de adultos	Individuos aproximados por localidad
Chiapas	3	6	<5
Colima	1	1	<5
Distrito Federal	5	10	<5
Estado de México	5	5	<5
Guerrero	29	38	>30
Jalisco	2	3	<5
Michoacán	34	54	>30
Morelos	22	41	>30
Nayarit	2	2	<5
Oaxaca	1	1	<5
Veracruz	2	2	<30

La revisión de ejemplares de monarcas depositados en la colección científica del IBUNAM, y la base de datos del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias (Luis-Martínez *et al.* 2003), así como de salidas al campo permitió conocer la distribución de esta mariposa en 26 estados de la República Mexicana con 634 registros (Apéndice 1; Fig. 4.1), en los cuáles también se encuentran poblaciones ampliamente distribuidas de *A. curassavica*.

Danaus plexippus L. (Fig. 4.1) se distribuye principalmente entre los estados de Michoacán, Guerrero, Morelos, Jalisco, Oaxaca, Chiapas y Veracruz. En la figura 4.1 se muestra que *A. curassavica* se distribuye densamente en Veracruz y Norte de Hidalgo, para los cuales los registros de monarcas son pocos. Morelos también presenta una gran proporción de asclepias con numerosos registros para monarcas. Mientras que en el Distrito Federal no se tiene ningún registro de *A. curassavica* y han sido observadas monarcas.

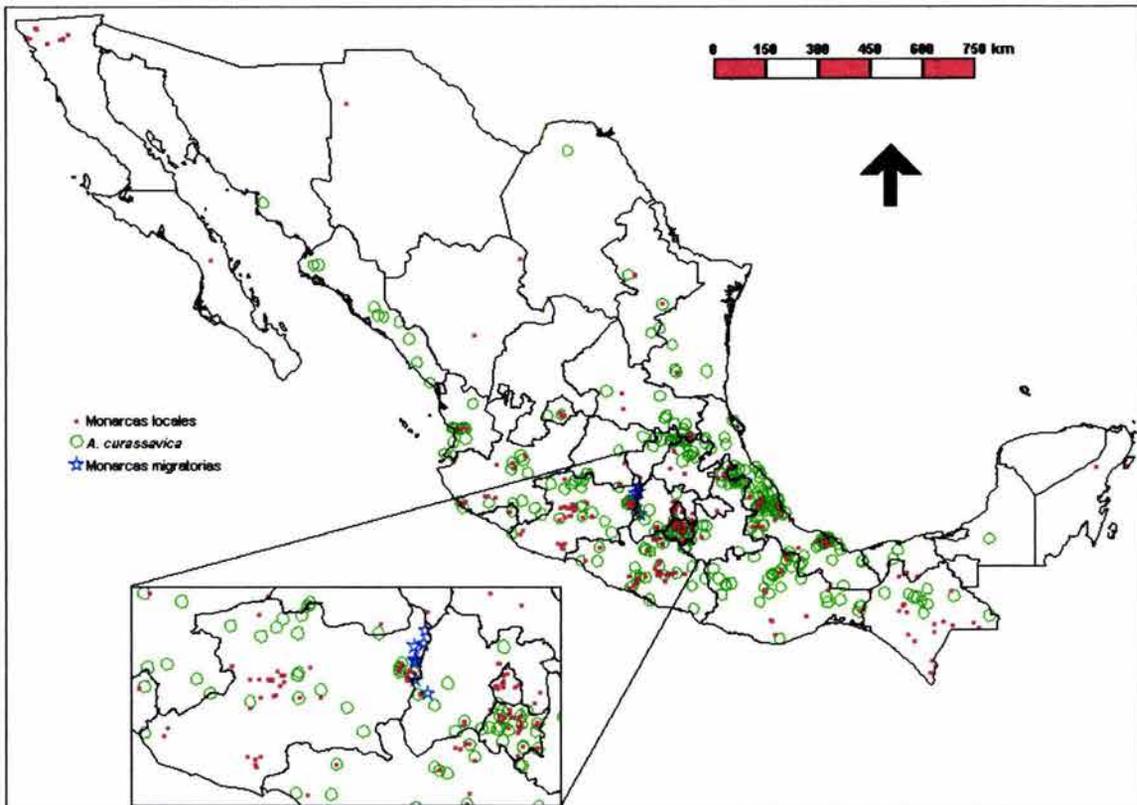


Figura 4.1. Distribución de *Danaus plexippus* y de *A. curassavica* como posible planta hospedera.

En la figura 4.2 a, b, y c se muestra la distribución mensual de *Danaus plexippus* L en México, para enero y febrero con puntos localizados principalmente entre Michoacán, Morelos y Veracruz. Para marzo y abril la distribución es más amplia, se tienen registros en Jalisco, Michoacán, Veracruz, Morelos, Guerrero y Veracruz. Para mayo y junio las monarcas sólo se concentran en Michoacán, Jalisco, Morelos y Veracruz, sin embargo, para julio y agosto la distribución nuevamente se amplía desde Colima hasta Chiapas. En los meses de septiembre y octubre la distribución de monarcas vuelve a contraerse y para noviembre y diciembre las monarcas se distribuyen de manera muy similar a la de los meses de julio a agosto.

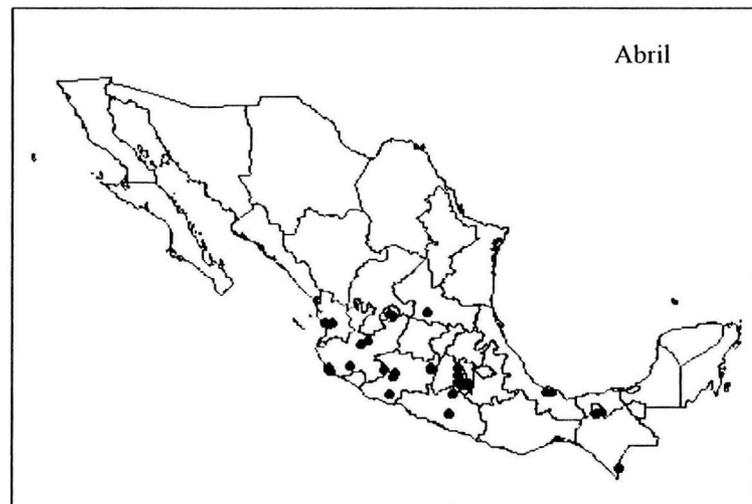
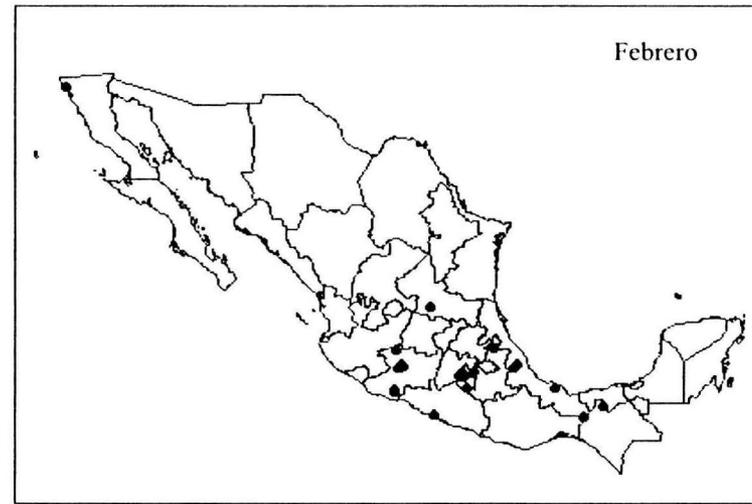
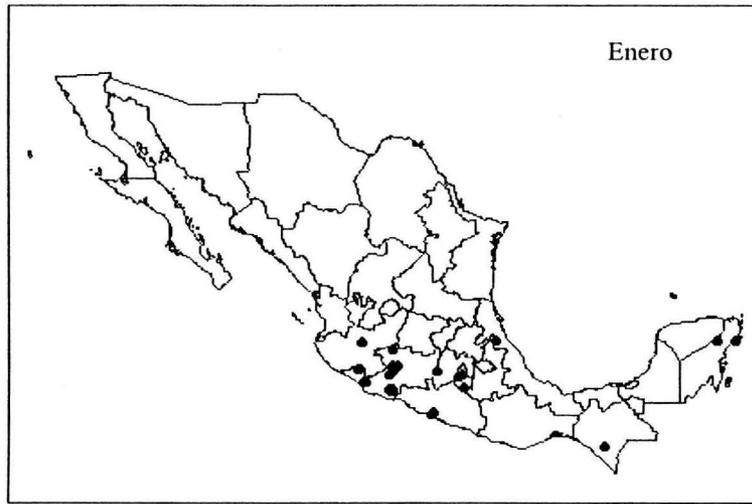


Figura 4.2 a. Distribución de *Danaus plexippus* en México, enero-abril.

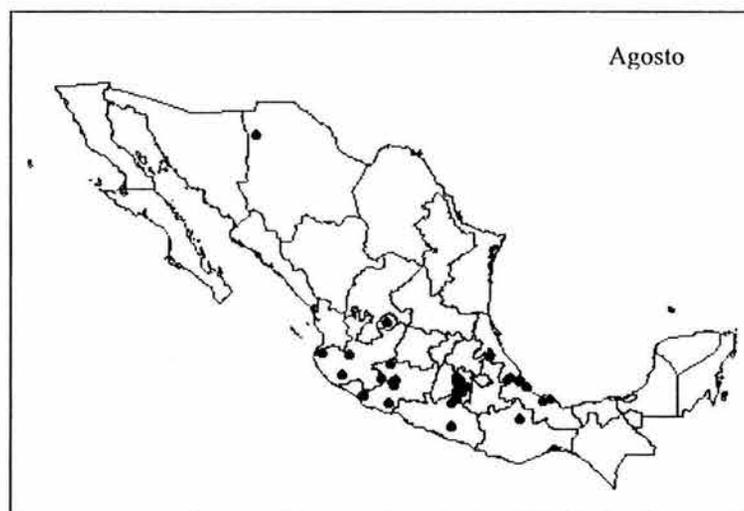
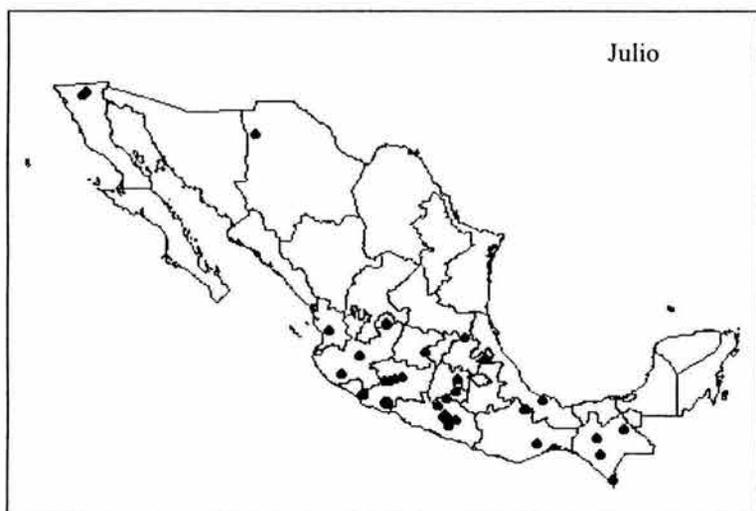
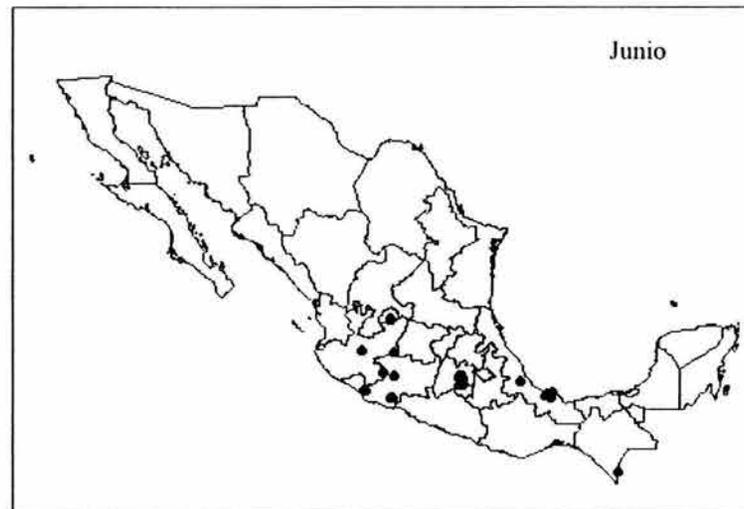


Figura 4.2 b. Distribución de *Danaus plexippus* en México, mayo-agosto.

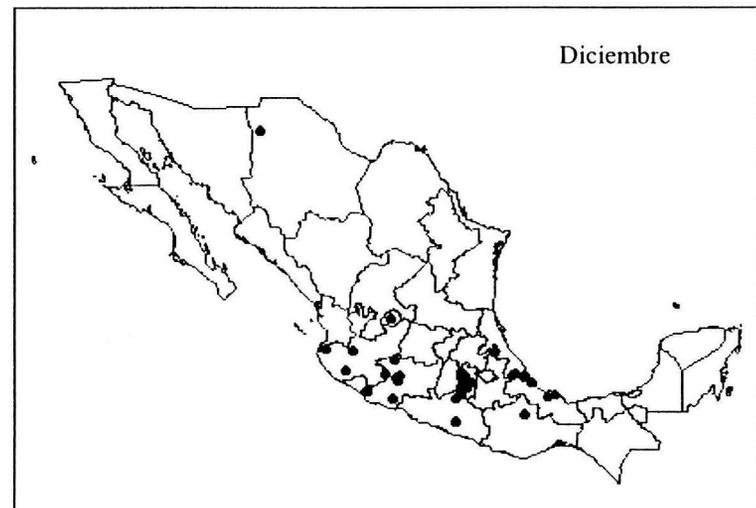
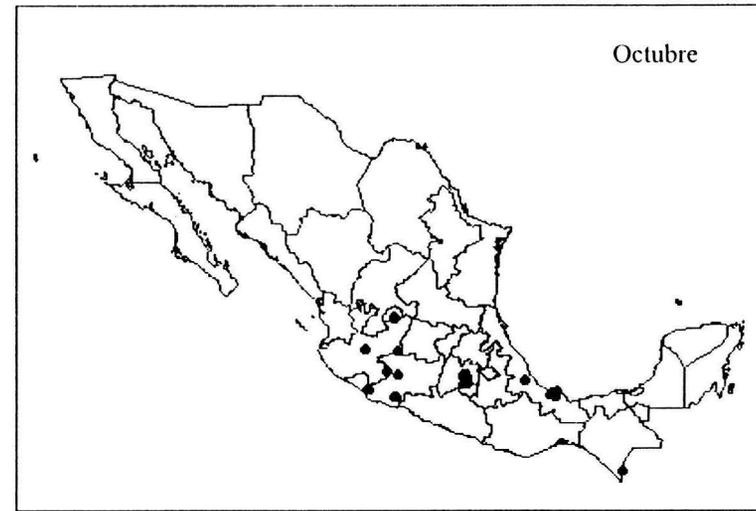
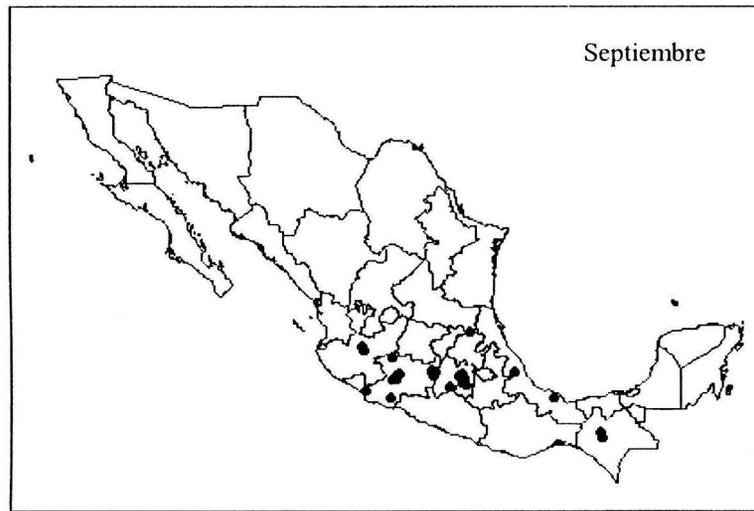


Figura 4.2 c. Distribución de *Danaus plexippus* en México, septiembre-diciembre.

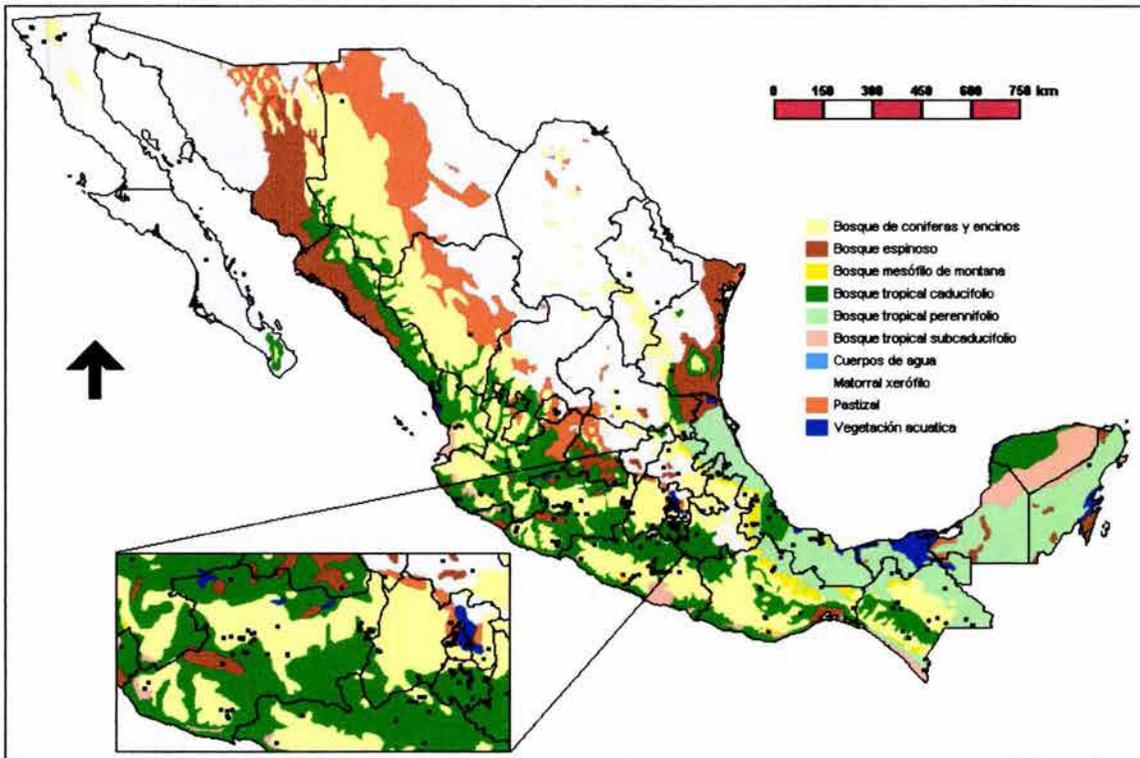


Figura 4.3. Distribución de *Danaus plexippus* y los tipos de vegetación.

Las monarcas locales se distribuyen principalmente en los bosques tropicales caducifolios (Fig. 4.3), como los de Morelos, parte de Guerrero y Michoacán, algunas de las monarcas registradas se distribuyen en bosque de coníferas y encinos para Chihuahua, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

Esta información coincide con los datos de hipsometría (Fig. 4.4), en Chihuahua se registran monarcas de 1500 a 2000 msnm, así como algunas de Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Sin embargo, gran parte de los registros para estas mariposas se localizan entre los 1000 y 1500 msnm (Fig. 4.4)

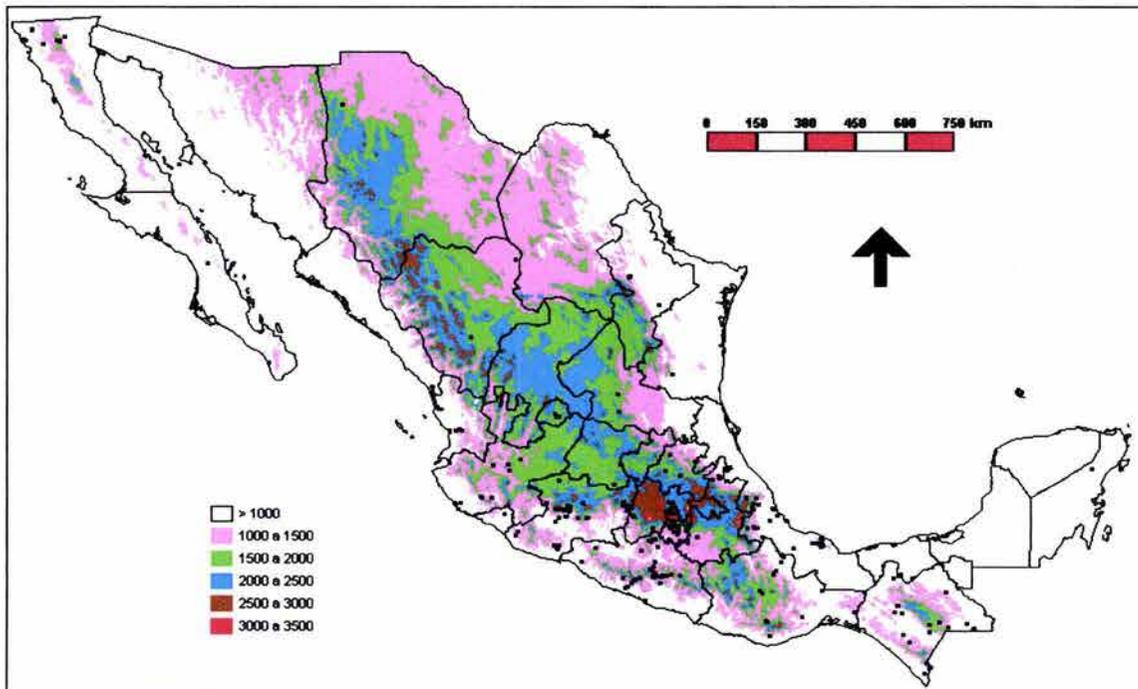


Figura 4.4. Distribución de *Danaus plexippus* en relación con la altitud.

4.2 Colecta y tiempo de desarrollo

La figura 4.5 muestra la proporción de individuos de diferentes estados de desarrollo en poblaciones de *A. curassavica* en Guerrero, Michoacán y Morelos. La mayor proporción correspondió a huevos de *D. plexippus*, sin embargo, se realizó una colecta nocturna en Guerrero y se encontró una cantidad importante de larvas de cuarto estadio.

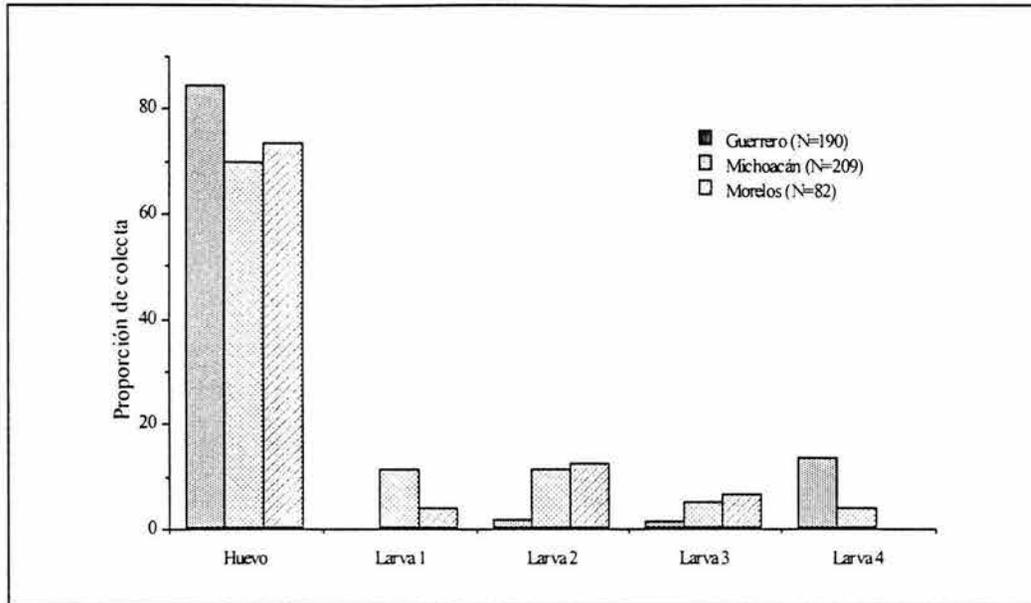


Figura 4.5. Proporción de colecta de los diferentes estados de desarrollo de *D. plexippus* en tres localidades mexicanas.

El tiempo de desarrollo (días) desde la eclosión de la larva hasta la emergencia del adulto, no difiere entre las localidades mexicanas de Guerrero, Michoacán y Morelos (ANDEVA $F_{(2,83)} = 3.05, p > 0.05$, Fig. 4.6).

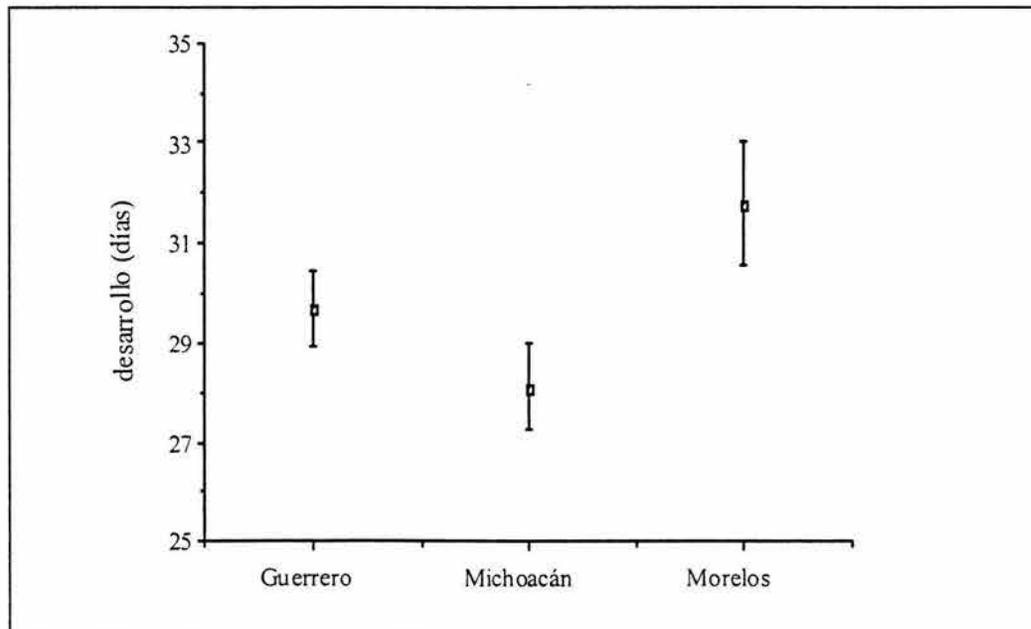


Figura 4.6. Tiempo de desarrollo (± 1 EE) de las monarcas locales.

4.3 Diferencias morfológicas

El ANDEVA anidado permitió detectar diferencias del tamaño promedio de las alas entre mariposas locales y migratorias (Fig. 4.7) siendo las locales las de menor tamaño.

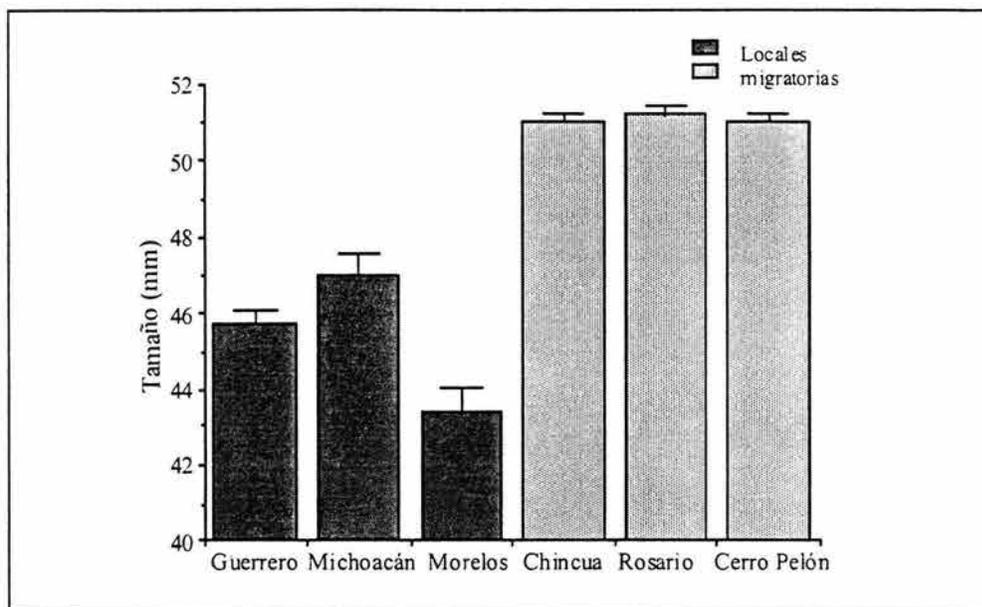


Figura 4.7 Tamaño (mm) de las alas de las mariposas locales y migratorias(± 1 EE) .

No se detectaron diferencias en el tamaño de las mariposas migratorias respecto al sexo, el tamaño de hembras y machos fue de 50.5 y 51.8 mm en promedio respectivamente, sin embargo, entre las mariposas locales se encontraron diferencias significativas respecto a los sexos en la localidad de Michoacán ($\bar{x}_{\text{hembras}} = 45.09$ cm, $\bar{x}_{\text{machos}} = 48.05$ cm), lo cual es indicado por la significancia de la interacción sexo*localidad*condición (Tabla 4.2), mientras que en Guerrero el promedio para machos y hembras fue entre 45.5 cm y para Morelos entre 43.0 cm.

Tabla 4.2. Análisis de Varianza anidado para tamaño de alas de las monarcas. El ANDEVA indica que las mariposas locales (L) y migratorias (M) difieren en el tamaño de sus alas. Esta diferencia no depende de la localidad intrapoblacional ni del sexo.

Fuente de variación	SC	G.L	F	p
Condición (L o M)	10.26	1	40.23	<0.01
Sitio * Condición	1.18	4	1.94	NS
Sexo	0.02	1	0.19	NS
Sexo*Condición	0.04	1	0.32	NS
Sexo*Sitio*Condición	0.61	4	5.13	<0.01

La variable peso fue analizada separadamente entre monarcas migratorias y locales. Para las locales el ANDEVA detectó diferencias significativas respecto al tamaño entre las tres localidades (Tabla 4.3), siendo el promedio menor en Morelos (Fig. 4.8). En la variable peso, no se encontraron diferencias entre sexos para las poblaciones locales (Fig. 4.8). Las mariposas migrantes difieren en su peso, entre localidades y entre sexos (Tabla 4.3).

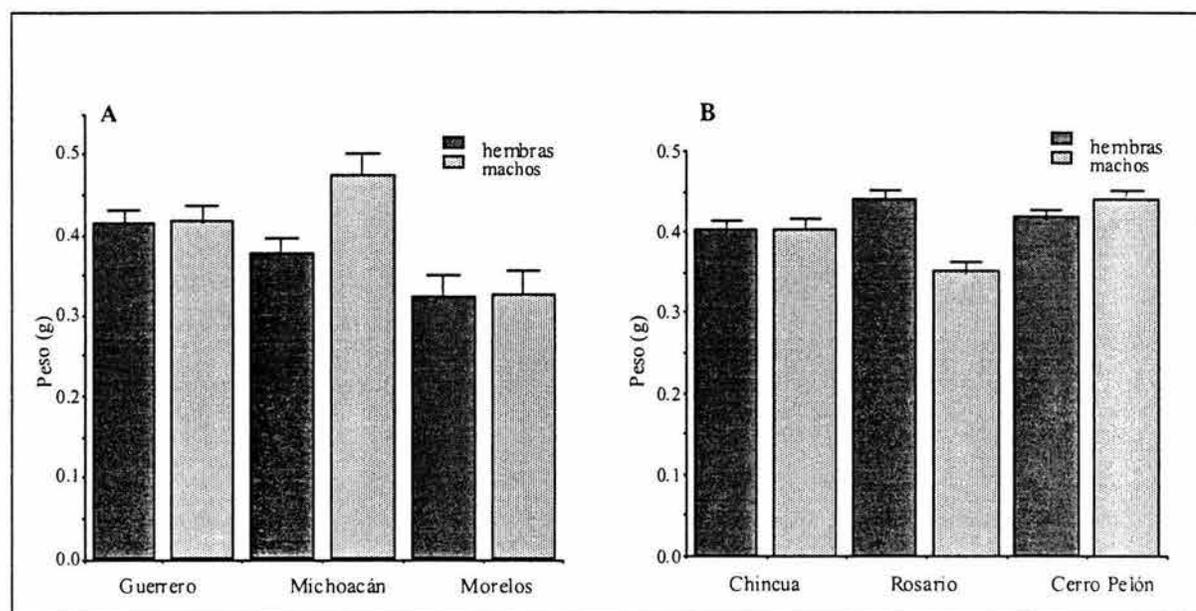


Figura 4.8 Peso promedio de monarcas locales y migratorias. A) peso promedio de las monarcas locales ± 1 EE B) Peso promedio de monarcas migratorias.

Tabla 4.3 . Análisis de Varianza de dos vías para el peso de las monarcas migratorias y locales.

Fuente de variación	SC	G.L	F	p
Locales				
Sitio	0.16	2	8.41	<0.01
Sexo	0.046	1	2.44	NS
Sitio*Sexo	0.028	2	2.99	NS
Migratorias				
Sitio	0.045	2	4.103	<0.05
Sexo	0.023	1	4.21	<0.05
Sitio*Sexo	0.123	2	0.02	<0.001

4.4 Parasitoidismo

Las larvas de las monarcas de las poblaciones locales fueron parasitadas por dípteros pertenecientes al orden Cyclorrhapha, suborden Calypterae, familia Tachinidae. Se desconoce la especie debido a la gran complejidad de esta familia (Eggleton y Belshaw 1992).

Los taquínidos de las monarcas pertenecen a la categoría de endoparasitoides, ya que se desarrollan dentro del cuerpo de las larvas, y a la de koinobiontes, ya que permiten que el hospedero continúe con su desarrollo (Godfray 1994). Las monarcas se parasitan al alimentarse de *A. curassavica* donde previamente los parasitoides han depositado sus huevos (obs. pers.).

El número de taquínidos por mariposa difiere entre las poblaciones locales (ANDEVA $F_{(2,50)} = 8.86$, $p < 0.001$), las mariposas provenientes de Michoacán presentaron el mayor número de parasitoides por individuo (Fig. 4.9).

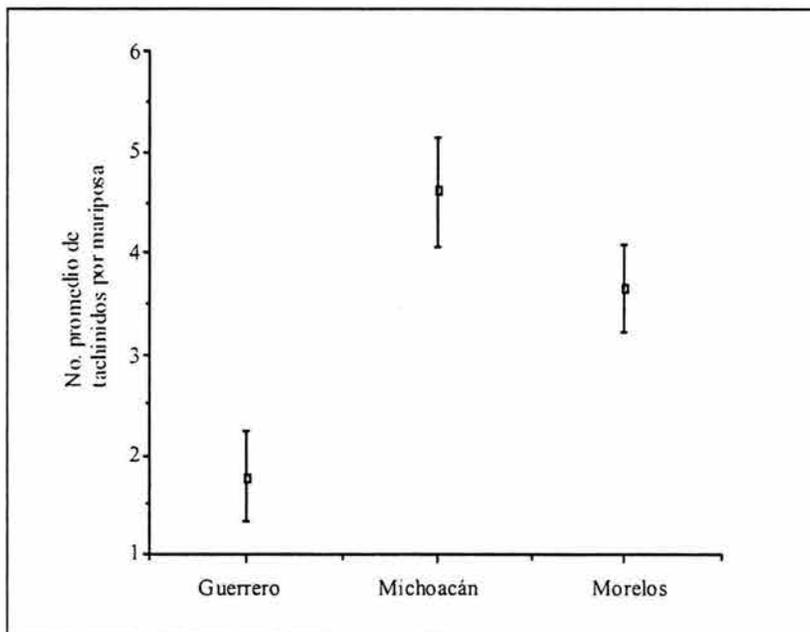


Figura 4.9. Parasitoides ($\bar{x} \pm 1$ EE) presentes por mariposa.

La Tabla 4.4 muestra los parasitoides que emergieron en cada estadio larval para las tres poblaciones locales estudiadas, detectándose que en el estado de pupa emergían principalmente los parasitoides, aunque la población de Michoacán tuvo una mayor emergencia de larvas de taquinidos que habían completado su desarrollo en el 3ro. y 4to estadio larval.

Tabla 4.4. Tabla de contingencia del estado de desarrollo en el cual emergen los parasitoides.

Estadio de desarrollo	Guerrero	Michoacán	Morelos	Total
Larva 3	0 (1.79)	5 (1.22)	0 (1.98)	5
Larva 4	0 (4.3)	7 (2.94)	5 (4.75)	12
Pupa	19 (12.9)	1 (8.83)	16 (14.26)	36
TOTAL	19	13	16	53

$$\chi^2 = 40.70, p < 0.001$$

En la Tabla 4.5 se muestra el porcentaje de parasitoidismo en EUA (Prisby 2001), por el taquinido *Lespesia archippivora* (Riley), en este trabajo se reporta que las larvas colectadas en asclepias que crecían en campos de cultivo fueron más parasitadas que aquellas que provenían de hábitats no agrícolas. Para México los sitios de colecta correspondieron a zonas perturbadas de bosque caducifolio, no agrícolas cercanas a fuentes de agua con desechos orgánicos.

Tabla 4.5. Porcentaje de parasitoidismo en monarcas de Estados Unidos y México.

Autor	Localidad	Año del estudio	Porcentaje de parasitoidismo
Prisby	EUA norte	1999	15
Prisby	EUA norte	2000	23
Este estudio	Guerrero	1999	75
Este estudio	Michoacán	1999	80
Este estudio	Morelos	1999	90

IV Discusión

5.1 Registro de poblaciones locales

Los estudios sobre la mariposa monarca se han centrado en las poblaciones norteamericanas, para México la información sobre las poblaciones locales es escasa, por ello la contribución de este trabajo sobre las poblaciones residentes mexicanas es importante para iniciar estudios sobre este lepidóptero.

Las monarcas norteamericanas se alimentan de diferentes especies de plantas del género *Asclepias*. *A. curassavica* tiene una amplia distribución en México y una baja distribución en Norteamérica, por lo que fue seleccionada para detectar las poblaciones locales de monarcas. También esta planta se encuentra en densidades importantes y sus hojas son anchas y abundantes representando un buen recurso alimenticio para las larvas de las monarcas.

Sin embargo, estas plantas no son ampliamente utilizadas a través de su distribución geográfica por poblaciones de monarcas en México. Con base en la distribución de *A. curassavica* se eligieron 18 estados de la república para localizar poblaciones de monarcas, de estos, en 11 estados de la república se observaron monarcas, pero solo en tres se encontraron poblaciones residentes (Guerrero, Michoacán y Morelos) con individuos todo el año.

En Veracruz se encuentran diversos registros para *A. curassavica*, esto indica principalmente que es uno de los estados donde se realizan la mayor parte de las colectas botánicas, pero también muestra que es una región con pocos registros para *D. plexippus*, es probable que Veracruz sea un estado donde si hay poblaciones residentes de monarcas y requieren de mayor estudio.

Los registros de monarcas con base en observaciones directas y de las bases de datos de colecciones, muestran la distribución de las monarcas concentrada principalmente en Estados de la República cercanos al Eje Neovolcánico (Fig. 4.1), en algunas de sus montañas hibernan las mariposas migrantes norteamericanas. A pesar de que se tienen

registros en Nayarit, Jalisco, Colima, Veracruz, Oaxaca, Puebla y Estado de México por mencionar los que tienen mayor número de localidades (Apéndice 1), sólo en Guerrero, Michoacán y Morelos se observaron poblaciones relativamente abundantes durante todo el año (obs. pers.)

Para los meses de enero y febrero (Fig. 4.1 a) las poblaciones locales de monarcas se concentran básicamente en los estados cercanos a las áreas de hibernación como Michoacán, Morelos, Estado de México y también en Veracruz. Estos meses corresponde al establecimiento de las colonias de hibernación de las mariposas migratorias, se ha supuesto que algunas mariposas llegan tarde a los sitios de hibernación e inclusive se desvían de su ruta migratoria (ver Introducción General) por lo que no sorprendería que se tengan registros en Veracruz que podrían corresponder a mariposas migratorias.

Una de las distribuciones con mayores interrogantes es la correspondiente a los meses de marzo y abril (Fig. 4.2 a) por que en esta se observa una amplia distribución a partir del Eje Neovolcánico y hacia las costas del Pacífico, principalmente en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, y con distribución también hacía el Norte de Veracruz, Morelos, Oaxaca y Chiapas. Durante estos meses se inicia la reemigración al sur de los Estados Unidos y, aunque no se tienen registros para los Estados del Norte del país, se puede pensar que la ampliación de la distribución es ocasionada por poblaciones locales, así como de hibernantes que no reemigrarán y buscan sitios donde establecerse.

Durante mayo y junio (Fig. 4.2 b), cuando las mariposas hibernantes han regresado a sus tierras nortañas, las poblaciones locales vuelven a contrarerse y a quedar en pocos estados cercanos al Eje Neovolcánico. Para los meses de julio a agosto (Fig. 4.2 b) las poblaciones locales vuelven a dispersarse, inclusive se tienen registros en Chihuahua y Baja California Norte, así como ampliamente distribuidas en Jalisco, Michoacán, Guerrero, Chiapas y Veracruz. Esto puede atribuirse a que corresponde a la época de lluvias y la explosión de las asclepias es eminente, representando así un recurso abundante para las poblaciones de monarcas residentes. Aunque también es importante señalar que gran parte de las colectas para insectos se realizan en estas épocas.

Para septiembre y octubre ocurre de nuevo una contracción de la distribución pero curiosamente para noviembre y diciembre las poblaciones exhiben una amplia distribución (Fig. 4.2 c). Estos últimos meses corresponden a los meses de llegada de monarcas migratorias y el establecimiento de las colonias de hibernación, por lo que sugiere la fuerte posibilidad de que muchas monarcas migrantes no se establezcan en sitios de hibernación y formen poblaciones locales más allá de los sitios de hibernación.

Con base en los resultados de este estudio se encontró que las monarcas en México se distribuyen generalmente entre los 1000 y los 2000 msnm (Fig. 4.4), muchas de las localidades por encima de los 1500 m son de bosque de coníferas y encinos (Fig. 4.3), por ejemplo, algunas en Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas; esto permite pensar en la posibilidad de que dichos registros correspondan a mariposas migratorias localizando otras áreas de hibernación. Otros registros de monarcas se localizan entre los 1000 y 1500 msnm (Fig. 4.4) entre las cuales se localiza el bosque tropical caducifolio (Fig. 4.3), sitios donde la existencia y permanencia de *A. curassavica* durante todo el año es más probable, así como de otras especies de asclepias.

La distribución mensual, por altitud y vegetación para las poblaciones de monarcas en México, permite inferir que las poblaciones migratorias sean una fuente potencial para las poblaciones residentes, sin embargo, es necesario un análisis más profundo como el genético.

5.2 Colecta de las mariposas locales

Lynch y Martin (1993) establecen que hasta un 82% de las colectas realizadas para estudios con *Danaus plexippus* corresponden al estado de huevo, siguiéndole el primer estadio de desarrollo larval, mientras que raramente se encuentran sobre las plantas hospederas larvas de 3er o 4to estadio.

Ésto llevó a suponer que la sobrevivencia a estos estadios larvales era baja lo cual podría ocasionar la reducción del tamaño de la población (Lynch y Martin 1993). Sin embargo, en este estudio se encontró una proporción importante de larvas de 3er y 4to estadio en el

estado de Guerrero, con la diferencia de que la colecta de estas larvas se realizó durante la noche. Mientras que la colecta en el día seguía los patrones indicados por Lynch y Martin (1993). Es posible que durante el día las larvas se refugien en la parte inferior de la planta como un posible mecanismo de defensa contra depredadores potenciales (a pesar de que son tóxicas debido a la adquisición de compuestos secundarios provenientes de las asclepias) y en la noche suben a la planta hospedera para alimentarse. Es posible que esta conducta permita que las larvas alcancen los últimos estadios de desarrollo al reducir el riesgo por depredación, y se garantice la permanencia de las poblaciones.

La baja proporción de individuos en 3er y 4to estadio también es un indicativo de la alta mortalidad de las larvas en 1er y 2do estadio como ha sido documentado para muchos lepidópteros (Dempster 1983 y Kyi *et al.* 1991) y para las monarcas principalmente por los efectos que producen el látex y los glucósidos cardíacos de las asclepias de las que se alimentan (Zalucki *et al.* 2001).

5.3 Diferencias morfológicas entre las poblaciones locales y migratorias (tamaño y tiempo de desarrollo (locales))

Una de las propiedades emergentes de las poblaciones es su variación en características cuantitativas tales como el tamaño, peso, tiempo de desarrollo etc. éstas pueden atribuirse tanto a factores genéticos o ecológicos (Grant y Price 1981, Roff 1997, Grant y Grant 2000). Estas variables fueron estudiadas con la finalidad de entender la naturaleza de tal variación en términos de las relaciones entre las poblaciones locales y migratorias de las monarcas.

La primera propuesta es que las monarcas locales son descendientes de las migratorias por lo que ambas poblaciones muestran similitud morfológica posiblemente como resultado de homogeneidad genética (aspecto abordado en el siguiente capítulo). Sin embargo, esta puede no ser cierta ya que la variación en caracteres morfológicos puede ser una respuesta fenotípicamente plástica a factores ambientales.

El tamaño de las alas podría ser utilizado como una característica para detectar la similitud o diferencia genética, las poblaciones difieren significativamente en el tamaño de las alas. Las

mariposas locales tiene alas más pequeñas, sin embargo, esta variación no necesariamente muestra que las poblaciones son diferentes genéticamente ésta puede ser atribuida a diversos factores entre los que destacan los siguientes:

A) Conducta migratoria y no migratoria

Las mariposas migrantes tienen alas más grandes para realizar exitosamente el viaje a los sitios de hibernación, mientras que las mariposas locales a pesar de que pueden ser descendientes de las migratorias, no desarrollarán la conducta de migración. La migración en las poblaciones norteamericanas se presenta por la ausencia de plantas hospederas, mientras que en México hay plantas hospederas disponibles durante todo el año. Además no necesitan de alas grandes para desplazarse ya que generalmente se distribuyen en donde se encuentran las plantas hospederas.

B) Distribución latitudinal

La distribución actual de las poblaciones podría explicar también estas diferencias, las poblaciones migratorias se distribuyen en latitudes norteñas donde se registran temperaturas más bajas que en las regiones tropicales mexicanas, por lo que se puede pensar en un efecto latitudinal. La variación en características cuantitativas puede relacionarse con la latitud en la cual se distribuyen las poblaciones, a pesar de que muestren homogeneidad genética, por ejemplo en *Drosophila* sp. se ha encontrado variación latitudinal en características morfológicas incluyendo el largo de alas, área de las alas y longitud del tórax (Barker y Krebs 1995). Debido a que estos patrones se han desarrollado en diferentes ambientes, se sugiere que la variación fenotípica es generalmente adaptativa a diferentes condiciones ambientales impuestas por la latitud, especialmente a factores relacionados con la temperatura y son considerados los principales agentes de selección (Loeschcke *et al.* 2000).

C) Cambio de hospedero

Otro argumento para explicar las diferencias morfológicas en tamaño, suponiendo que ambas poblaciones tuvieran el mismo componente genético, es referente al cambio de hospedero; en Norteamérica las larvas que darán origen a la población migratoria de mariposas, explotan principalmente *A. viridis* y en México *A. curassavica* es la principal

especie hospedera que utilizan las locales. Leclaire y Brandl (1994) encontraron que la mosca *Rhagoletis alternata* cuya planta hospedera original era *Rosa canina*, y posteriormente utilizó a *R. Rigosa* como hospedera, mostraron un mejor crecimiento, corto tiempo de desarrollo larval y un cuerpo más grande. Para las monarcas locales es posible que *A. curassavica* no represente un buen hospedero y restrinja el desarrollo larval y como consecuencia el tamaño sea menor.

Si un nuevo hospedero es colonizado se causan cambios en la historia de vida de las poblaciones fitófagas, esperando que estos cambios incrementen la adecuación. Este estudio no permitió evaluar este componente evolutivo, pero podemos pensar que si las poblaciones locales mexicanas son recientes, las larvas se están enfrentando a nuevas condiciones ecológicas generadas por *A. curassavica*, tales como la calidad nutricional, depredadores etc. inclusive condiciones menos favorables que a las que se enfrentan en el norte; la explotación de esta especie no obedece a la ampliación de la distribución si no a una presión por no poder emigrar a los sitios norteños, sin embargo las poblaciones pueden mantenerse a pesar de que hay restricciones para el crecimiento larval que se traduce en diferencias en el tamaño del cuerpo.

Entre las poblaciones migratorias no hay diferencias respecto al tamaño de las alas por lo que esta similitud puede reflejar también homogeneidad ecológica de los sitios de los que provienen así como homogeneidad genética. No se encontró efecto del sexo debido posiblemente a la conducta migratoria explicada anteriormente a pesar de que esta mariposa ha sido considerada sexualmente dimórfica. Mientras que entre las poblaciones locales, las monarcas machos provenientes de Michoacán son las más grandes respecto a las demás poblaciones, en tanto que la interacción entre sitios mostró que Morelos es la población local de donde provienen las mariposas más pequeñas (Fig. 4.7 y Tabla 4.2).

La población michoacana es la más cercana a los sitios de hibernación y, al menos uno de los sexos (machos), podría parecerse morfológicamente a las poblaciones migratorias. Esta propuesta se basa en la probabilidad de que los machos sean los que tienen menos oportunidad de emigrar si han agotado sus reservas lipídicas, en comparación con las

hembras que pueden recuperar parte de la energía a través de los espermatozoides donados por los machos (Oberhauser 1988 y 1989).

Sin embargo, la diferencia también se puede atribuir a las condiciones ecológicas de cada población. Las plantas hospederas de Michoacán se distribuyen en lechos de río, donde se permite una abundancia y mejor calidad de hospederos para las larvas (obs. pers.). En contraste las poblaciones de Morelos (población con el menor tamaño) se distribuyeron en matorrales semi xerófilos con limitación de agua por lo que la calidad de los hospederos podría ser menor y esto afectaría el desarrollo larval (ver más adelante) y consecuentemente el tamaño de los adultos.

El mantenimiento somático en ambientes desfavorables como los que caracterizan a Morelos, puede ser menos eficiente, incrementando la probabilidad de que el adulto muera por razones fisiológicas incluyendo aquellas que le permiten defenderse de depredadores, por ejemplo la alimentación de un hospedero con bajo contenido de compuestos tóxicos.

Los organismos típicamente se distribuyen en ambientes heterogéneos donde se enfrentan al problema de cómo maximizar su adecuación bajo condiciones variables. Para resolver este problema un organismo puede expresar diferentes fenotipos dependiendo de las condiciones, esta respuesta fenotípica a variables ambientales depende del genotipo, (Via y Lande 1985 y Gebhardt y Stearns 1993). La población de Morelos presentó el tamaño más pequeño, pero también la mayor varianza (Fig. 4.7) por lo que es posible que se estén expresando diferentes fenotipos en este ambiente aparentemente menos óptimo, para maximizar la adecuación.

El tiempo de desarrollo entre las monarcas locales difiere significativamente. Nuevamente la población de Morelos es la que determina dicha diferenciación; las monarcas de esta población tardan más tiempo en completar el estado larvario y transformarse a adultos ($\bar{x} = 31.8 \pm 1.23$), algunos estudios con insectos templados han mostrado que un corto periodo de desarrollo puede producir adultos más pequeños (Rowe y Ludwig 1991), sin embargo, en la población de Morelos se presentó la respuesta contraria.

El tiempo de desarrollo larval deberá permitir se alcance el peso mínimo para permitir la pupación. El alimento consumido por la larva (especialmente las de tercer y cuarto estadio de desarrollo) determina este peso y el peso a la eclosión de los adultos (Gebhardt y Stearns 1993). Sin embargo hay otros elementos que contribuirán al éxito de la eclosión de los adultos, por ejemplo la temperatura, probablemente debido al bajo metabolismo respiratorio o a un cambio en la velocidad relativa de la diferenciación y crecimiento celular (Church y Robertson 1966 en Gebhardt y Stearns 1993). Sin embargo, todas las mariposas locales fueron cultivadas en las mismas condiciones de temperatura y humedad.

Otros elementos son los nutricionales ya que serán utilizados durante el proceso fisiológico de la metamorfosis (Clements 1992). Todas las poblaciones fueron alimentadas con asclepias procedentes de su propia localidad, de tal manera que la diferencia en el tiempo de desarrollo para las monarcas de Morelos puede deberse al aspecto nutricional del hospedero que se desarrolla en un ambiente menos favorable que las plantas de Guerrero y Michoacán.

También se ha documentado que, al reducir el tiempo de desarrollo, disminuye el tiempo de vulnerabilidad de las larvas, pero también decrece el tiempo de adquisición de materiales energéticos para mantenimiento somático o producción de huevos (Bell 1980). La interpretación adaptacionista de la tasa de crecimiento y tamaño alcanzado es que los organismos deberían crecer rápidamente en aquellos estados de alto riesgo y deberían alcanzar el estado de diferenciación que permite independencia, cuando los beneficios de hacerlo exceden los riesgos incurridos.

Sin embargo, para la monarcas procedentes de Morelos no se sigue esta interpretación ya que hay restricciones ambientales que impiden obtener el peso óptimo y posiblemente los nutrientes que serán destinados a la transformación como adultos. Se ha documentado que la tasa de crecimiento está correlacionada con los niveles de glucósidos cardíacos de las asclepias hospederas (Zalucki *et al.* 2001), por ejemplo plantas que están en ambientes adversos o que están dañadas (incluyendo herbivorismo) pueden incrementar la producción de compuestos secundarios afectando así la sobrevivencia de las larvas. De tal manera que

para la población de Morelos los efectos ambientales heredados (Rossiter 1996), disminuyen la adecuación de los organismos ya que la etapa larval esta expuesta por mayor tiempo a los depredadores o imposibilita a las larvas defenderse contra parasitoides (sección 5.5). La selección del sitio de oviposición por lo tanto es un componente primordial del desempeño parental ya que determina el primer medio ambiente encontrado por los descendientes (Resetais 1996).

5.4 Diferencias morfológicas intrapoblacionales (peso)

Las mariposas son comparadas con el peso al emerger como adultos, éste representa las reservas energéticas almacenadas como larvas y no como adultos ya que en individuos reproductivos se estarían acumulando una gran cantidad de grasas que serán utilizados durante la vitelogénesis y espermatogénesis.

Boggs (1990) menciona que los nutrientes para la producción de huevos provienen de la alimentación de la larva, la dieta de los adultos y los nutrientes transferidos por los machos durante la cópula. Los nutrientes adquiridos como larvas son más importantes cuando las hembras emergen con la mayoría de sus huevos maduros (Oberhauser 1997). Sin embargo, para muchos insectos que emergen sexualmente inmaduros, los nutrientes adquiridos como adultos son más importantes para la producción de huevos.

Las monarcas adquieren su maduración sexual aproximadamente una semana después de la emergencia. Se espera por lo tanto, que los nutrientes adquiridos durante el estadio larval, sean usados para mantenimiento somático y otros gastos metabólicos como la búsqueda de alimento. Ésta última representará posteriormente el recurso que será utilizado para producción de huevos, además de los adquiridos por las donaciones de los machos a través de los espermátóforos (Oberhauser 1988 y 1989).

En este estudio se encontró que no hay diferencias significativas entre la masa de hembras y machos, esto puede indicar que las reservas larvales son adquiridas para mantenimiento somático hasta la maduración sexual de las monarcas. Lo anterior se basa en el hecho de que hembras sexualmente maduras (consideradas así debido a que poseen altos niveles de hormona juvenil, la cual controla el desarrollo de los órganos reproductivos y la utilización

de los lípidos especialmente para la producción de huevos (Herman *et al.* 1989), difieren en peso respecto a los machos.

Algunos estudios sobre fecundidad predicen que las reservas de las larvas deberían afectar la fecundidad cuando las “entradas” por parte de los adultos son normalmente bajas, por ejemplo para especies monándras (que reciben un sólo espermátforo). Sin embargo, Oberhauser (1997) sugiere que las reservas de las larvas de monarcas no afectan la fecundidad, aunque el tamaño de las hembras y la fecundidad están positivamente correlacionados.

Las monarcas provenientes de Morelos presentaron el menor peso en comparación con las otras poblaciones de monarcas, sin embargo no hubo diferencias entre machos y hembras por lo que se propone que las reservas adquiridas por estas mariposas son también para mantenimiento somático y que las diferencias puedan deberse al componente ambiental como se discutió previamente.

5.5 Parasitoidismo en monarcas locales.

El mayor parasitoidismo detectado fue en la población de Morelos (90%). Las explicaciones para tal resultado pueden deberse a la calidad del ambiente que favorece a las poblaciones de parasitoides. Por ejemplo, las asclepias de esta localidad no son lo suficientemente tóxicas como para que los parasitoides mueran al ingerir los glucósidos secuestrados por las larvas de las cuales se alimentan.

Sin embargo, resultaría contradictorio ya que suponiendo que este sitio es el menos favorable, las asclepias producirían más compuestos tóxicos. Es por ello que otro argumento es que el impacto de los parasitoides, está definido por la heterogeneidad y tamaño de las plantas (Gingras *et al.* 2002). Es decir, la abundancia de las plantas, inclusive la abundancia de sus estructuras somáticas, en Morelos la población de asclepias era baja, las plantas se encontraban aisladas y las hojas eran delgadas por lo que se veía en general poco follaje, además de que las plantas siempre eran pequeñas; se ha documentado que un incremento en

el tamaño de las plantas decrece significativamente el porcentaje de parasitoidismo por *Trichogramma* (Thorpe 1985 en Gingras *et al.* 2002)

Por ejemplo, la oviposición por parte de los parasitoides puede obedecer a alguna indicación de la presencia del hospedero. Hassell (1968) menciona que *Cyzenis albicans* un taquinido de la mariposa nocturna *Operophtera brumata*, deposita sus huevos sobre el follaje que ha sido previamente dañado por las larvas. Otro estudio indica que la oviposición se atribuye al olor liberado por la planta del hospedero, después de un daño reciente por la alimentación del mismo (Mondor y Roland 1998).

Las monarcas producen daños importantes a la planta hospedera, sin embargo no podemos atribuir a ello la detección de los potenciales hospederos por parte de los taquinidos. Esto debido a que las larvas generalmente se alimentan durante la noche (obs. pers.), especialmente las larvas de tercer y cuarto estadio, las que producen los daños más importantes a la planta hospedera; mientras que los parasitoides ovipositan sobre las hojas durante el día. Además era frecuente observar que las hojas donde los parasitoides ovipositaban no presentaban daño.

Sin embargo, se observó una conducta de exploración de la hoja por parte de los taquinidos. Éstos ovipositan en hojas que ya tenían huevos de monarcas aumentando la probabilidad de que las larvas que emerjan se alimenten de los huevos de los parasitoides. Esta conducta de investigar y ovipositar en plantas con huevos de los hospederos ha sido descrita en himenopteros como *Anagrus nigriventris* parasitoide del homóptero *Circulifer tenellus* quien oviposita al menos en 5 plantas diferentes y en las cuales se observó la misma conducta (Al-Wahaibi y Walker 2000)

Askew y Shaw (1986) proponen que los koinobiontes son parasitoides especializados ya que han mantenido una interacción fisiológica con los hospederos. Por ejemplo las adaptaciones que se han desarrollado con base a las presiones inmunológicas del hospedero , lo cual restringe el número de hospederos que pueden atacar.

Se desconoce si existe especialización de los taquínidos con las monarcas, sin embargo, es importante señalar que las monarcas si se han especializado en las *Asclepias*, por lo que puede suponerse algún grado de especialización por parte de los parasitoides.

Bajo selección natural se supone que en este tipo de interacción, los hospederos deberían de evitar los ambientes que favorecen a los parasitoides. Las poblaciones “coevolucionadas” de hospederos y parásitos muestran una dependencia directa en la distribución del porcentaje de parasitismo. Los hospederos seleccionan ambientes que preferencialmente soportan un alto número de hospederos en el equilibrio y los parasitoides por igual, teniendo en cuenta que ambas poblaciones están confinadas a un ambiente (Schreiber *et al.* 2000). Al parecer las monarcas no entrarían dentro de esta categoría debido a que tienen un alto porcentaje de parasitismo, las poblaciones no están en equilibrio y el ambiente esta favoreciendo a los parasitoides. Esto también tendría consecuencias negativas para los parasitoides ya que está disminuyendo el tamaño de la población de monarcas.

5.6 Consideraciones finales

Los patrones fenotípicos observados no reflejan diferenciación genética entre las poblaciones locales y migratorias, es probable que el ambiente haya modulado la plasticidad fenotípica además de los efectos ambientales heredados a los descendientes. Es inadecuado considerar que la variación morfológica solamente en términos ecológicos, se necesita conocer cómo es la fuente de variación genética ya que los factores ecológicos permiten o restringen la variación (Grant y Grant 2000).

Sin embargo, en este capítulo pretendemos contribuir al conocimiento de ciertos aspectos de la historia de vida de mariposas migratorias y locales para posteriores estudios dirigidos a comprender aspectos evolutivos tales como la plasticidad, efectos ambientales heredados y respuesta a depredadores en relación a la estructura genética de las poblaciones ya que esto llevará a entender el origen y evolución de las poblaciones locales y migratorias de monarcas.

Literatura Citada

- Altizer S.M. 2001. Migratory behaviour and host-parasite co-evolution in natural populations of monarch butterflies infected with a protozoan parasite. **Evolutionary Ecology Research**, 5: 611-632.
- Al-Wahaibi A.K. y G.P. Walker. 2000. Searching and oviposition behaviour of a mymarid egg parasitoid, *Anagrus nigriventris* on five host plant species of its leafhopper host *Circulifer tenellus*. **Entomologia Experimentalis Applicata** 96:9-25
- Askew R.R. y M.R. Shaw. 1986. Parasitoid communities: their size, structure, and development. En: **Insect Parasitoids**. J. Waage y D. Greathead (eds.) London Academic Press. Págs 225-264.
- Barker J.S.F. y R.A. Krebs. 1995. Genetic variation and plasticity of thorax length and wing length in *Drosophila aldrichii* y *D. Buzzatti*. **Journal of Evolutionary Biology** 8:689-709
- Bell G. 1980. The costs of reproduction and their consequences. **American Naturalist** 116:45-76
- Boggs C.L. 1986. Reproductive strategies of female butterflies: variation and constraints on fecundity. **Ecological Entomology** 11:7-15
- Boggs C.L. 1990. A general model of the role of male-donated nutrients in female insects' reproduction. **American Naturalist** 5:598-617
- Clarke A.R. y M.P. 2001. *Taeniogonolus raymenti* Carmean & Kimsey (Hymenoptera: Trigonidae) reared as a hyperparasite of *Sturmia convergens* (Weidemann) (Diptera: Tachinidae), a primary parasite of *Danaus plexippus* (L.) (Lepidoptera: Nymphalidae). **Pan-Pacific Entomologist** 2: 68-70.
- Clements A.N. 1992. The biology of mosquitoes: Development, nutrition and reproduction. Chapman and Hall (Ed.) New York, USA 509
- CONABIO. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. (<http://www.conabio.gob.mx>).
- De la Maza-Elvira R. G. 1995. La monarca del vuelo. **Ciencias** 37:4-18.
- Dempster J.P. 1983. The natural control of populations of butterflies and moths. **Biological Reviews** 58:461-481
- Eggleton P. y R. Belshaw. 1992. Insect Parasitoids: An evolutionary overview. Proceedings of the Royal Society of London. 337: 1-20
- Gebhardt M.D. y S.C. Stearns. 1993. Phenotypic plasticity for life history traits in *Drosophila melanogaster* on phenotypic and environmental correlations. **Journal of Evolutionary Biology** 6:1-16
- Gingras D., P. Dutilleul y G. Bolvoine. 2002. Modeling the impact of plant structure on host-finding behavior of parasitoids. **Oecologia** 130:396-402
- Godfray H.C.J. 1994. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press (ed.). Princeton New Jersey. 473 pp.
- Grant P.P. y B.R. Grant. 2000. Quantitative Genetic variation in population of Darwin's finches. En: Adaptive genetic variation in the wild. Mosseau T.A., B. Sinervo y J.A. Endler (eds.). Oxford university Press (Ed.). pp 3-40
- Grant P.P. y T.D. Price. 1981. Population Variation in continuously varying traits as an ecological genetics problem. **American Zoologist** 21:795-811

- Haseel M.P. 1968. The behavioural responses of a tachinid fly (*Cyzenis albicans* (Fall.) to its hosts, the winter moth (*Operophtera brumata* (L.)). **Journal of Animal Ecology** 37:627-639
- Hawkins B.A. 1994. Pattern and Process in Host-Parasitoid Interactions. Cambridge University Press. Great Britain. 190 pp.
- Hedrick W. 2000. Genetics of Population. Jones and Bartlett Publishers (Ed.). Sudbury Massachusetts USA. 553 pp.
- Herman W.S., L.P. Brower y W.H. Calvert. 1989. Reproductive tract development in monarch butterflies overwintering in California and México. **Journal of the Lepidopterists' Society** 43:50-58
- Intergraph Corporation. 1999. Geomedia Pro. Canadá
- Kyi A., M.P. Zalucki y I.J. Titmarsh. 1991. An experimental study of early stage survival of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera Noctuidae) on cotton. **Bulletin of Entomological Research** 81:263-271
- Leclaire M. y R. Brandl. 1994. Phenotypic plasticity and nutrition in a phytophagous insect: Consequences of colonizing a new host. **Oecologia** 4:379-385
- Luis-Martinez A., Llorente-Bousquets J. y Vargas-Fernández I. 2003. Nymphalidae de México I: Danainae, Apaturinae, Biblidinae e Itelconiinae: Distribución Geográfica e Ilustración. CONABIO-UNAM 170 pp
- Lynch S.P. y R.A. Martin 1993. Milkweed host plant utilization and cardenolide sequestration by Monarch Butterflies in Louisiana and Texas. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. Págs. 107-123
- Loeschcke V., J. Bundgaard y J.S.F. Barker. 2000. Variation in body size and life history traits in *Drosophila aldrichi* y *D. Buzzatti* from a latitudinal cline in eastern Australia. **Heredity** 5: 423-433
- Neuman 1988
- Malcolm S.B. y L.P. Brower. 1986. Selective oviposition by monarch butterflies (*Danaus plexippus* L.) in a mixed stand of *Asclepias curassavica* L. and *A. incarnata* L. in south Florida. **Journal of de Lepidopterists' Society** 40: 255-263
- Microsoft Corporation 1997. Access97. US
- Mondor E.B. y J. Roland. 1998. Host searching and oviposition by *Leschenaultia exul*, a tachinid parasitoid of the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria*. **Journal of Insect Behaviour** 11(4): 583-592
- Mousseau T.A. y H. Dingle. 1991. Maternal effects in insects life histories. **Annual Review of Entomology** 36:511-534
- Nelson C.J. 1993a. Sequestration and storage of cardenolides and cardenolides glycosides by *Danaus plexippus* y *Danaus chrysippus petelia* when reared on *Asclepias fruticosa*: with a review of some factors that influence sequestration. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 91-105.

- Nelson C.J. 1993b. A model for cardenolide and cardenolide glycoside storage by the monarch butterfly. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 83-90.
- Oberhauser K.S. 1988. Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. **Animal Behaviour** 36: 1384-1388.
- Oberhauser K.S. 1989. Effects of spermatophores on male and female monarch butterfly reproductive success. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 25: 237-246
- Oberhauser 1997. Fecundity, lifespan and egg mass in butterflies: effects of male-derived nutrients and female size. **Functional Ecology** 11: 1-9
- Prisby M. 2001. Temporal and geographical variation in monarch egg and larval densities (*Danaus plexippus*): An ecological application of citizen science. MS Thesis. University of MN.
- Resetarits W.J. Jr. 1996. Oviposition site choice and life history evolution. **American Zoologist** 36: 205-215
- Roff D.A. 1997. Evolutionary Quantitative Genetics. Chapman y Hall New York USA.
- Rossiter M. 1996. Incidence and consequences of inherited environmental effects. **Annual Review of Ecology and Systematics** 27:451-476
- Rowe L. Y D. Ludwig.1991. Size and timing of metamorphose in complex life cycles:Time constraints and variation. **Ecology** 72-413-427
- SAS. 1997. SAS/STAT user' guide, version 6.12, 4ta ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Schlichting C.D. y M. Pigliucci.1998. Phenotypic Evolution: A reaction Norm perspective. Sinaur Associates (Ed.) Sunderland, Massachusetts USA.387 pp
- Schreiber S.J., L.R. Fox y W.M. Getz. 2000. Coevolution of contrary choices in Host-Parasitoids Systems. **American Naturalist** 155(5):637-648
- Sokal R.R. y F.J. Rohlf. 1995. Biometry. 3era. Ed. Freeman, New York.
- Van Hook T. 1993. Non-random mating in monarch butterflies overwintering in Mexico En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp 49-60
- Via S. 1993. Adaptive phenotypic plasticity: Target or by-product of selection in a variable environment? **American Naturalist** 142: 352-365
- Via S. y R. Lande. 1985. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. **Evolution** 39:505-523
- Wells H., P.H. Wells y S.H. Rogers. 1993. Is multiple mating an adaptive feature of monarch butterfly winter aggregation?. En: Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 61-68.
- Woodson R.E. Jr. 1954. The North American species of *Asclepias* L. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 41:1-211.
- Zalucki M.P.; L.P. Brower y A. Alonso-Mejía.2001 Detrimental effects of latex and cardiac glycosides on survival and growth of first-instar monarch butterfly larvae *Danaus plexippus* feeding on the sandhill milkweed *Asclepias humistrata*. **Ecological Entomology** 26:212-224

III. Estructura y variabilidad genética de las poblaciones migratorias norteamericanas y las poblaciones locales de mariposa monarca (*Danaus plexippus* L.) en México

I. Introducción

1.1 La población de monarcas norteamericanas : Metapoblación o población panmíctica?

Las poblaciones norteamericanas (que se distribuyen al sur de Canadá y norte de Estados Unidos) de *Danaus plexippus* han sido sujeto de numerosos estudios para entender la conducta de migración e hibernación (ver Malcolm y Zalucky (eds.) 1993). Sin embargo, ha surgido un interés por aquellas causas que ponen en peligro este fenómeno, tanto en los sitios de reproducción como en los sitios de hibernación (Brower y Malcolm 1992).

La distribución de las mariposas en Estados Unidos y Sur de Canadá obedece principalmente a la distribución de plantas hospederas del género *Asclepias* (Wells y Wells 1992) registrándose diversas subpoblaciones norteamericanas. Aunque se desconoce si estas subpoblaciones forman una población panmíctica (si las tasas de dispersión son suficientemente altas), o bien si pertenecen a una metapoblación (subpoblaciones geográficamente independientes).

La teoría metapoblacional (Levins 1970 en Esler 2000) puede ser útil para entender la estructura poblacional y la dinámica de esta especie, de tal manera que puedan ser utilizadas en los programas de conservación que podrían ser generados. Aunque el concepto de metapoblación ha sido aplicado exclusivamente para especies no migratorias, Esler (2000) ha generado algunos modelos que permiten la aplicación de este concepto a especies migratorias, para entender las dinámicas poblacionales y de la independencia subpoblacional. El primer punto radica en la identificación de subpoblaciones demográficamente independientes, aún cuando se muevan durante su ciclo anual y potencialmente co-ocurrán en otras subpoblaciones (aunque coincidan en tiempo y espacio en parte de su ciclo anual, no necesariamente implica panmixia demográfica).

Esto puede ser importante para conocer las dinámicas de las poblaciones de monarcas en los sitios de reproducción y que permita saber si estas serán consideradas en Norteamérica como unidades de conservación tal como lo propone Moritz (1994).

Para aves migratorias Esler (2000) aplica el modelo metapoblacional cuando las áreas de hibernación y reproducción son distintas. Sin embargo, en el caso de las aves existen diferentes escenarios, los que pueden ser aplicados a las monarcas: i) áreas de reproducción geográficamente independientes (debido a algún mecanismo conductual) y un área de hibernación única donde puede ocurrir panmixia; ii) Un área de reproducción panmíctica y diversas áreas de hibernación (donde ocurren mecanismos conductuales que las hacen ser independientes). iii) Tanto las áreas de reproducción como las áreas de hibernación pueden ser unidades geográficamente independientes. iv) Las áreas de hibernación y de reproducción son panmícticas (por lo tanto no hay metapoblaciones y la teoría no se aplica).

El principal mecanismo conductual es el relacionado con la filopatría y la dispersión: la filopatría es la probabilidad de regresar anualmente al área geográfica específica durante un estado particular del ciclo de vida. Las especies con altos niveles de filopatría pueden tener subpoblaciones demográficamente independientes debido a un limitado intercambio de individuos entre las poblaciones. La dispersión no puede ser considerada el inverso de la filopatría, en este contexto, puede referirse a la probabilidad de animales que se mueven entre las subpoblaciones dentro de un periodo del ciclo anual.

Una forma para conocer si las poblaciones pueden ser consideradas como poblaciones panmícticas o metapoblaciones es a través del conocimiento de la estructura genética de las poblaciones. El estudio de la genética de poblaciones se centra en la descripción de los niveles de variación genética dentro y entre las poblaciones, estimando las frecuencias alélicas y genotípicas y tratar de explicar esta variación en términos de las fuerzas evolutivas (Hedrick 1985).

La variación genética entre las poblaciones es el producto de diversas fuerzas evolutivas tales como la mutación, deriva genética, recombinación genética, movimiento de

transposones, el flujo genético y la selección natural; estas fuerzas moldean los patrones de variación. En poblaciones panmícticas, en las que además no hay acción de estas fuerzas evolutivas, se cumple el supuesto de que las frecuencias alélicas permanecen constantes y por lo tanto no hay evolución, la población permanece en equilibrio de Hardy-Weinberg (Futuyma 1998).

1.2 Efectos de la fragmentación de los sitios de reproducción e hibernación: conservación de la diversidad genética

La fragmentación de los hábitats es uno de los puntos centrales en la biología de la conservación. La Unión Mundial de la Conservación (IUCN) ha reconocido la diversidad genética como uno de los tres niveles de diversidad que requiere conservación (Montgomery *et al* 2000), de tal manera que es importante conocer los efectos de la fragmentación sobre la distribución de la variabilidad genética de las poblaciones (Simberloff 1988, Gibss 1998, Foré *et al.* 1992, Van Dongen *et al.* 1994), donde seguirán ocurriendo los procesos demográficos y evolutivos (Frankel y Soulé 1980, Sader y Joyce 1988). Indudablemente uno de los efectos es la pérdida de diversidad genética (Amos y Hoelzel 1992, Avise 1994). Al fragmentarse los hábitats se reduce el tamaño de la población, la cual consecuentemente puede ser sujeta a depresión por endogamia, como resultado de cruzas consanguíneas, reduciendo los niveles de heterocigosis en la población (Templeton *et al.* 1990, Milligan *et al.* 1994).

La endogamia puede reducir la adecuación individual de diversas formas (Milligan *et al.* 1994). Por ejemplo pueden expresarse alelos deletéreos recesivos (Galbusera *et al.* 2000) que reducen la fecundidad de la población al presentarse una alta mortalidad, especialmente de juveniles, aunque también puede manifestarse en tasas reducidas de crecimiento que pueden llevar a la extinción de las poblaciones.

La deriva genética fomentan la fijación o la pérdida aleatoria de alelos, como resultado de la reducción del tamaño efectivo de la población (Wright 1931 en Hart y Clark 1989) y produce pérdida de la diversidad alélica (Milligan *et al.* 1994). Esta fuerza evolutiva cambia las frecuencias alélicas por errores de muestreo durante la transmisión de genes de una

generación a otra, especialmente en aquellas poblaciones que han pasado por “cuellos de botella” o reducción considerable en su tamaño.

La fragmentación del hábitat también puede restringir el flujo genético, y afectar el nivel de variación genética (Storfer 1999). La Selección Natural cambia las frecuencias alélicas si mantiene la adaptación al ambiente (Hart y Clark 1989). La reducción de la variabilidad genética de las poblaciones puede tener efectos sobre la adecuación individual y la habilidad de las poblaciones para adaptarse a las condiciones ambientales alteradas incrementando la probabilidad de extinción debido a procesos estocásticos (Galbusera *et al.* 2000)

Para el caso de las poblaciones norteamericanas de monarcas, la fragmentación de los hábitats, especialmente por agricultura, favorece la explosión de las poblaciones de asclepias, sus plantas hospederas. De tal manera que las poblaciones pueden estar constituyéndose como una población continua, por lo que es muy relevante el estudio de los efectos de la continuidad poblacional sobre la estructura genética de las poblaciones.

Cuando las monarcas migran a las áreas de hibernación mexicanas, se enfrentan también al problema de la fragmentación de los hábitats de hibernación (en un contexto clásico), especialmente por la conversión a la agricultura de las zonas boscosas. Desafortunadamente estos sitios se encuentran por debajo de las posibilidades de restauración ecológica, aquí no se desarrollan los juveniles, pero la sobrevivencia de los adultos es importante porque repoblarán las tierras norteamericanas. Es por ello que es de interés conocer los efectos de la fragmentación de los hábitats de hibernación sobre la estructura genética de las poblaciones.

Las condiciones climáticas de los bosques perturbados de las zonas de hibernación pueden incrementar la pérdida de los lípidos que fueron almacenados para la hibernación (Alonso-Mejía *et al.* 1997), y serán insuficientes para completar el viaje de reemigración (Ver Introducción General). Existe la hipótesis del flujo genético entre poblaciones migratorias y locales, debido a que ciertas mariposas migratorias se quedan en sitios donde se encuentran poblaciones de plantas hospederas.

Se ha documentado para otras especies de mariposas que la fragmentación de los hábitats tienen consecuencias importantes en las poblaciones (Dongen 1998, Hoole *et al.* 1999) especialmente afectando la distribución y dispersión de las mariposas, así como su diversidad genética. Sin embargo, la fragmentación de los hábitats ha sido documentada para especies con bajo nivel de movilidad donde se estudian dichos efectos.

1.3 Flujo genético entre poblaciones locales y migratorias, adaptación de poblaciones locales

El conocimiento de la estructura genética de las poblaciones migratorias y locales de mariposa monarca puede ser un elemento básico en la conservación del fenómeno de hibernación, ya que la alta capacidad de dispersión de las poblaciones migratorias pueden reducir el grado de aislamiento geográfico e inclusive genético.

El flujo genético puede mantener la diversidad genética y fenotípica de las especies, aumentar la variabilidad genética dentro de la población, y reducir los efectos de la deriva genética o bien reducir la adaptación de los organismos al incorporarse a la población alelos sin efecto adaptativo a las nuevas condiciones (Slatkin 1987).

El flujo genético es más probable entre demes adyacentes. En el caso de las poblaciones de monarcas que hibernan en el Eje Neovolcánico y las poblaciones locales el flujo genético puede ocurrir , ya que hay poblaciones importantes de plantas hospederas cercanas a los sitios de hibernación. Si la cantidad de migración entre las poblaciones migratorias y locales es alta, se espera que éstos tengan pozos genéticos similares.

Las poblaciones migratorias y locales pueden estar separadas por barreras geográficas, de tal manera que el aislamiento generaría diferenciación entre ambas. Mientras que el flujo genético eliminaría la diferenciación., al alterar las frecuencias alélicas dependiendo de la cantidad de migración (Slatkin 1985).

De acuerdo a la hipótesis de flujo genético entre las poblaciones locales y migratorias, se esperaría que las poblaciones locales fueran incapaces de adaptarse a las plantas hospederas

(hipótesis de adaptación local Edmunds y Alstad 1978). Sin embargo, el flujo genético puede tener diferente magnitud de acuerdo a la cercanía de las poblaciones locales con las áreas de hibernación.

Si hay un limitado flujo de genes entre las demás poblaciones locales, adicionalmente a que el movimiento de larvas y adultos sea insuficiente, se puede encontrar heterogeneidad alélica entre las poblaciones locales alejadas de los sitios de hibernación. Se ha sugerido que las poblaciones de insectos se mueven muy poco y que hay posibilidad de que la adaptación local pueda desarrollarse (Alstad 1998). Por lo que la formación adaptativa de los demes resultaría del aislamiento de poblaciones reproductivas que se han adaptado de manera importante a las plantas hospederas (Edmunds y Alstad 1978). Algunos genotipos pueden tener ventajas sobre otros en hospederos particulares y esta variación es heredable sobre el tiempo, por lo tanto estas poblaciones aisladas o demes podrían divergir de las poblaciones originales (en el caso de que fuesen las migratorias). Si las poblaciones tienen la oportunidad de reproducirse en varias generaciones por la disponibilidad de las plantas hospederas durante todo el año, pueden tener ventajas evolutivas al adaptarse rápidamente a sus plantas hospederas. Aunado a la carencia de dispersión y limitado flujo genético entre otras poblaciones, por lo cual es importante entender los mecanismos que podrían evitar la formación adaptativa del deme (Cobb y Whitham 1998).

1.2 Poblaciones fuente y poblaciones sink (sumidero)

Debido a la heterogeneidad ambiental, las poblaciones naturales tienden a ocupar diferentes hábitats y la separación espacial puede afectar la dinámica demográfica de las poblaciones (Howe *et al.* 1991), y la adecuación de los individuos (Kawecki 1995). Algunos autores sugieren que las poblaciones no pueden mantenerse como unidades aisladas ya que sin inmigración de otras poblaciones inevitablemente se extinguirían (Janzen 1986, King y Mewaldt 1987, Temple y Carey 1989).

Las diferencias en la calidad del hábitat podrían ocasionar un espectro fuente-sink de la población (Pulliam 1988). Fuera del nicho se pueden establecer poblaciones por inmigración, a estas poblaciones se les denomina “sink” (sumidero) (Holt 1985, 1993,

Pulliam 1988). Una especie tiene una dinámica sink-fuente si en un “fuente” mantiene un balance positivo entre nacimientos y muertes, mientras en las sink las muertes superan al número de nacimientos. En la fuente se tiene una mayor abundancia y adecuación en comparación con las sink, y la evolución por selección natural podría ser más fuerte para mantener o mejorar la adaptación en la fuente (Holt 1996). Las poblaciones sink aumentan el tamaño de la metapoblación y pueden evitar la extinción de la fuente (Howe *et al.* 1991).

Gaggiotti y Smouse (1996) muestran que la variación genética puede ser mantenida en una pequeña población sink únicamente a través de influjo continuo de genes de una fuente grande. Sin embargo, ellos enfatizan la importancia de la estocasticidad en el proceso de la migración, ésta puede determinar cuanta variación puede ser mantenida en una población sink.

Las poblaciones no viables pueden ayudar a prevenir las extinciones estocásticas de pequeñas metapoblaciones (Goodman 1987) y pueden contribuir a un pool genético mucho más diverso (Lande y Barrowclough 1987). En términos prácticos los hábitats secundarios pueden tener un valor significativo para la conservación aunque sean incapaces de soportar poblaciones viables.

En este estudio se sometió la hipótesis de si las poblaciones migratorias de monarcas y las poblaciones locales en México corresponden al espectro fuente-sink. Los individuos que forman la población reproductiva de Norteamérica y se reúnen durante la hibernación, constituyen la población fuente, mientras que las poblaciones locales en México funcionan como las poblaciones sink. Entre éstas existe una diferencia notable, mientras la población hibernante puede constituirse como la fuente por tan solo unos cuantos meses (inclusive solamente cuando se reinicie la remigración o bien, cuando, durante la hibernación los individuos pierdan su diapausa reproductiva y no puedan remigrar), las poblaciones locales podrían funcionar como poblaciones sink.

Con base en los argumentos anteriores el presente proyecto se desarrolló bajo las siguientes preguntas de investigación:

- i) ¿Las poblaciones que hibernan en nuestro país son una población panmíctica o diversas poblaciones con una estructura genética ?
- ii) Si hay mariposas migratorias que no completan el viaje de emigración al sur de los EUA, ¿Están formando poblaciones locales en México?
- iii) ¿La variabilidad genética entre las poblaciones residentes aumenta conforme la interacción con las monarcas migrantes es mayor?
- iv) ¿La población hibernante constituye una fuente a partir de la cual migran individuos a poblaciones sink (locales)?
- v) ¿Se previene la adaptación local de las poblaciones mexicanas como resultado del flujo genético con las poblaciones migrantes?

Una forma de disponer de información sobre la estructura genética de las poblaciones migratorias así como de su relación con las poblaciones locales mexicanas, es a través de la variación proteínica detectable por medio de técnicas electroforéticas (Richardson *et al.* 1986). Esta podrá reflejar el nivel de adaptación futura o la adecuación individual (Milligan *et al.* 1994). Así como entender los mecanismos poblacionales para proteger el fenómeno de hibernación de ésta especie.

1.5 Antecedentes de la estructura genéticas de las monarcas

Eanes y Kohen (1978) analizaron la estructura genética de treinta muestras de monarcas que fueron colectadas en el verano y otoño de 1973, 74 y 75 en la región este central de EUA y Canadá. Se usaron 6 loci enzimáticos como marcadores genéticos. La hipótesis que probaron fue que la población de monarcas mostraba cambios en su estructura genética debido a que la población en un momento era relativamente sedentaria y en otro momento se componía por mariposa migratorias.

El coeficiente de endogamia mostró un exceso de heterocigosis persistente en tres loci (NDH, GOT y MDH). Los estadísticos F en las muestras migratorias y no migratorias describen la existencia de poblaciones de verano genéticamente diferenciadas que están mezcladas en masa en la migración del otoño. Aunque al parecer la variación espacial en las



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

frecuencias alélicas es baja, la migración efectivamente mezcla la población y remueve cualquier diferenciación local.

Eanes (1978) examinó la relación entre la heterocigosidad genética y de los caracteres morfológicos en la mariposa monarca (*Danaus plexippus*). El estudio con seis loci polimórficos muestra que algunos heterocigotos tienen varianzas pequeñas en caracteres morfológicos cuando son comparados con los homocigotos para los mismos loci. Sus resultados apoyan la hipótesis de que los heterocigotos en los loci estudiados tienden a ser encontrados cerca del centro de la distribución de los caracteres morfológicos tales como el tamaño.

Hughes y Zalucki (1984) por su parte, estudiaron la variación en cuatro loci genéticos (PGM, ME, IDH y Hbdh) en poblaciones australianas de monarcas residentes. Encontraron bajos niveles de diferenciación genética entre subpoblaciones ($F_{ST} = 0.032$). Sin embargo, estos autores sugirieron que sus resultados reflejan diferencias entre genotipos respecto a la preferencia de hábitats. Por ejemplo algunos genotipos pueden gastar más tiempo alrededor de un gran parche de asclepias que otros, tales diferencias en la conducta pueden llevar a diferencias en las frecuencias genotípicas entre áreas densas y esparcidas de asclepias.

Un estudio sobre la variación espacial en *Danaus plexippus* en el Sureste de Queensland usando dos loci PGM y HBDH fue realizado por Zalucki *et al.* (1987). Ellos muestrearon mariposas en 16 sitios por dos ocasiones algunas en primavera, sobre una gran escala espacial y la otra vez a finales del verano sobre una escala espacial fina. Los niveles de variabilidad genética, fueron muy bajos en ambas ocasiones. Sin embargo a una escala fina se detectó variación espacial significativa en el locus HBDH. Los autores mencionan que los análisis podrían indicar que las condiciones ambientales al tiempo de la colecta pudieron haber influido en las frecuencias de genotipos particulares.

Ante la suposición de los efectos de las condiciones medioambientales, es decir, que algunos genotipos son más activos a ciertas horas del día y otros genotipos a otras horas del día, realizaron un estudio considerando los efectos del medio (Carter *et al.* 1989). En éste las

monarcas fueron muestreadas a diferentes horas del día. Se analizaron cuatro loci polimórficos (PGI, PGM, IDH y Hbdh) y se compararon los niveles de heterocigosidad entre las monarcas que volaban temprano y las que volaban en la tarde. Para PGI y PGM hubo frecuencias de heterocigosis significativamente altas para los individuos de la mañana, indicando que los heterocigotos eran más activos a estas horas del día que los homocigotos.

Se estudio también la variación a nivel temporal en una población reproductiva de monarcas de dos sitios con parches de asclepias por dos años (Zalucki *et al.* 1993). En este estudio se encontraron grandes cambios en la heterocigosis y en las frecuencias alélicas de los individuos agrupados en tres estaciones (verano temprano, verano tardío e invierno). Del estudio de Carter *et al.* 1989, se encontró que los heterocigotos son más activos a horas tempranas, lo que llevó a Zalucki *et al.* (1993) a sugerir en este estudio que los heterocigotos en invierno pueden tener más tiempo disponible para aparearse y ovipositar que los homocigotos. Y además de que los heterocigotos pueden tener ventajas tales como altas tasas de sobrevivencia como larvas o como adultos en bajas temperaturas, por lo que se puede esperar un incremento en las frecuencias de los heterocigotos.

II Objetivos

El objetivo general de este trabajo es determinar la variabilidad, los niveles de diferenciación y el grado de flujo genético entre la población migratoria que hiberna en nuestro país y las poblaciones locales o residentes que existen en México. Detectando los posibles cambios en la estructura genética de las poblaciones de monarcas locales debido a la presencia de las monarcas hibernantes

Los objetivos particulares son los siguientes:

- I. Conocer la estructura genética de las poblaciones migratorias de monarcas para establecer si pertenecen a poblaciones geográficamente aisladas en Norteamérica o si son una población panmíctica
- II. Determinar la estructura genética de las poblaciones residentes de monarcas en México
- III. Estimar las relaciones genéticas y el grado de flujo genético entre ambas poblaciones
- IV. Con base en las relaciones genéticas entre estas poblaciones, proponer estrategias para la conservación del fenómeno de hibernación de las mariposas monarcas norteamericanas que hibernan en México.

III. Método

3.1 Colecta de monarcas migratorias

Se realizó una colecta de mariposas en la temporada de hibernación de 1998-1999. Este muestreo fue realizado entre el 25 de febrero y el 3 de marzo de 1999. Se colectaron 35 machos y 35 hembras monarcas pertenecientes a los santuarios Sierra Chincua, Cerro el Campanario (Rosario) y Cerro Pelón (Fig. 3.1 Cap. II). Los ejemplares fueron transportados vivos en hieleras y en el laboratorio fueron preservados en un ultracongelador a -70 °C hasta el momento en que se realizó la electroforesis.

3.2 *Colecta de monarcas locales mexicanas*

Con base en la distribución geográfica de *Danaus plexippus* y en la permanencia de las poblaciones durante todo el año (ver cap. II), para el análisis genético se seleccionaron mariposas de localidades del Estado de Michoacán, principalmente sitios cercanos a las áreas de hibernación con la finalidad de evaluar el posible flujo genético entre esta población y las migrantes; y dos sitios alejados de la zona de hibernación: Guerrero y Morelos.

Michoacán

Los sitios correspondientes a Michoacán fueron la Ciudad de Tuxpan, en el sitio conocido como Hacienda Mitzi y la Soledad; Agua Blanca y Agua Amarilla las tres localidades cercanas a la ciudad de San José Purúa por la carretera Zitácuaro-Morelia (ver apéndice 1). Para todas las localidades se colectaron adultos volando o que estuvieran presentes en las plantas hospederas, así como huevos o larvas de las plantas.

Guerrero

En este estado se colectaron las localidades de Chilapa sobre la carretera Chilpancingo a Izúcar de Matamoros, y Chichihualco en la carretera Chilpancingo-Atoyac de Álvarez, ambas localidades aproximadamente a 40 Km de la Ciudad de Chilpancingo (ver apéndice 1).

Morelos

Las colectas realizadas en el estado de Morelos corresponden a las localidades de Zacualpan, en la carretera Cuautla-Izúcar de Matamoros, Narciso Mendoza, sobre la carretera Cuautla-Oaxtepec y Jiutepec, cerca de Cuernavaca (ver apéndice 1).

Los huevos y larvas fueron transportados al laboratorio, se pusieron individualmente en frascos plásticos. Se mantuvieron en cámaras de desarrollo a temperaturas de 28 °C durante el día y 23 °C durante la noche. Las larvas fueron alimentadas con *A. curasavica* hasta que pupaban, los adultos que emergieron se guardaron en el ultracongelador a -70° C hasta el momento de realizar la electroforesis.

3.3 Electroforesis de proteínas

Uno de los métodos más utilizados en biología molecular para estimar los niveles de variación en las poblaciones es la electroforesis de proteínas (Hartl y Clarck 1989, Leberg 1992). Se empleó esta técnica en acetato de celulosa (Richardson *et al.* 1980) siguiendo el protocolo de Herbert y Beaton (1994). El tórax de cada monarca fue macerado con 200 microlitros de buffer EDTA (Apéndice 3), pH 7.5 en nitrógeno líquido. La mezcla se centrifugó durante 3 minutos a 14000 r.p.m. Los geles de acetato de celulosa (Titan III Helena Laboratories) fueron remojados durante 2 horas en el buffer respectivo (Tabla 3.1). Posteriormente en estos geles se aplicó cada muestra y fueron sometidos a diferentes voltajes y tiempos según la enzima (Tabla 3.1)

Se ensayaron las enzimas PGM, PGI, IDH, G6PDH, 6PGDH, ME, AAT, MPI, ACON, MDH, FUM, ADH, HEX, LDH, G3PDH, obteniéndose actividad y polimorfismos para seis enzimas (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Enzimas analizadas. Buffers, amperaje y tiempo en los cuales se corrieron los geles de acetato de celulosa para las monarcas.

Enzima	Buffer	pH	Voltaje	Amperaje	Tiempo (min)	Estructura	No.	de No. de
						Cuaternaria	isoenzimas	alelos
GPI	J 2	7.8	120	10	50	dímero	1	6
ME	CAAMP	7.0	180	10	90	tetrámero	2	3
MPI	CAAMP	7.0	180	10	90	monómero	1	3
G3PDH	CAAMP	7.0	180	10	90	dímero	1	3
PGM	J	8.2	100	10	40	monómero	1	6
IDH	J	8.2	120	10	60	dímero	2	4

En el apéndice 3 se muestran los métodos de preparación de buffer de extracción y corrimiento, así como la preparación de los substratos y solución de tinción para cada una de las enzimas estudiadas.

Después de aplicar substratos y soluciones de tinción en un gel de agar encima de los acetatos, estos fueron incubados media hora en una estufa a 35 °C. El agar fue removido y los geles fueron lavados con agua corriente y después con agua destilada.

Los geles fueron leídos a partir del patrón de bandeo que presentaban, estas lecturas correspondieron a “A” como el alelo de mayor movilidad electroforética, leyéndose las letras posteriores en orden descendente a partir del que corrió más rápido (Fig. 4.1 resultados sección IV). Cada gel fue fotografiado con una cámara digital y fotocopiado con la finalidad de tener el registro de todos los geles y corroborar las lecturas al final de todas las electroforesis. Para la lectura se considero el número de loci presentes, así como la estructura cuaternaria de la proteína, garantizando la correcta interpretación de los genotipos por población.

3.4 Análisis genético

3.4.1 Variabilidad genética

Dos de las medidas comunmente usadas para caracterizar la variación en una población son el porcentaje de loci polimórficos y la heterocigosidad promedio por locus. La proporción de loci polimórficos depende de la definición de polimorfismo. Por definición un locus es polimórfico si la frecuencia del alelo más frecuente es de menos del 99%, aunque también la frecuencia puede ser de menos del 95%

La estructura genética puede ser expresada como la variación en las frecuencias alélicas presente en las poblaciones. Para medir ésta variación genética se estimó la proporción de loci polimórficos (P), la heterocigosidad promedio esperada (He) y el número promedio de alelos por locus (A) (Hartl y Clark 1989) para las poblaciones migratorias y locales de mariposa monarca.

Para obtener estos estimadores se realizó la lectura de las frecuencias genotípicas de cada uno de los geles, para cada una de las poblaciones. A partir de éstas frecuencias se

obtuvieron las frecuencias alélicas con el programa de análisis genético TFPGA 1.3 (Tools for Population Genetic Analyses, Miller 1997).

Un locus es polimórfico si la frecuencia del alelo más común es de menos de 0.99, los valores para P van de 0 a 1, el primero indica nula variación genética y el 1 cuando la totalidad de los loci analizados son polimórficos, es decir, que tienen dos o más alelos. Se estima a partir de $P = x/m$ donde x es el número de loci polimórficos en una muestra de m loci (Hedrick 1985). La heterocigosis promedio esperada también fue obtenida por el programa TFPGA como:

$$\overline{He} = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Donde p_i es la frecuencia del i ésimo alelo del locus i . La heterocigosis promedio esperada toma valores de 0 a 1. El número promedio de alelos por locus fue obtenido como:

$$A = \sum \frac{a_i}{m}$$

Donde a_i es el número de alelos observados en el locus i y m es el número de loci analizados.

3.4.2 Estructura genética

La estructura genética de las poblaciones es una consecuencia de los patrones de entrecruzamiento dentro de las poblaciones y de la magnitud del intercambio genético entre éstas (Crow 1986, Hartl 1988, Hartl y Clark 1989). Para su estimación se obtuvieron el coeficiente de endogamia o índice de fijación (F) y los estadísticos F de Wright (F_{IT} , F_{IS} , F_{ST}) (Wright 1978).

Coefficiente de Endogamia o índice de fijación (F)

La estructura intrapoblacional es estimada con el coeficiente de endogamia (F) propuesto por Wright en 1921. Este estimador mide la reducción en la heterocigosidad dentro de una población debido a la cruce entre parientes en relación con la heterocigosidad esperada en

equilibrio de Hardy-Weinberg. Una población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg cuando las frecuencias alélicas y genotípicas permanecen estables ($F = 0$). El coeficiente de endogamia se expresa como:

$$F = 1 - \frac{H_o}{2pq}$$

Donde H_o es la heterocigosis es observada en la población, y $2pq$ es la proporción de heterocigotos esperados para cualquier par de alelos en el locus. Este coeficiente toma valores de -1 a $+1$. Los valores positivos indican deficiencia de heterocigotos y los valores negativos muestran un exceso de éstos.

Estadísticos F de Wright

Para un análisis interpoblacional los índices más utilizados para describir estructura genética de las poblaciones son los estadísticos F de Wright (Wright 1951). Funcionan a nivel de individuos (I), subpoblaciones (S) y de toda la población (T).

El estadístico F_{IT} mide la reducción en la *heterocigosidad observada* de un individuo que se encuentra en una subpoblación con respecto a la esperada de un individuo en una población no subdividida con apareamientos al azar (en equilibrio de Hardy-Weinberg), y con las mismas frecuencias alélicas. Este estadístico considera los efectos del apareamiento no azaroso y también los efectos de la subdivisión de la población. Es por ello que este estadístico mide el grado de endogamia total en la población (todas las subpoblaciones consideradas) y se obtiene a partir de:

$$F_{IT} = \frac{\bar{H}_T - \bar{H}_0}{\bar{H}_T}$$

Donde \bar{H}_0 es la heterocigosis promedio individual observada en la subpoblación y \bar{H}_T se refiere a la heterocigosis promedio esperada en una población con apareamientos aleatorios, donde n es la suma de todos los loci y se obtienen como:

$$\bar{H}_T = \frac{\sum_{i=1}^n 2\bar{p}_i(1-\bar{p}_i)}{n}$$

El estadístico F_{IS} mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo que se encuentra en una subpoblación debido a apareamientos no azarosos, en comparación con una subpoblación ideal en la que todos los apareamientos se realizaran al azar (Hartl y Clark 1989):

$$F_{IS} = \frac{\overline{H_S} - H_0}{\overline{H_S}}$$

Donde $\overline{H_S}$ es la heterocigosis promedio observada, para todos los loci a nivel de subpoblación.

F_{ST} es el estadístico que mide la reducción en la *heterocigosidad esperada* de un individuo que se encuentra en una subpoblación con respecto a la esperada de un individuo que se encontrara en una población no subdividida con apareamientos al azar, es decir, el efecto considerado es el de la subdivisión de la población. F_{ST} es una medida de la diferenciación genética entre subpoblaciones al medir la reducción de la heterocigosis en una subpoblación debido a deriva genética (Hartl y Clak 1989); dicho estadístico también es utilizado para inferir patrones de flujo genético entre las subpoblaciones (Slatkin 1994) F_{ST} se obtiene como:

$$F_{ST} = 1 - \frac{\overline{H_S}}{H_T}$$

Estadísticos F , f y θ de Weir y Cockerham (1984)

Los estadísticos F , f y θ son estimadores de los índices de fijación de Wright (1951) F_{IT} , F_{IS} y F_{ST} respectivamente. El programa TFGA 1.3 (Miller 1997) permite calcular estos estimadores considerando el número de individuos analizados, así como el número de localidades muestreadas, asignadas como subpoblaciones dentro del programa. Con estos componentes los estimadores no tienen sesgo a diferencia del cálculo por sí sólo de los índices de fijación de Wright (1951).

Se analizó si F y f eran estadísticamente diferentes de 0, es decir, si las poblaciones indican algún grado de endogamia. Para ello se utilizó una prueba de chi-cuadrada (χ^2) propuesta por Li y Horvitz (1953), en la cual $\chi^2 = F^2 N (k-1)$, o bien $\chi^2 = f^2 N (k-1)$ para ambos con $k(k-1)$ grados de libertad, y para el estadístico θ se calculó como $\chi^2 = 2N \theta (k-1)$ (Workam y Niswander 1970), con $(k-1) (s-1)$; k es el número de alelos y s el número de subpoblaciones a analizar.

Mediante el programa TFPGA se calcula la desviación estándar y el intervalo de confianza de cada parámetro al 95% mediante un “bootstrapping” o método de remuestreo sobre todos los loci.

Flujo genético (Nm)

El flujo genético entre las poblaciones migratorias y locales de monarcas se calculó mediante el parámetro θ o el índice F_{ST} no sesgado, que estima la diferenciación genética.

$$F_{ST} \approx \frac{1}{4Nm + 1}$$

El uso de F_{ST} permite hacer una estimación indirecta del flujo genético (Slatkin 1994) mediante la expresión propuesta por Wright (1951):

$$Nm \approx \frac{1}{4} \left(\frac{1}{F_{ST}} - 1 \right)$$

Donde N es el tamaño de la población y m es la fracción de migrantes a dicha población, y es una estimación indirecta del flujo genético entre las subpoblaciones.

Valores de $Nm > 1$ indican que las poblaciones se comportan como una población panmíctica y el flujo genético restringe el efecto de la deriva genética (Kimura y Maruyama 1971, Hartl y Clark 1989 y Slatkin 1994). Mientras que valores de $Nm < 1$ indican que las subpoblaciones tienen un alto grado de diferenciación genética (i.e., deriva genética actuando independientemente en cada subpoblación; Slatkin 1994).

Sin embargo, la estimación de Nm de esta manera lleva como condición que F_{ST} no involucre a otras fuerzas evolutivas diferentes a la deriva genética. Para ello Crow y Aoki (1984) y Takahata y Nei (1984) propusieron la estimación de G_{ST} , como un estimador de F_{ST} para loci multialélicos.

$$G_{ST} \approx \frac{1}{4\alpha Nm + 1}$$

Donde :

$$\alpha = \left(\frac{n}{n-1} \right)^2 \quad \text{y } n \text{ el número de subpoblaciones}$$

Si el número de subpoblaciones se incrementa, G_{ST} se aproxima a F_{ST} a una tasa de $1/m$ siempre que $\mu < m$ (Crow y Aoki 1984, Takahata y Nei 1984 y Hartl y Clark 1989).

Una medida directa del flujo genético que pretende evaluar el aislamiento por distancia fue propuesta por Slatkin (1993) con la estimación F_{ST} de entre pares de poblaciones separadas por una distancia k y considerando el cálculo de Nm ya descrito. Este estimador permite evaluar el flujo genético en una dimensión (poblaciones distribuidas linealmente fig. 3.1):

$$\hat{M} \approx \frac{4Nm}{k}$$

O bien en dos dimensiones, es decir cuando las poblaciones intercambian genes como otras en cualquier dirección (Fig. 3.1):

$$\hat{M} \approx \frac{4Nm}{\sqrt{k}}$$

Para poblaciones que se encuentran en equilibrio entre la deriva y la migración la relación:

$$\log(\bar{M}) = a + b \log(k)$$

predice una pendiente (b) de -1 y de 0.5 para flujo genético en una y dos dimensiones respectivamente (Fig. 3.1, Slatkin 1994). Para calcular este estimador entre pares de subpoblaciones de las poblaciones migratorias y locales de monarcas, se utilizó el programa desarrollado por Slatkin (1993). Dicho programa está basado en métodos de coalescencia y obtienen F_{ST} entre pares de poblaciones estimando θ (Weir y Cockerham 1984) o G_{ST} (Nei 1972). El primero es un estimador insesgado, pero si el flujo genético es alto puede tomar valores negativos y por ello la función inversa de \hat{M} , esta indefinida, G_{ST} por el contrario, siempre es positivo y presenta menor varianza que θ . Las distancias entre las subpoblaciones estudiadas se obtuvieron utilizando cartas del INEGI a una escala de 1:250,000.

En este estudio también se utilizó otro método indirecto para estimar el flujo genético, conocido como el método de alelos privados (private alleles). Desarrollado por Slatkin (1985), considera los alelos que se encuentran de manera exclusiva en una población. Para estimar Nm se considera la frecuencia promedio de los alelos privados (\bar{p}). Slatkin (1985) encontró que hay una relación entre la frecuencia de los alelos privados y Nm como:

$$\ln \bar{p}(1) = \{(- 0.505) (\ln Nm)\} - 2.44$$

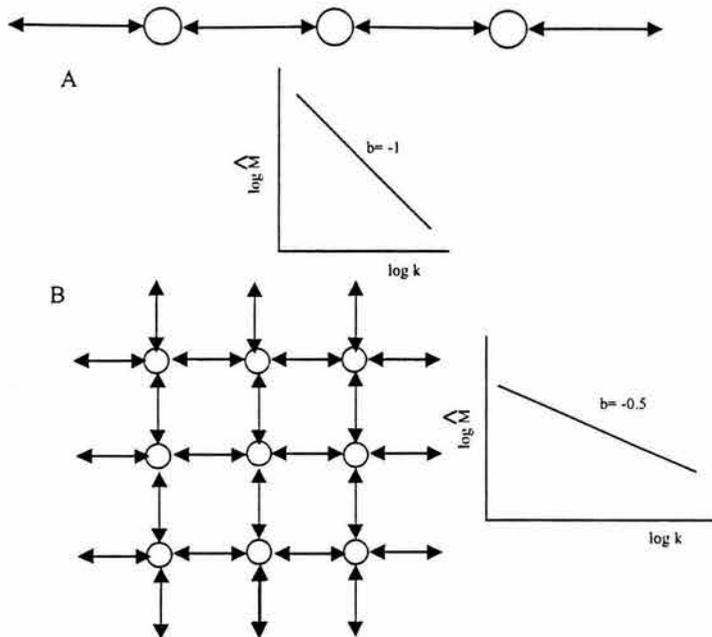


Figura 3.1. Aislamiento por distancia. Si el flujo genético ocurre en una dimensión (A) se muestra que la pendiente tiene un valor de -1 , mientras que si el flujo genético ocurre en dos dimensiones (B) la pendiente es de -0.5

Distancias e Identidades genéticas

La estimación de la identidad genética entre las poblaciones se utiliza también para describir la estructura genética de las poblaciones. El método UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) o método de promedio aritmético no ponderado de par-grupo, usa una matriz de las frecuencias alélicas de los pares de poblaciones. UPGMA construye un dendograma o fenograma de las distancias esperadas y supone que el tiempo evolutivo a lo largo de cada una de las ramas es proporcional al largo de la rama. Estableciendo de esta manera las relaciones genealógicas entre las poblaciones con base en las similitudes o distancias genéticas (Nei 1972, 1978).

Las identidades genéticas toman valores de entre cero cuando el par de poblaciones no comparten ningún alelo, y 1 si el par de poblaciones tienen las mismas frecuencias alélicas. La identidad genética se estima de la siguiente manera:

$$I = \frac{J_{xy}}{\sqrt{J_{xx}J_{yy}}}$$

Donde J_{xy} es la probabilidad de tomar al azar un par de alelos idénticos, J_{xx} y J_{yy} son las probabilidades de homocigosis en la población X y Y, respectivamente (Hartl y Clark 1989). La distancia genética se estima como $D = -\ln I$ y ésta toma valores de 0 si las poblaciones tienen frecuencias alélicas idénticas, hasta ∞ si las poblaciones no comparten alelos.

Usando el programa TFPGA se construyeron fenogramas con base en el método UPGMA con la finalidad de detectar las relaciones genéticas entre las monarcas migratorias y las monarcas locales mexicanas, así como entre las subpoblaciones de cada grupo con base en las distancias genéticas de Nei (1978)

Con la presencia de alelos exclusivos para ambas poblaciones se obtuvo una “filogenia” de alelos, el fenograma-árbol fue construido con el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Swofford 2000), con número de alelos exclusivos como un carácter homólogo. Se obtuvo la estadística del árbol para saber si los caracteres utilizados (alelos) son los más apropiados. Estos son el índice de consistencia (*IC*), el índice de consistencia reescalado (*CR*) y el índice de homoplasia (*IH*). El *IC* es una medida de la homoplasia o la incertidumbre debido a analogías, es decir, la incongruencia en el análisis debido a que ciertos caracteres propuestos como homologías pueden ser analogías; el índice *CR* es el *IC* reescalado de 0 (homoplasia) a 1 (sinapomorfias o caracteres homólogos derivados).

IV Resultados

4.1 Variabilidad genética de las poblaciones de mariposa *Monarca* locales y migratorias

Frecuencias alélicas

Para las poblaciones migratorias y locales se ensayaron un total de 14 enzimas de las cuales se obtuvo resolución para 6 enzimas, para un total de 8 isoenzimas (Tabla 3.1 sección III Métodos, Fig. 4.1). con un máximo de 6 loci para la enzima GPI y PGM (Fig. 4.2b).

El apéndice 2 muestra las frecuencias alélicas de las enzimas analizadas en cada población, la población local Michoacán es la única que presenta el alelo GPI-F mostrándose diferenciación para este alelo con la prueba exacta para diferenciación de poblaciones con una $p < 0.05$, mientras que el alelo GPI-E no está presente en la población migratoria Rosario, ni en la población local Morelos. El alelo GPI-A sólo lo presentan las poblaciones migratorias, mientras que el alelo GPI-D es el que presenta la mayor frecuencia tanto en poblaciones migratorias como locales.

Para la enzima MPI se obtuvo la mayor frecuencia para el alelo B (entre 0.7 y 0.9), el alelo C ausente en las poblaciones locales de Guerrero y Morelos, y la población local Michoacán presentó los tres alelos al igual que las poblaciones migratorias.

Tan sólo en la población migratoria “Cerro Pelón” se encuentra el alelo G3PDH-C, mientras que el alelo G3PDH-B solo está en las poblaciones locales y en la población migratoria Chincua.

La mayor frecuencia (0.7 y 0.85) es mostrada por el alelo ME1-B, las poblaciones Cerro Pelón y el Rosario son las que muestran al alelo ME1-A. Esta última población migratoria sólo presenta el alelo ME2-A ($p < 0.05$), y casi la totalidad de la frecuencia pertenece al alelo ME2-B tanto para poblaciones locales como migratorias.

La enzima PGM fue una de las que presentó el mayor número de alelos por locus (Fig. 4.1), aunque el alelo PGM-F sólo se encuentra en la población de Chincua y el PGM-E en la población de Chincua y Rosario, de tal manera que estos dos alelos están ausentes en la población local de mariposas.

Para la población de Guerrero se encuentra presente el alelo IDH1-D y para la población de Morelos el IDH2-D y ausentes en todas las demás poblaciones, por lo que la prueba exacta para diferenciación de las poblaciones establece diferencias significativas ya que es un alelo presente sólo en una población ($p < 0.01$). Las poblaciones migratorias y la local Michoacán tiene una frecuencia de entre el 70 y 80% para el alelo IDH2-B, mientras que para Guerrero y Morelos tienen ambos una frecuencia del 58% para este alelo.

A excepción del alelo GPI-F e IDH1-D, todas las poblaciones comparten similares frecuencias en cada uno de los alelos analizados ($p > 0.05$).

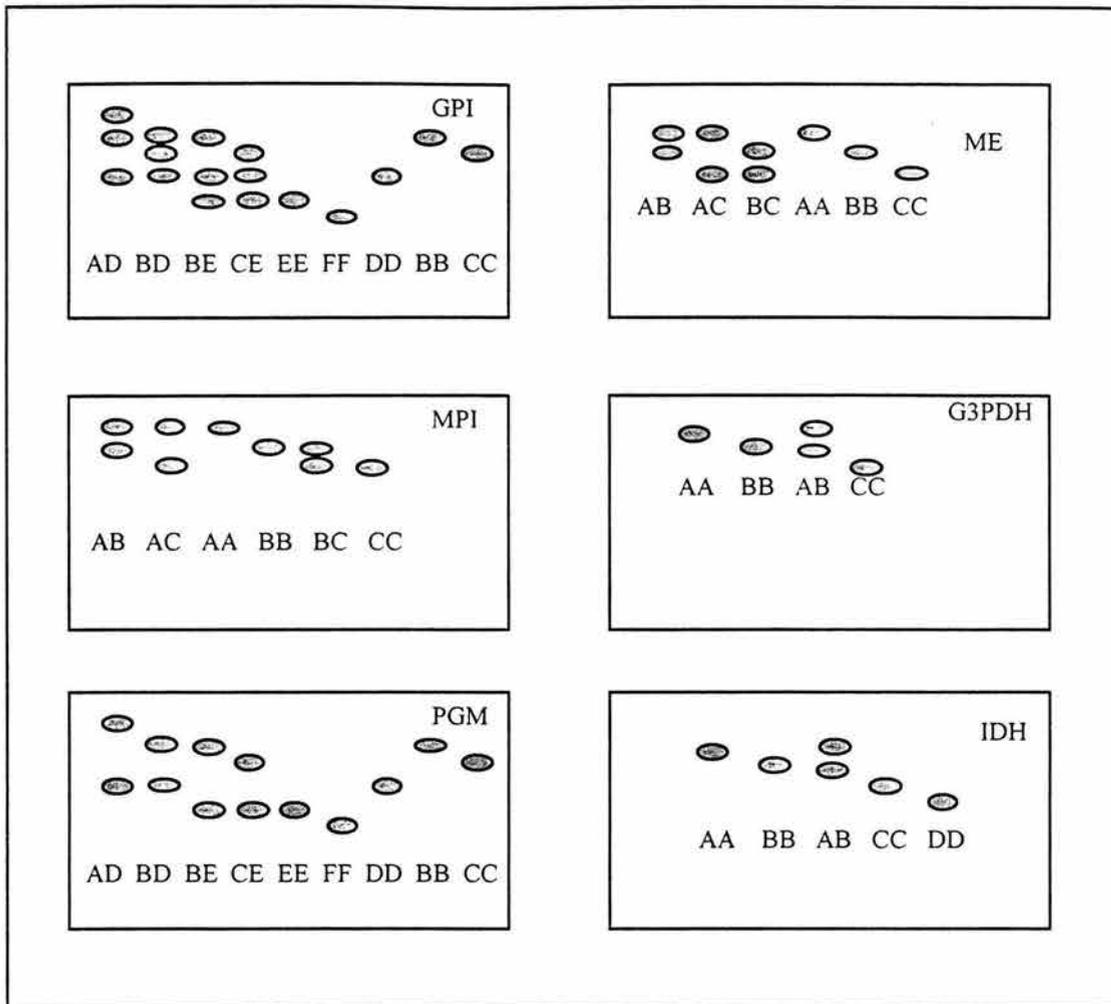


Figura 4.1 Zimograma de las enzimas estudiadas. La enzima GPI presentó 6 loci, se muestran los genotipos más representativos, MPI, G3PDH y ME con tres loci, ésta última con 2 isoenzimas, el fenograma es el mismo para las 2 isoenzimas. PGM con 6 loci e IDH con 4, esta enzima también con 2 isoenzimas y zimogramas similares.

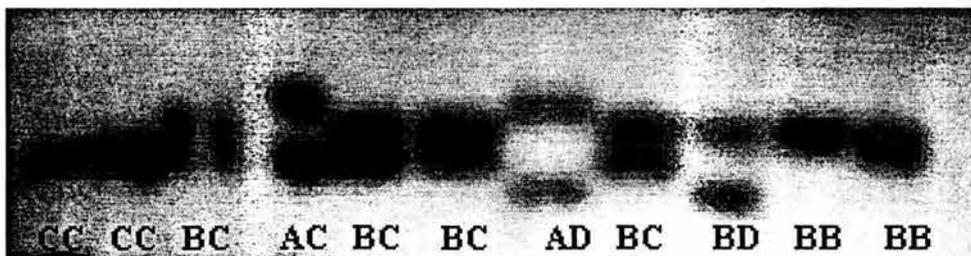


Figura 4.2. Fotografía digital de la enzima PGM. En este gel se puede observar el patrón de bandeo para la enzima PGM con 6 loci, aunque aquí no se observan los alelos E y F

Medidas de variabilidad genética

Se detectaron altos niveles de variabilidad genética en ambas poblaciones de mariposa monarca (polimorfismo, heterocigosis y número promedio de alelos por locus) (Tabla 4.1). La heterocigosis observada fue menor que la heterocigosis esperada para ambas poblaciones (Promedio $H_o = 0.2395$, $H_T = 0.333$). Se detectaron diferencias significativas entre los valores de H_o y H_T para las poblaciones bajo estudio ($\chi^2 = 26.57$, $g.l = 5$, $p < 0.001$).

Tabla 4.1. Medidas de variabilidad genética. Se muestran las medidas de variabilidad genética para las poblaciones migratorias y locales colectadas durante 1999: N= tamaño de la población, n= número promedio de individuos por locus, A= número promedio de alelos por locus, %P= porcentaje de loci polimórficos, H_T = Heterocigosis esperada bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg, H_o = Heterocigosis observada a partir del conteo directo. * Población migratoria, ** población local de mariposas monarcas en México.

Población	N	n	A	%P	H_T	H_o
Chincua *	49	44.25	3	87.5	0.3231	0.2225
Cerro Pelón *	55	51.62	3.12	100	0.3331	0.2291
Rosario *	35	31.75	3.25	100	0.3141	0.1912
PROMEDIO	46.3	42.54	3.12	95.83	0.3234	0.2142
Guerrero **	26	22	2.5	87.5	0.3739	0.3265
Michoacán **	32	28.87	2.75	87.5	0.3214	0.2408
Morelos **	19	13.62	2.25	87.5	0.3337	0.2273
PROMEDIO	25.6	21.49	2.5	87.5	0.343	0.2648

La heterocigosis observada en las poblaciones migratorias tomó valores de entre 0.19 y 0.22, siendo Rosario la población migratoria con la menor heterocigosis, mientras que entre las poblaciones locales la heterocigosis esperada menor correspondió a Morelos con 0.22. Las poblaciones locales tuvieron mayor heterocigosis que las migratorias (Tabla 4.2, $\chi^2 = 14.616$, $g.l = 6$, $p < 0.001$).

Tabla 4.2 heterocigosis en las poblaciones. Se muestran los valores observados y esperado de heterocigosis bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg para las poblaciones locales y migratorias.

Poblaciones	H_T (Hdy Wbg)	H_o (Conteo directo)
Locales	0.343	0.264866
Migratorias	0.3234	0.214266

4.2 Estructura Genética

Coeficiente de endogamia (F)

En la Tabla 4.3 se muestran los valores del índice de fijación F o coeficiente de endogamia para las poblaciones migratorias y las poblaciones locales mexicanas. Para las dos poblaciones los valores son positivos indicando una deficiencia de heterocigotos, aunque algunas enzimas tales como MDH y GPI indican un fuerte componente de heterocigotos, las enzimas G3PDH e IDH muestran lo contrario.

Tabla 4.3 Coeficiente de endogamia. Endogamia Para las poblaciones locales y migratorias de mariposa monarca, los valores positivos indican deficiencia de heterocigotos

Población	F
Migratorias	0.3376
Locales	0.2154

Estadísticos F de Wright

Se obtuvieron los valores de los estadísticos F , θ , y f como estimadores no sesgados de F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} para las poblaciones migratorias y locales de mariposas para cada uno de los loci analizados. Para las enzimas G3PDH, IDH1 e IDH2 se obtuvieron valores de F_{IS} por encima de 0.6 indicando un exceso considerable de homocigotos. Sin embargo, el promedio para este estadístico disminuye hasta 0.29 debido a frecuencia alta de heterocigotos para otras enzimas tales como PGM, GPI y MDH. Es por ellos que F_{IT} , que estima el grado de endogamia total en una población, muestra un cierto nivel de ésta para las poblaciones de mariposa monarca (F_{IT} promedio= 0.29), por lo que es probable que las mariposas se estén apareando entre parientes. F_{ST} es un estimador que indica el grado de diferenciación entre

las poblaciones, en este estudio se encontró que las poblaciones no están diferenciadas genéticamente ya que tan solo el 0.2% de la variación se debe al componente entre poblaciones (tabla 4.4).

Tabla 4.4. Estadísticos F de Wright para ambas poblaciones de monarcas. Las estimaciones de los estadísticos F de Wright para las poblaciones migratorias y locales de mariposas monarca se expresan como F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} , aunque fueron calculados de manera no sesgada como los estadísticos F , θ y f de Cockerham (1984) respectivamente en el programa TFPGA. $p < 0.01^*$, $p < 0.0001^{**}$, sin * No significativo. Los intervalos de confianza (al 95%) fueron calculados usando el método de remuestreo "Bootstrapping" sobre todos los loci.

Locus	$F = F_{IT}$	$\theta = F_{ST}$	$f = F_{IS}$
GPI	0.1423	0.0131	0.1308
MPI	0.2165**	- 0.076*	0.2224**
G3PDH	0.7478**	0.0064**	0.7462**
ME	- 0.1657*	0.0013	- 0.1672*
ME 2	0.0287	0.0008	0.028
PGM	0.2429**	- 0.0085*	0.2493**
IDH 1	0.6544**	0.0089**	0.6512**
IDH 2	0.7653**	0.0133**	0.7622**
promedio	0.2963	0.002	0.2947
Error estándar	0.1147	0.0046	0.1136
Intervalo	0.08590-.5256	0.0044-0.0106	0.0854-0.5223

Los estadísticos F de Wright también fueron obtenidos para cada una de las poblaciones, la tabla (4.5) muestra los estadísticos para la población migratoria. El valor de F_{IT} promedio indica un cierto grado de endogamia entre las subpoblaciones migratorias y el F_{IS} indica un exceso de homocigotos especialmente para la enzima IDH, mientras que el valor negativo obtenido para F_{ST} nos indica que no hay diferenciación genética entre las mariposas provenientes de diferentes colonias de hibernación en México (Tabla 4.5)

Tabla 4.5 Estadísticos F para las poblaciones migratorias. Las estimaciones de los estadísticos F de Wright para las poblaciones migratorias de mariposas monarca se expresan como F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} , aunque fueron calculados de manera no sesgada como los estadísticos F , θ y f de Cockerham (1984) respectivamente en el programa TFGA. $p < 0.01^*$, $p < 0.0001^{**}$, sin * No significativo. Los intervalos de confianza (al 95%) fueron calculados usando el método de remuestreo "Bootstrapping" sobre todos los loci.

Locus	$F = F_{IT}$	$\theta = F_{ST}$	$f = F_{IS}$
GPI	0.129*	0.044	0.1251*
MPI	0.2416**	- 0.0158	0.2534**
G3PDH	0.7468**	0.00769	0.7448**
ME	- 0.0931	-0.0066	- 0.086
ME 2	0.0327	-0.0001	- 0.337**
PGM	0.2527**	- 0.0085	0.2540**
IDH 1	0.8046**	0.0005	0.8045**
IDH 2	0.8338**	-0.0156	0.8354**
promedio	0.3246	-0.0045	0.3278
Error estándar	0.1168	0.003	0.1170
Intervalo	0.1271-0.5218	0.0104- 0.0004	0.1341-0.5893

Entre las poblaciones locales F_{IS} indica un exceso de homocigotos (Tabla 4.6) aunque para IDH1 disminuye la homocigosidad en comparación con la detectada para las migratorias. Las poblaciones locales también muestran un valor importante de endogamia según el estimado por F_{IT} , aunque en menor medida que lo registrado para las poblaciones migratorias. Los valores de F_{ST} muestran que las poblaciones locales no están diferenciadas a pesar de que las poblaciones se encuentran separadas hasta por 280 km (ver tabla de distancia genética/geográfica).

Tabla 4.6 Estadísticos F para las poblaciones locales. Las estimaciones de los estadísticos F de Wright para las poblaciones locales de mariposas monarca se expresan como F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} , aunque fueron calculados de manera no sesgada como los estadísticos F , θ y f de Cockerham (1984) respectivamente en el programa TFPGA. $p < 0.01^*$, $p < 0.0001^{**}$, sin * No significativo. Los intervalos de confianza (al 95%) fueron calculados usando el método de remuestreo "Bootstrapping" sobre todos los loci.

Locus	$F = F_{IT}$	$\theta = F_{ST}$	$f = F_{IS}$
GPI	0.1410	0.0005	0.1405**
MPI	0.1725*	0.0206	0.1550*
G3PDH	-----	-----	-----
ME	-0.2952**	0.0054	-0.3023
ME 2	0.338**	-0.0228	- 0.0107
PGM	0.2284**	- 0.0143	0.2393**
IDH 1	0.3962**	0.0458*	0.3672**
IDH 2	0.6487**	-0.0126	0.6531**
promedio	0.2353	0.0021	0.2339
Error estándar	0.1183	0.0087	0.1203
Intervalo	0.0027-0.4434	0.0103-0.0197	0.005-0.448

La tabla 4.7 muestra los estimadores de los estadísticos F para ambas poblaciones poco diferenciación, inclusive valor negativo de F_{ST} para las poblaciones migratorias.

Tabla 4.7. Estadísticos F promedio para ambas poblaciones sobre todos los loci. Las estimaciones de los estadísticos F de Wright para las poblaciones locales y migratorias de mariposas monarca se expresan como F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} , aunque fueron calculados de manera no sesgada como los estadísticos F , θ y f de Cockerham (1984) respectivamente en el programa TFPGA. $p < 0.01^*$, $p < 0.0001^{**}$, sin * No significativo. Los intervalos de confianza (al 95%) fueron calculados usando el método de remuestreo "Bootstrapping" sobre todos los loci.

Población	$F = F_{IT}$	$\theta = F_{ST}$	$f = F_{IS}$
Locales	0.2305	0.0029	0.2283
Migratorias	0.329	-0.0046	0.3320

4.3 Identidades y distancias Genéticas (Nei 1978)

Las identidades genéticas obtenidas por el método de Nei (1978) muestran que las poblaciones migratorias y locales son muy parecidas (Tabla 4.8), las poblaciones migratorias tienen una similitud genética hasta del 99 % , a ésta identidad se le une la población local de Michoacán, la identidad disminuye ligeramente entre las poblaciones locales. Guerrero y Morelos se parecen en un 97 % a la población migratoria de Rosario que es la identidad más “baja” entre grupos de poblaciones.

Tabla 4.8. Identidades genéticas. Se muestra la identidad entre los grupos de poblaciones de monarcas migratorias (*) y locales (**), así como la distancia geográfica (km) (en la parte superior) entre cada par de poblaciones.

Población	Chincua	Pelón	Rosario	Guerrero	Michoacán	Morelos
Chincua	****	33.75	10.3	280	35	170
Pelón	0.9945	****	22.5	271.5	28.25	160.5
Rosario	0.9951	0.9943	****	276.3	26.75	162.3
Guerrero	0.9829	0.9856	0.9761	****	250.6	172.2
Michoacán	0.9883	0.9916	0.9849	0.9812	****	205.5
Morelos	0.9828	0.9829	0.9773	0.9834	0.9842	****

El fenograma de las distancias genéticas (UPGMA Fig. 4.3) indica que las poblaciones no se encuentran diferenciadas genéticamente, sin embargo, permitió formar dos grupos, el primero comprendido por las poblaciones migratorias y la población local de Michoacán, población cercana a los sitios de hibernación, y el segundo por las poblaciones locales de Guerrero y Morelos. La población migratoria de cerro Pelón tiende separarse de las otras dos poblaciones migratorias (población migratoria más alejada de lo que comprendió el área de hibernación para este estudio) sin embargo la similitud que hay entre ellas es muy alta ($I \geq 0.99$, Tabla 4.8), al igual que Michoacán en comparación con las otras dos poblaciones locales ($I \geq 0.98$, tabla 4.8).

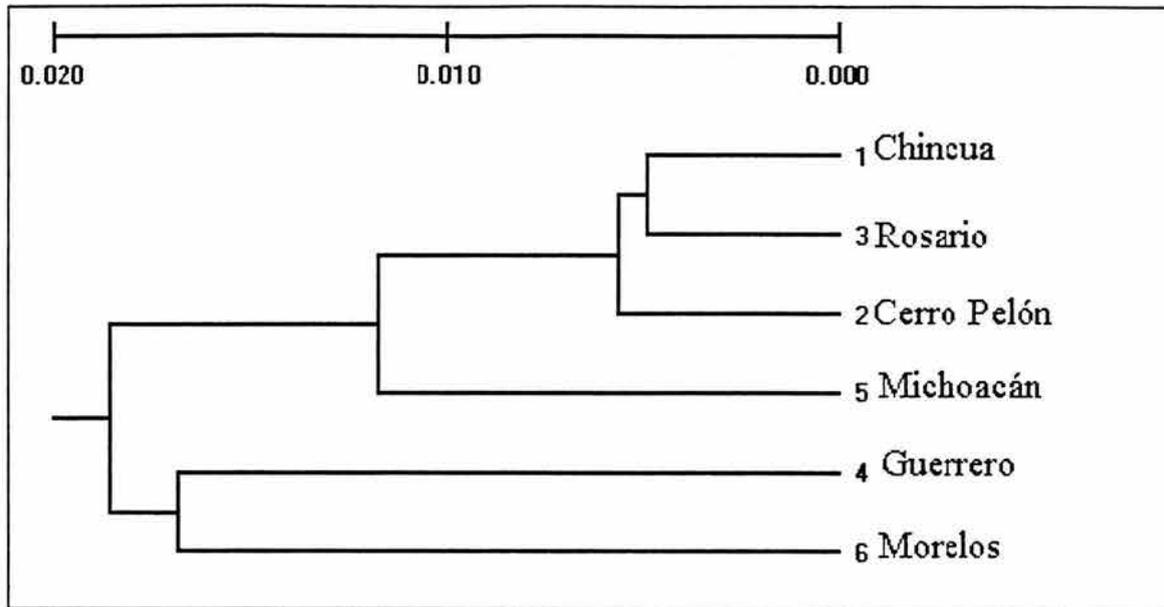


Figura 4.3 fenograma de distancia genética de las poblaciones de *Danaus plexippus*. Se formaron dos grupos, el comprendido por las poblaciones migratorias (Chincua, Rosario y Cerro Pelón) y la población local Michoacán y el segundo formado por las poblaciones residentes de Guerrero y Morelos.

4.4. Relaciones filogenéticas entre las poblaciones

El árbol filogenético construido con la presencia de alelos exclusivos muestra dos ramas principales, una de las cuales se separa la población migratoria de Sierra Chincua del resto de las poblaciones migratorias y locales. La rama secundaria separa a las dos poblaciones migratorias y nuevamente a la población local michoacana de las poblaciones locales de Guerrero y Morelos (Fig. 4.4).

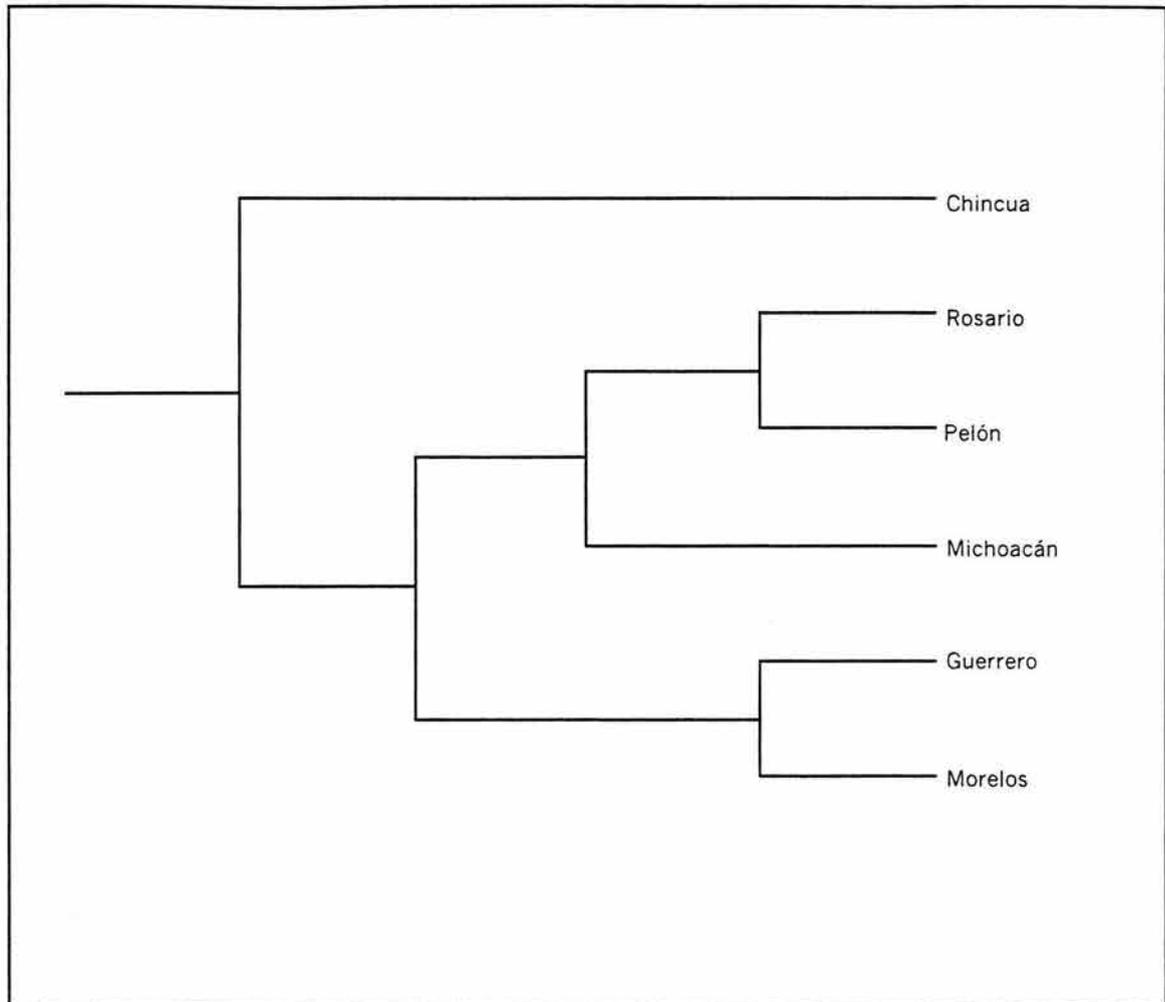


Figura 4.4 **Árbol filogenético de las poblaciones de monarcas.** Se muestra el árbol más parsimonioso obtenido mediante el programa PAUP para las 6 poblaciones de monarcas con alelos exclusivos de 8 enzimas, el análisis detectó la *longitud del árbol* = 18, *IC*= 0.778, *CR*= 0.432, *IH*= 0.22, mostrando la homología de los alelos.

4.5 Flujo genético

El estimado de Nm (corregido por Crow y Aoki 1984) fue de $Nm= 9.68$ y por lo tanto sugiere un alto flujo genético entre las poblaciones migratorias y locales que está restringiendo los efectos de la deriva genética (Slatkin 1994) y que es posible que ambas poblaciones se comporte como una población panmíctica.

Debido a que las poblaciones presentaron alelos privados (*migratorias*: G3PDH alelo C, ME2 alelo A y PGM alelo F; *locales* GPI alelo F, IDH1 alelo D, IDH2 alelo D donde $p(1)= 0.0616$) se pudo estimar Nm mediante el método de alelos privados (Slatkin 1985), el cual

correspondió a $Nm = 1.98$ indicando nuevamente la existencia de alto flujo genético entre las poblaciones.

También se estimó Nm para pares de poblaciones (\hat{M}) para determinar si había aislamiento por distancia, suponiendo flujo genético de una población con las poblaciones cercanas. La estimación de \hat{M} se obtuvo al obtener F_{ST} para pares de poblaciones usando θ como un estimador no sesgado (Weir y Cockerham 1984). Las poblaciones de monarcas no siguen un patrón de aislamiento por distancia (Fig. 4.5) y el flujo genético es la fuerza evolutiva que evita que las poblaciones se diferencien.

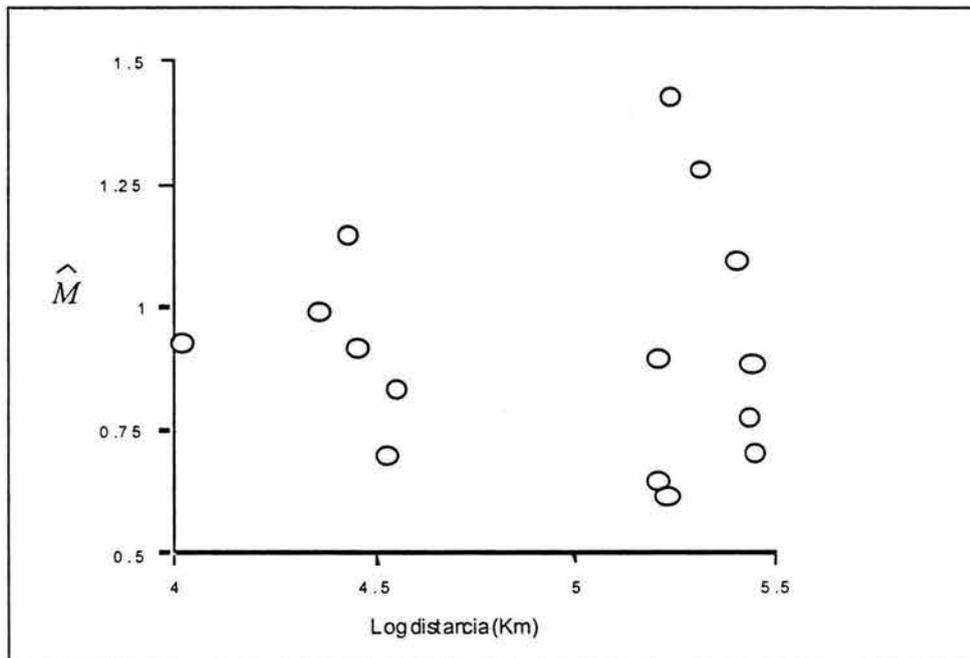


Figura 4.5. Flujo genético y distancia geográfica. Se muestran las estimaciones de M usando θ (Weir y Cockerham 1984) como el estimador de F_{ST} , no hay relación de la distancia y el número de individuos migrantes por generación por lo que no se detecta un patrón de aislamiento por distancia ($b = 0.188$).

V. Discusión

5.1 La Población Norteamericana de *Danaus plexippus*

Las técnicas de marcaje y recaptura diseñada por la Universidad de Kansas (<http://www.monarchwatch.com.edu>) han permitido conocer la procedencia de muy pocas mariposas migrantes y son obsoletas para considerarlas en estudios sobre el estado panmictico o metapoblacional. Wassenaar y Hobson (1998) consideran que una manera para conocer si la población hibernante esta compuesta de monarcas provenientes de diferentes regiones es a través de isótopos estables. Las evidencias de isótopos indican que las colonias están mezcladas y demuestran la existencia de un modelo panmictico.

Las técnicas moleculares son más útiles para entender la composición de las poblaciones ya que con ellas se conocen los efectos de la dispersión o migración y el flujo genético entre los demes.

Las monarcas se encuentran distribuidas en diversas subpoblaciones en Norteamérica, estas podrían intercambiar genes una con otra a través de la dispersión local (Panell y Charlesworth 2000). Por el momento, no está muy claro si algunas actúan como exportadoras netas de migrantes y otras que permanecen en el cuello de botella cuya permanencia depende de la migración de individuos de la fuente (Gaggiotti y Smouse 1996).

De acuerdo a los escenarios propuestos por Esler (2000, ver Introducción) para aves migratorias, la población norteamericana de monarcas se asemeja más a aquel donde las áreas de reproducción son geográficamente independientes y durante la hibernación la población se comporta como panmictica.

La población hibernante fue considerada como panmictica con base en los valores de F_{ST} (tabla 4.4) e identidad genética (tabla 4.8). El estimador establece que las colonias de hibernación no se diferencian genéticamente, y la identidad genética es superior al 99%.

La estructura poblacional de las monarcas es un elemento básico para proponer que las poblaciones de monarcas en las áreas de reproducción actúan como unidades independientes, a diferencia de lo propuesto por los isótopos (Wassenaar y Hobson 1998) donde se generaliza que las poblaciones reproductivas o migrantes son panmícticas. Los valores de F_{IS} indican un exceso de homocigotos y F_{IT} un cierto grado de endogamia (tabla 4.8). Esto podría indicar que en Norteamérica las poblaciones se concentran en unidades pequeñas lo cual ocasiona un incremento de la endogamia relativo a poblaciones grandes.

La variabilidad detectada en la población migratoria es otro indicador de la independencia poblacional en las áreas de reproducción. El porcentaje de loci polimórficos fue del 100% para dos de las poblaciones hibernantes. La presencia de alelos exclusivos como el G3PDH-B (colonia de hibernación Chincua) y el G3PDH-C (Cerro Pelón) son ejemplos de esta variabilidad a pesar de estos se presentaron en su forma homocigota.

De esta forma podemos decir que la población norteamericana durante el verano se comporta como una metapoblación donde la dispersión es limitada y durante la hibernación parece más la correspondiente a una población panmíctica debido a que la estructura genética se homogeniza al concentrarse millones de individuos en un área de menos de 5 hectáreas por sitio de hibernación.

Las reuniones de las subpoblaciones en las áreas de hibernación también afectan la estructura genética de la población en el verano. Las mariposas se reproducen a finales de marzo en estos lugares, y las tasas de dispersión entre colonias se vuelven notablemente altas. Mientras que en el verano, en las áreas de reproducción las subpoblaciones tienen un flujo genético limitado.

La población emigrante dará origen a la primera generación con una carga genética procedente de la diferenciación de las poblaciones parentales del verano. Esto podría tener efectos importantes sobre la adecuación de la primera generación y las futuras generaciones que repoblarán las tierras Norteñas. Entre ellos incrementar la adecuación o reducir los niveles de diversidad de la especie (Pannell y Charlesworth 2000).

La propuesta generada en este estudio coincide con los argumentos presentados por Eanes y Kohen (1978). La estructura genética de las monarcas cambia dependiendo del comportamiento: sedentario o migratorio. Las subpoblaciones del verano se encuentran genéticamente diferenciadas, dicha diferenciación se mezclaba en la migración del otoño, removiendo la diferenciación local.

El aislamiento tiene consecuencias genéticas y demográficas que pueden ser de interés para la biología de la conservación (Ellstrand 1992, Ellstrand y Elam 1993). Por lo que resultaría interesante determinar los efectos de la endogamia sobre la adecuación así como la importancia de la conservación de la población norteamericana (Milligan *et al.* 1994). El tamaño efectivo de la población indicaría la tasa a la cual la deriva genética opera como para alterar la composición genética de éstas poblaciones (Wright 1931).

Hay muchos procesos que pueden afectar los patrones de variación genética neutral en una población, si esta estructurada o no. Ellos incluyen a la mutación, la deriva genética dentro de los demes y la migración entre los demes (Wright 1951, Milligan *et al.* 1994).

De tal forma que la adaptación futura depende de la variabilidad genética. Si en estas unidades surgen nuevos variantes puede ser que no tengan consecuencias adaptativas locales inmediatas debido a que la población al migrar a México homogeniza su variabilidad al reunirse en las áreas de hibernación.

5.2. Poblaciones locales en México y su relación con las monarcas migratorias

Alonso-Mejía *et al.* (1997) propusimos que el grado de conservación de los bosques afecta la sobrevivencia de las monarcas en las áreas de hibernación. Debido a que estos bosques tienen una estructura heterogénea, las mariposas que hibernan en condiciones adversas están expuestas en mayor grado a depredadores o a la pérdida de sus reservas energéticas (Alonso-Mejía *et al.* 1998).

Las consecuencias de la fragmentación de los hábitats sobre la diversidad genética de las poblaciones es sin duda uno de los tópicos más importantes en la Biología de la

Conservación (Foré *et al.* 1992, Avise 1994, Van Dongen *et al.* 1994). En este estudio el interés se centró en las consecuencias de la fragmentación de los hábitats de hibernación. Donde, tal vez no se manifiesten los efectos potenciales de la deriva genética pero sí cambios en el flujo genético (Gibbs 1998).

La génesis de la segregación de hábitat a una escala regional es durante la primavera cuando las mariposas que hibernaron en México vuelven al norte. Los individuos con baja “calidad” (e.g. bajo contenido de lípidos) migran a hábitats más próximos que las tierras sureñas de EUA, para depositar sus huevecillos.

El estimador F_{ST} indica el grado de diferenciación entre las poblaciones, estadísticamente las desviaciones significativas de cero de F_{ST} indican la divergencia genética de los demes a través de la deriva, o a través de la selección cuando diferentes alelos son favorecidos en diferentes demes o ligados a otros loci que están bajo selección local (Hartl y Clark 1989).

La evidencia genética muestra que las poblaciones locales mexicanas de monarcas están formadas por descendiente de las poblaciones migratorias. Los valores de F_{ST} obtenidos para los diferentes loci indican que las poblaciones migratorias y locales no se encuentran diferenciadas, y solo el 2% se debe a variación propia de las poblaciones, a excepción de GPI y ME que no difieren significativamente de cero.

Sin embargo, Ward *et al.* (1983) en su estudio con la mariposa *Colias* sp. argumentó que GPI no es un marcador neutral por que hay una selección sobredominante para este loci derivada de apareamientos exitosos de los heterocigotos que son capaces de mantener el vuelo en un amplio rango de temperaturas a diferencia de los homocigotos, esto podría reducir la deficiencia de heterocigotos en GPI relativo a otros marcadores neutrales en una población parcialmente subdividida.

Hay una tendencia para bajos niveles de θ (por lo tanto gran número de migrantes) entre pares de muestras locales y migratorias (Fig. 4.5), consistente con baja diferenciación

genética. El número estimado de migrantes entre migratorias y locales es alto ($Nm > 9$), por lo que no se ajusta al modelo de aislamiento por distancia (Slatkin 1987)

Storfer (1999) propone que la fragmentación del hábitat restringe el flujo genético sin embargo, para el caso de las monarcas la fragmentación de los sitios de hibernación parecen aumentar el flujo genético incrementando la homogeneidad genética entre las subpoblaciones locales.

En un estudio sobre la estructura genética de la salamandra *Plethodon cinereus* (Gibbs 1998) en poblaciones continuas y fragmentadas se encontró que no se alteraron los niveles de diversidad dentro de las poblaciones, pero sí se elevaron los niveles de divergencia genética entre las subpoblaciones de bosque fragmentado, la explicación que él expone para ello es que hay colonización de salamandras en fragmentos regenerados y esta colonización proviene de diferentes fuentes de subpoblaciones magnificando las diferencias existentes entre las subpoblaciones.

En las poblaciones locales, el flujo genético no aumenta la diversidad genética entre las poblaciones locales ya que ésta proviene de una sola fuente (población hibernante) que homogeniza su estructura genética al finalizar el periodo de hibernación.

El fenograma obtenido con base en las distancia genéticas establece un alto grado de similitud entre las poblaciones locales y migratorias de mariposas monarcas (Fig. 4.3). No hay diferenciación entre poblaciones geográficamente cercanas (de entre 10 a 35 km) ni entre las poblaciones del sitio de hibernación a las locales (entre 160 a 280 km).

Los valores iguales a cero en el fenograma indican que las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones son idénticas. Sin embargo, el análisis pudo detectar ciertas diferencias alélicas capaces de agrupar a las poblaciones locales como un conjunto y a las migratorias como otro. Sin embargo los valores oscilan entre 0.02 y 0.001 es decir que la frecuencias alélicas son parecidas.

La población local de Michoacán esta conectada por una rama (Fig. 4.3) a las poblaciones migratorias y separada de las locales Guerrero y Morelos. Esta localidad es la más cercana a los sitios de hibernación (35 km aprox.) y donde potencialmente se encuentran las plantas hospederas (especialmente *A. curassavica* y *A. glauscenses*) para las larvas de las monarcas. Si hay mariposas que ponen en disyuntiva la sobrevivencia y la reproducción, entonces este sería uno de los sitios más cercanos donde podrían ovipositar. Así como también para explicar por que ésta población se encuentra agrupada junto con las migratorias, tanto por las distancias genéticas (Fig. 4.3) como por el método de alelos exclusivos (Fig. 4.4).

5.3 Espectro fuente-sink (sumidero)

La fragmentación de los sitios de hibernación podrían llevar a establecer la población norteamericana como una población fuente a partir de la cual emigran individuos para formar poblaciones sink (Pulliam 1988). Básicamente por el influjo continuo de genes a las poblaciones locales.

De acuerdo a la dinámica demográfica, las muertes de los individuos que forman a las poblaciones locales, exceden al número de nacimientos. Bajo este supuesto las poblaciones podrían ser consideradas como un sink, sin embargo, la mortalidad fue estimada hasta en un 90% para la población de Morelos. En esta situación las poblaciones no se comportan como sink de acuerdo a la teoría de Pulliam (1988). Permanecen en un cuello de botella mientras no haya colonias de hibernación de las cuales provengan los migrantes. Al ingresar nuevos individuos de la población hibernante, la población podría asemejarse a una sink, la migración previene la extinción local (Kawecki 1995).

Las poblaciones locales no se establecen por la heterogeneidad en los sitios de reproducción en Norteamérica sino por la heterogeneidad en las áreas de hibernación. No contribuyen a aumentar el tamaño de la población norteamericana. Tampoco previenen la extinción de la población fuente tal y como se propone en los modelos del espectro fuente-sink (Goodman 1987), finalmente es posible que no se mantenga sobre la capacidad de carga local (Holt 1985).

De acuerdo a la hipótesis fuente-sink otras predicciones que pueden ser probadas es la referente a la diversidad alélica, ésta puede ser más alta en la población sink que en la fuente debido a la emigración de individuos provenientes de fuentes distintas y diferenciadas (Gaggiotti y Smouse 1996).

En este estudio se encontraron alelos exclusivos para las poblaciones locales (GPI-F en Michoacán, IDH2-D en Morelos), sin embargo la hipótesis de diversidad alélica supone que las dos poblaciones tengan el mismo tamaño (Gaggiotti y Smouse 1996).

Considerando a la población migratoria como la fuente ésta sería más grande, sin embargo, desconocemos la demografía durante el verano en las áreas de reproducción. En México se encontraron pocas poblaciones (relativo a la abundancia de poblaciones de *Asclepias curassavica* distribuidas en México, ver capítulo II Obs. Pers.).

Los estimados de F_{IS} para las enzimas IDH y G3PDH (tabla) indican un cierto grado de endogamia que sugieren que que las poblaciones en México son pequeñas. Aunque se ha considerado que en una población sink, hay de manera general, una deficiencia de heterocigotos ya que una población de este tipo está sujeta a cambios temporales en su tamaño (Chakraborty y Nei 1977, Motro y Thomson 1982, Maruyama y Fuerst 1985, Gaggiotti y Smouse. 1996).

Los hábitats sink también han sido considerados como de menor calidad respecto a la fuente (Pulliam 1988), esta situación puede llevar a diferencias en la adecuación y el éxito reproductivo de los organismos (Kawecki 1995). En los hábitats locales las plantas hospederas se distribuyen principalmente en zonas tropicales húmedas, casi siempre tienen hojas, a diferencia de las plantas en Norteamérica , las cuáles pierden sus partes aéreas en el invierno. Por lo que la disponibilidad de plantas es prácticamente durante todo el año. Esto podría parecer un hábitat de mejor calidad, pero no es un nicho fundamental ya que las poblaciones locales persisten únicamente con la migración de individuos hibernantes. Para ser consideradas un hábitat subóptimo dentro el nicho, o un sink, las poblaciones deben ser

mantenidas sobre la capacidad de carga local (Holt 1985). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la mortalidad declina a las poblaciones casi al límite de la extinción.

Si la población sink persiste por mucho tiempo, gran parte de la variabilidad genética puede ser mantenida dentro de ella, y puede ocurrir alguna diferenciación genética entre la fuente y la sink, sólo si la migración es rara (Gaggiotti y Smouse 1996). Si una sink permanece por un corto periodo de tiempo, su constitución genética puede ser parecida a la de la población fuente de la cual derivó, debido a que hay poco tiempo para la acumulación de nuevas variantes a pesar de la tasa de migración.

Por lo que de ser consideradas las poblaciones locales como sink de la población migratoria, estas se han establecido recientemente, de acuerdo a que no hay diferencias genéticas entre ellas, y su contribución a la población migrante es prácticamente nula (aumento del tamaño poblacional de la especie, prevención de la extinción etc. Pulliam 1988, Lande 1993).

Las interacciones de las condiciones medioambientales con las adaptaciones de los organismos establecen también a una población sink (Kawecki 1995), sin embargo hay ciertos aspectos que indican que las poblaciones locales parecen no estar adaptadas como se describirá más adelante.

5.4 Prevención de la adaptación local

¿ Bajo que condiciones una población puede desarrollar nuevas adaptaciones a un nuevo hábitat?. La respuesta a esta pregunta dependen de la genética y la fisiología (cuánta de la variación genética esta presente, que fenotipo se puede expresar en diferentes hábitats, y cuáles son los costos de la nueva adaptación) así como de la ecología y la demografía, la cual determina la sensibilidad de toda la adecuación al desempeño en hábitats particulares y por lo tanto la dirección y fuerza de la presión de selección (Kawecki 1995).

La estructura genética de las poblaciones locales de monarcas en México es una herramienta para saber si las poblaciones se han adaptado a condiciones diferentes de las que se presentan en Norteamérica.

El estimado de Nm (Crow y Aoki 1984) de 9.68 monarcas por generación que migran de los sitios de hibernación a las poblaciones locales, muestra un flujo genético alto. Éste sugiere que las poblaciones locales no han tenido la oportunidad de evolucionar como unidades independientes ya que cada temporada de hibernación ingresa una proporción importante de individuos. Tampoco hay diferenciación entre las poblaciones locales (tabla 4.6), por lo que de haber intercambio intrapoblacional, no se expresa ningún tipo de divergencia genética entre las poblaciones.

Al establecerse un alto flujo genético se mezclan genes que posiblemente están adaptados a condiciones locales diferentes (Templeton 1986). Los migrantes están adaptados a la condiciones de las grandes praderas de Norteamérica y no a la de zonas cálido-húmedas que prevalecen en los sitios donde se encuentran las asclepias.

El flujo genético está restringiendo la adaptación local (Stearns y Sage 1980, Slatkin 1987, Storfer y Sih 1998, Storfer 1999). Por que aparece como una fuerza homogenizadora más que aquella que eleve la variabilidad genética.

Esto consecuentemente decrece la adecuación de las poblaciones locales. En las tres poblaciones locales se observó una alta mortalidad, baja sobrevivencia de los juveniles y pocos individuos por planta hospedera (densidad). Las presiones de selección en las localidades mexicanas se concentran en: a) disponibilidad de recursos para las larvas, b) calidad y variedad de las plantas hospederas y c) depredación (parasitoidismo).

Con base en los argumentos anteriores se sugiere que no hay un balance entre las presiones de selección local y el alto flujo genético por lo que se erosiona la respuesta evolutiva que podrían tener dichas poblaciones en México (Edmunds y Alstad 1978, Slatkin 1985).

5.5. Consideraciones Finales

Las fluctuaciones anuales del tamaño de la población en los habitats locales pueden ser enmascaradas por la migración (durante la temporada de hibernación), así como por la calidad del hábitat, (disponibilidad de alimento, depredadores etc). Sin embargo, es necesario hacer estudios demográficos precisos para detectar si las poblaciones muestran un reclutamiento significativo y un efectivo tamaño poblacional para que puedan ser consideradas en algún punto del continuo fuente-sink. Por el momento es preciso suponer que las poblaciones locales no están contribuyendo demográficamente a las poblaciones norteamericanas.

Los patrones de establecimiento darán un acercamiento a la calidad de los habitats y a saber si estos tienen una contribución importante para las poblaciones norteamericanas, sin embargo, el bajo tamaño poblacional, la distribución restringida al eje neovolcánico. Y la alta mortalidad, indican que las poblaciones locales en México se forman por el establecimiento de individuos migratorios afectados por las perturbaciones de sus sitios de hibernación.

Los análisis demográficos pueden ayudar a determinar la variabilidad en el tamaño de la población y por ende distinguir poblaciones viables de no viables (Howe *et al.* 1991). Es por ello que se sugiere que las poblaciones locales sean analizadas demográficamente para tratar de entender si son importantes para la conservación del fenómeno migratorio, y si hay altas tasas de dispersión hacia la población fuente como para contribuir al tamaño de la población fuente así como de su acervo genético.

Cualquier pequeña perturbación en el balance entre mortalidad y reclutamiento incrementa de gran manera el riesgo de extinción de las poblaciones norteamericanas de monarcas, las poblaciones locales no son los habitats que puedan soportar poblaciones viables. Ciertamente la destrucción sistemática del hábitat es el principal factor que dirige la declinación de muchas especies en peligro, al restringir el tamaño de la población por una reducción en la capacidad de carga, y un incremento en la fragmentación. Si algunas poblaciones llegan a ser demasiado pequeñas, los efectos de la estocasticidad demográfica,

genética u ambiental se incrementan severamente (Gilpin y Soulé 1986). Un cambio drástico en la población podría desestabilizar toda la estructura metapoblacional de las monarcas en Norteamérica principalmente si se reduce el suplemento de individuos remigrantes.

Literatura Citada

- Alonso-Mejía, A. E. Rendón-Salinas, E. Montesinos-Patiño y L.P. Brower. 1997. Use of lipid reserves by monarch butterflies overwintering in Mexico: Implications for conservation. **Ecological Applications** 7: 934-947.
- Alonso-Mejía A., E. Montesinos-Patiño, E. Rendón-Salinas, L.P. Brower y K. Oyama. 1998. Influence of forest canopy closure on rates of bird predation on overwintering Monarch butterflies *Danaus plexippus* L. **Biological Conservation** 85: 151-159.
- Alstad D.N. 1998. Population Structure and the conundrum of Local Adaptation. En: Mopper S. Y S Strauss. Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Population. Chapman and Hall. New York, EUA.
- Amos B. Y A.R. Hoelzel .1992. Applications of molecular genetic techniques to conservation os small populations. **Biological Conservation** 61:133-144.
- Avise J. 1994. Molecular Markers, Natural History and evolution. Chapman and Hall, new York
- Brower L.P. y S. B. Malcolm. 1992. Animal migrations: endangered phenomena. **American Zoologist** 31: 265-276.
- Cobb N.S. y T.G. Whitham. 1998. Prevention of Deme formation by the Pinyon needle scale: Problems of Specializing in a Dynamic System. En: Mopper S. Y S Strauss. Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Population. Chapman and Hall. New York, EUA.
- Crown J.F. 1986. Basic concepts in population. Quantitative and Evolutionary genetics. W.H Freeman & Co. New York. pág. 110-147.
- Crown J.F. y Aoki K. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the Natural Academy of Science** 81:6073-6077.
- Chakraborty R. y M. Nei. 1977. Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. **Evolution** 31:347-356.
- Dongen S.V., T. Backeljau, E. Matthysen y A. A. Dhondt. 1998. Genetic population structure of the winter moth (*Operophtera brumata* L.) (Lepidoptera, Geometridae) in a fragmented landscape. **Heredity** 80: 92-100.
- Eanes W.F. 1978. Morphological Variance and enzyme heterozygosity in the monarch butterfly. **Nature** 276: 265-266.
- Eanes W.F. y R.F. Kohen. 1978. An analysis og genetic structure in the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L. **Evolution** 32: 784-797.
- Edmunds G.F. Jr. y D.N. Alstad. 1978. Coevolution in insect herbivores and conifers. **Science** 199: 941-945
- Ellstrand N.C. 1992. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. **Oikos** 63:77-86.
- Ellstrand N.C.y D.R. Elam. 1993. Population Genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics** 24: 217-242.
- Esler D. 2000. Applying Metapopulation Theory to Conservation of Migratory Birds. **Conservation Biology** 2: 366-372.

- Foré S.A., R.J. Hickey, J.L. Vankat, S.I. Guttman, R.L. Schaefer. 1992. Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Hacer saccharum*. **Canadian Journal of Botany** 70:1659-1668.
- Futuyma D.J. 1998. Evolutionary Biology. Sinauer Associates Publishers (Ed.). Sunderland, Mass, EUA.
- Frankel O.H. y M.E. Soulé. 1981. Conservation and Evolution. Cambridge University Press, UK.
- Gaggiotti O.E. y P. E. Smouse. 1996. Stochastic migration and maintenance of genetic variation in sink population. **The American Naturalist**. 6:919-945.
- Galbusera P., L. Lens, T. Schenck, E. Waiyaki y E. Matthysen. 2000. Genetic variability and gene flow in the globally, critically-endangered Taita thrush. **Conservation Genetics** 1: 45-55.
- Gibbs J.P. 1998. Genetic structure of redback salamander *Plethodon cinereus* populations in continuous and fragmented forests. **Biological Conservation** 86:77-81.
- Gilpin M.E. y M.E. Soulé. 1986. Minimum viable population: process of extinction. Conservation Biology: The Science of scarcity and Diversity. M.E. Soulé (ed). pp 19-34 Sinauer Associates, Sunderland Ma
- Goodman D. 1987. The Demography of chance extinction. En : Viable Populations for Conservation. M.E. Soulé (ed.) Cambridge University Press, New York, pp 11-34
- Hart D.L. 1988. A primer of population genetics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Mass USA. 304 pp
- Hartl D.L. y A.G. Clark. 1989. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Mass USA. 682 pp.
- Hedrick P.W. 1985. Genetics of Populations. Jones and Bartlett (Ed.). Boston, EUA.
- Herbert P.D.N. y M.J. Beaton. 1993. Methodologies for Allozyme Analysis Using Cellulose Acetate Electrophoresis. A practical Handbook. Helena Laboratories, Beaumont TX.
- Holt R.D. 1985. Population dynamics in two-patch environments: some anomalous consequences of an optimal habitat distribution. **Theoretical Population Biology** 28:181-208.
- Holt R.D. 1996. Adaptive evolution source-sink environments: direct and indirect effects of density-dependence on niche evolution. **Oikos** 75:182-192.
- Hoole J.C., D.A. Joyce, A.S. Pullin. 1999. Estimates of gene flow between populations of the swallowtail butterfly, *Papilio machaon* in Broadland, UK and implications for conservation. **Biological Conservation** 89: 293-299
- Howe R.W., G.J. Davis y V. Mosca. 1991. The Demographic significance of sink populations. **Biological Conservation** 57: 239-255.
- Hughes J.M. y M.P. Zalucki. 1984. Genetic variation in a continuously breeding population of *Danaus plexippus* L. (Lepidoptera: Nymphalidae). **Heredity**: 52: 1-7
- Janzen D.H. 1986. The eternal external threat. En : Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity. M.E. Soulé (ed.). Sinauer Assoc., Sunderland MA. Pp 286-303
- Kawecki T.J. 1995. Demography of source-sink populations and the evolution of ecological niches
- Kimura M. y Maruyama T. 1971. Patterns of neutral polymorphism in a geographically structured population. **Genetic Research** 18:125-131.

- King J.R. y L.R. Mewaldt. 1987. The summer Biology of an unstable insular population of white-crowned sparrows in Oregon. **Condor** 89:549-565.
- Lande R. 1993. Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. **American Naturalist** 142:911-927.
- Lande R. y G.F. Barrowclough. 1987. Effective population size, genetic variation and their use in management, En: Viable Populations for Conservation. M.E. Soulé (ed.) Cambridge University Press, New York, pp 87-123
- Li C.C., y D.G. Horvitz. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. **American Journal Human Genetics**.5:107-117
- Malcolm S.B. y Zalucki M.P. (Eds.). Biology and conservation of the monarch butterfly. Science Papers No. 38, Natural History Museum, Los Angeles County. pp. 83-90.
- Maruyama T. y P.A. Fuerts.1984. Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. **Genetics** 108:745-763.
- Miller M.P. 1997. Tools for Populations Genetics Analysis (TFPGA). A windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Software distributed by author.
- Milligan B.G., J. Leebens-Mack and E. Strand. 1994. Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. **Molecular Ecology** 3:423-435.
- Montgomery M.E., L.M. Woodworth, R.K. Nurthen, D. M. Gilligan, D.A. Briscoe y R. Frankham. 2000. Relationships between population size and loss of genetic diversity: comparison of experimental results with theoretical predictions. **Conservations Genetics** 1:33-43.
- Moritz C. 1994. Defining evolutionary significant units' for conservation. **Trends in Ecology and Evolution** 9: 373-375
- Motro U y G. Thomson.1982. On heterozygosity and effective size of populations subject to size changes. **Evolution** 29:1-10.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations.**America Naturalist** 106:283-292.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance form a small number of individuals. **Genetics** 89: 583-590.
- Panell J.R. y B. Charlesworth. 2000. Effects of metapopulation processes on mesasure of genetic diversity. **Phil. Trans. R. Soc. Lond** 355:1851-1864.
- Pulliam H.R. 1988. Sources, sinks and population regulation. **American Naturalist** 132:652-661.
- Richardson B.J., P.R. Baverstock, M. Adams. 1986. Allozyme Electrophoresis: A Handbook for Animal Systematics and Populations Studies. Academic Press, Sydney.
- Sader S.A. y T.A. Joyce.1988. Deforestation rates and trends in Costa Rica 1940 to 1983. **Botropica** 20:11-19
- Simberloff D. 1988. The contribution of population and community biology. **Annual Review of Ecology and Systematics** 19:473-511
- Slatkin M. 1985. Gene Flow in natural Populations . **Annual review of Ecology and Systematics** 16:393-430.
- Slatkin M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations .**Science** 236:787-792.

- Slatkin M. 1994. Gene flow and population structure. En: Real L. Edr. Ecological Genetics. Princenton University Press. Pág: 3-17.
- Stearns S.C. y R.D. Sage. 1980. Maladpation in a marginal population of the mosquito fish, *Gambusia Affinis*. **Evolution** 34: 65-75.
- Storfer A. 1999. Gene flow and endangered species translocations: a topic revisited. **Biological Conservation** 87:173-180.
- Storfer A. y A. Sih. 1998. Gene flow and ineffective antipredator behaviour in a stream-breeding salamander. **Evolution** 52:558-565.
- Swofford D.L. 2000. PhylogeneticAnalysis Using Parsimony (PAUP) vers. 4.0. Publicado por el autor. Champaign, Illinois, EUA.
- Takahata N. y Nei M. 1984. F_{ST} and G_{ST} statistics in the infinite island model. **Genetics** 107:501-504
- Temple S.A. J.R. Carey. 1988. Modeling dynamics of habitat-interior bird populations in fragmented landscapes. **Conservation Biology** 2:340-347
- Templeton A.R. 1986. Coadaptation and outbreeding depression. En: Soulé M.E (ed). Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity, Sinauer Associates, Massachusetts pp. 105-116
- Van Dongen S., T. Backeljau, E. Mattysen, A. Dhondt. 1994. Effects of forest fragmentation on the population structure of winter moth *Operophtera brumata* L. (Lepidoptera Geometridae). **Acta Oecologica** 15:193-206.
- Ward W. B., R. C. Cassin and M. S. Swan. 1983. Adaptation at specific loci III. Field behavior and survivorship differences among *Colias* PGI genotypes are predictable from in vitro biochemistry. **Genetics** 103:725-739
- Whitlock M.C. 1993. Lack of correlation between heterozygosity and fitness in forked fungus beetles. **Heredity**. 70:574-581.
- Wassenaar L.I. y Hobson K.A. 1998. Natal origins of migratory monarch butterflies at the wintering colonies in Mexico. New isotopic evidence. **Proceedings Natl. Academic Sciences**. 95: 15436-15439.
- Weir B. Y C.C. Cockerham. 1984. Estimating F statistics for the analyses pf population structure. **Evolution** 38: 1358-1370
- Wells H. y P.H. Wells. 1992. The monarch butterfly: A review. **Bulletin Southern California Academic Sciences**. 91: 1-25
- Woodson R.E. Jr. 1954. The North American species of *Asclepias* L. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 41:1-211
- Workam P.L. y J.D. Niswander. 1970. Population studies on Southwestern Indian Tribes. II. Local genetic diferentiation in the Papago. **America Journal Human Genetics** 22: 24-29
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics** 15: 323-354
- Wright S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations. University Chicago Press. Chicago, IL USA
- Zalucki M.P. , J.M. Hughes y P.A. Carter. 1987. genetic variation in *Danaus plexippus* L. : Habitat selection or differences in activity times?. **Heredity** 59: 213-221
- Zalucki M.P., J.M. Hughes, J.M. Arthur y P.A. Carter. 1993. Seasonal variation at four loci in a continuously breeding population of *Danaus plexippus* L. **Heredity** 70: 205-213

Apéndice 1. Localidades para *Danaus plexippus* L. en México. Obtenidas de las siguientes referencias: CNIN (Colección Nacional de Insectos, Instituto de Biología, UNAM), EMP (Observaciones directas, Eneida Montesinos Patiño). LIBRO (Luis-Martínez A., Llorente-Bousquets J. y Vargas-Fernández I. 2003. Nymphalidae de México I; Danainae, Apaturinae, Biblidinae e Itelconiinae: Distribución Geográfica e Ilustración. CONABIO-UNAM 170 pp.). Se especifican las localidades que corresponden a sitios de hibernación de mariposas migratorias como (MIGRATORIAS)

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
CNIN	Aguascalientes	Norias del Ojo Caliente
libro	Aguascalientes	Maravillas
libro	Aguascalientes	Aguascalientes
libro	Baja California	La Misión
libro	Baja California	Rio San Miguel, W de la Misión
libro	Baja California	Sierra de Juárez
libro	Baja California	Laguna Hanson, Sierra de Juárez
libro	Baja California	Ojos Negros, 9 mi E, Sierra de Juárez
libro	Baja California	Parque Nacional, Sierra de Juárez
libro	Baja California	Valle de las Palmas
libro	Baja California Sur	San Miguel Comondú
libro	Baja California Sur	Todos Santos, 9 mi S, Hwy 17
CNIN	Colima	Colima
EMP	Colima	Colima
libro	Colima	Buenvista, Gro.
libro	Colima	Ciudad de Colima
CNIN	Chiapas	San Isidro
CNIN	Chiapas	El Zapotal, Tuxtla Gutiérrez
CNIN	Chiapas	Pichucalco
CNIN	Chiapas	El Chorreadero
CNIN	Chiapas	Hacienda Santa Inés, km 35 Comitán
CNIN	Chiapas	La Cienega, Comitán
EMP	Chiapas	Sierra Morena
EMP	Chiapas	Caseta de cobro Chiapa de Corzo

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
EMP	Chiapas	Nueva Esperanza
libro	Chiapas	Santa Rosa, Las Margaritas
libro	Chiapas	El Chorreadero, 15 km S Tuxtla Gutiérrez
libro	Chiapas	Tapachula
libro	Chiapas	Boca de Chajul, Ocosingo
libro	Chiapas	Camino del Pavajal al Triunfo
libro	Chiapas	Toquian, Tacaná
libro	Chiapas	Rio Mala, Unión Juárez
libro	Chiapas	Selva Lacandona, Soconusco
libro	Chiapas	Chajul
libro	Chiapas	Unión Juárez
libro	Chiapas	San Antonio Buenavista (Sta Rosa), Independencia
libro	Chihuahua	Río Piedras Verdes, W de Chihuahua
CNIN	Distrito Federal	Distrito Federal
CNIN	Distrito Federal	Ciudad Universitaria
EMP	Distrito Federal	CEA Santa Catarina, eje 10 sur
EMP	Distrito Federal	Jardín Botánico, Circuito Exterior, UNAM
EMP	Distrito Federal	Ciceana-Viveros
EMP	Distrito Federal	Parque Ejidal San Nicolás Totolapan, km 11.5 carretera Picacho-Ajusco
EMP	Distrito Federal	CEA Acuexcomatl, Av. Año de Juárez 1900, Colonia Quirino Mendoza, San Luis Tlaxialtemalco
libro	Distrito Federal	Pedregal de San Angel
libro	Distrito Federal	Bosque de Tlalpan
libro	Distrito Federal	Segundo Dinamo, Anamiquiac
libro	Distrito Federal	Los Dinamos, Magdalena Contreras
libro	Distrito Federal	Ciudad de México
libro	Distrito Federal	Ciudad Universitaria
libro	Distrito Federal	Distrito Federal
libro	Distrito Federal	Primer Dinamo, Magdalena Contreras
CNIN	Durango	Tlahualillo
libro	Durango	Ciudad de Durango

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
CNIN	Estado de México	San Nicolás
CNIN	Estado de México	Camino a las Grutas Tonicato
CNIN	Estado de México	Ciudad Adolfo Lopez Mateos
EMP	Estado de México	El Capulín (MIGRATORIAS)
EMP	Estado de México	En la entrada al poblado de Ixtapan de la Sal, a orilla de la carretera
EMP	Estado de México	Valle de Bravo
EMP	Estado de México	Colonia Balcones de Valle Dorado
EMP	Estado de México	Río Frio
libro	Estado de México	Cascada de los diamantes, San Rafael
libro	Estado de México	Colorines
libro	Estado de México	Popocatepetl
libro	Estado de México	Camino al cerro de la cruz, Tonicato
libro	Estado de México	Carretera Ocuilán-Cuernavavaca, km 14
CNIN	Guanajuato	Celaya
CNIN	Guanajuato	Acámbaro
CNIN	Guerrero	Iguala
CNIN	Guerrero	Acahuizotla
CNIN	Guerrero	Acapulco
CNIN	Guerrero	Mezcala
EMP	Guerrero	Parque Estatal Omiltemi
EMP	Guerrero	25 km al SW de Xochipala, camino a Filo de caballo
EMP	Guerrero	Carretera Tixtla-Chilapa 2.3 km antes de Tixtla
EMP	Guerrero	26 km al SW de Filo de Caballo camino a Puerto del Gallo
EMP	Guerrero	Puerto del Gallo
EMP	Guerrero	Carretera Tixtla-Chilpancingo
EMP	Guerrero	Chichihualco, 10 Km SW Filo de Caballo
EMP	Guerrero	Xochipala
EMP	Guerrero	Allixtac
EMP	Guerrero	Chilapa de Álvarez
EMP	Guerrero	Omiltemi

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
EMP	Guerrero	4 km al SO de Mirabal, 20 km al SO de Xochipala
EMP	Guerrero	Xochipala
EMP	Guerrero	Atlixnac, km 18 a 21 de la carretera Chichihualco-Chilpancingo
EMP	Guerrero	12.5 km adelante de Chichihualco sobre la carretera a Chilpancingo-Filo de Caballo
EMP	Guerrero	Chichihualco
EMP	Guerrero	Tixtla, 10 km Ev
EMP	Guerrero	Guayameo
EMP	Guerrero	Amojileca
libro	Guerrero	Omiltemi, Cueva del Borrego
libro	Guerrero	El Faisanal, Atoyac de Álvarez
libro	Guerrero	Las Parotas, Atoyac de Álvarez
libro	Guerrero	Nueva Delhi, Atoyac de Álvarez
libro	Guerrero	Puente de los Lugardo, Atoyac de Álvarez
libro	Guerrero	Ojo de Agua
libro	Guerrero	Taxco de Alarcon
libro	Guerrero	4 km al W del río Santiago
libro	Guerrero	Omiltemi, Cañada W de la gruta del borrego
libro	Guerrero	Ixcateopan de Cuahutémoc
libro	Guerrero	3 km al E de Ixcateopan de Cuahutémoc
libro	Guerrero	La cascada, Km 8 Taxco-Ixcateopan de Cuahutémoc
libro	Guerrero	El Salto, Mezcala
CNIN	Hidalgo	Alfajayucan
libro	Hidalgo	La Encarnación
libro	Hidalgo	Actopan
CNIN	Jalisco	Acatlán de Juárez
EMP	Jalisco	Estación de Biología Chamela
EMP	Jalisco	Río Cutzamala
libro	Jalisco	Zenzontla
libro	Jalisco	Puerto Los Mazos 9 mi SW de Autlán
libro	Jalisco	Chamela

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
libro	Jalisco	Ahuacapán
libro	Jalisco	Ameca
libro	Jalisco	Puente Grande
libro	Jalisco	Huentitán
libro	Jalisco	Bosque escuela Sierra de la Primavera
libro	Jalisco	Puerto Vallarta
CNIN	Michoacán	Tuxpan
CNIN	Michoacán	Puente Alto, Uricuaro
CNIN	Michoacán	Ucácuaro
EMP	Michoacán	Agua Amarilla, Cerca de Balneario y San José Purúa
EMP	Michoacán	Contepec (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	Rincón Villalobos, Sierra Chincua (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	Arroyo Zapatero, Sierra Chincua (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	Tuxpan
EMP	Michoacán	200 m. Antes del entronque a San José Purúa carretera Zitácuaro-Morelia
EMP	Michoacán	Temascal, 12 km al S de Zitácuaro Carretera Zitácuaro-Huetamo
EMP	Michoacán	San José Purúa
EMP	Michoacán	Rincón de Curungueo, 3 km al N de Zitácuaro, Carretera Zitácuaro-Morelia
EMP	Michoacán	1 km al S de Tuxpan, enfrente de la Quinta Mitzi
EMP	Michoacán	70 m antes del puente de San Juan Viejo, pasando Zitácuaro Carretera Zitacuaro-Morelia Km 10
EMP	Michoacán	La Garita, campo de futbol, carretera Zitácuaro-Huetamo
EMP	Michoacán	Agua Blanca, Balneario, entre San José Purúa y Jungapeo
EMP	Michoacán	Angangueo (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	Arroyo Frío, Tacámbaro
EMP	Michoacán	Carretera a San José Purua, Jungapeo a orilla del camino
EMP	Michoacán	Presa del Bosque, 5 km al S de Zitácuaro, carretera Zitácuaro-Huetamo
EMP	Michoacán	Cerca de la Presa El Bosque, 8 km al SW de Zitácuaro, carretera a Huetamo
EMP	Michoacán	Los Laureles km 23 al S de Zitácuaro, carretera Zitácuaro-Huetamo
EMP	Michoacán	Curvas del Puerto de Gato Carretera Zitácuaro Morelia 5 km después de Zitácuaro
EMP	Michoacán	Huerta de Don Noé, Cerca del Balneario Agua Blanca y San José Purúa

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
EMP	Michoacán	Km 10 al S de Zitácuaro, carretera Zitácuaro-Huetamo
EMP	Michoacán	6 km al SW de Zitácuaro, carretera a Huetamo
EMP	Michoacán	La Soledad
EMP	Michoacán	Jungapeo de Juarez
EMP	Michoacán	Guanoro, 18 km al S de Zitácuaro
EMP	Michoacán	Cerro Chivatí-Huacal, Sierra Campanario (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	El Rosario, Sierra Campanario (MIGRATORIAS)
EMP	Michoacán	1 km al N de Tuxpan, carretera Zitácuaro-Morelia
EMP	Michoacán	1 km al S de Tuxpan, enfrente de la Quinta Mitzi
EMP	Michoacán	Lindavista, cerca de la Presa de Zitácuaro
EMP	Michoacán	La Colonia, Aeropuerto de Zitácuaro
libro	Michoacán	Las Juntas
libro	Michoacán	Rancho el Zorrillo, Cañada húmeda
libro	Michoacán	2 km al N de Hacienda Caracha
libro	Michoacán	Zirimícuaro
libro	Michoacán	Presa Hidroeléctrica Zumpimito
libro	Michoacán	Pedernales
libro	Michoacán	Los Chorros del Varal
libro	Michoacán	El Salto, La Piedad
libro	Michoacán	Villa Victoria, Chinicuila
libro	Michoacán	Vivero Forestal Lázaro Cárdenas
libro	Michoacán	Toscano
libro	Michoacán	La Nuez
libro	Michoacán	Rancho Nuevo
libro	Michoacán	Rancho el Jagüey 4 km E-NE de G. Zamora
libro	Michoacán	Rancho "San Jorge", Cutzato
libro	Michoacán	Rancho "La Alberca", Toreo el Alto
libro	Michoacán	Cañada "La Culebra" Canoa Alta
libro	Michoacán	Arteaga
libro	Michoacán	San Telmo

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
libro	Michoacán	Camino a Tancitaro por Zirimóndiro
libro	Michoacán	Rancho "El Zorrillo"
libro	Michoacán	Cerro de la Cruz
libro	Michoacán	Chiquihuitillo
libro	Michoacán	Cupatitzio, Presa Hidroeléctrica
libro	Michoacán	Las Goteras, Taretán
libro	Michoacán	Las Pintadas
libro	Michoacán	Matangarán
libro	Michoacán	Presa Jicalán
libro	Michoacán	Parácuaro
libro	Michoacán	Barranca de Cobano
libro	Michoacán	El Higueral, Arteaga
CNIN	Morelos	Palmira
CNIN	Morelos	Cuernavaca
CNIN	Morelos	El Limón
CNIN	Morelos	Tepoztlán
EMP	Morelos	Moyotepec
EMP	Morelos	20 km NW de Cuautla
EMP	Morelos	Cuautla
EMP	Morelos	Cuautla, cerca del Rio Cuautla
EMP	Morelos	Narciso Mendoza, carretera Cuautla-Yautepec
EMP	Morelos	Cuernavaca
EMP	Morelos	Jiutepec
EMP	Morelos	Emiliano Zapata
EMP	Morelos	Villa de Ayala
EMP	Morelos	San Pedro Apatlaco, cerca de Cuautla
EMP	Morelos	Cocoyoc
EMP	Morelos	Oaxtepec
EMP	Morelos	Tlacotepec
EMP	Morelos	Zacualpan

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
EMP	Morelos	Ticuman
EMP	Morelos	Axochiapan
EMP	Morelos	12 km al NW de Axochiapan
EMP	Morelos	Ciudad de Ayala
libro	Morelos	Rancho Viejo, Villa de Ayala
libro	Morelos	San Rafael, Vicente Aranda
libro	Morelos	Derrame del Chichinautzin, Tepoztlán
libro	Morelos	Yautepec
EMP	Nayarit	5 km al W del Poblado La Yerba (en cañada)
EMP	Nayarit	Este de San Blas
libro	Nayarit	Tepic
CNIN	Nuevo León	Santa Catarina
CNIN	Nuevo León	Monterrey
CNIN	Oaxaca	Tuxtepec
CNIN	Oaxaca	San José Chiltepec
CNIN	Oaxaca	Las Limas, Tuxtepec
EMP	Oaxaca	Oaxaca
libro	Oaxaca	La Gringa, San Isidro, Santa María Chimalapa
libro	Oaxaca	Río Tonto
libro	Oaxaca	Metates
libro	Oaxaca	Oaxaca
libro	Oaxaca	Río Sarabia, 18 mi al N de Matías Romero
libro	Oaxaca	La Esperanza
libro	Oaxaca	30 mi al NE de Tehuantepec
libro	Oaxaca	Miahuatlán, Sierra madre del Sur
libro	Oaxaca	Candelaria Loxicha
CNIN	Puebla	La Ceiba
CNIN	Puebla	San Diego
CNIN	Puebla	Tequezquitla
CNIN	Puebla	Huachinango

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
CNIN	Puebla	Estación de bombeo 1, San Diego de la Mesa
CNIN	Puebla	Rancho El Olvido
libro	Puebla	Barranca de Patla
libro	Puebla	Mesa de San Diego
libro	Puebla	Izúcar de Matamoros
CNIN	Querétaro	Amealco
CNIN	Quintana Roo	Coba, Tulum
CNIN	Quintana Roo	Cozumel
libro	San Luis Potosí	San Francisco
libro	San Luis Potosí	El Leoncito
libro	San Luis Potosí	El Pujal
libro	San Luis Potosí	Sierra de Álvarez
libro	San Luis Potosí	El Sol Tamazunchale
libro	San Luis Potosí	Tamazunchale
CNIN	Tabasco	Coconá
libro	Tabasco	Cerro del Coconá
libro	Tabasco	Huimanguillo
libro	Tabasco	Teapa
libro	Tabasco	Agua Blanca, Macuspana
CNIN	Tamaulipas	Arroyo La Libertad, noroeste de Ciudad Victoria
libro	Tamaulipas	Gómez Farías
libro	Tlaxcala	Campamento del IMSS, Malitzin, 3.5 km N de Santa Ana Chautempa
CNIN	Veracruz	Catemaco
CNIN	Veracruz	Cerro El Vigía
CNIN	Veracruz	El Vigía
CNIN	Veracruz	Córdoba
CNIN	Veracruz	Dos Amates
CNIN	Veracruz	Peñuela
CNIN	Veracruz	La Gloria, Cardel
CNIN	Veracruz	Ojo de Agua Grande, paraje Nuevo Amatlán de los Reyes

REFERENCIA	ESTADO	LOCALIDAD
CNIN	Veracruz	Mocambo
CNIN	Veracruz	Cuetzalapan
CNIN	Veracruz	Xalapa
CNIN	Veracruz	Zapoapan de Cabañas
EMP	Veracruz	Estación de Biología Tropical, Los Tuxtlas
libro	Veracruz	Las Minas
libro	Veracruz	Teocelo
libro	Veracruz	Santa Rosa, Camino a Teocelo
libro	Veracruz	El Trapiche, 3 km al S de Teocelo
libro	Veracruz	Poblado de Cárdenas, Los Tuxtlas
libro	Veracruz	San Andrés Tuxtla
libro	Veracruz	Laguna Escondida, San Andrés Tuxtla
libro	Veracruz	Carretera 180, 13 km al SE de Veracruz
libro	Veracruz	Orizaba
libro	Veracruz	Parque Francisco Javier Clavijero, Xalapa
libro	Veracruz	Coatepec
libro	Veracruz	Chacaltianguis
libro	Veracruz	Laguna de Catemaco
libro	Veracruz	Paso de San Juan
libro	Veracruz	Monte San Marcos
libro	Veracruz	Las Minas, 15 km NE de Perote

Apéndice 2. Frecuencias alélicas de *Danaus plexippus* L. en México. Se muestran las frecuencias alélicas para las ocho enzimas analizadas en este estudio. Las Poblaciones migratorias son señaladas como (*) y las locales (**).

Glucosa-6-Fosfato-Isomerasa (5.3.1.9)

Estructura Cuaternaria: dímero

GPI

Población	A	B	C	D	E	F
Chincua *	0.0204	0.1837	0.00	0.7551	0.408	0.00
Cerro Pelón *	0.0093	0.2222	0.037	0.7037	0.0278	0.00
Rosario *	0.0294	0.1176	0.0294	0.8235	0.00	0.00
Guerrero **	0.00	0.320	0.00	0.66	0.02	0.00
Michoacán **	0.00	0.3125	0.0313	0.5938	0.0469	0.0156
Morelos **	0.00	0.222	0.00	0.778	0.00	0.000

Manosa 6 Fosfato Isomerasa (5.3.1.8)

Estructura Cuaternaria: monómero

MPI

Población	A	B	C
Chincua *	0.2051	0.7821	0.0128
Cerro Pelón *	0.2234	0.7660	0.0106
Rosario *	0.2258	0.7581	0.0161
Guerrero **	0.2826	0.7174	0.00
Michoacán **	0.150	0.8167	0.033
Morelos **	0.0714	0.9286	0.00

Gliceraldehido-3-Fosfato-Deshidrogenasa (1.2.1.12)

Estructura Cuaternaria: Tetrámero

G3PDH

Población	A	B	C
Chincua *	0.00	1.00	0.00
Cerro Pelón *	0.0181	0.9455	0.364
Rosario *	0.0286	0.9714	0.00
Guerrero **	0.00	1.00	0.00
Michoacán **	0.00	1.00	0.00
Morelos **	0.00	1.00	0.00

Malato-Deshidrogenasa NADP+ (1.1.1.40)**Estructura Cauternaria: Tetrámero****ME 1**

Población	A	B	C
Chincua *	0.00	0.8462	0.1538
Cerro Pelón *	0.0189	0.7925	0.1887
Rosario *	0.037	0.8148	0.1481
Guerrero **	0.00	0.7045	0.2955
Michoacán **	0.00	0.8167	0.1833
Morelos **	0.00	0.750	0.2500

ME 2

Población	A	B	C
Chincua *	0.00	0.9359	0.0641
Cerro Pelón *	0.00	0.9057	0.0943
Rosario *	0.0556	0.9074	0.0370
Guerrero **	0.00	0.9773	0.0227
Michoacán **	0.00	0.9655	0.0345
Morelos **	0.00	0.9545	0.0455

Fosfoglucomutasa (5.4.2.2)**Estructura Cuaternaria: Monómero****PGM**

Población	A	B	C	D	E	F
Chincua *	0.1413	0.3696	0.3261	0.1413	0.0109	0.0108
Cerro Pelón *	0.0577	0.4327	0.4231	0.0865	0.00	0.00
Rosario *	0.1212	0.4545	0.3333	0.0758	0.0152	0.00
Guerrero **	0.0455	0.4773	0.3864	0.0909	0.00	0.00
Michoacán **	0.180	0.3600	0.3600	0.1000	0.00	0.00
Morelos **	0.100	0.3667	0.4333	0.1000	0.00	0.000

Isocitrato Deshidrogenasa (1.1.1.42)
Estructura Cuaternaria: Dímero

IDH 1

Población	A	B	C	D
Chincua *	0.0313	0.7708	0.1979	0.00
Cerro Pelón *	0.00	0.8585	0.1415	0.00
Rosario *	0.0735	0.8382	0.08820	0.00
Guerrero **	0.00	0.7250	0.250	0.0250
Michoacán **	0.0517	0.8966	0.0517	0.00
Morelos **	0.0882	0.7059	0.2059	0.00

IDH 2

Población	A	B	C	D
Chincua *	0.1444	0.7889	0.0667	0.00
Cerro Pelón *	0.2065	0.7826	0.0109	0.00
Rosario *	0.1515	0.8182	0.0303	0.00
Guerrero **	0.2750	0.5750	0.1500	0.00
Michoacán **	0.2917	0.7083	0.00	0.00
Morelos **	0.3750	0.5833	0.00	0.0417

Apéndice 3. Recetas para preparar los sistemas de corrida de las enzimas, protocolo de Herbert y Beaton (1994).

Glucosa-6-Fosfato-Isomerasa (5.3.1.9)

Estructura Cuaternaria: dímero

GPI

1.0 ml Tris HCl, pH= 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas de Fructosa-6-fosfato
5 gotas de solución de Glucosa 1 fosfato
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS
10 µl G6PDH
2 ml de agar

Manosa 6 Fosfato Isomerasa (5.3.1.8)

Estructura Cuaternaria: monómero

MPI

1.0 ml Tris HCl, pH= 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas de D-Manosa-6-fosfato
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS
5µl PGI
20 µl G6PDH
2 ml de agar

Gliceraldehido-3-Fosfato-Deshidrogenasa (1.2.1.12)

Estructura Cuaternaria: Tetrámero

G3PDH

1.5 ml NAD
1 ml de solución de D-Fructosa-1,6.difosfato
5 gotas de Na₂HAsO₄
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS

Malato-Deshidrogenasa NADP⁺ (1.1.1.40)

Estructura Cuaternaria: Tetrámero

ME

0.6 ml Tris HCl, pH= 8.0
1.5 ml NADP
12 gotas de sustrato málico
2 gotas de MgCl₂
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS
2 ml de agar

Fosfoglucomutasa (5.4.2.2)

Estructura Cuaternaria: Monómero

PGM

1.0 ml Tris HCl, pH= 8.0
1.5 ml NAD
5 gotas de MgCl₂
5 gotas de solución de Glucosa 1 fosfato
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS
20 µl G6PDH
2 ml de agar

Isocitrato Deshidrogenasa (1.1.1.42)

Estructura Cuaternaria: Dímero

IDH

1.0 ml Tris HCl, pH= 7.0
1.5 ml NADP
8 gotas de MgCl₂
15 gotas de ácido DL-isocítrico
5 gotas de MTT
5 gotas de PMS
2 ml de agar