



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

SISTEMÁTICA

Filogeografía de *Epicauta (Macrobasis) stigmata* (Dugès, 1869) (Coleoptera: Meloidae) y resolución de problemas taxonómicos en el grupo de *Epicauta (Macrobasis) uniformis* sensu Werner, 1958

## TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Biol. Vladimir Salvador De Jesús Bonilla**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:	Dr. Alejandro Zaldívar Riverón Instituto de Biología
COMITÉ TUTOR:	Dra. Gabriela Parra Olea Instituto de Biología Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez Instituto de Ecología
TUTOR INVITADO:	Dr. Mario García París Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid

MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2013

Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 3 de diciembre de 2012, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **DE JESUS BONILLA VLADIMIR SALVADOR** con número de cuenta **99095813** con la tesis titulada "**Filogeografía de *Epicauta (Macrobasis) stigmata* (Dugés, 1869) (Coleoptera: Meloidae) y resolución de problemas taxonómicos en el grupo *Epicauta (Macrobasis) uniformis sensu Werner, 1958*", realizada bajo la dirección del **DR. ALEJANDRO ZALDIVAR RIVERÓN**:**

Presidente: DR. ATILANO CONTRERAS RAMOS  
Vocal: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
Secretario: DRA. GABRIELA PARRA OLEA  
Suplente: DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA  
Suplente: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 7 de febrero de 2013.

*M. del Coro Arizmendi*  
**DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA**  
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **Agradecimientos**

Al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo el cual cursé los los estudios de Maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero que permitieron la dedicación de tiempo completo al proyecto.

Al Museo Nacional de Historia Natural de Madrid, España, por proporcionar parte de los ejemplares usados en este estudio.

A los miembros de mi Comité Tutoral por su asesoría y apoyo durante el desarrollo de la tesis.

Tutor Principal: Dr. Alejandro Zaldívar Riverón

Comité Tutor: Dra. Gabriela Parra Olea

Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez

Tutor Invitado: Dr. Mario García París

## **Agradecimientos personales**

A mis padres Salvador De Jesús y Guadalupe Bonilla que siempre me han apoyado en todo proyecto académico, laboral o personal y de quienes solo he recibido ánimos y buenos consejos. A mis hermanas Viole, Pita y Luz. A mi familia que en esas agradables pláticas del desayuno o la cena vemos siempre hacia adelante.

A Selka Selvera amor de mi vida, afectuosa y comprensiva que hace mucho más alegre mi vida y con quien puedo compartir cualquier viaje que traiga.

A Alejandro Zaldívar Riverón a cuyo laboratorio llegué hace unos años, tutor y amigo que ha sido participe y ha animado mi formación en el quehacer científico.

A Mario García Paris por su capital participación en este proyecto y por su hospitalidad.

A los miembros del Jurado Dr. Adolfo Navarro, Dr. Atilano Contreras, Dra. Gabriela Parra, Dra. Ella Vázquez, Dr. Martín García por las observaciones para mejorar el presente trabajo.

A toda la banda del Instituto de Biología que suele reunirse en la Zona Hippie

A los compañeros del Zaldívar Riverón Lab, excelente grupo de trabajo.

A los amigos de la facultad.

A mis amigos del mico.

*La Tierra es un lugar más bello para nuestros ojos que cualquiera que conozcamos.  
Esa belleza ha sido esculpida por el cambio: el cambio suave, casi imperceptible, y  
el cambio repentino y violento.*

Carl Sagan

## Índice

Lista de figuras.....	1
Lista de tablas.....	2
Resumen.....	3
Abstract.....	4
Introducción.....	5
Diversidad.....	5
Filogeografía.....	7
Modelado de nicho ecológico.....	9
El grupo de <i>Epicauta uniforma</i> (Meloidae).....	9
Objetivos.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos particulares.....	13
Antecedentes.....	14
Material y métodos.....	15
Muestreo de especímenes.....	15
Trabajo de laboratorio.....	16
Edición y alineamiento de secuencias .....	18
Cálculo de distancias genéticas.....	19
Análisis filogenético.....	19
Diversidad genética.....	21
Pruebas de neutralidad.....	21
Distribución <i>mismatch</i> .....	22
Red de haplotipos.....	23
Modelado de Nicho Ecológico.....	23
Resultados.....	27

Distancias genéticas.....	27
Reconstrucción filogenética.....	28
Diversidad genética.....	31
Índices D de Tajima y Fs de Fu.....	32
Curvas de distribución <i>mismatch</i> .....	34
Redes de haplotipos.....	36
Pruebas de modelado de nicho.....	45
Discusión.....	49
Estatus taxonómico de <i>E. stigmata</i> y <i>E. uniforma</i> .....	49
Historia demográfica.....	51
Redes de haplotipos.....	54
Similitud de nicho y límite de distribución.....	57
Conclusiones.....	59
Referencias.....	60

**Anexo I: Especímenes colectados**

**Anexo II: Lista de coordenadas utilizadas en pruebas de similitud de nicho y *linear range breaking*.**

## Lista de figuras

Figura 1. Lugares de recolecta de especies del género <i>Epicauta</i> .....	16
Figura 2. Localidades de distribución de <i>E. stigmata</i> (verde) y <i>E. uniforma</i> (amarillo).....	26
Figura 3. Filograma obtenido mediante inferencia bayesiana utilizando secuencias de COI y Cytb con valores de probabilidad posterior de las ramas.....	30
Figura 4. Distribución <i>mismatch</i> multimodal para la matriz COI+Cytb.....	34
Figura 5. Distribución <i>mismatch</i> unimodal para el marcador COI.....	35
Figura 6. Distribución <i>mismatch</i> multimodal para el marcador Cytb.....	36
Figura 7. Red de haplotipos de las secuencias de COI+Cytb en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos.....	38
Figura 8. Red de haplotipos de las secuencias de COI+Cytb en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a <i>E. stigmata</i> y <i>E. uniforma</i> .....	39
Figura 9. Red de haplotipos de las secuencias de COI en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos.....	41
Figura 10. Red de haplotipos de las secuencias de COI en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a <i>E. stigmata</i> y <i>E. uniforma</i> .....	42
Figura 11. Red de haplotipos de las secuencias de Cytb en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos.....	43
Figura 12. Red de haplotipos de las secuencias de Cytb en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a <i>E. stigmata</i> y <i>E. uniforma</i> .....	44
Figura 13. Modelo de nicho de <i>E. stigmata</i> . Los colores cálidos representan áreas con alta idoneidad de nicho. Los cuadros blancos son las localidades de presencia, los cuadros morados puntos de prueba.....	45

Figura 14. Modelo de nicho de <i>E. uniforma</i> . Los colores cálidos representan áreas con alta idoneidad de nicho. Los cuadros blancos son las localidades de presencia, los cuadros morados puntos de prueba. .....	46
Figura 15. Histogramas de valores de distribución nula de la prueba de similitud de nicho y con flecha roja señalados los valores observados de los índices D e I.....	47
Figura 16. Histogramas de los va alores de distribución nula de la prueba de <i>linear range breaking</i> y señalados con flecha roja valores observados los índices D e I.....	48

### Lista de Tablas

Tabla 1. Distancias corregidas k2p para el marcador COI.....	27
Tabla 2. Distancias corregidas k2p para el marcador Cytb.....	28
Tabla 3. Valores de diversidad genética de la matriz COI+Cytb.....	31
Tabla 4. Valores de diversidad genética de los marcadores COI y Cytb.....	31
Tabla 5. Valores de las pruebas de neutralidad para calculadas con la matriz de COI+Cytb.....	33
Tabla 6. Valores de las pruebas de neutralidad para el marcador COI.....	33
Tabla 7. Valores de las pruebas de neutralidad para el marcador Cytb.....	33

## Resumen

El grupo de escarabajos de *Epicauta uniforma* contiene 15 especies, de las cuales se ha sugerido que *E. stigmata* y *E. uniforma* son coespecíficas (Werner 1958). La principal característica empleada para diferenciar estas dos especies es el color de la pilosidad en los élitros, el cual está asociado a su distribución disyunta. *E. uniforma* es de color café-cenizo y se distribuye desde Zacatecas hasta el sur de EUA, mientras que *E. stigmata* es de coloración blanquinegra, ceniza o ligeramente café ceniza, y se distribuye desde Guanajuato hasta el sur de México. En este estudio se emplearon dos fragmentos de genes mitocondriales, Citocromo Oxidasa I (COI; 624 pb) y Citocromo *b* (Cyt *b*; 288 pb), para investigar la filogeografía y el estatus taxonómico de *E. stigmata* y *E. uniforma*. En particular, se investigó si la distribución geográfica de la variación genética en poblaciones de *E. stigmata* y *E. uniforma* está asociada a la variación morfológica observada. Se obtuvieron 140 secuencias ambos marcadores para *E. stigmata*, *E. uniforma* y ocho especies del género *Epicauta* (94, 20 y 26 secuencias respectivamente). Se realizó un análisis de inferencia Bayesiana que confirmó que las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma* no son recíprocamente monofiléticas, sino que constituyen una misma unidad evolutiva, que conserva el nombre *E. stigmata*. Los análisis de diversidad genética, pruebas de neutralidad y distribución *mismatch* sugieren una expansión poblacional reciente en el área de distribución de la especie. Se construyeron redes de haplotipos y se encontró que no existe una asociación entre la distribución geográfica de la variación genética y la variación morfológica observada en los individuos asignados a las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma*. Análisis de modelado de nicho indican que los nichos utilizados por los taxones son muy similares entre sí, y que la distribución disyunta de las poblaciones de *E. stigmata* no está asociada a la variación climática.

## Abstract

The *Epicauta uniforma* group of beetles contains 15 species, of which it has been suggested that *E. stigmata* and *E. uniforma* are conspecific (Werner 1958). The main feature used to differentiate these two species is the color of pubescence on the elytra, which is associated with their disjunct distribution. *Epicauta uniforma* has a cinereous-brownish color and is distributed from Zacatecas to southern U.S., whereas *E. stigmata* is white-black, cinereus or brown-cinereus and is distributed from Guanajuato to southern Mexico. This study employed two mitochondrial gene fragments, Cytochrome oxidase I (COI, 624 bp) and Cytochrome b (Cyt b, 288 bp) to investigate the phylogeography and taxonomic status of *E. stigmata* and *E. uniforma*. In particular, we investigated whether the geographic distribution of genetic variation in the populations examined of the nominal species *E. stigmata* and *E. uniforma* is associated with their observed morphological variation. A total of 140 sequences were obtained for both markers for *E. stigmata*, *E. uniforma* and eight species of *Epicauta* genus (94, 20 and 26 species, respectively). A Bayesian inference analysis confirmed that the nominal species *E. stigmata* and *E. uniforma* are not reciprocally monophyletic, instead forming a single evolutionary unit, which retains the name *E. stigmata*. A genetic diversity analysis, as well as neutrality and mismatch distribution tests suggest a recent population expansion on the distribution area of the species. Haplotype networks were reconstructed, showing that there is no association between the geographic distribution of genetic variation and the morphological variation observed in individuals assigned to the nominal species *E. stigmata* and *E. uniforma*. A niche modeling analysis suggests that the niches used for the above nominal taxa are very similar, and that the disjunct distribution of the *E. stigmata* populations are not associated to climate variation.

## Introducción

### Diversidad

México pertenece al grupo de países llamados megadiversos, que son catalogados así por albergar a la mayor parte de las especies conocidas. Estos países poseen el 70% de la biodiversidad del planeta. Por su biodiversidad, México se ubica en el cuarto lugar los países megadiversos, y en términos generales se puede decir que México alberga al 10% de la biodiversidad terrestre del planeta (Sarukhán y Dirzo, 1992). Además de tener un elevado número de especies, México es importante por la cantidad de especies endémicas de su territorio, por poseer una gran pluralidad de ecosistemas y por la gran variabilidad genética observada en muchos grupos taxonómicos. Estas características de riqueza biológica tienen su origen en la evolución o diversificación natural y cultural del país (Espinosa *et al.*, 2008).

La alta diversidad de México es el resultado de la interacción de diversos factores topográficos y climáticos. Estos factores interactúan entre ellos y combinados con la historia geológica del país producen un mosaico de ambientes y microambientes (Flores y Gerez, 1994). La constitución tan compleja de México, expresada en su relieve abrupto y variado clima produce un heterogéneo escenario geográfico-físico en donde se desenvuelve una de las biotas más diversas del mundo (Ferrusquía, 1998). Este escenario fisiográfico es consecuencia de la interacción de las placas norteamericana, del Pacífico, Rivera, de Cocos y del Caribe. Estas placas se relacionan de tal forma que por plegamientos y vulcanismo han originado un territorio rico en cordilleras, mesetas y depresiones (Ortega *et al.*, 2000).

La heterogeneidad del medio fisiográfico del territorio mexicano ha permitido el desarrollo de una elevada riqueza específica. Esta riqueza de especies también está distribuida en una diversa gama de ecosistemas. Se plantea que para esta región que existieron una serie de invasiones o expansiones de plantas y animales de norte a sur en distintos periodos geológicos y fragmentación de la distribución de las especies a causa de eventos geológicos y paleoclimáticos, y estos dos fenómenos contribuyeron al aumento en número de especies y su diversificación. (Nason *et al.*, 2002; Arroyo-Cabrales *et al.*, 2007). La diferenciación genotípica y la variación fenotípica son formas de adaptarse a un ambiente cambiante, ambas reflejan la historia poblacional de los organismos y generalmente muestran coherencia entre sí (Avice, 1989; Staton *et al.*, 2005; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011). En algunos casos, sin embargo, las características fenotípicas y genotípicas evolucionan independientemente, dando lugar a variación genética y morfológica discordantes (Finston y Peck, 2004; Christidis *et al.*, 2010; Hsu *et al.*, 2011).

La interacción entre los organismos y un medio ambiente heterogéneo tiene como consecuencia la aparición de plasticidad fenotípica, que es definida como la habilidad de un mismo genotipo para producir variantes fenotípicas en respuesta a las condiciones bióticas y abióticas (Via y Lande, 1985; West-Eberhard, 1989; Via *et al.*, 1995). En ese sentido, los organismos pueden modificar su fisiología (Holopainen, 1995; Brzęk *et al.*, 2011), morfología (Bronmark y Miner, 1992; Gibbs *et al.*, 2011) y desarrollo (Dufty *et al.*, 2002; Sommer y Ogawa, 2011) debido a cambios climáticos (Ghalambor *et al.*, 2007; Baythavong y Stanton, 2010), interacción con otras especies

(Agrawal, 2001), colonización de nuevos hábitats (Yeh y Price, 2004) o el uso de distintos recursos (Vretare *et al.*, 2001).

Diversos estudios han encontrado que individuos de una misma especie con diferentes fenotipos pueden ser genéticamente idénticos (Tolley *et al.*, 2005; Noel *et al.*, 2007; Haye *et al.*, 2010), pero también especímenes con fenotipos idénticos pueden tener genotipos heterogéneos (Duftner *et al.*, 2006, Santos *et al.*, 2006). El análisis tanto de la información morfológica como genética por lo tanto es necesario para elucidar con mayor certidumbre la historia evolutiva de los organismos en los que se ha reportado gran plasticidad fenotípica (Richards y Knowles, 2007; Bottin *et al.*, 2007; Price *et al.*, 2007).

## **Filogeografía**

En 1987, Avise y colaboradores concibieron a la filogeografía como el análisis filogenético de la información genética en un contexto geográfico para probar hipótesis en la relación causal entre los fenómenos geográficos, la distribución de especies y los mecanismos que conducen la evolución. De esta manera, la filogeografía es el campo de estudio relacionado con los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de linajes de genes, sobre todo de aquellos entre y dentro de especies cercanamente relacionadas.

Considerada como una rama de la biogeografía o ecología molecular, la filogeografía trabaja con los componentes históricos, filogenéticos y la distribución

espacial de linajes de genes, considerando los ejes de espacio y tiempo (Vázquez-Domínguez, 2007; Vázquez-Domínguez, *et al.* 2009). La filogeografía abarca los estudios filogenéticos de la distribución espacial de cualquier característica, ya sea morfológica, etológica, etc., aunque en la actualidad, con el desarrollo de las herramientas moleculares, el uso de ADN mitocondrial juega un papel importante en los análisis filogeográficos (Lanteri y Confalonieri, 2003).

El ADN mitocondrial consta de una cadena circular de 15 000 a 17 000 pares de base que codifica para 38 genes (Ballard y Whitlock, 2004). El ADN mitocondrial posee características que lo hacen de particular utilidad en los estudios filogeográficos: se transmite únicamente por vía materna, no pasa por procesos de recombinación genética, tiene una tasa alta de sustitución y resulta altamente polimórfico (Ballard y Whitlock 2004). Las características del ADN mitocondrial lo convierten en un recurso muy útil para analizar relaciones filogenéticas de organismos conspecíficos. Adicionalmente, se asume que el ADN mitocondrial evoluciona de forma neutral, es decir, que la mayor parte de las mutaciones son selectivamente neutras y se fijan al azar (Avice *et al.*, 1987). Utilizada comúnmente como herramienta para esclarecer patrones históricos y evolutivos entre poblaciones de una misma especie, la filogeografía ha demostrado ser útil para inferir procesos como flujo génico, hibridación, tamaño efectivo poblacional, secuencias de colonización, cuellos de botella, eventos de vicarianza y dispersión, también para delimitar especies y determinar unidades de conservación (Arbogast y Kenagy, 2001; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

## **Modelado de nicho ecológico**

El ambiente puede tener influencia sobre los procesos evolutivos, de forma que la variación ambiental a través del tiempo y el espacio puede influir en la divergencia genética entre poblaciones, cambios en la morfología, fisiología o la conducta (Kozak *et al.*, 2008). El modelado de nicho ecológico tiene el propósito de identificar los sitios apropiados para la sobrevivencia de poblaciones de una especie mediante la identificación de sus requerimientos ambientales (Soberón y Nakamura, 2009). Con el desarrollo del modelado de nicho se han generado las condiciones para plantear análisis que integren datos genéticos y ambientales (Graham *et al.*, 2004).

Además de predecir la distribución potencial de los organismos, se ha reportado que el modelado de nicho puede ser una herramienta exploratoria y complementaria a los estudios de límites y relaciones entre especies (Martínez-Gordillo *et al.*, 2010). En particular, se han realizado estudios conjuntos de filogeografía y modelado de nicho para caracterizar y delimitar distintas unidades de conservación (p. ej. May *et al.*, 2011) o en el caso contrario, refutar la diferenciación genética y ecológica de taxones (p. ej. Makowsky *et al.*, 2010).

## **El grupo de *Epicauta uniforma* (Meloidae)**

Los insectos son animales invertebrados pertenecientes al Phylum Arthropoda. Se caracterizan por poseer un par de antenas, tres pares de patas y, en etapa adulta, el cuerpo dividido en tres regiones mayores: cabeza, tórax y abdomen (Resh y Cardé,

2003). Los insectos representan el grupo más diverso del planeta, con aproximadamente un millón de especies descritas en la actualidad (Alder y Footitt, 2009). No obstante, se calcula que el número de especies de insectos existentes podría ser de entre 10 y 80 millones (Erwin, 1982; Stork, 2008). Actualmente, los insectos están agrupados en 29 ordenes, de los cuales Coleoptera, Diptera, Hymenoptera y Lepidoptera comprenden el 81% de todas las especies conocidas (Grimaldi y Engel, 2005).

Los Meloidos son un grupo de Coleópteros tenebrionoideos que está formado por cerca de 3000 especies distribuidas en aproximadamente 120-125 géneros (Pinto y Bologna, 1999; Bologna y Pinto, 2001; Bologna *et al.* 2008). El grupo es hipermetábolo, es decir durante el desarrollo pasan por dos o más estados larvarios. En total se ha observado la existencia de siete estados larvarios, cinco de los cuales están adaptados para hábitos parasitoides, atacando principalmente himenópteros (Bologna *et al.* 2008). Todos los melóidos producen cantaridina, un terpenoide usado como defensa química (Carrel *et al.* 1993). Las lesiones provocadas por dicha sustancia hacen que los melóidos tengan importancia económica y médica (Nicholls *et al.* 1990; Antúnez y Cidoncha, 1998).

El género *Epicauta* es uno de los géneros con mayor diversidad dentro de la familia Meloidae (Coleoptera), distribuyéndose ampliamente (Asia Central, África centro-occidental y gran parte de América) y está representado por alrededor de 375 especies (Pinto y Bologna, 1999). *Epicauta* se divide en dos subgéneros: *Epicauta* y *Macrobasis*, estando este último solo distribuido en América (Pinto, 1991). Dentro del

subgénero *Macrobasis* se han establecido varios grupos de especies, y aunque no se ha presentado una definición taxonómica formal se ha sugerido que podrían tratarse de grupos monofiléticos (Werner, 1945, 1949, 1958; Pinto, 1991).

Uno de los grupos pertenecientes al subgénero *Macrobasis* es el grupo de *E. uniforma*, conformado por las siguientes 15 especies: *E. niveolineata*, *E. tripartita*, *E. nigritabilis*, *E. uniforma*, *E. alpina*, *E. bipuncata*, *E. stigmata*, *E. melanochoa*, *E. tenuemarginata*, *E. leoni*, *E. triquetra*, *E. selanderorum*, *E. labialis*, *E. mimetica* y *E. atricolor*. El grupo *E. uniforma* se caracteriza morfológicamente por presentar una estructura en forma de peine en el extremo anterior de la tibia del macho, dos espolones en la tibia anterior del macho y el primer segmento de las antenas en forma de arco plano (Werner, 1958; Pinto, 1991). El grupo de *E. uniforma* se distribuye predominante en la meseta central mexicana, presentando numerosos problemas taxonómicos debido a que posee una considerable plasticidad fenotípica en algunas de sus especies y a que es difícil asignar las hembras a una especie, ya que los caracteres usados en la diagnosis solo se refieren a caracteres sexuales masculinos (Pinto 1991; García-París *et al.*, 2007).

Uno de los problemas taxonómicos dentro del grupo de *E. uniforma* es con respecto a si *E. stigmata* Dugés, 1869 y *E. uniforma* Werner, 1958 son especies distintas. Actualmente, el único carácter que se ha propuesto para distinguir entre estas dos especies es el color de la pilosidad de los élitros, el cual es variable y puede ser negro, blanquinegro, cenizo o ligeramente café-cenizo en *E. stigmata* y poco

variable y usualmente café-cenizo a lúteo ceniciento en *E. uniforma* (Werner, 1958). Este carácter está asociado a la distribución geográfica disyunta de estos dos taxones. *Epicauta uniforma* se distribuye del sur de los Estados Unidos, en los estados de Arizona, Colorado y Texas hasta el Norte de México en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Sonora y Zacatecas. Por otra parte, *E. stigmata* se distribuye en los estados del centro de México: Aguascalientes, Distrito Federal, Guanajuato, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz. Werner (1958) menciona que las diferencias entre *E. stigmata* y *E. uniforma* podrían reflejar variación geográfica y no diferenciación específica; sin embargo, este autor no profundizó en el estudio de dicha hipótesis y describió a *E. uniforma* y *E. stigmata* como especies diferentes.

Partiendo de la hipótesis planteada por Werner (1958), en este estudio se utilizaron secuencias de ADN de dos marcadores moleculares, Citocromo Oxidasa I y Citocromo b, para investigar la existencia de estructura filogeográfica en poblaciones asignadas a *E. stigmata* y *E. uniforma*. Los marcadores moleculares se utilizaron primero para construir una filogenia con el fin de investigar si *E. stigmata* y *E. uniforma* representan especies hermanas. Posteriormente, se utilizaron pruebas de diversidad genética, neutralidad y de distribución *mismatch* para inferir la historia demográfica de las poblaciones. También se reconstruyeron redes de haplotipos para observar si la distribución de la variación geográfica correspondía con la variación morfológica de las poblaciones examinadas. Finalmente, se llevaron a cabo dos diferentes análisis de modelado de nicho para determinar si la distribución de los taxones puede ser explicada de acuerdo a variables ambientales.

## Objetivos

### Objetivo general:

- Investigar la filogeografía de *E. uniforma* y *E. stigmata* con base en fragmentos de ADN de dos marcadores mitocondriales (citocromo oxidasa I y citocromo *b*).

### Objetivos particulares:

- Determinar si *E. stigmata* y *E. uniforma* representan una misma unidad evolutiva.
- Evaluar la diversidad genética en las poblaciones de *E. stigmata* y *E. uniforma*
- Describir la historia demográfica de las poblaciones de *E. stigmata* y *E. uniforma*
- Investigar la existencia de estructura filogeográfica en las poblaciones examinadas de ambos taxones, y si la distribución geográfica de su variación genética corresponde con su variación fenotípica.
- Determinar si las poblaciones asignadas a *E. uniforma* y *E. stigmata* se distribuyen en nichos ecológicos diferentes.

## Antecedentes

Las relaciones del género *Epicauta* dentro de la familia *Meloidae*, su posición filogenética dentro de la tribu *Epicautini* de la subfamilia *Meloinae* y su caracterización morfológica han sido estudiadas y parecen estar bien definidas (Bologna *et al.*, 2008). El género *Epicauta* se divide en dos subgéneros *Epicauta* y *Macrobasis*, los cuales no poseen sinapomorfías claras (Pinto, 1991). Dentro del subgénero *Macrobasis* existen grupos de especies que se han sugerido, sin proponerlo de manera formal, podrían ser monofiléticos. Uno de estos grupos propuestos es el grupo de *Epicauta uniforma*, formado originalmente por 14 especies y caracterizado por una estructura en forma de peine en la parte apical de la metatibia, el primer segmento antenal excavado externamente en forma de arco y dos espolones apicales en la prototibia (Werner, 1958). Dentro del grupo de se reconocen dos linajes, uno formado por especies con las mandíbulas modificadas y alargadas (*E. selanderorum*, *E. mimetica* y *E. labialis*) y otro grupo formado por especies con la mandíbula con la morfología habitual del género (*E. niveolineata*, *E. tripartita*, *E. nigritabilis*, *E. uniforma*, *E. alpina*, *E. bipuncata*, *E. stigmata*, *E. melanochoa*, *E. tenuemarginata*, *E. leoni*, *E. triquetra*), la especie *E. atricolor* fue asignada al grupo *uniforma* después (Pinto, 1982). El grupo de *E. uniforma* presenta problemas taxonómicos debido a la alta plasticidad fenotípica de sus especies y a la dificultad de asignar las hembras a una especie concreta, pues los caracteres diagnósticos se refieren a caracteres sexuales masculinos (García-París *et al.*, 2007; Pinto, 1991).

## Material y métodos

### Muestreo de especímenes

Se utilizaron 140 ejemplares asignados a *E. stigmata* y *E. uniforma* provenientes de 48 localidades ubicadas en el área distribución de estos dos taxones. Dichas localidades abarcaron los siguientes estados de Aguascalientes, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas en México y Arizona en los Estados Unidos de América. 20 de los individuos examinados se asignaron a *E. uniforma* y 94 a *E. stigmata* en base en sus características morfológicas. También se incluyeron 26 especímenes pertenecientes a otras especies del género; 14 de *E. bipunctata* también del grupo de *E. uniforma*, 2 de *E. arizonica*, 1 de *E. alastor*, 2 de *E. lauta* y 3 de *E. flagellaria* del subgénero *Macrobasis* y del subgénero *Epicauta*, 2 de *E. tricostrata*, y 2 de *E. costata* (Figura 1)

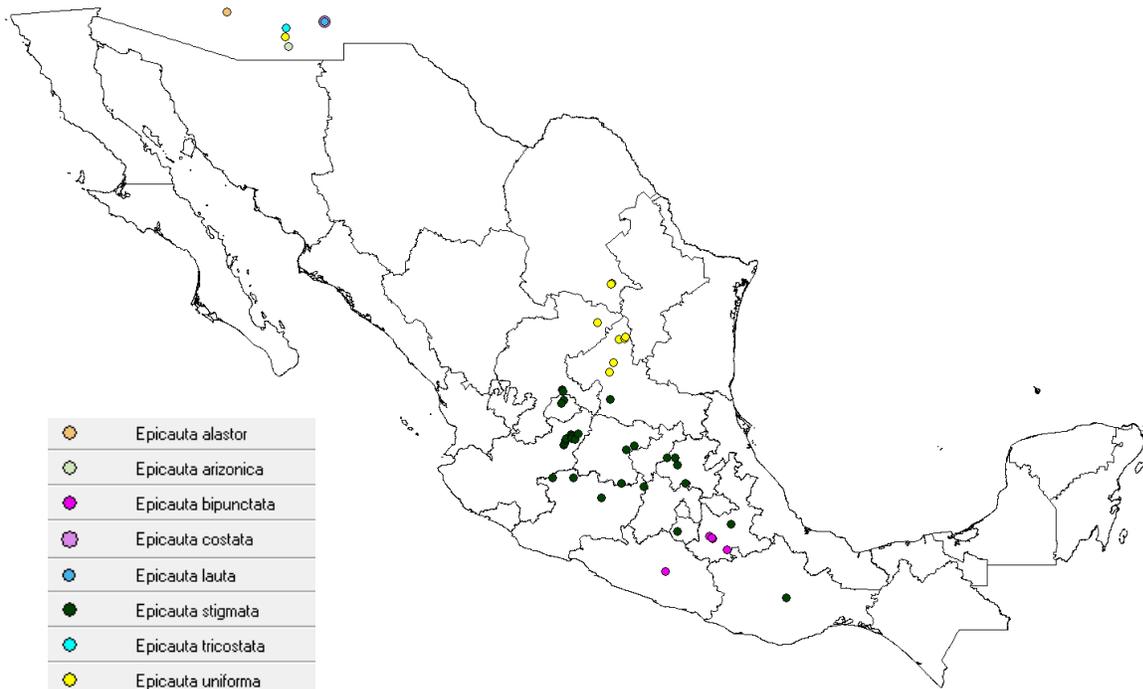


Figura 1. Lugares de recolecta de especies del género *Epicauta*

Todos los individuos fueron colocados en etanol al 96% y puestos en refrigeración a  $-20^{\circ}\text{C}$  en criotubos etiquetados con especie, localidad, coordenadas y fecha de colecta. Estos especímenes se encuentran depositados en la Colección Nacional de Insectos (CNIN) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## Trabajo de laboratorio

Se obtuvo tejido de cada espécimen extrayendo una porción de musculo coxal. Para la extracción de ADN genómico la muestra de tejido se sumergió en una mezcla de 100µl de buffer de lisis ATL y 25 µl de proteinasa K, se dejó digerir al menos ocho horas a una temperatura de 55°C. Subsecuentemente, la extracción de ADN genómico de cada muestra se obtuvo utilizando el kit de extracción 'Dneasy blood and tissue extraction' (QIAGEN®; Austin, Texas) siguiendo el protocolo del fabricante.

Se obtuvieron secuencias de los marcadores mitocondriales Citocromo Oxidasa I (624pb) y Citocromo b (288pb). Estos marcadores son utilizados ampliamente en estudios filogenéticos y filogeográficos por resultar útiles para caracterizar variación genética interespecífica (Okassa *et al.*, 2010) e intraespecífica (Romero y Ramirez, 2011). La amplificación de los marcadores moleculares se llevó a cabo utilizando para COI el par de primers LepF1 5'-ATTCAACCAATCATAAAGATAT-3' y LepR1 5'-TAACTTCTGGATGTCCAAAAA-3' (Hebert *et al.*, 2004) y para Citocromo b los primers CB3 5'-GAGGAGCAACTGTAATTACTAA-3' y CB4 5'-AAAAGAAA(AG)TATCATTTCAGGTTGAAT-3' (Barraclough *et al.*, 1999).

Las reacciones de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los marcadores mitocondriales se realizaron en 25 µl de volumen total utilizando 2.5µl de Buffer, 2.5µl de MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µl de dNTPs, 1µl de primer LepR1, 1µl de primer LepF1, 0.12µl de Taq Polimerasa (Taq Platinum; Invitrogen®; Carlsbad, California), 5µl de ADN genómico y el resto de agua destilada.

Las condiciones para amplificar el marcador COI fueron las siguientes: 3 minutos de desnaturalización inicial a 94°C, 5 ciclos de touchdown con 1 minuto de

desnaturalización a 94°C, 1 minuto de anillamiento a 56°C y 1 minuto de extensión a 72°C seguidos de 35 ciclos con 1 minuto de desnaturalización a 94°C, 1 minuto de anillamiento a 56°C y 1 minuto de extensión a 72°C y 10 minutos de extensión final a 72°C; mientras que para el marcador Cytb las condiciones fueron 3 minutos de desnaturalización inicial a 94°C, 35 ciclos con 1 minuto de desnaturalización a 94°C, 1 minuto de anillamiento a 48°C y 1 minuto de extensión a 72°C y 10 minutos de extensión final a 72°C. En cada reacción de PCR se utilizó un control negativo.

Se comprobó la amplificación de los marcadores por medio de electroforesis. Se preparó un gel de agarosa al 1% en buffer Tris-borato-EDTA (TBE), utilizando como pigmento revelador Bromuro de etidio o SYBR Green según la disponibilidad del reactivo. El gel fue visualizado en un transiluminador y se obtuvieron fotos con el software de documentación de geles UVP®. Los productos de PCR se colocaron en placas de 96 muestras y fueron enviados al High-Throughput Genomics Center de la Universidad de Washington ([www.htseq.org](http://www.htseq.org)) para su purificación y secuenciación.

### **Edición y alineamiento de secuencias**

Las secuencias obtenidas fueron editadas con el programa Sequencher 4.14 (Genecodes®, USA). Una vez editadas, el alineamiento de secuencias para cada marcador se llevó a cabo utilizando el programa Clustal W (Larkin *et al.*, 2007) a través de Bioedit 7.1.3.0 (Hall, 1999), y subsecuentemente cada alineamiento se comprobó visualmente. Se construyeron tres matrices, una para Citocromo Oxidasa I (COI), una

Citocromo b (Cytb) y una más con las secuencias concatenadas de ambos marcadores (COI+Cytb).

### **Cálculo de distancias genéticas**

Se examinaron las distancias genéticas corregidas para cada marcador genético utilizando el modelo de evolución de dos parámetros de Kimura (P2P) para calcular la distancia genética entre *E. stigmata* y *E. uniforma*, entre éstas y *E. bipunctata* y finalmente entre las especies del grupo *uniforma* y las demás especies del subgénero *Macrobasis* y el subgénero *Epicauta*.

### **Análisis filogenético**

Se realizó un análisis filogenético con el objetivo de investigar si *E. stigmata* y *E. uniforma* representan una sola especie. Para ello, se utilizó la matriz con ambos marcadores (COI+Cytb), que incluyó 94 secuencias de *E. stigmata* y 20 de *E. uniforma*. También se incluyeron 14 secuencias de *E. bipunctata* que pertenecen al grupo *uniforma* y 12 secuencias de especies del subgénero *Macrobasis* (*E. arizonica*, *E. alastor*, *E. lauta* y *E. flagellaria*) y del subgénero *Epicauta* (*E. tricostata*, y *E. costata*). Las seis especies antes mencionadas fueron utilizadas como grupos externos en el análisis filogenético realizado. Se utilizó a uno de los ejemplares de *E. costata* para enraizar el árbol obtenido. Una lista con los ejemplares examinados, su asignación específica y localidad de recolecta se encuentra en el Anexo I.

Se empleó un modelo evolutivo distinto para cada marcador, seleccionándolo con el programa jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008). Para calcular el grado de ajuste de los modelos de sustitución se utilizaron los siguientes parámetros: Tres tipos de sustitución, modelos con asumieran la misma frecuencia y diferente frecuencia de bases (F+), modelos con proporción de sitios variables e invariables (I+) y modelos que asumen diferente tasa de variación y los que no (G+). Después de calcular los valores de verosimilitud para cada modelo se calculó la bondad de ajuste de los modelos a los datos. Se utilizó el criterio de corrección de Akaike en ambos marcadores, pues el cociente entre el tamaño de muestra (sitios) y el número de parámetros K fue menor de 40 (Posada y Buckley, 2004).

Una vez determinados los modelos evolutivos para cada marcador, se realizó una reconstrucción filogenética utilizando el método de inferencia Bayesiana. El análisis se realizó con el software Mr. Bayes v3.1.2 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003), con la matriz 'particionada' de acuerdo a los marcadores moleculares, asignando a cada partición el modelo evolutivo de mayor ajuste (GTR+I+G para COI y HYK+I+G para Cytb). Se corrieron dos cadenas de Markov de 15,000000 cada una, muestreando un árbol cada 1000 generaciones, guardando las longitudes de ramas y descartando el 25% de los árboles obtenidos como burn-in. El 75% de los árboles restantes fueron utilizados para construir un filograma con probabilidades posteriores para los clados, considerando un clado como significativamente apoyado si tenía un valor igual o superior a 0.95.

## **Diversidad genética**

Para medir la cantidad de variación genética en datos moleculares, se han propuesto los estimadores de diversidad haplotípica ( $h$ ), definido como la probabilidad de que dentro del conjunto de datos dos secuencias escogidas al azar sean diferentes; y la diversidad nucleotídica ( $\pi$ ), que se refiere al promedio de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias elegidas al azar (Nei, 1987). Los valores de  $h$  y  $\pi$  fueron obtenidos con el software Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) y fueron calculados para las matrices de cada marcador y la combinada.

## **Pruebas de neutralidad**

Bajo el supuesto de que el ADN mitocondrial es selectivamente neutro se han desarrollado pruebas estadísticas que permiten comparar si secuencias de poblaciones de una misma especie o de especies diferentes con un ancestro común cercanos se ajustan al modelo de evolución neutral (Ford, 2002; Depaulis *et al.*, 2003). Si hay desviaciones de dicho modelo éstas pueden ser interpretadas como evidencia de procesos no azarosos de selección (Perfectti *et al.*, 2009).

La prueba de Tajima (1989) compara el número de sitios polimórficos y la diversidad nucleotídica. Si no hay variación entre estos dos estimadores se infiere evolución neutral. Por otro lado, diferencias significativas indican algún tipo de selección. Si el estadístico D de Tajima es significativamente negativo sugiere

expansión poblacional o selección purificadora, mientras que un valor positivo denota selección balanceada o un cuello de botella.

Fu (1997) propone un estadístico que calcula la probabilidad de encontrar en una muestra al azar una cantidad de alelos similar o menor a la observada dada la diversidad, bajo el supuesto de neutralidad. Un valor negativo de  $F_s$  es evidencia de un número excesivo de alelos, mientras que un valor positivo es evidencia de deficiencia de alelos.

Las pruebas de neutralidad  $D$  de Tajima y  $F_s$  de Fu se llevaron a cabo para las matrices de los marcadores COI y Cytb por separado y la matriz concatenada usando el software Arlequin3.5 (Excoffier y Lischer, 2010), empleando para ello 1000 simulaciones.

### **Distribución *mismatch***

El análisis de la distribución de diferencias pareadas a partir de la comparación de secuencias (distribución *mismatch*) permite evaluar procesos de crecimiento o decremento poblacional, dado que éstos dejan firmas características en la distribución pareada de las diferencias nucleotídicas por sitio (Roger y Harpending, 1992). Al graficar los valores de *mismatch*, las poblaciones que hayan experimentado una reciente expansión demográfica presentaran una distribución unimodal, mientras que las que estén en equilibrio demográfico presentarán una curva multimodal. Los valores de la distribución *mismatch* para ambos marcadores y la matriz concatenada fueron

calculados y graficados con el software Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010) asumiendo el modelo de expansión poblacional. En el mismo programa se calculó el índice *raggedness* ( $r$ ) (Harperding, 1994) para evaluar la significancia estadística de las curvas de la distribución *mismatch* y poner a prueba una hipótesis de expansión poblacional. Si los valores son significativos, la población no se ajusta a un modelo de expansión y se acepta la hipótesis de crecimiento constante.

### **Red de haplotipos**

En una red, los haplotipos y las diferencias mutacionales entre los haplotipos se representan como nodos y conexiones respectivamente. Para construir la red se utilizó el programa TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000) que emplea el algoritmo de parsimonia estadística (Templeton *et al.* 1992) que estima el número máximo de diferencias pareadas entre secuencias que pueden atribuirse a una serie de mutaciones únicas en cada sitio de la secuencia (Vázquez-Domínguez *et al.* 2009). La red de haplotipos se construyó con un intervalo de confianza de 95%. Se hicieron redes para COI, Cytb y COI+Cytb. Las redes resultantes fueron guardadas en archivos .pict para después ser editadas en CorelDrawX6 y señalar en ella la distribución de las especies entre los haplotipos y los estados en los que se distribuye cada haplotipo.

### **Modelado de Nicho Ecológico**

Se realizó un análisis de modelado de nicho considerando las localidades de las colectas de este estudio y las localidades reportadas en bibliografía (Figura 2). Se obtuvieron las coordenadas geográficas de las colectas de la bibliografía utilizando el programa GoogleEarth (Google, Inc). Algunos puntos de colecta reportados en la bibliografía fueron descartados porque no se correspondían las localidades con los estados de referencia (Anexo II). Se hizo una Prueba de Similitud de Nicho, para determinar si las especies son o no similares ecológicamente y permite determinar si la distribución una especie no aporta ningún dato para predecir la distribución de otra (Warren, 2008; Martínez, 2010). La prueba utiliza datos aleatorios para determinar si el nicho de dos especies es similar a los esperado según las diferencias del background de cada especie, el background está dado por los datos ambientales de fondo (Warren y Turelli, 2009)

También se llevó a cabo un análisis *Linear Range Breaking*, este tipo de prueba sirve para indagar si los límites geográficos entre especies o poblaciones están asociados con variación ambiental (Warren *et al.*, 2010). En dos especies separadas por un límite lineal, se prueba si dicho límite se corresponde significativamente con un límite ambiental, para esto se genera una distribución de valores esperados de superposición al azar, al comparar esta distribución con los valores observados se puede determinar si los límites son o no similares a los esperado por azar (Glor y Warren, 2011).

Las pruebas utilizan los índices D e I de solapamiento de nicho, el índice D está basado en el índice de Schoener que cuantifica el solapamiento de nicho alimenticio y

microhabitat; el índice I se basa en la comparación de distribuciones de probabilidad. Estos índices pueden tener valores de 0 a 1, siendo 1 solapamiento total y 0 ningún solapamiento (Martínez, 2010).

Se generaron modelos de distribución geográfica de las especies *E. stigmata* y *E. uniforma* utilizando Maxent. Este programa genera los modelos a partir de los sitios de presencia y las variables climáticas a cada sitio de presencia estimando distribuciones idóneas a las condiciones ambientales de las localidades de ocurrencia (Phillips y Dudík, 2008).

Los análisis de Prueba de similitud de Nicho y *Linear Range Breaking* se llevaron a cabo con el programa ENMTools. (Warren *et al.*, 2010) implementando 500 réplicas y utilizando capas bioclimáticas disponibles en WorldClim (Hijmans *et al.*, 2005). Se utilizaron las capas de aquellas variables climáticas que tienen efecto sobre la distribución de los coleópteros (Gallego, 2004). No se utilizaron todas las capas disponibles para evitar sobreajuste de datos (Beaumont *et al.*, 2005). Las capas utilizadas fueron Bio1=Temperatura media anual, Bio4=Temperatura estacional (desviación estándar\*100), Bio5=Máxima temperatura del mes más caliente, Bio5=Mínima temperatura del mes más frío, Bio7=Rango de Temperatura anual, Bio12=Precipitación anual, Bio13=Precipitación del mes más húmedo, Bio14=Precipitación del mes más seco y Bio15=Precipitación estacional.

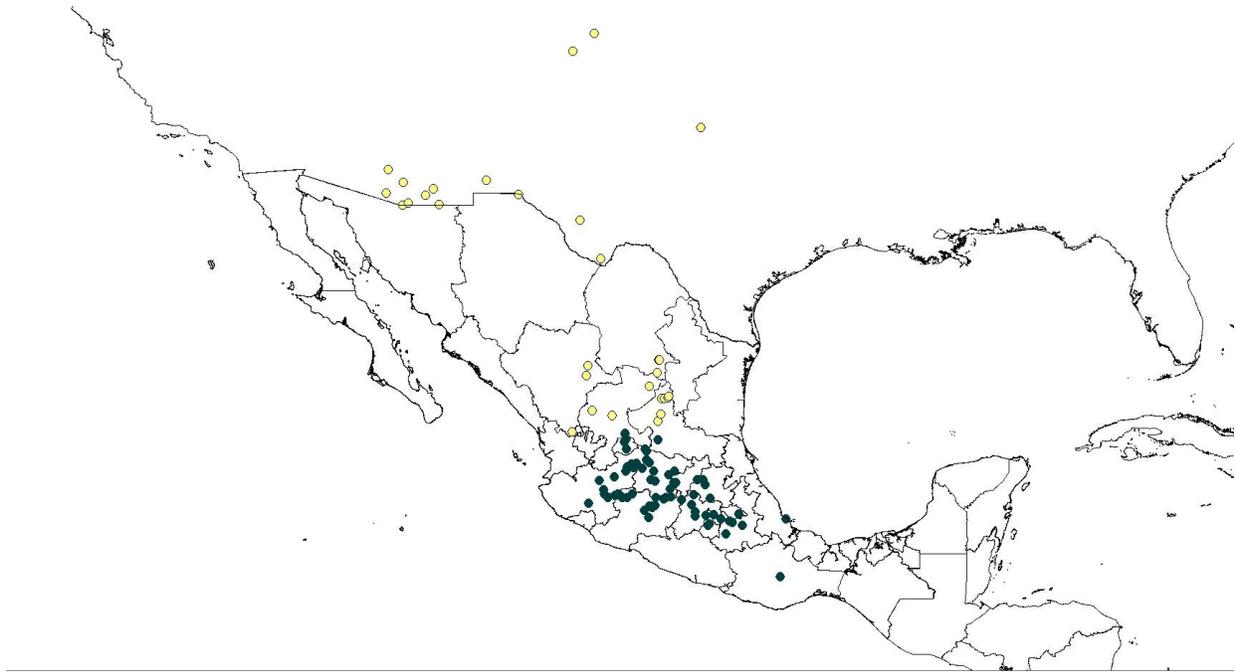


Figura 2. Localidades de distribución de *E. stigmata* (verde) y *E. uniforma* (amarillo).

## Resultados

### Distancias genéticas

La divergencia genética entre los ejemplares asignados a *E. stigmata* y *E. uniforma* es baja. En el caso del marcador Citocromo Oxidasa (Tabla 1), la variación no fue mayor al 1%. Para el marcador Citocromo b (Tabla 2) el promedio fue 2.1% de variación genética interespecífica. Los valores de variación intraespecífica para ambas especies fueron menores al 1.5%. La otra especie analizada del grupo *uniforma*, *E. bipunctata*, presenta altos valores de divergencia respecto a *E. stigmata* y *E. uniforma*, siendo de casi 20% para Cytb y 12.9% para COI. De las especies analizadas, las secuencias de *E. bipunctata* presentan mayor variación intraespecífica, siendo mayor en Cytb con 3.5% de variación promedio. La variación del grupo de *E. uniforma* es mayor con respecto a las especies de los subgéneros *Macrobasis* y *Epicauta*. Para insectos se ha propuesto un límite interespecífico de 3% de divergencia genética (Hebert *et al.*, 2003).

Tabla 1. Promedio de las distancias corregidas k2p para el marcador COI, desviación estándar entre paréntesis.

1	<i>E. stigmata</i>	0.2 (0.1)								
2	<i>E. uniforma</i>	0.4 (0.2)	0.3 (0.3)							
3	<i>E. bipunctata</i>	12.9 (0.3)	12.9 (0.5)	1.9 (3.3)						
4	<i>E. flagellaria</i>	12.9 (0.2)	13.0 (0.2)	14.8 (0.4)	0.3 (0.1)					
5	<i>E. arizonica</i>	15.3 (0.1)	15.3 (0.3)	16.3 (0.1)	11.1 (0.1)	0.6 (-)				
6	<i>E. lauta</i>	14.8 (0.1)	14.8 (0.4)	14.8 (0.7)	16.1 (0.2)	16.8 (0.1)	0.0 (-)			
7	<i>E. alastor</i>	14.9 (0.1)	14.9 (0.2)	15.9 (0.2)	13.4 (0.1)	13.7 (0.1)	13.8 (0.0)	-		
8	<i>E. tricotata</i>	14.9 (0.2)	15.0 (0.1)	14.4 (0.1)	13.2 (0.1)	15.1 (0.2)	14.5 (0.0)	14.7 (0.0)	0.0 (-)	
9	<i>E. costata</i>	15.7 (0.1)	15.8 (0.2)	15.9 (0.2)	16.0 (0.1)	16.5 (0.1)	16.5 (0.1)	12.9 (0.1)	12.2 (0.1)	0.1 (-)
		<i>E. stigmata</i>	<i>E. uniforma</i>	<i>E. bipunctata</i>	<i>E. flagellaria</i>	<i>E. arizonica</i>	<i>E. lauta</i>	<i>E. alastor</i>	<i>E. tricotata</i>	<i>E. costata</i>

Tabla 2. Promedio de las distancias k2p para el marcador Cytb, desviación estándar entre paréntesis.

1	<i>E. stigmata</i>	1.5 (1.7)								
2	<i>E. uniforma</i>	2.1 (0.6)	0.7 (0.08)							
3	<i>E. bipunctata</i>	19.8 (1.1)	19.4 (0.8)	3.5 (5.8)						
4	<i>E. flagellaria</i>	22.0 (0.4)	21.1 (0.7)	23.1 (1.3)	0.0 (0)					
5	<i>E. arizonica</i>	24.4 (0.4)	22.7 (0.8)	24.3 (0.4)	18.0 (0)	0.0 (-)				
6	<i>E. lauta</i>	31.2 (0.6)	30.0 (0.6)	27.5 (0.5)	21.5 (0.3)	21.3 (0.2)	0.3 (-)			
7	<i>E. alastor</i>	25.5 (0.3)	21.1 (0.0)	26.3 (0.4)	18.0 (0)	25.6 (0.9)	25.5 (0.3)	-		
8	<i>E. tricostrata</i>	24.9 (0.7)	2.32 (0.4)	23.4 (1.1)	22.1 (0)	19.3 (0.2)	25.5 (0.4)	20.7 (0.2)	0.3 (-)	
9	<i>E. costata</i>	21.1 (0.7)	21.2 (0.4)	27.6 (2.0)	19.9 (0)	24.7 (0.0)	29.3 (0.3)	23.3 (0.0)	23.4 (0.3)	0.0 (-)
	<i>E. stigmata</i>	<i>E. uniforma</i>	<i>E. bipunctata</i>	<i>E. flagellaria</i>	<i>E. arizonica</i>	<i>E. lauta</i>	<i>E. alastor</i>	<i>E. tricostrata</i>	<i>E. costata</i>	

## Reconstrucción filogenética

Se presenta el filograma obtenido con el método Bayesiano a partir de la matriz con las secuencias concatenadas de los marcadores Citocromo Oxidasa I y Citocromo b (Figura 3). En esta figura se presentan los valores de probabilidad posterior para cada rama y se indica en color verde a los individuos asignados a *E. stigmata* y en amarillo los individuos asignados a *E. uniforma*. En el árbol obtenido se puede observar que *E. stigmata* y *E. uniforma* no presentan monofilia recíproca, estando en cambio los ejemplares asignados a estos dos taxones mezclados dentro de un solo clado.

Se observa que las especies *E. stigmata*, *E. uniforma* y *E. bipunctata*, pertenecientes al grupo de *E. uniforma*, aparecen juntas en un clado con un valor de probabilidad posterior significativo. Se observa que uno de los especímenes

originalmente asignado a *E. bipunctata* presenta alta divergencia respecto a los demás ejemplares asignados a esta especie, la divergencia observada sugiere una diferenciación posiblemente de nivel específico, esta diferenciación también cuenta con un valor de probabilidad posterior significativo. Con valor de soporte no significativo aparecen *E. flagellaria* y *E. arizonica* como grupo hermano de las especies de grupo *uniforma*. Las especies del subgénero *Macrobasis* conforman un clado y en la base del árbol se encuentran las especies *E. costata* y *E. tricostrata* del subgénero *Epicauta*.

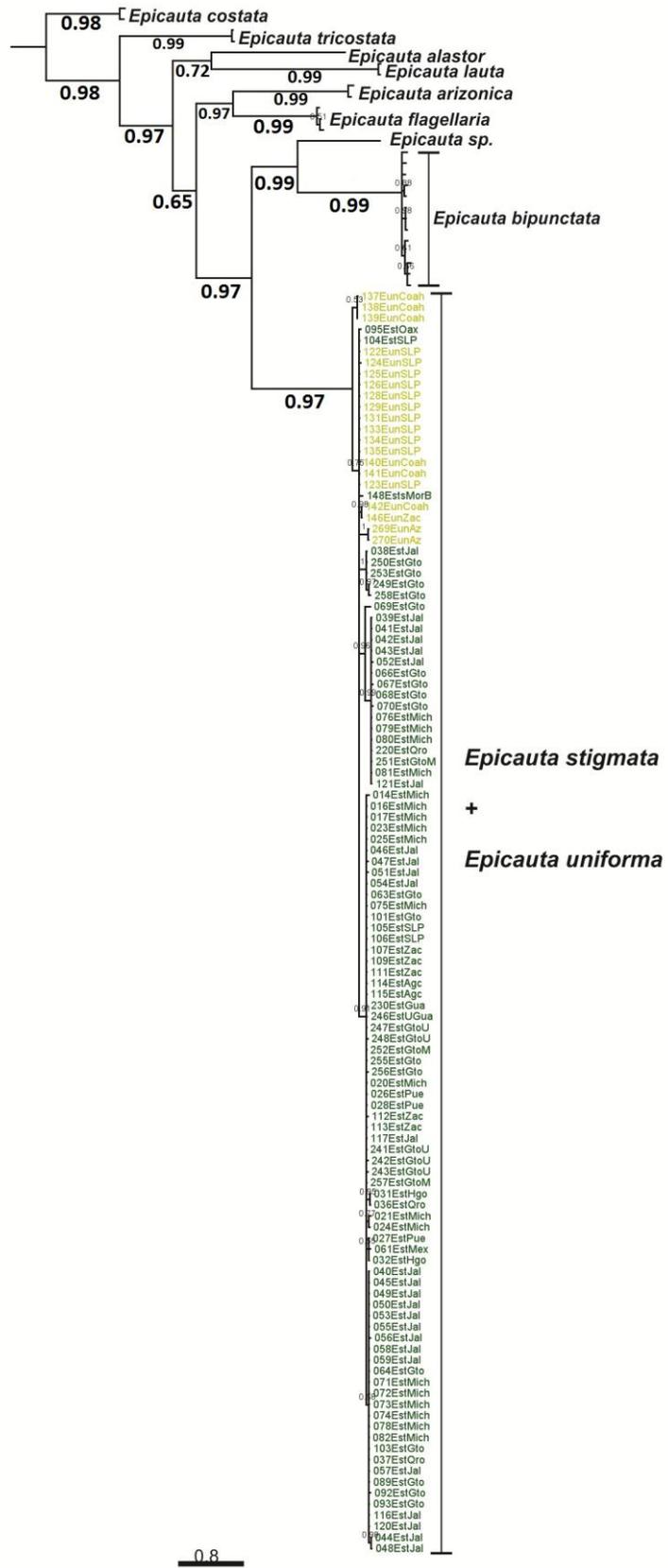


Figura 3. Filograma obtenido mediante inferencia bayesiana utilizando secuencias de COI y Cytb, indicando los valores de probabilidad posterior de las ramas.

### Diversidad Genética

Se presentan los valores de diversidad genética para matriz COI+Cytb (Tabla 3) y para las secuencias de cada marcador (Tabla 4). Los valores reportados son número de haplotipos ( $n$ ), variación haplotípica ( $h$ ) y variación nucleotídica ( $\pi$ ), los dos últimos con los respectivos valores de desviación estándar.

Tabla 3. Valores de diversidad genética de la matriz COI+Cytb

COI + Cytb			
	$n$	$h$	$\pi$
<i>E. stigmata</i>	29	0.8472 +/- 0.0241	0.00644 +/- 0.003438
<i>E. uniforma</i>	5	0.6263 +/- 0.1103	0.004109 +/- 0.002416

Tabla 4. Valores de diversidad genética de los marcadores COI y Cytb

	Citocromo Oxidasa I			Citocromo b		
	$n$	$h$	$\pi$	$n$	$h$	$\pi$
<i>E. stigmata</i>	18	0.8012 +/- 0.0262	0.00251 +/- 0.00167	14	0.5276 +/- 0.0573	0.014954 +/- 0.008274
<i>E. uniforma</i>	5	0.6263 +/- 0.1103	0.00302 +/- 0.002023	3	0.4263 +/- 0.1223	0.006414 +/- 0.004288

La matriz concatenada COI+Cytb y el marcador Citocromo Oxidasa I se obtienen altos valores de diversidad haplotípica  $h$  ( $>0.5$ ) y bajos valores diversidad nucleotídica ( $<0.5$ ), que según Grant y Bowen (1998) son evidencia de expansión poblacional después de un cuello de botella. Para el Citocromo b, hay evidencia de ese mismo escenario solo para *E. stigmata* ya que en *E. uniforma* los valores de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica son bajos, evidencia de un reciente cuello de botella o evento fundador.

### **Índices D de Tajima y Fs de Fu**

En las tablas 5, 6 y 7 se muestran los valores obtenidos para las pruebas de neutralidad D de Tajima (1989) y Fs (1997) de Fu para la matriz que incluye a COI+Cytb, así como los resultados para COI y Cytb de manera independiente. Se señala el valor del estadístico correspondiente y la significancia del mismo. Si las pruebas resultan no significativas, no se puede rechazar la hipótesis de evolución según el modelo neutral, si es significativa es indicio se rechaza dicha hipótesis y dependiendo del valor de D o Fs se plantean escenarios de selección o variaciones en el tamaño poblacional. Para ambos marcadores y especies la prueba de Tajima fue negativa, pero solo significativa en para *E. stigmata* usando el marcador COI. Los valores de Fs tuvieron valores negativos y significancia estadística para *E. stigmata* utilizando las matrices de COI y la concatenada.

Tabla 5. Valores de las pruebas de neutralidad para calculadas con la matriz de COI + Cytb; S significativo, NS No significativo.

COI+Cytb	D de Tajima		Fs de Fu	
Poblaciones	D	Significancia	Fs	Significancia
<i>E. stigmata</i>	-0.8427	NS P>0.05	-7.2966	S P<0.05
<i>E. uniforma</i>	-0.6285	NS P>0.05	2.7293	NS P>0.05

Tabla 6. Valores de las pruebas de neutralidad para el marcador COI; S significativo, NS No significativo.

COI	D de Tajima		Fs de Fu	
Poblaciones	D	Significancia	Fs	Significancia
<i>E. stigmata</i>	-1.5748	S P<0.05	-10.6917	S P<0.05
<i>E. uniforma</i>	-0.8633	NS P>0.05	0.5475	NS P>0.05

Tabla 7- Valores de las pruebas de neutralidad para el marcador Cytb; S significativo, NS No significativo.

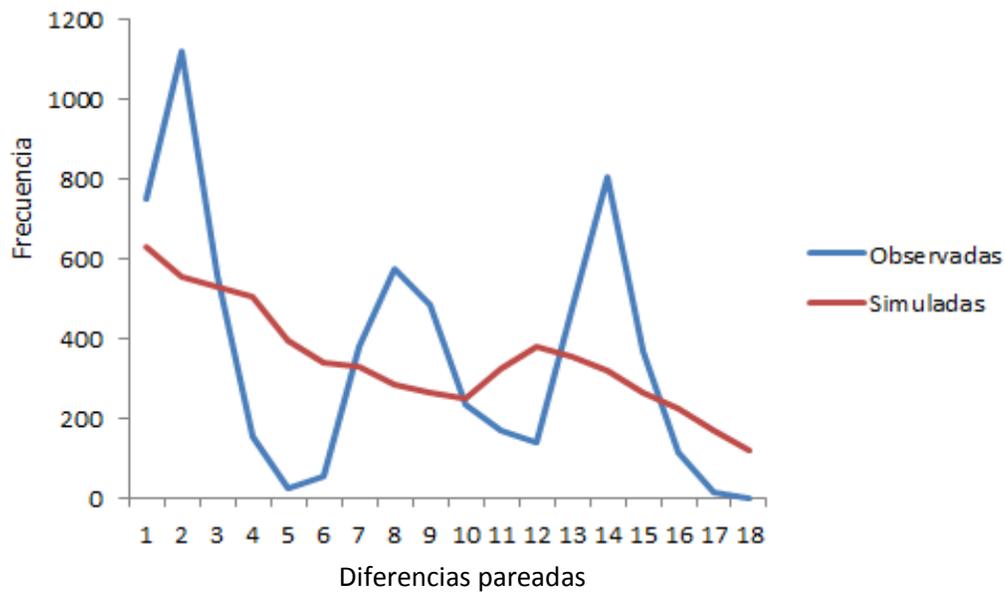
Cytb	D de Tajima		Fs de Fu	
Poblaciones	D	Significancia	Fs	Significancia
<i>E. stigmata</i>	-0.1254	NS P>0.05	0.19503	NS P>0.05

*E. uniforma* -0.2095 NS P>0.05 2.94202 NS P>0.05

---

### Curvas de distribución *mismatch*

Utilizando ambos marcadores, los valores de la distribución *mismatch* resultan en una curva multimodal (Figura 4).

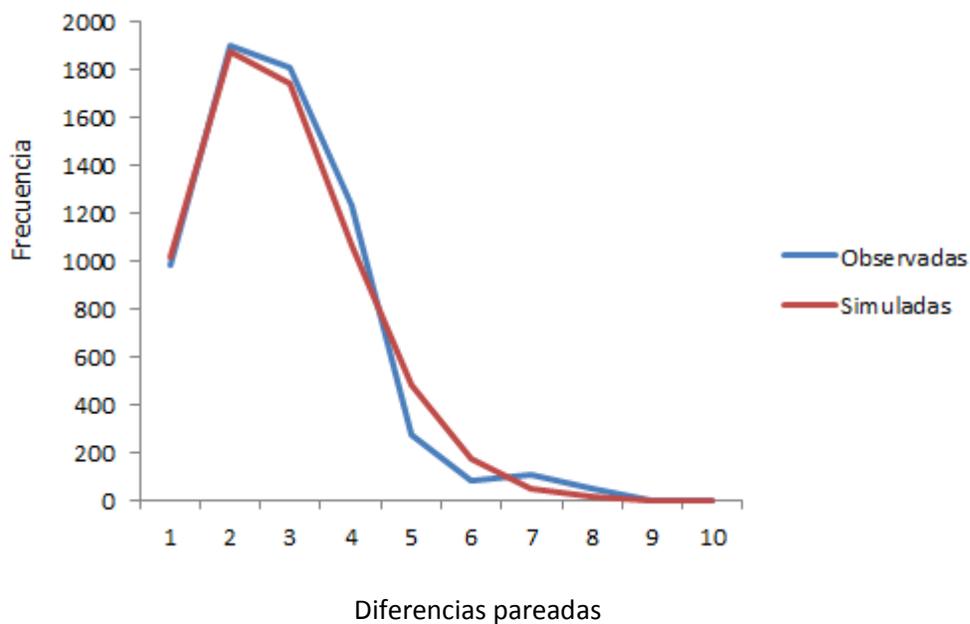


$r=0.0323$  No significativo  $P>0.05$

Figura 4. Distribución *mismatch* multimodal para la matriz COI+Cytb.

Al graficar los valores de la distribución *mismatch* calculados para un modelo de población en expansión y los valores calculados para el marcador mitocondrial

Citocromo Oxidasa I (Figura 5), se observa una curva que casi idéntica a los valores esperados. La curva de los valores de diferencias entre pares de secuencias del COI define una curva unimodal, que es congruente con un modelo de expansión (Harpending, 1994).



$r=0.0514$  No significativo  $P>0.05$

Figura 5. Distribución *mismatch* unimodal para el marcador COI.

Para el marcador molecular Citocromo b, la curva obtenida por los valores de la distribución *mismatch* resulta en una curva multimodal (Figura 6). Las curvas

multimodales son evidencia de poblaciones que se encuentran en equilibrio demográfico.

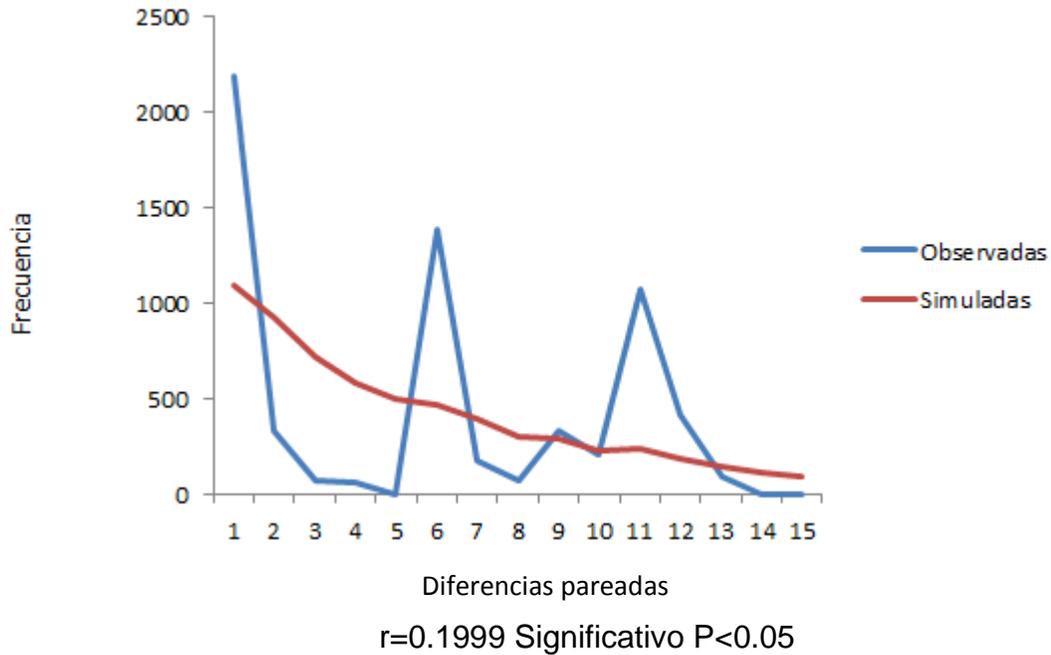


Figura 6. Distribución *mismatch* multimodal para el marcador Cytb.

El índice *raggedness* fue mayor en la matriz Cytb y para esta misma matriz hubo significancia estadística, para los datos de COI y Cytb+COI no hubo significancia estadística. Los valores no significativos de r permiten aceptar la hipótesis de expansión demográfica.

## Redes de haplotipos

Las redes de haplotipos para ambos marcadores fueron editadas de la siguiente manera: a) una en la que se hiciera evidente cuantos individuos de *E. stigmata* y *E. uniforma* pertenecen a cada haplotipo, y b) otra de forma que se pudiera observar la distribución geográfica de los haplotipos.

La red de haplotipos construida con las secuencias de ambos marcadores presenta una forma parecida a una estrella. Un haplotipo central muy frecuente y de amplia distribución del cual se han derivado haplotipos menos frecuentes y de menor distribución (Figura 7). No se observa un patrón particular de distribución geográfica de los haplotipos. Al señalar las especies pertenecientes a cada haplotipo (Figura 8) tampoco se observa un patrón particular, *E. uniforma* se encuentra inmerso en la red, incluso *E. uniforma* y *E. stigmata* comparten un haplotipo.

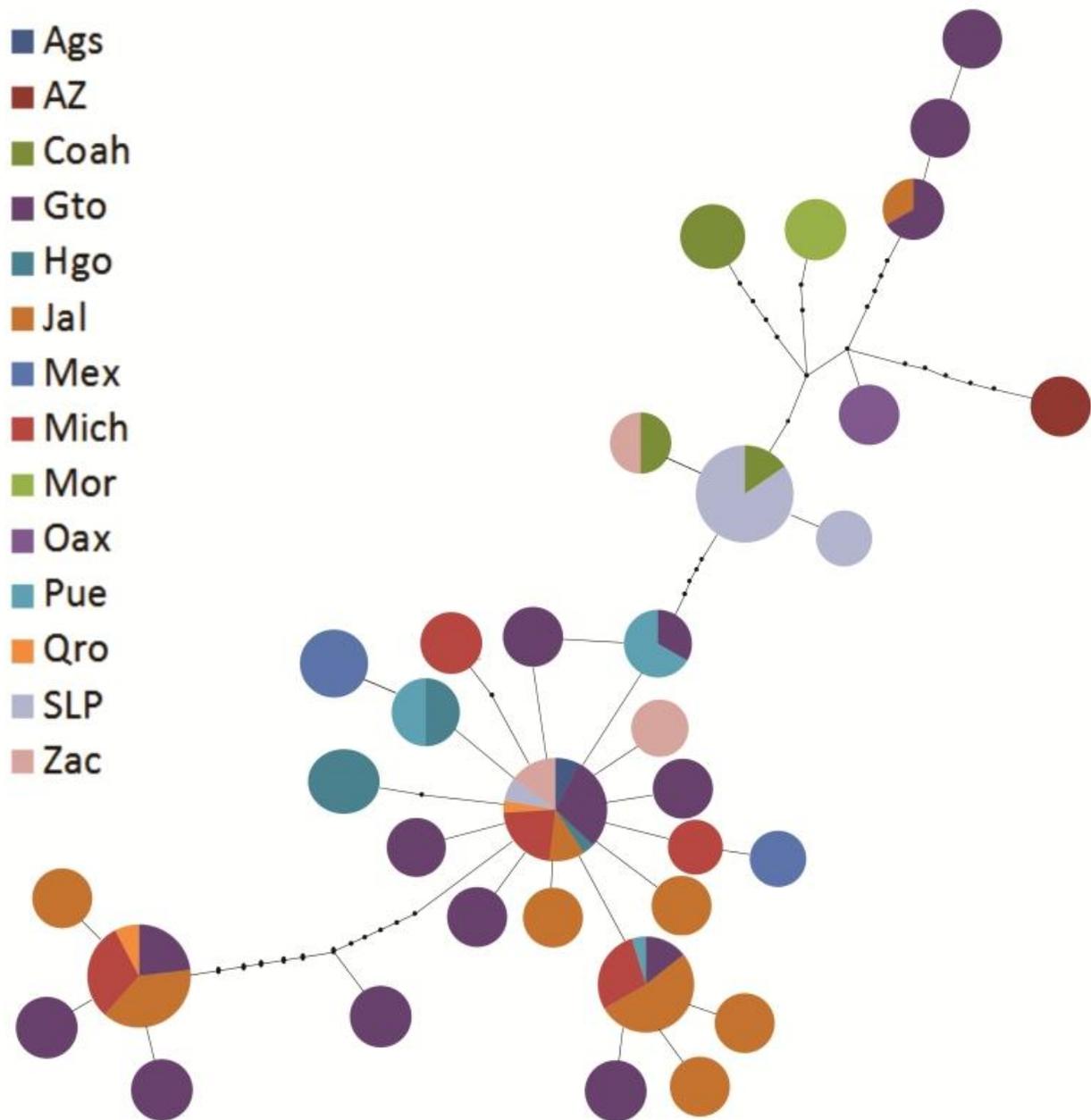


Figura 7. Red de haplotipos de las secuencias de COI+Cytb en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos (Ags, Aguascalientes; AZ, Arizona; Coah, Coahuila; Gto, Guanajuato; Hgo, Hidalgo; Jal, Jalisco; Mex, Estado de México; Mor, Morelos; Mich, Michoacán; Oax, Oaxaca; Pue, Puebla; Qro, Querétaro; SLP; San Luis Potosí; Zac, Zacatecas) .

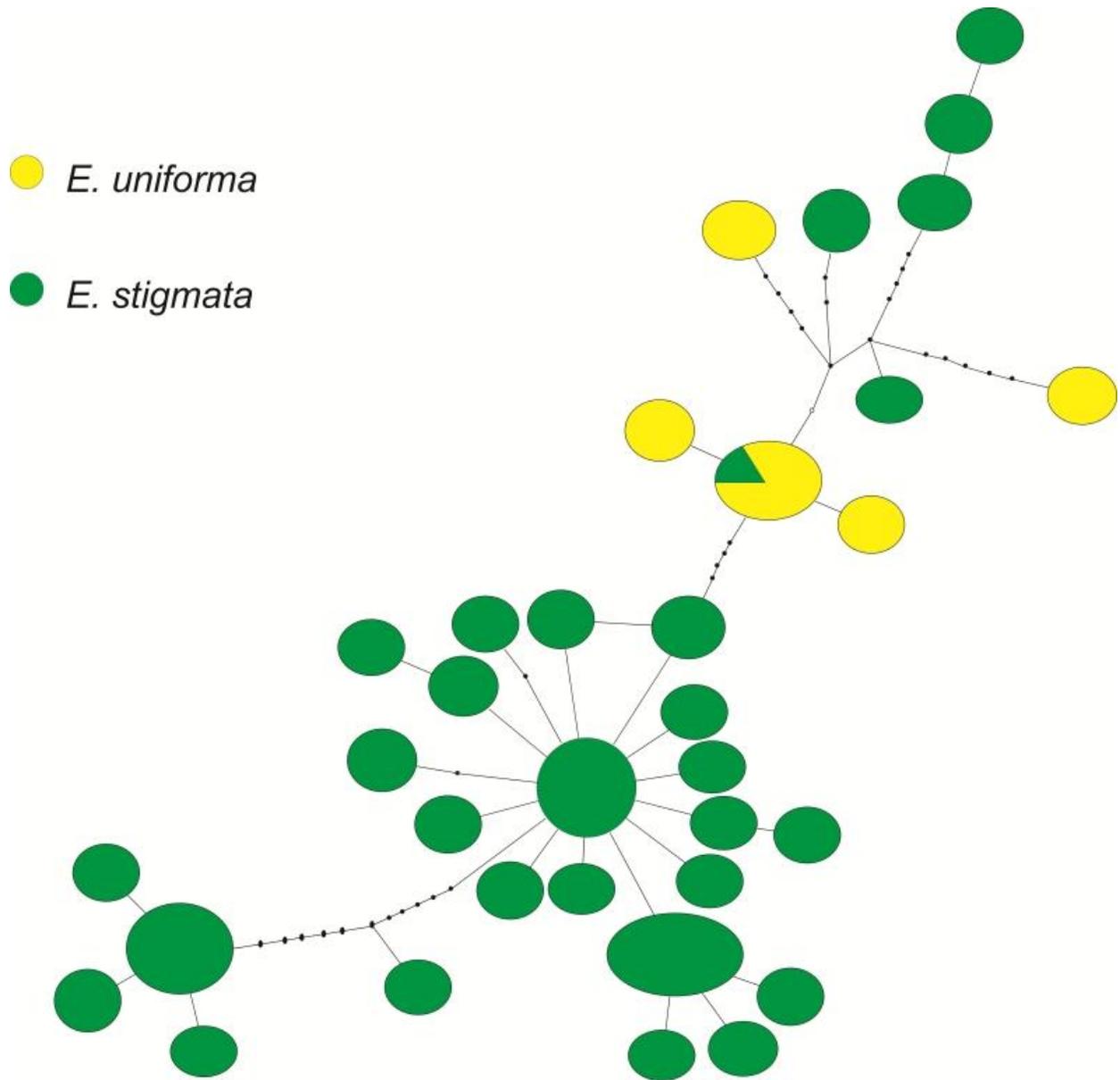


Figura 8. Red de haplotipos de las secuencias de COI+Cytb en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a *E. stigmata* y *E. uniforma*.

La red de haplotipos del marcador molecular COI tiene más definida la estructura tipo estrella, con un haplotipo central muy frecuente, del cual se derivan haplotipos menos frecuentes separados por pocos pasos mutacionales. Observando la distribución geográfica de los haplotipos, se registra que hay un haplotipo central de mayor frecuencia y ampliamente distribuido. Por otro lado, no hay un patrón evidente de distribución geográfica de los haplotipos aunque llama la atención un haplotipo separado por tres nodos que corresponde al estado de Arizona (Figura 9). En cuanto a la distribución de los haplotipos entre *E. stigmata* y *E. uniforma* se observa el mismo patrón de estrella, hay un haplotipo compartido por individuos de *E. stigmata* y *E. uniforma* y se observa un haplotipo que está separado de la red por tres nodos, a este haplotipo pertenecen especímenes asignados a *E. uniforma* distribuidos en Arizona, (Figura 10).

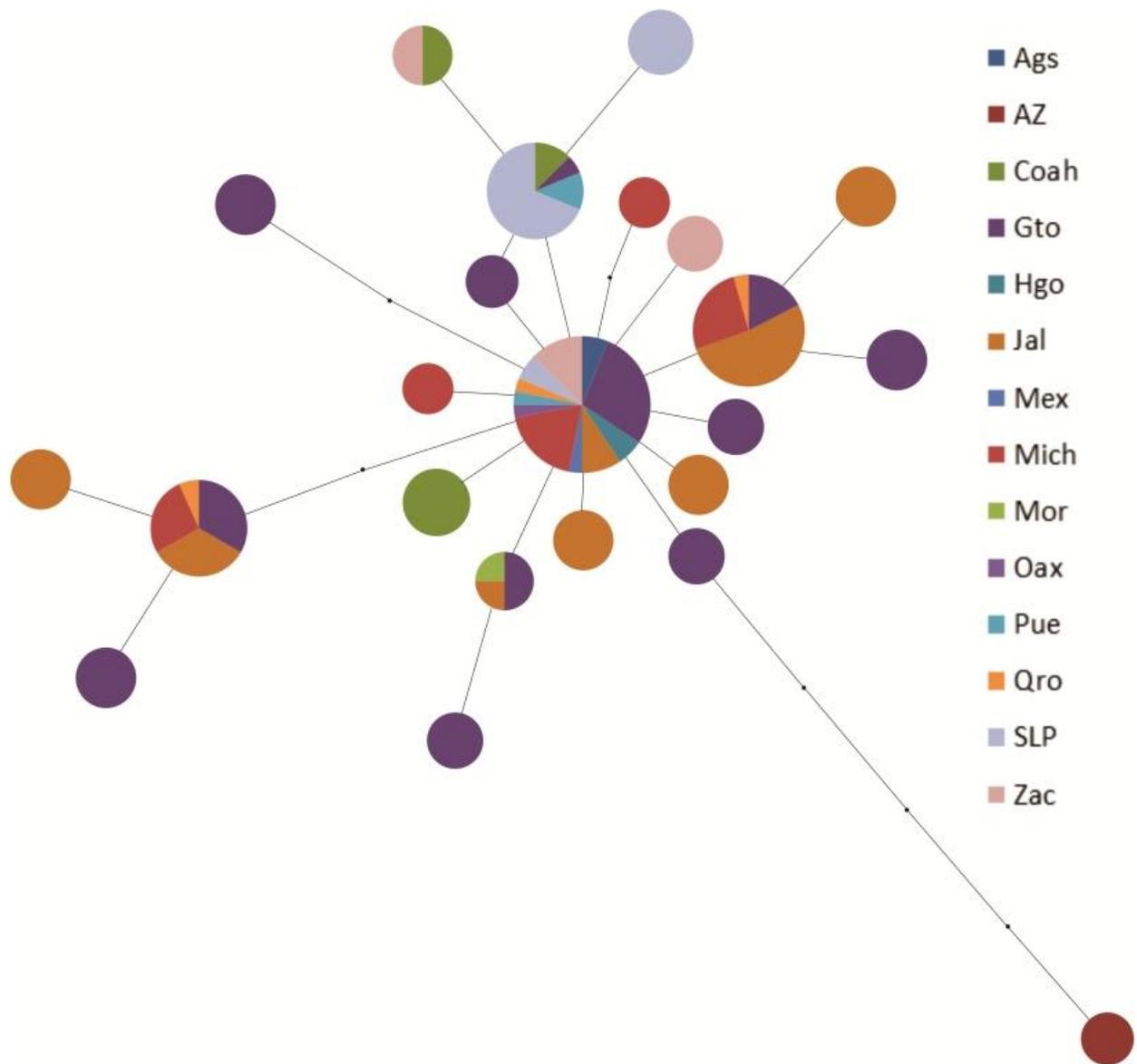


Figura 9. Red de haplotipos de las secuencias de COI en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos.

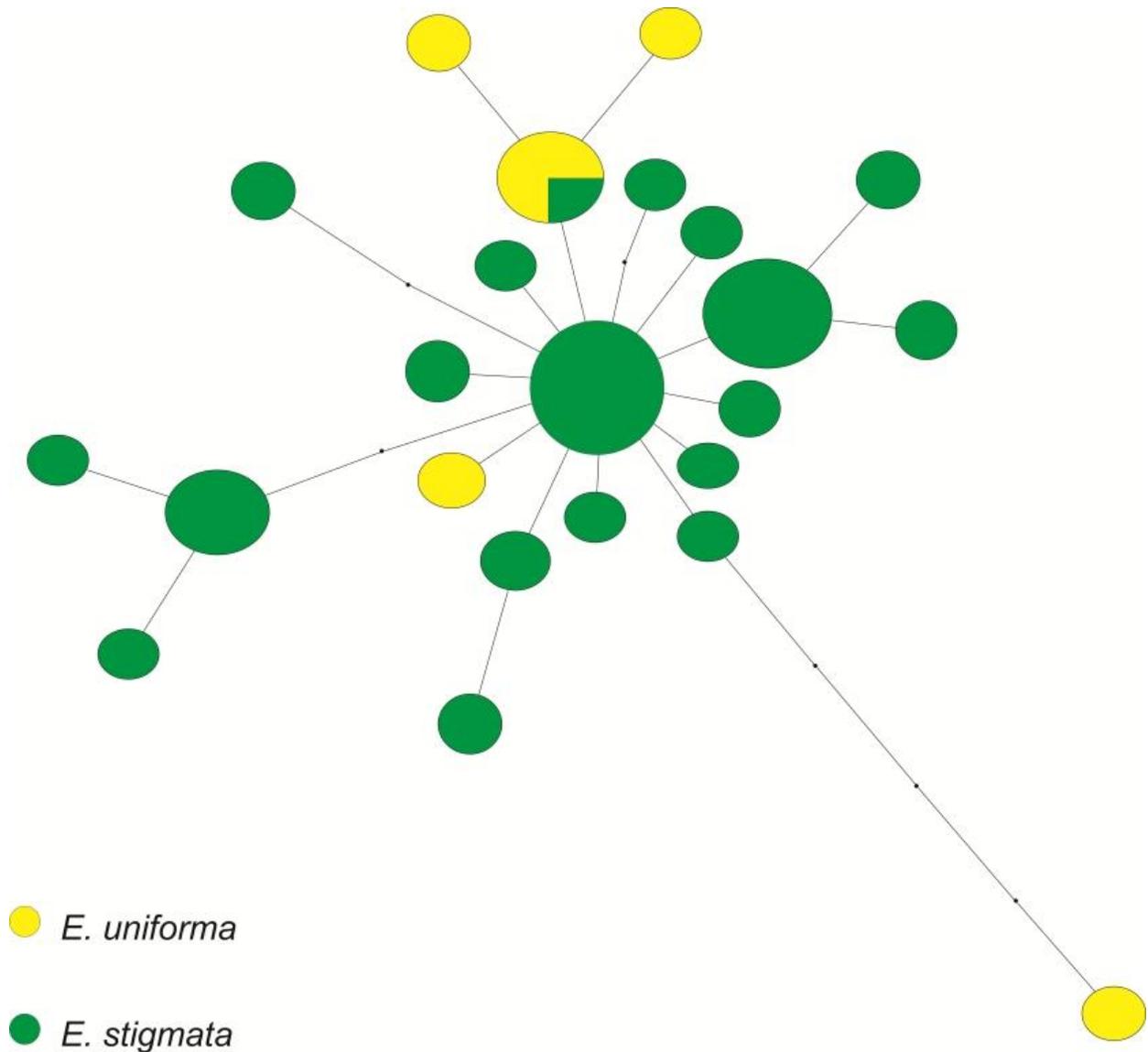


Figura 10. Red de haplotipos de las secuencias de COI en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a *E. stigmata* y *E. uniforma*.

En la red de haplotipos construida a partir del marcador molecular Citocromo b existe un haplotipo muy frecuente y de amplia distribución geográfica del cual derivan haplotipos menos frecuentes, y se observa que existen más haplotipos faltantes o

pasos que en el caso de la red de haplotipos del marcador molecular COI. Tampoco se puede inferir un patrón evidente de distribución geográfica de los haplotipos (Figura 11) o de los individuos de *E. uniforma* y *E. stigmata* (Figura 12).

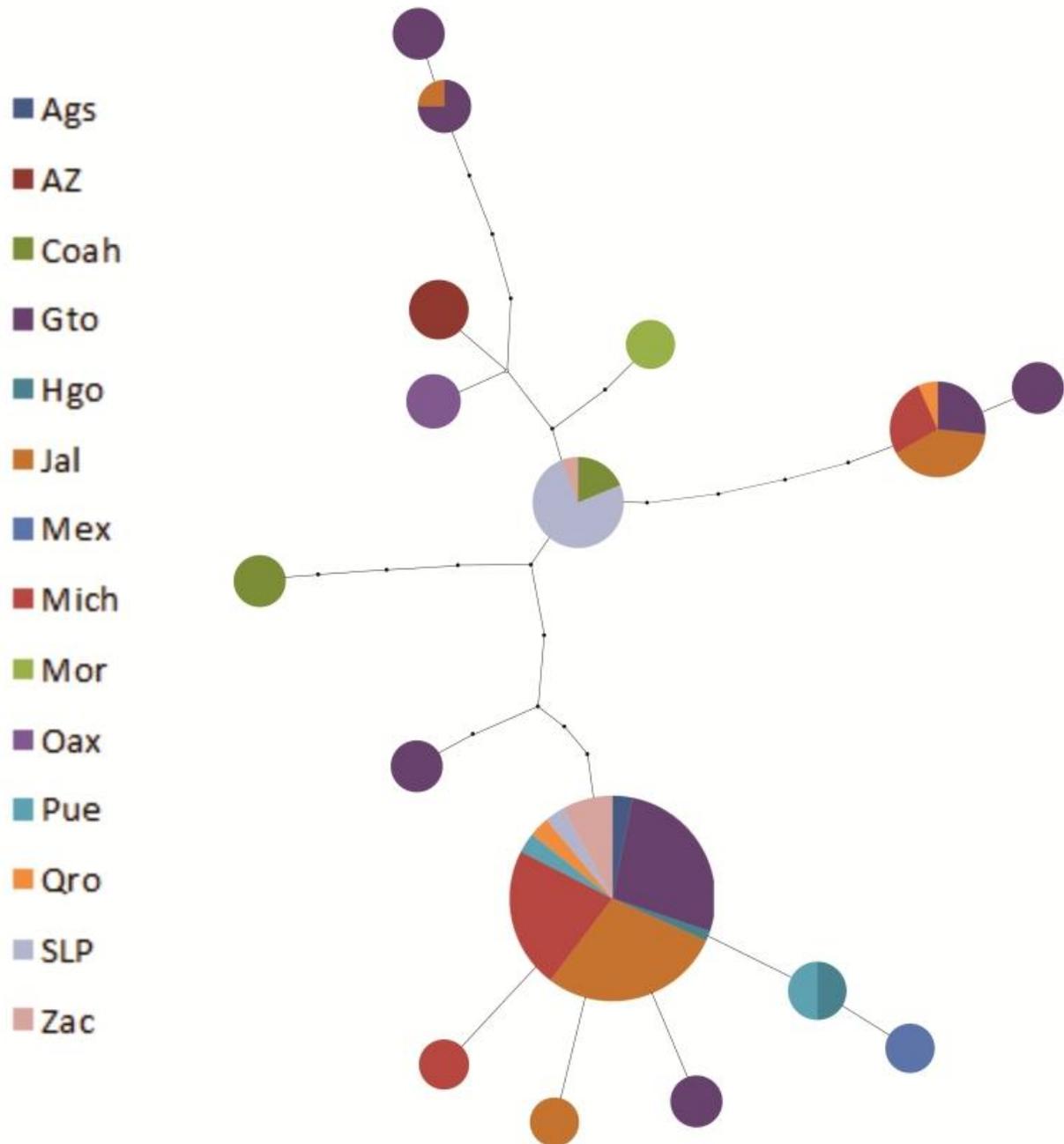


Figura 11. Red de haplotipos de las secuencias de Cytb en donde se señala el estado en que fueron colectados los individuos.

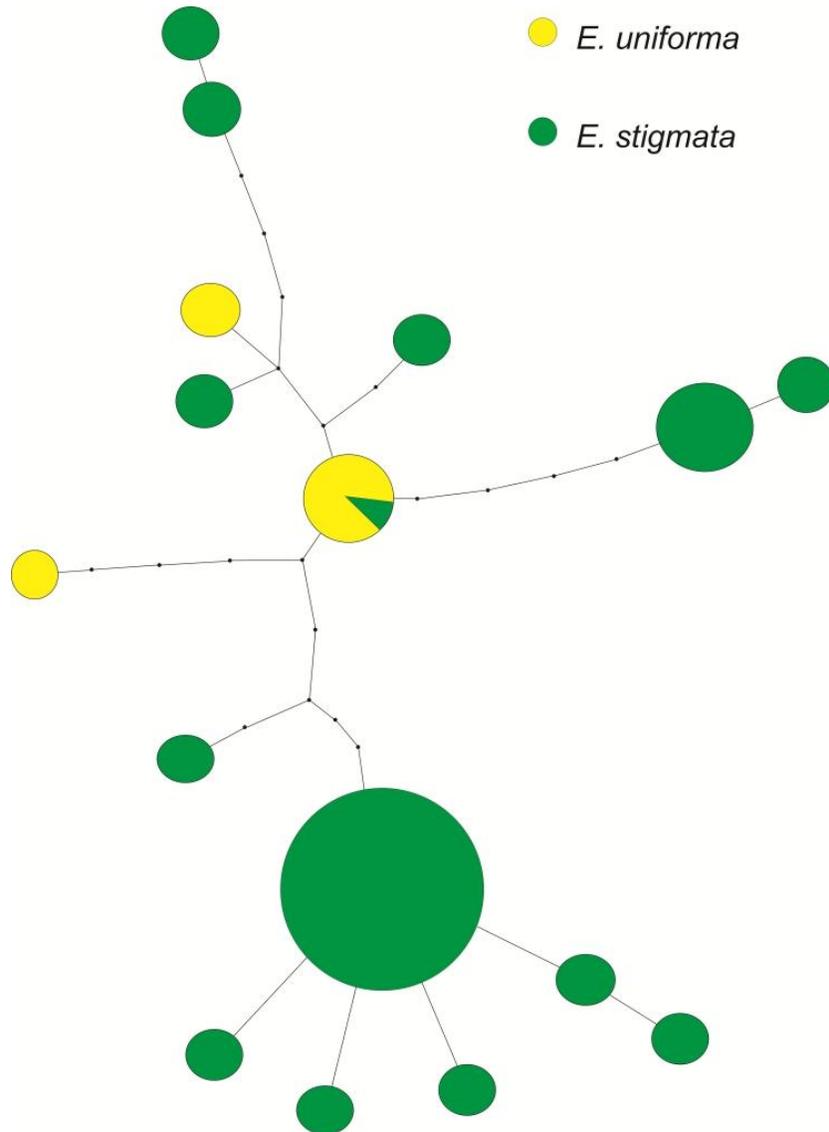


Figura 12. Red de haplotipos de las secuencias de Cytb en donde se señala en colores los individuos pertenecientes a *E. stigmata* y *E. uniforma*.

## Pruebas de modelado de nicho

Resultados de la prueba de divergencia o conservadurismo de nicho: los valores de similitud de nicho de los índices D (0.9138) e I (0.9494), señalados con las flechas rojas se comparan con distribuciones nulas (Figura 15) calculadas a partir de comparar recíprocamente los nichos de *E. stigmata* (Figura 13) y *E. uniforma* (Figura 14).

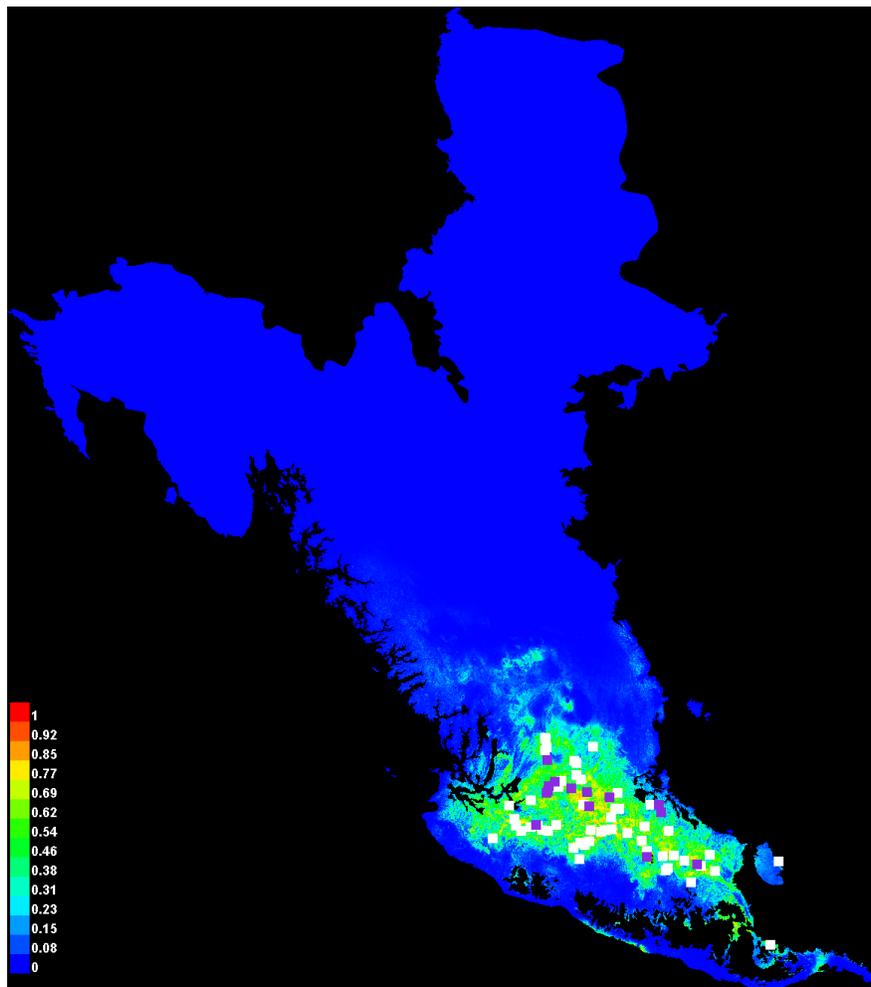


Figura 13. Modelo de nicho de *E. stigmata*. Los colores cálidos representan áreas con alta idoneidad de nicho. Los cuadros blancos son las localidades de presencia, los cuadros morados puntos de prueba.

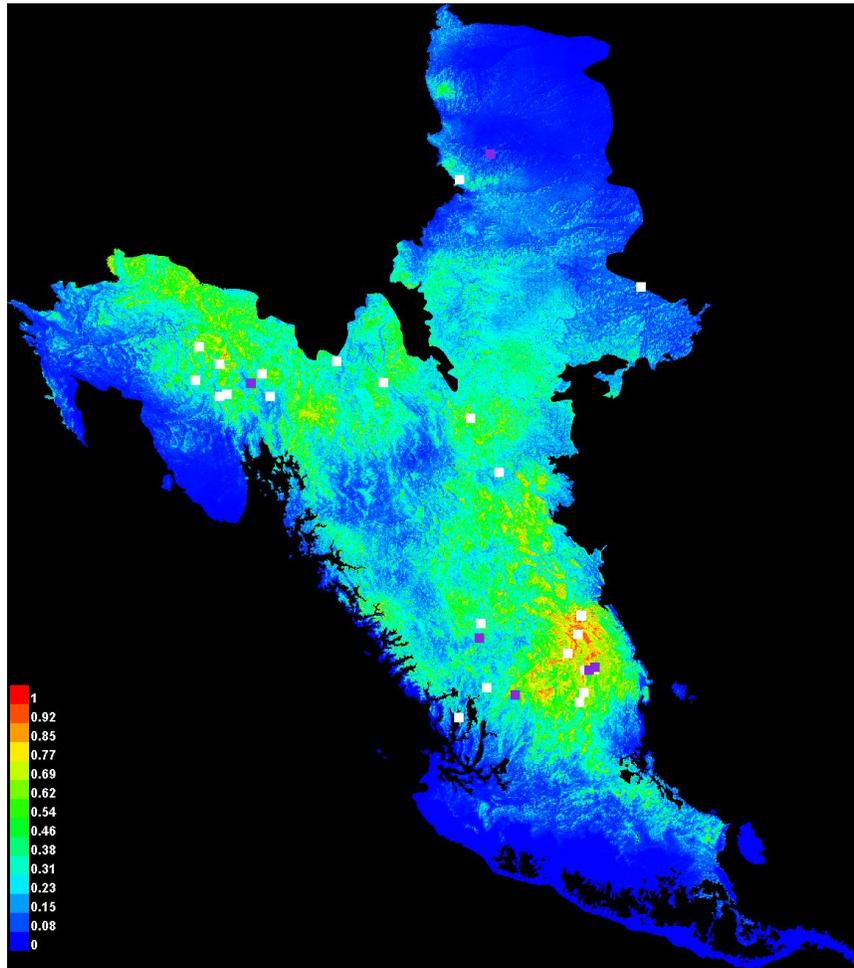


Figura 14. Modelo de nicho de *E. uniforma*. Los colores cálidos representan áreas con alta idoneidad de nicho. Los cuadros blancos son las localidades de presencia, los cuadros morados puntos de prueba.

Los valores de similitud de nicho son mayores que las distribuciones nulas lo que refiere a conservadurismo de nicho, es decir que los nichos son más similares entre sí que lo esperado por azar, esto es común en linajes de divergencia reciente. La prueba

resulta no significativa, por lo que se rechaza la hipótesis de que la distribución de *E. uniforma* no aporta ningún dato para predecir la distribución de *E. stigmata* y viceversa.

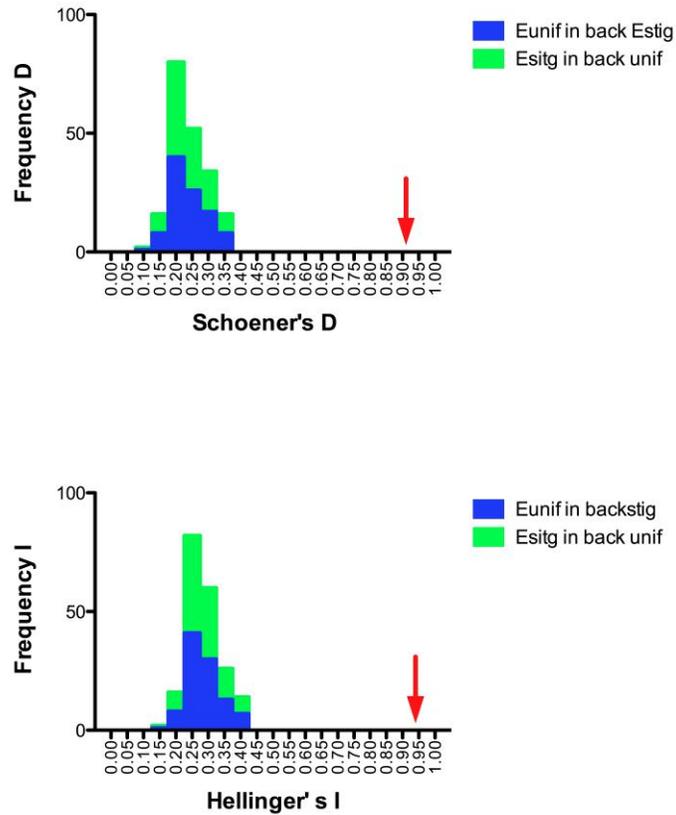


Figura 15. Histogramas de valores de distribución nula de la prueba de similitud de nicho y con flecha roja señalados los valores observados de los índices D e I.

En la prueba de *Linear Range Breaking* para *E. stigmata* y *E. uniforma* se calcularon mediante pseudoreplicas valores de distribución nula, estos valores de distribución nula se esperan para aquellos casos en los que los límites de distribución

de dos especies asociados al ambiente no son más diferentes entre sí que lo esperado por azar. Los valores de los índices D (0.153472) e I (0.350106) quedan dentro de los valores de distribuciones nulas calculadas para ambos índices a partir de (Figura 16), es decir los límites de las distribuciones de *E. stigmata* y *E. uniforma*, en relación a las variables ambientales, no son más diferentes a lo que se esperaría por azar. Este resultado está apoyado por un valor de significancia  $P < 0.01$ .

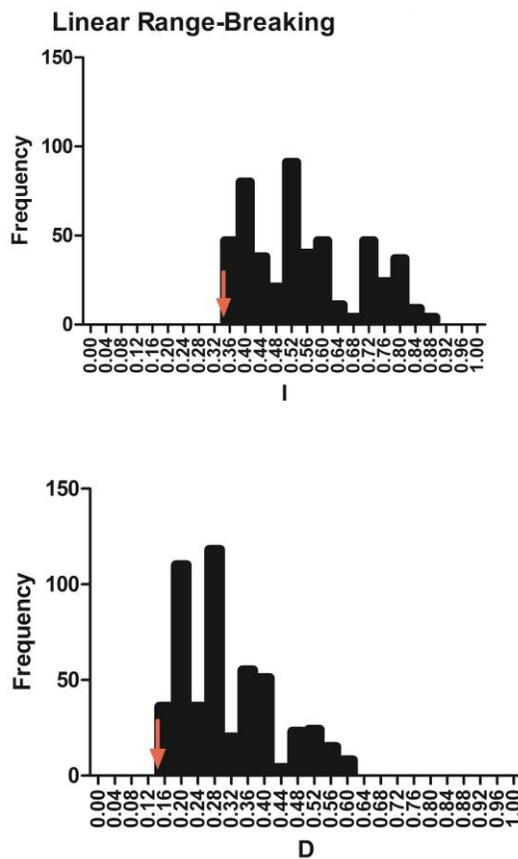


Figura 16. Histogramas de los valores de distribución nula de la prueba de linear range breaking y señalados con flecha roja valores observados los índices D e I.

## Discusión

### Estatus taxonómico de *E. stigmata* y *E. uniforma*

Hasta hace relativamente poco tiempo, la clasificación de los organismos y el estudio de las relaciones y diversificación de estos se basaba principalmente los caracteres morfológicos. No obstante, se ha encontrado que la plasticidad de los caracteres morfológicos puede plantear problemas en los estudios de sistemática (Dzwillo, 1984; Schmelz, 1996).

Con el desarrollo de la biología molecular se ha logrado incorporar otro tipo de datos que complementan los estudios en sistemática. Este tipo de datos ha permitido poner a prueba las hipótesis de relaciones específicas derivadas de caracteres morfológicos (Wiens y Penkrot, 2002). En insectos, por ejemplo, la asignación específica de moscas del género *Culicoides*, usando caracteres morfológicos, es congruente con lo obtenido en estudios con información de marcadores moleculares (Nielsen y Kristensen, 2011). Por otro lado se han encontrado especies crípticas no reveladas por los datos morfológicos, como el caso de la mariposa *Astraptes fulgerator* que resultó ser un complejo de diez especies (Hebert *et al.*, 2004).

En el árbol de inferencia bayesiana se observó que las especies nominales *E. uniforma* y *E. stigmata* no presentan una monofilia recíproca, ya que los ejemplares examinados se encuentran mezclados dentro de un clado. Esto en combinación con la baja divergencia genética observada dentro del clado, confirma que todas las poblaciones examinadas de ambos taxones en realidad representan una sola especie,

*E. stigmata*, de la cual la especie nominal *E. uniforma* **syn. nov.** es sinónimo y representa una variante geográfica (Werner, 1958).

Las relaciones reconstruidas en el análisis filogenético con las especies disponibles del grupo de *Epicauta uniforma* indican que este es monofilético. No obstante, hace falta incluir en un estudio filogenético posterior a las restantes especies del grupo con el fin de confirmar la monofilia de este grupo.

En la reconstrucción filogenética los 14 ejemplares incluidos de *E. bipunctata*, especie perteneciente al grupo de *E. uniforma*, se recuperan en un mismo clado, pero uno de los especímenes proveniente de Puebla aparece en la base de este clado alejado del resto de los ejemplares de *E. bipunctata* por una longitud de rama considerablemente larga. Dicho ejemplar es una hembra que originalmente se asignó a *E. bipunctata* ya que se encontró en la misma localidad que varios machos de esta última especie. La reconstrucción filogenética obtenida y la considerable divergencia genética de los dos genes examinados (COI 10.2%; Cytb 18.0%) indican que existen dos especies en dicha localidad, *E. bipunctata* y otra especie no identificada representada por la hembra antes mencionada. Recolectas posteriores de machos permitirán identificar a esta última especie o confirmar si representa una especie no descrita.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los dos fragmentos genéticos secuenciados muestran información filogenética útil para poder distinguir a las especies del género *Epicauta*. Los valores de divergencia genética intraespecíficos no fueron mayores a 2%, mientras que entre especies la divergencia resultó amplia, de más del

10% para COI y más de 18% para Cytb. Estos valores de divergencia reflejan que los marcadores usados pueden utilizarse para asignar especies a los especímenes hembra, de las cuales no hay claves taxonómicas y se asignan por asociación con los machos. El uso de marcadores moleculares para asignar especie en grupos donde los caracteres diagnósticos están en uno solo de los sexos ya se ha probado con éxito en otros órdenes de insectos, incluyendo avispas (Xiao *et al.*, 2010) y hormigas (Bond *et al.*, 2012).

### **Historia demográfica**

Grant y Bowen (1998) propusieron que la combinación de los valores de la diversidad haplotípica y nucleotídica da cuenta de la historia demográfica de las poblaciones. Estos autores propusieron cuatro interpretaciones para los valores de  $h$  y  $\pi$ : valores pequeños de  $h$  y  $\pi$  ( $<0.5$  y  $<0.5\%$  respectivamente) representan un población que recién paso por un cuello de botella o evento fundador para uno o varios linajes de ADN mitocondrial. Valores altos de  $h$  y pequeños de  $\pi$  son atribuibles a un cuello de botella seguido de una expansión rápida con acumulación de mutaciones. Valores bajos de  $h$  y altos de  $\pi$  caracterizan a poblaciones con algunos haplotipos altamente diversos, esto es característico de poblaciones subdivididas geográficamente. Por otra parte, si los valores de  $h$  y  $\pi$  son grandes ( $\geq 0.5$ ), éstos pertenecen a grandes poblaciones estables con una larga historia evolutiva o poblaciones con contacto secundario después de haber pasado por procesos de diferenciación alopatrica.

De acuerdo con la interpretación sugerida por Grant y Bowen (1998), los valores de diversidad haplotípica y de diversidad nucleotídica sugieren que las todas las poblaciones de *E. stigmata* han pasado por un proceso de expansión poblacional o selección purificadora, escenario que se recupera para al analizar la matrices de ambos marcadores y la del marcador COI. En el caso del marcador molecular Cytb, para las poblaciones de la especie nominal *E. stigmata* hay evidencia de una rápida expansión poblacional, mientras con este marcador las poblaciones de la especie nominal *E. uniforma* tuvieron valores de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica bajos, que se ajustan a un escenario de cuello de botella reciente o efecto fundador para uno o algunos linajes.

Si bien se trata de valores descriptivos, los valores de diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica han servido para delinear la historia demográfica de las poblaciones. Se ha encontrado de manera consistente que valores altos de diversidad haplotípica están relacionados con expansión poblacional. Esto se ha probado para diferentes grupos de animales, incluyendo peces (Liu *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2008), mamíferos (Chen *et al.*, 2006) reptiles (Thacker, 2004) e insectos (Sezonlin *et al.*, 2006). Por otro lado, la interpretación de  $h$  y  $\pi$  también se ha usado para determinar historias demográficas de poblaciones estables durante mucho tiempo (Garber *et al.*, 2005; Chiang *et al.*, 2006).

A partir de los indicadores de diversidad haplotípica ( $h$ ) y diversidad nucleotídica, ( $\pi$ ) se puede sugerir que las poblaciones de *E. stigmata* han experimentado un cuello de botella y que parte de ellos han pasado por un periodo de expansión poblacional.

La prueba de neutralidad de Tajima resultó negativa para las poblaciones de las especies nominales de *E. uniforma* y *E. stigmata*, pero solo fue significativa para esta última con el marcador molecular COI. Una prueba particularmente sensible para eventos de expansión poblacional es la de  $F_s$  de  $F_u$ , que resultó negativa y estadísticamente significativa para las poblaciones asignadas a la especie nominal *E. stigmata* utilizando COI y COI+Cytb. En los demás casos, los valores de  $F_s$  fueron positivos pero no significativos por lo que no se puede rechazar la hipótesis de evolución neutra. Los resultados de las prueba de Tajima y  $F_u$  sugieren que en la poblaciones de la especie nominal *E. stigmata* hay un exceso de haplotipos con respecto a los que se esperaría hubiera bajo selección neutral, por lo que hay evidencia de expansión poblacional.

En diversos estudios se han obtenido curvas unimodales para distribución *mismatch* que corresponden a eventos de reciente expansión poblacional (Walton, *et al.*, 2000; Debes *et al.*, 2008). Para nuestros datos hay evidencia de un evento de expansión poblacional para las secuencias de COI, mientras que para Cytb se obtiene una curva multimodal, propia de poblaciones en equilibrio (Ray *et al.*, 2003). De acuerdo con lo descrito por Harpending, (1994) y Ramos-Onsins y Rozas (2002) los valores del índice *raggedness* resultan mayores en las distribuciones *mismatch* con curvas multimodales y menores en la curvas unimodales. Si el índice *raggedness*, bajo un modelo de expansión poblacional, es no significativo se acepta la hipótesis de expansión poblacional, como sucede en los datos de COI y Cytb+COI.

Los datos derivados de diversidad haplotípica y nucleotídica, pruebas de neutralidad, junto con la distribución *mismatch* e índice *raggedness* no significativo para COI dan evidencia de un escenario de expansión poblacional en las poblaciones de la especie nominal *E. stigmata*, escenario que también es inferido por la prueba  $F_s$  y los valores de  $h$  y  $\pi$  utilizando ambos marcadores COI+Cytb. Los datos de  $h$  y  $\pi$  para el marcador Cytb sugieren un escenario de expansión para para las poblaciones de la especie nominal *E. stigmata* y de cuello de botella o efecto fundador para las poblaciones de la especie nominal *E. uniforma*, las pruebas estadísticas de Tajima y Fu no rechazan la hipótesis de evolución neutral y la curva multimodal de la distribución *mismatch* sugiere una población en equilibrio. La significancia estadística para del índice *raggedness* para Cytb permite rechazar la hipótesis de expansión poblacional.

### **Redes de haplotipos**

Las redes de haplotipos obtenidas a partir de los marcadores moleculares concatenados y por separado asemejan una red tipo estrella. Se ha observado que este tipo de estructura de la red de haplotipos está relacionada con poblaciones que han pasado por un proceso de expansión poblacional (Miroi, 2008; Plouviez *et al.*, 2009).

Los haplotipos faltantes se representan como pequeños círculos y pueden dar cuenta de haplotipos que se han extinguido y también de haplotipos faltantes por un tamaño pequeño de muestra o muestreo sesgado geográficamente (Vázquez-

Domínguez, *et al.* 2009). Por ejemplo en la red de haplotipos obtenida con el marcador molecular COI se observa un haplotipo separado por tres nodos del haplotipo central, se trata de un haplotipo de una población de Arizona, esos pasos podrían representar haplotipos intermedios que no aparecen por falta de muestreo al no haber colectas de en regiones de Sonora, Chihuahua y Coahuila.

En la red de haplotipos construida con las secuencias de Cytb encontramos una estructura tipo estrella, aunque menos definida que con COI, además se observa un mayor de pasos o haplotipos faltantes entre el haplotipo central y los derivados. Como se ha mencionado puede deberse a la extinción de dichos haplotipos, a un tamaño de muestra pequeño o un muestreo sesgado geográficamente. Las secuencias de esta red de haplotipos son de las mismas localidades e individuos que la red de haplotipos de COI, por lo que es posible que se refleje el sesgo geográfico entre las secuencias de Arizona y el resto de las secuencias. Por otro lado, el aumento del número de haplotipos faltantes se puede explicar por una mayor variación de Cytb (Tobe *et al.*, 2010), de forma que la muestra no es lo suficientemente grande para observar la diversidad total de haplotipos, situación que también se observa en la red con la matriz concatenada.

En las redes de haplotipos no se puede observar ningún patrón evidente diferente al tipo estrella de distribución geográfica de los haplotipos. Tampoco se observa un patrón entre los haplotipos y la asignación a las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma*. Es de esperarse que si estos dos taxones hubieran pasado por un proceso de especiación encontraríamos un patrón coherente entre la distribución de

la variación genética y la distribución geográfica de los especímenes asignados a las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma*. Por lo tanto, las redes de haplotipos reconstruidas también confirman la coespecificidad entre los taxones arriba mencionados.

La diferencia entre las historias demográficas inferidas entre diferentes marcadores moleculares se deben a que los marcadores pueden presentar patrones discordantes de evolución (Wiens *et al.*, 2010; Beltran *et al.*, 2002), los cuales pueden deberse a tasas de mutación variables entre *loci*, asociación con un carácter adaptativo o por eventos estocásticos (Nosil *et al.*, 2009). Se debe tener en cuenta que los datos tienen cierto sesgo geográfico en el muestreo de individuos asignados a *E. uniforma*, ya que son menos que los individuos colectados de la especie nominal *E. stigmata*. Este sesgo pudiera haber afectado los valores de diversidad haplotípica y genética, por lo que la interpretación de dichos valores deberán estar sujetos a confirmación. Incluso la baja diversidad haplotípica encontrada en los ejemplares de *E. uniforma* con *Cytb* puede ser atribuible al sesgo geográfico que en combinación con la mayor tasa de sustitución del marcador subestimaría la diversidad genética.

En las poblaciones de *E. stigmata* hay coherencia entre la variación fenotípica y su distribución geográfica disyunta. Las poblaciones asignadas a *E. uniforma* por la coloración del café cenizo de la pilosidad de los élitros se distribuyen invariablemente en los estados mexicanos de Zacatecas, Coahuila, Sonora, Chihuahua, Sonora, Durango y San Luis Potosí hacia el sur de los Estados Unidos de América, a los estados de Arizona, Colorado y Texas. Por otro lado, las poblaciones con la pilosidad

de los élitros color blanquinegro, gris o dorado, asignados a la especie nominal *E. stigmata* se distribuyen en los estados del centro de México: Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro y parte de San Luis Potosí y Zacatecas. Teniendo en cuenta esta paridad entre variación morfológica, asignación específica y distribución geográfica, podemos retomar los resultados de las redes de haplotipos y afirmar que la variación morfológica de *E. stigmata* no está asociada a la distribución de la variación genética en las poblaciones.

### **Similitud de nicho y límite de distribución**

Los análisis de modelado de nicho mostraron que los nichos que ocupan las poblaciones asignadas de las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma* son más similares entre sí que los esperado por azar, tal como se espera de grupos de muy reciente divergencia (Peterson *et al.*, 1999), o en este caso, un mismo taxón. Por otro lado, en la prueba de *Linear Range Breaking* se encontró que la distribución disyunta de los taxones no está asociada a las variables ambientales en mayor o menor medida que lo esperado por azar.

En otros organismos se ha logrado explicar la distribución geográfica utilizando variables climáticas (Beaumont *et al.*, 2005; McKenney *et al.*, 2007). Es este caso los datos nos indican que las variables climáticas parecen no influir en la distribución de *E. stigmata*. Esto deja una pregunta interesante, pues *E. stigmata* es una unidad evolutiva

que muestra plasticidad fenotípica que se corresponde con la distribución geográfica, pero no con la distribución geográfica de su variación genética. Quizá la variación morfológica pueda estar influida por otros factores que convendría analizar. En tetrígidos (Orthoptera) se ha reportado que el color del sustrato puede influir en la coloración del cuerpo (Hochkirch et al, 2008). También en el cangrejo *Carcinus maenas* se ha encontrado una relación entre el sustrato algal y la coloración (Todd et al., 2006). Para estas especies se podría caracterizar las especies con las que se asocia, ya sea especies vegetales de las que se alimentan en la etapa adulto o las especies de insectos que parasitan en la etapa larvaria, una vez determinadas estas reacciones averiguar si las especies asociadas tienen una distribución geográfica particular que puede asociarse a la distribución de las especies nominales de *E. stigmata* y *E. uniforma*.

A pesar del sesgo de muestreo en la parte norte del territorio mexicano, se puede afirmar a partir la evidencia filogenética, los análisis de historia demográfica y de modelaje de nicho que los dos taxones examinados pertenecen a una sola unidad evolutiva que recientemente ha experimentado recientemente expansión poblacional dentro de su área de distribución. Ya se ha propuesto un modelo similar en escarabajos de la especie *Dendroctonus mexicanus*, el cual se distribuye en la sierras madre Oriental y Occidental y el cinturón volcánico transmexicano (Anducho-Reyes et al., 2008). En esta especie se infirió una rápida expansión poblacional en el área de distribución de la especie (Anducho-Reyes et al., 2008).

## Conclusiones

-Se encontró que las especies nominales *E. stigmata* y *E. uniforma* no son recíprocamente monofiléticas y muestran bajos niveles de variación genética. Por lo tanto, se propone que la especie nominal *E. uniforma* es un sinónimo de *E. stigmata*, de la cual se conserva el nombre por haber sido descrita primero.

-Se determinó que los marcadores moleculares usados son útiles para asignar hembras en especies de la familia Meloidae pues muestran alta variación genética entre especies.

- Hay evidencia que sugiere que las poblaciones de *E. stigmata* han pasado por una expansión poblacional reciente.

-Los resultados obtenidos no mostraron una estructura filogeográfica en las poblaciones examinadas de *E. stigmata*. Además, no hay correspondencia entre la variación fenotípica y la distribución de la variación genética en las poblaciones examinadas.

-De acuerdo con los análisis de nicho ecológico, la distribución geográfica de *E. uniforma* y *E. stigmata* son más similares entre sí que lo esperado por azar. La distribución disyunta de las poblaciones de *E. stigmata* tampoco se explica por la variación ambiental.

-Más muestreos en los estados de Sonora, Coahuila y Chihuahua podrían aportar datos para investigar con más precisión la historia evolutiva de la especie estudiada.

## Referencias

Agrawal, A. A. (2001). Ecology: Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294: 321-326

Alder, P. F. y R. G. Footitt. (2009). Introduction. *In*: Footitt, R. G. y P. H. Adler (Editores). *Insect Biodiversity: Science and Society*. Wiley-Blackwell, pp. 1-6.

Anducho-Reyes, M. A., Cognato, A. I., Hayes, J. L. y Zúñiga, G. (2008). Phylogeography of the bark beetle *Dendroctonus mexicanus hopkins* (coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49: 930-940

Antúnez, P. A. y Cidoncha, P. P. (1998). Dermatitis facticia por escarabajos que contienen cantaridina. *Actas Dermo-Sifiliograficas*, 89: 543-546

Arbogast, B. S. y Kenagy, G. J. (2001). Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28: 819-825.

Arroyo-Cabrales, J., Polaco, O. J. y Johnson, E. (2007). An overview of the quaternary mammals from México. *CFS Courier Forschungsinstitut Senckenberg*. 253: 191-203

Awise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb y Saunders N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489-522.

Avise, J. C. (1989). A role for molecular genetics in the recognition and conservation of endangered species. *Trends in Ecology and Evolution*, 4: 279-281

Ballard, J. W. O. y Whitlock, M. C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13: 729-744

Barracough, T. G., Hogan, J. E., y Vogler, A. P. (1999). Testing whether ecological factors promote cladogenesis in a group of tiger beetles (Coleoptera: Cicindelidae). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266: 1061-1067

Baythavong, B. S. y Stanton, M. L. (2010). Characterizing selection on phenotypic plasticity in response to natural environmental heterogeneity. *Evolution*, 64: 2904-2920

Beaumont, L. J., Hughes, L. y Poulsen, M. (2005). Predicting species distributions: Use of climatic parameters in BIOCLIM and its impact on predictions of species' current and future distributions. *Ecological Modelling*, 186: 250-269

Beltrán, M., Jiggins, C. D., Bull, V., Linares, M., Mallet, J., McMillan, W. O. y Bermingham, E. (2002). Phylogenetic discordance at the species boundary: Comparative gene genealogies among rapidly radiating *Heliconius* butterflies. *Molecular Biology and Evolution*, 19: 2176-2190

Bologna, M. A., Oliverio, M., Pitzalis, M. y Mariottini, P. (2008). Phylogeny and evolutionary history of the blister beetles (Coleoptera: Meloidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 679-693.

Bologna, M. A., y Pinto, J. D. (2001). Phylogenetic studies of meloidae (Coleoptera), with emphasis on the evolution of phoresy. *Systematic Entomology*, 26: 33-72.

Bond, J. E., Hamilton, C. A., Garrison, N. L., y Ray, C. H. (2012). Phylogenetic reconsideration of *Myrmekiaphila* systematics with a description of the new trapdoor spider species *Myrmekiaphila tigris* (Araneae, Mygalomorphae, Cyrtaucheniidae, Euctenizinae) from auburn, alabama. *ZooKeys*, 190: 95-109

Bottin, L., Tassin, J., Nasi, R., y Bouvet, J. (2007). Molecular, quantitative and abiotic variables for the delineation of evolutionary significant units: Case of sandalwood (*Santalum austrocaledonicum* Vieillard) in New Caledonia. *Conservation Genetics*, 8: 99-109

Bronmark, C. y Miner, J. G. (1992). Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science*, 258: 1348-1350

Brzęk, P., Kohl, K. D., Caviedes-Vidal, E. y Karasov, W. H. (2011). Fully reversible phenotypic plasticity of digestive physiology in young house sparrows: Lack of long-term effect of early diet composition. *Journal of Experimental Biology*, 214: 2755-2760

Carrel, J. E., McCairel, M. H., Slagle, A. J., Doom, J. P., Brill, J. y McCormick, J. P. (1993). Cantharidin production in a blister beetle. *Experientia*, 49: 171-174.

Chen, S., Rossiter, S. J., Faulkes, C. G., y Jones, G. (2006). Population genetic structure and demographic history of the endemic formosan lesser horseshoe bat (*Rhinolophus monoceros*). *Molecular Ecology*, 15: 1643-1656

Chiang, H., Hsu, C., Lin, H., Ma, G. C., Chiang, T. y Yang, H. (2006). Population structure of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) in the south china sea, philippine sea and western pacific ocean inferred from mitochondrial DNA. *Fisheries Research*, 79: 219-225

Christidis, L., Rheindt, F. E., Boles, W. E. y Norman, J. A. (2010). Plumage patterns are good indicators of taxonomic diversity, but not of phylogenetic affinities, in australian grasswrens *Amytornis* (Aves: Maluridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57: 868-877

Clement, M., Posada, D. y Crandall K. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1657-1660

Depaulis, F., Mousset, S. y Veuille, M. (2003). Power of neutrality tests to detect bottlenecks and hitchhiking. *Journal of Molecular Evolution*, 57: S190-S200

Debes, P. V., Zachos, F. E. y Hanel, R. (2008). Mitochondrial phylogeography of the European Sprat (*Sprattus sprattus* L., Clupeidae) reveals isolated climatically vulnerable populations in the Mediterranean sea and range expansion in the northeast atlantic. *Molecular Ecology*, 17: 3873-3888

Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: Aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32: 59-70.

Duftner, N., Sefc, K. M., Koblmüller, S., Nevado, B., Verheyen, E., Phiri, H. y Sturmbauer, C. (2006). Distinct population structure in a phenotypically homogeneous rock-dwelling cichlid fish from Lake Tanganyika. *Molecular Ecology*, 15: 2381-2395

Duffy Jr, A. M., Clobert, J. y Møller, A. P. (2002). Hormones, developmental plasticity and adaptation. *Trends in Ecology and Evolution*, 17: 190-196

Dzwillo, M. (1984). Phylogenetic and taxonomic problems in freshwater Oligochaeta with special emphasis on chitinous structures in tubificinae. *Hydrobiologia*, 115: 19-23.

Erwin, T. L. (1982). Tropical forests: Their richness in Coleoptera and other arthropod species. *The Coleopterist Bulletin*, 36: 74-75.

Espinosa, D., Ocegueda, S., Aguilar, C., Flores, O. y Llorente-Bousquets, J. (2008). El conocimiento biogeográfico de las especies y su regionalización natural. *In: Capital natural de México, vol. I : Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, pp. 33-65.

Excoffier, L. y Lischer H. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567

Ferrusquía, I. (1998). Geología de México: una sinopsis. *In*: Ramamoorthy, T.P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J. Diversidad Biológica de México. Instituto de Biología, UNAM. México, pp 3-108.

Finston, T. L. y Peck, S. B. (2004). Speciation in Darwin's darklings: Taxonomy and evolution of *Stomion* beetles in the Galápagos Islands, Ecuador (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 141: 135-152

Flores, O. y P. Gerez. (1994). Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso del suelo. CONABIO-UNAM. México.

Ford, M. J. 2002. Applications of selective neutrality tests to molecular ecology. *Molecular Ecology*, 11: 1245-1262

Fu, Y. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147: 915-925

Gallego, D., Cánovas, F., Esteve, M. A., y Galián, J. (2004). Descriptive biogeography of tomicus (coleoptera: Scolytidae) species in spain. *Journal of Biogeography*, 31: 2011-2024.

Garber, A. F., Tringali, M. D. y Franks, J. S. (2005). Population genetic and phylogeographic structure of wahoo, *Acanthocybium solandri*, from the western central Atlantic and Central Pacific oceans. *Marine Biology*, 147: 205-214

García-París, M., Buckley, D. y Parra-Olea, G. (2007). Catálogo taxonómico-geográfico de los coleópteros de la familia Meloidae de México. *Graellsia*, 63: 165-258

Gibbs, M., Wiklund, C. y Van Dyck, H. (2011). Phenotypic plasticity in butterfly morphology in response to weather conditions during development. *Journal of Zoology*, 283: 162-168

Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P. y Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21: 394-407

Glor, R. E., y Warren, D. (2011). Testing ecological explanations for biogeographic boundaries. *Evolution*, 65: 673-683

Graham, C. H., Ron, S. R., Santos, J. C., Schneider, C. J., y Moritz, C. (2004). Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution*, 58: 1781-1793

Grant W.S. y Bowen B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity*, 89:415-426

Grimaldi, D. A. y Engel M. S. (2005). *Evolution of the insects*. Cambridge University Press. 772 pp.

Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-

98

Harpending, H. C. (1994). Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66: 591-600

Haye, P. A., Salinas, P., Acuña, E. y Poulin, E. (2010). Heterochronic phenotypic plasticity with lack of genetic differentiation in the southeastern Pacific squat lobster *Pleuroncodes monodon*. *Evolution and Development*, 12: 628-634

Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., y DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270: 313-321

Hebert, P. D. N., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H. y Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 14812-14817

Hijmans, R.J., Cameron, S. E., Parra J.L., Jones, P.G. y Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25: 1965-1978

Hochkirch, A., Deppermann, J. y Gröning, J. (2008). Phenotypic plasticity in insects: The effects of substrate color on the coloration of two ground-hopper species. *Evolution and Development*, 10: 350-359

Holopainen, I. J., Aho, J., Vornanen, M. y Huuskonen, H. (1997). Phenotypic plasticity and predator effects on morphology and physiology of crucian carp in nature and in the laboratory. *Journal of Fish Biology*, 50: 781-798

Hsu, F., Lin, R., Wu, S. y Tsai, C. (2011). Taxonomic status of the *Rana sauteri* complex: Discordance between genetic and morphological traits. *Herpetological Journal*, 21: 169-179.

Kozak, K. H., Graham, C. H., y Wiens, J. J. (2008). Integrating GIS-based environmental data into evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 141-148

Lanteri, A. A. y Confalonieri, V.A. (2003). Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. Pp. 185-193. En: Jorge Llorente Bousquets y Juan José Morrone (Eds.) Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. Facultad de Ciencias, UNAM, México.

Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J. y Higgins D.G. (2007) ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics*, 23: 2947-294

Lin, H., Hsu, K., Shao, K., Chang, Y., Wang, J., Lin, C., y Chiang, T. (2008). Population structure and phylogeography of *Aphyocypris kikuchii* (Oshima) based on mitochondrial DNA variation. *Journal of Fish Biology*, 72: 2011-2025.

Liu, J., Gao, T., Yokogawa, K. y Zhang, Y.(2006). Differential population structuring and demographic history of two closely related fish species, japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) and spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in northwestern pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39: 799-811.

Makowsky, R., Marshall Jr., J. C., McVay, J., Chippindale, P. T. y Rissler, L. J. (2010). Phylogeographic analysis and environmental niche modeling of the plain-bellied

watersnake (*Nerodia erythrogaster*) reveals low levels of genetic and ecological differentiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 985-995

Martínez, N. (2010). Apuntes sobre modelación de nichos. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental. Instituto de Ecología de la UNAM. 66pp

Martínez-Gordillo, D., Rojas-Soto, O., y Espinosa De Los Monteros, A. (2010). Ecological niche modelling as an exploratory tool for identifying species limits: An example based on mexican muroid rodents. *Journal of Evolutionary Biology*. 23: 259-27

May, S. E., Medley, K. A., Johnson, S. A. y Hoffman, E. A. (2011). Combining genetic structure and ecological niche modeling to establish units of conservation: A case study of an imperiled salamander. *Biological Conservation*, 144: 1441-1450

McKenney, D. W., Pedlar, J. H., Lawrence, K., Campbell, K. y Hutchinson, M. F. (2007). Beyond traditional hardiness zones: Using climate envelopes to map plant range limits. *Bioscience*, 57: 929-937

Mirol, P. M., Routtu, J., Hoikkala, A. y Butlin, R. K. (2008). Signals of demographic expansion in *Drosophila virilis*. *BMC Evolutionary Biology*, 8:59

Nason, J. D., Hamrick, J. L. y Fleming, T. H. (2002). Historical vicariance and postglacial colonization effects on the evolution of genetic structure in *Lophocereus*, a Sonoran desert columnar cactus. *Evolution*, 56: 2214-2226

Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York

Nicholls, D. S. H., Christmas, T. I. y Greig, D. E. (1990). Oedemerid blister beetle dermatosis: A review. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 22: 815-819.

Nielsen, S. A. y Kristensen, M. (2011). Morphological and molecular identification of species of the *Obsoletus* group (Diptera: Ceratopogonidae) in Scandinavia. *Parasitology Research*, 109: 1133-1141

Noel, F., Machon, N. y Porcher, E. (2007). No genetic diversity at molecular markers and strong phenotypic plasticity in populations of *Ranunculus nodiflorus*, an endangered plant species in France. *Annals of Botany*, 99: 1203-1212

Nosil, P., Funk, D. J. y Ortiz-Barrientos, D. (2009). Divergent selection and heterogeneous genomic divergence. *Molecular Ecology*, 18: 375-402

Okassa, M., Tixier, M., y Kreiter, S. (2010). Morphological and molecular diagnostics of *Phytoseiulus persimilis* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*. 52: 291-303

Ortega, F., R.L. Sedlock y R.C. Speed. (2000). Evolución tectónica de México durante el Fanerozoico, en J. Llorente, E. González y N. Papavero (eds.), *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México*, vol. II. UNAM-Conabio, México, pp. 3-59.

Perfectti, F., Picó, F.X. y Gómez, J.M. 2009. La Huella Genética De La Selección Natural. *Ecosistemas*. 18:10-16

Peterson, A. T., Soberón, J. y Sánchez-Cordero, V. (1999). Conservatism of ecological niches in evolutionary time. *Science*, 285: 1265-1267

Phillips, S. J., y Dudík, M. (2008). Modeling of species distributions with maxent: New extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*. 31: 161-175

Pinto, J. D. (1982). New synonymies, lectotype designations, and other notes on North American *Epicauta* (Coleoptera: Meloidae). *Proceedings of The Entomological Society of Washington* 84:402-408

Pinto, J. D. (1991). The taxonomy of North American *Epicauta* (Coleoptera: Meloidae), with a revision of the nominate subgenus and a survey of courship: Berkeley, University of California Press, 372 p

Pinto, J. D. y Bologna, M. A. (1999). The new world genera of Meloidae (Coleoptera): A key and synopsis. *Journal of Natural History*, 33: 569-620.

Plouviez, S., Shank, T. M., Faure, B., Daguin-Thiebaut, C., Viard, F., Lallier, F. H. y Jollivet, D. (2009). Comparative phylogeography among hydrothermal vent species along the east pacific rise reveals vicariant processes and population expansion in the south. *Molecular Ecology*, 18: 3903-3917

Posada, D. (2008). jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256

Posada, D. y Buckley, T. (2004). Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology* 53:793-808.

Price, B. W., Barker, N. P. y Villet, M. H. (2007). Patterns and processes underlying evolutionary significant units in the *Platypleura stridula* L. species complex (Hemiptera: Cicadidae) in the Cape floristic region, South Africa. *Molecular Ecology*, 16: 2574-2588

Ramos-Onsins, S. E., y Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*. 19: 2092-2100

Ray, N., Currat, M. y Excoffier, L. (2003). Intra-deme molecular diversity in spatially expanding populations. *Molecular Biology and Evolution*, 20: 76-86

Resh, V. H. y R. T. Cardé. (2003). Encyclopedia of insects. Academic Press. p. 564.

Richards, C. L. y Knowles, L. L. (2007). Tests of phenotypic and genetic concordance and their application to the conservation of Panamanian golden frogs (Anura: Bufonidae). *Molecular Ecology*, 16: 3119-3133

Rodriguez-Vivas, R. I., Trees, A. J., Rosado-Aguilar, J. A., Villegas-Pérez, S. L. y Hodgkinson, J. E. (2011). Evolution of acaricide resistance: Phenotypic and genotypic changes in field populations of *Rhipicephalus (boophilus) microplus* in response to pyrethroid selection pressure. *International Journal for Parasitology*, 41: 895-903

Rogers, A. R. y Harpending, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*. 9: 552-569

Romero, P. y Ramirez, R. (2011). Intraspecific divergence and DNA barcodes in *Systrophia*. *Revista Peruana de Biología*. 18: 201-208

Ronquist, F. y Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574

Sarukhán, J. y Dirzo, R. (1992). México ante los retos de la biodiversidad. CONABIO. México. 343 pp.

Santos, S., Hrbek, T., Farias, I. P., Schneider, H. y Sampaio, I. (2006). Population genetic structuring of the king weakfish, *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae), in atlantic coastal waters of south america: Deep genetic divergence without morphological change. *Molecular Ecology*, 15: 4361-4373

Schmelz, R. M. (1996). Species separation and identification in the enchytraeidae (oligochaeta, annelida): Combining morphology with general protein data. *Hydrobiologia*, 334: 31-36

Sezonlin, M., Dupas, S., Le Rü, B., Le Gall, P., Moyal, P., Calatayud, P. y Silvain, J. (2006). Phylogeography and population genetics of the maize stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) in sub-saharan africa. *Molecular Ecology*, 15: 407-420

Soberón, J., y Nakamura, M. (2009). Niches and distributional areas: Concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 19644-19650

Sommer, R. J. y Ogawa, A. (2011). Hormone signaling and phenotypic plasticity in nematode development and evolution. *Current Biology*, 21:758-R766

Staton, J. L., Wickliffe, L. C., Garlitska, L., Villanueva, S. M. y Coull, B. C. (2005). Genetic isolation discovered among previously described sympatric morphs of a meiobenthic copepod. *Journal of Crustacean Biology*, 25: 551-557

Stork, N. E. (2008). Insect diversity: facts, fiction and speculation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 35: 321-337.

Tajima, F., (1989). Statistical testing for the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585–595

Templeton, A.R., Crandall, K.A. y Sing, C.F. (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633

Thacker, C. E. (2004). Population structure in two species of the reef goby *Gnatholepis* (Teleostei: Perciformes) among four south Pacific island groups. *Coral Reefs*, 23: 357-366

Tobe, S. S., Kitchener, A. C. y Linacre, A. M. T. (2010). Reconstructing mammalian phylogenies: A detailed comparison of the cytochrome b and cytochrome oxidase subunit i mitochondrial genes. *PLoS ONE*, 5:11

Todd, P. A., Briers, R. A., Ladle, R. J. y Middleton, F. (2006). Phenotype-environment matching in the shore crab (*Carcinus maenas*). *Marine Biology*, 148: 1357-1367

Tolley, K. A., Groeneveld, J. C., Gopal, K. y Matthee, C. A. (2005). Mitochondrial DNA panmixia in spiny lobster *Palinurus gilchristi* suggests a population expansion. *Marine Ecology Progress Series*, 297: 225-23

Vázquez-Domínguez, E. (2007). Filogeografía y vertebrados. *In: La Ecología molecular de plantas y animales: 441–466* (L. Eguiarte, V. Souza, y X. Aguirre, Eds.). INE, Mexico.

Vázquez-Domínguez, E., Castañeda-Rico, S., Garrido-Garduño, T., y Gutiérrez-García, T. A. (2009). Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena De Historia Natural*, 82: 277-297.

Via, S. y Lande, R. (1985). Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution*, 39: 505-522

Via, S., Gomulkiewicz, R., De Jong, G., Scheiner, S. M., Schlichting, C. D. y Van Tienderen, P. H. (1995). Adaptive phenotypic plasticity: Consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution*, 10: 212-217

Vretare, V., Weisner, S. E. B., Strand, J. A. y Granéli, W. (2001). Phenotypic plasticity in *Phragmites australis* as a functional response to water depth. *Aquatic Botany*, 69: 127-145

Walton, C., Handley, J. M., Tun-Lin, W., Collins, F. H., Harbach, R. E., Baimai, V., y Butlin, R. K. (2000). Population structure and population history of *Anopheles dirus* mosquitoes in southeast asia. *Molecular Biology and Evolution*. 17: 962-974

Warren, D. L., R. E. Glor y M. Turelli. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: Quantitative aproches to niche evolution. *Evolution* 62: 28680-2883

Warren, D. L., Glor, R. E. y Turelli, M. (2010). ENMTools: A toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, 33: 607-611

Warren, D. L. y Turelli, M. (2009). ENMTools User Manual v1.0. 28 pp

Werner, F. G. (1945). A revision of the genus *Epicauta* in America north of México. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*. 95: 421-531

Werner, F. G. (1949). *Epicauta diversicornis* and its allies in the Neotropical Region (Coleoptera: Meloidae). *Psyche*, 56:74-80

Werner, F. G. (1958). Studies in the genus *Epicauta* of the North American continent (Meloidae) II. The Uniforma-Group. *The Coleopterists' Bulletin*, 12: 1-19

West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 249-278.

Wiens, J. J., Kuczynski, C. A. y Stephens, P. R. (2010). Discordant mitochondrial and nuclear gene phylogenies in emydid turtles: Implications for speciation and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 445-461

Wiens, J. J. y Penkrot, T. A. (2002). Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology*, 51: 69-91

Xiao, J., Wang, N., Li, Y., Murphy, R. W., Wan, D., Niu, L., Hu, H., Fu, Y. y Huang, D. (2010). Molecular approaches to identify cryptic species and polymorphic species within a complex community of fig wasps. *PLoS ONE*: 5:11:

Yeh, P. J. y Price, T. D. (2004). Adaptive phenotypic plasticity and the successful colonization of a novel environment. *American Naturalist*, 164: 531-542

## Anexo I: Especímenes colectados

Código	Especie	Localidad y coordenadas	Fecha de colecta
melx09012-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: 5 km S Contepec, 2296 m Coor:19°55'01.06"N-100°10'46.42"O	27-VIII-2009
melx09012-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: 5 km S Contepec, 2296 m Coor:19°55'01.06"N-100°10'46.42"O	27-VIII-2009
melx09014-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09015-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09015-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09016-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09016-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09016-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Michoacán: Joya de la Huerta, 2099 m Coor:19°36'50.0"N-101°18'19.7"O	28-VIII-2009
melx09049-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: PUEBLA: San Lorenzo Ometepec - Santo Tomas Hueyotlipan, 2042 m Coor:18°54'39.3"N-97°50'15.1"O	2-X-2009
melx09049-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: PUEBLA: San Lorenzo Ometepec - Santo Tomas Hueyotlipan, 2042 m Coor:18°54'39.3"N-97°50'15.1"O	2-X-2009

melx09049-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: PUEBLA: San Lorenzo Ometepec - Santo Tomas Hueyotlipan, 2042 m Coord: 18°54'39.3"N-97°50'15.1"O	2-X-2009
melx09050-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: HIDALGO: El Dextho, 1734 m Coord: 20°29'19.8"N-99°16'22.8"O	9-X-2009
melx09051-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: HIDALGO: Rancho San Isidro, al S de Zimapán, 1871 m Coord: 20°41'08.6"N-99°20'03.2"O	9-X-2009
melx09052-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: QUERÉTARO: 1 km al E de Bellavista del Río, 1964 m Coord: 20°40'55.9"N-99°33'24.0"O	10-X-2009
melx09052-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: QUERÉTARO: 1 km al E de Bellavista del Río, 1964 m Coord: 20°40'55.9"N-99°33'24.0"O	10-X-2009
melx10011-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al E de San Miguel del Alto, 1923 m Coord: 21.01548°N-102.32733°	13-VIII-2010
melx10011-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al E de San Miguel del Alto, 1923 m Coord: 21.01548°N-102.32733°	13-VIII-2010
melx10011-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al E de San Miguel del Alto, 1923 m Coord: 21.01548°N-102.32733°	13-VIII-2010
melx10012-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: San José de los Reynoso, 1887 m Coord: 21.06138°N-102.29609°O	13-VIII-2010
melx10012-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: San José de los Reynoso, 1887 m Coord: 21.06138°N-102.29609°O	13-VIII-2010
melx10012-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: San José de los Reynoso, 1887 m Coord: 21.06138°N-102.29609°O	13-VIII-2010
melx10013-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: San José de los Reynoso, 1887 m Coord: 21.06138°N-102.29609°O	13-VIII-2010
melx10015-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 5 km al N de San José de los Reynoso, 1894 m Coord: 21.15077°N-102.27410°O	13-VIII-2010

melx10015-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 5 km al N de San José de los Reynoso, 1894 m Coord:21.15077°N-102.27410°O	13-VIII-2010
melx10015-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 5 km al N de San José de los Reynoso, 1894 m Coord:21.15077°N-102.27410°O	13-VIII-2010
melx10018-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 10 km al N de San José de los Reynoso, 1779 m Coord:21.18412°N-102.26488°O	13-VIII-2010
melx10018-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 10 km al N de San José de los Reynoso, 1779 m Coord:21.18412°N-102.26488°O	13-VIII-2010
melx10018-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 10 km al N de San José de los Reynoso, 1779 m Coord:21.18412°N-102.26488°O	13-VIII-2010
melx10019-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 8 km al N de Tlacuitapa, 1964 m Coord:21.29948°N-102.11966°O	13-VIII-2010
melx10019-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 8 km al N de Tlacuitapa, 1964 m Coord:21.29948°N-102.11966°O	13-VIII-2010
melx10019-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 8 km al N de Tlacuitapa, 1964 m Coord:21.29948°N-102.11966°O	13-VIII-2010
melx10020-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 4 km al N de Tlacuitapa, 1946 m Coord:21.26477°N-102.11186°O	13-VIII-2010
melx10021-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 2 km al O de Tlacuitapa, 1841 m Coord:21.18822°N-102.10469°O	13-VIII-2010
melx10021-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 2 km al O de Tlacuitapa, 1841 m Coord:21.18822°N-102.10469°O	13-VIII-2010
melx10022-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al N de La Unión de San Antonio, 1917 m Coord:21.17266°N-102.02304°O	13-VIII-2010
melx10022-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al N de La Unión de San Antonio, 1917 m Coord:21.17266°N-102.02304°O	13-VIII-2010

melx10022-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al N de La Unión de San Antonio, 1917 m Coor:21.17266°N-102.02304°O	13-VIII-2010
melx10034-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: México: 1 km al NO de Santa María Ajoloapan, 2422 m Coor:19°59'02.96"N-99°04'03.25"O	25-VIII-2010
melx10036-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 3 km al O de Acámbaro Coor:20°00'17"N-100°46'12"O	1-IX-2010
melx10036-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 3 km al O de Acámbaro Coor:20°00'17"N-100°46'12"O	1-IX-2010
melx10037-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 3 km al O de Acámbaro Coor:20°00'17"N-100°46'12"O	1-IX-2010
melx10037-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 3 km al O de Acámbaro Coor:20°00'17"N-100°46'12"O	1-IX-2010
melx10037-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 3 km al O de Acámbaro Coor:20°00'17"N-100°46'12"O	1-IX-2010
melx10038-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 4 km al NE de Iramuco Coor:19°57'30"N-100°52'20"O	1-IX-2010
melx10038-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: 4 km al NE de Iramuco Coor:19°57'30"N-100°52'20"O	1-IX-2010
melx10039-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: Chupícuaro, 1850 m Coor:19°59.868'N-101°09.422"O	2-IX-2010
melx10039-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: Chupícuaro, 1850 m Coor:19°59.868'N-101°09.422"O	2-IX-2010
melx10040-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coor:20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10040-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coor:20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010

melx10040-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10041-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10041-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10042-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10042-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10042-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al S de Churintzio, 1845 m Coord: 20°08'09"N-102°04'16"O	2-IX-2010
melx10044-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: MICHOACÁN: 2 km al N de Venustiano Carranza, 1538 m Coord: 20°09'08"N-102°37'21.5"O	2-IX-2010
melx10049-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: Cerritos, 16 km al SE de San Miguel de Allende, 2045 m Coord: 20°53'30"N-100°39'35.4"O	4-IX-2010
melx10050-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: Cerritos, 16 km al SE de San Miguel de Allende, 2045 m Coord: 20°53'30"N-100°39'35.4"O	4-IX-2010
melx10050-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: Cerritos, 16 km al SE de San Miguel de Allende, 2045 m Coord: 20°53'30"N-100°39'35.4"O	4-IX-2010
melx10055-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: OAXACA: Villa de Mitla, junto a la zona arqueológica, 1741m Coord: 16°55'51.47"N-96°21'25.78"O	8-IX-2010
melx10065-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: San Jerónimo, 3 km al O de San José Iturbide, 2093 m Coord: 21°00'37.25"N-100°26'38.66"O	17-IX-2010
melx10065-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: GUANAJUATO: San Jerónimo, 3 km al O de San José Iturbide, 2093 m Coord: 21°00'37.25"N-100°26'38.66"O	17-IX-2010

melx10066-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: El Rodeo, 15 km al NO de San Luis Potosí, 2012 m Coor:22°14'20.58"N-101°05'14.89"O	18-IX-2010
melx10066-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: El Rodeo, 15 km al NO de San Luis Potosí, 2012 m Coor:22°14'20.58"N-101°05'14.89"O	18-IX-2010
melx10066-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: El Rodeo, 15 km al NO de San Luis Potosí, 2012 m Coor:22°14'20.58"N-101°05'14.89"O	18-IX-2010
melx10125-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: ZACATECAS: Santa Teresa, 2116 m Coor:22°29'27.36"N-102°22'05.95"O	23-IX-2010
melx10125-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: ZACATECAS: Santa Teresa, 2116 m Coor:22°29'27.36"N-102°22'05.95"O	23-IX-2010
melx10127-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: ZACATECAS: Ciudad Cuauhtemoc, 2039 m Coor:22°27'28.42"N-102°20'40.96"O	23-IX-2010
melx10127-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: ZACATECAS: Ciudad Cuauhtemoc, 2039 m Coor:22°27'28.42"N-102°20'40.96"O	23-IX-2010
melx10128-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: ZACATECAS: Ciudad Cuauhtemoc, 2039 m Coor:22°27'28.42"N-102°20'40.96"O	23-IX-2010
melx10130-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: AGUASCALIENTES: Rincón de Romos, 1959 m Coor:22°13'46.27"N-102°19'50.55"O	23-IX-2010
melx10131-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: AGUASCALIENTES: San José de Gracia - Paredes, 2157 m Coor:22°08'34.70"N-102°22'53.94"O	23-IX-2010
melx10133-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al S de Lagos de Moreno, 1871 m Coor:21°19'41.41"N-101°55'36.29"O	24-IX-2010
melx10133-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al S de Lagos de Moreno, 1871 m Coor:21°19'41.41"N-101°55'36.29"O	24-IX-2010
melx10134-02	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al S de Lagos de Moreno, 1871 m Coor:21°19'41.41"N-101°55'36.29"O	24-IX-2010

melx10134-03	<i>Epicauta stigmata</i>	México: JALISCO: 3 km al S de Lagos de Moreno, 1871 m Coor:21°19'41.41"N-101°55'36.29"O	24-IX-2010
melx10068-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 3 km al N de Venado, 1819 m Coor:22°57'45.51"N-101°05'50.06"O	18-IX-2010
melx10068-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 3 km al N de Venado, 1819 m Coor:22°57'45.51"N-101°05'50.06"O	18-IX-2010
melx10071-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: Estación Berrendos, 17 km al NE de Charcas, 2034 m Coor:23°13'10.46"N-100°58'58.76"O	18-IX-2010
melx10071-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: Estación Berrendos, 17 km al NE de Charcas, 2034 m Coor:23°13'10.46"N-100°58'58.76"O	18-IX-2010
melx10071-03	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: Estación Berrendos, 17 km al NE de Charcas, 2034 m Coor:23°13'10.46"N-100°58'58.76"O	18-IX-2010
melx10083-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 13 km al ONO de Cedral, 1813 m Coor:23°50'45.32"N-100°50'31.64"O	19-IX-2010
melx10083-03	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 13 km al ONO de Cedral, 1813 m Coor:23°50'45.32"N-100°50'31.64"O	19-IX-2010
melx10095-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 5 km al N de Cedral, 1721 m Coor:23°51'59.52"N-100°41'57.83"O	20-IX-2010
melx10095-03	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 5 km al N de Cedral, 1721 m Coor:23°51'59.52"N-100°41'57.83"O	20-IX-2010
melx10101-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 12 km al N de Cedral, 1823 m Coor:23°55'27.27"N-100°40'36.00"O	20-IX-2010
melx10101-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: SAN LUIS POTOSÍ: 12 km al N de Cedral, 1823 m Coor:23°55'27.27"N-100°40'36.00"O	20-IX-2010
melx10111-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: La Angostura (Saltillo), 1805 m Coor:25°20'43.21"N-101°02'00.19"O	22-IX-2010

melx10111-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: La Angostura (Saltillo), 1805 m Coor:25°20'43.21"N-101°02'00.19"O	22-IX-2010
melx10111-03	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: La Angostura (Saltillo), 1805 m Coor:25°20'43.21"N-101°02'00.19"O	22-IX-2010
melx10113-01	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: Tanque de Emergencia (Las Colonias), 1827 m Coor:25°19'28.98"N-101°03'06.87"O	22-IX-2010
melx10113-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: Tanque de Emergencia (Las Colonias), 1827 m Coor:25°19'28.98"N-101°03'06.87"O	22-IX-2010
melx10113-03	<i>Epicauta uniforma</i>	México: COAHUILA: Tanque de Emergencia (Las Colonias), 1827 m Coor:25°19'28.98"N-101°03'06.87"O	22-IX-2010
melx10121-02	<i>Epicauta uniforma</i>	México: ZACATECAS: La Pardita, 1806 m Coor:24°17'59.66"N-101°24'45.33"O	22-IX-2010
melx09001-01	<i>Epicauta stigmata</i>	México: Morelos: 2.5 km al S de Alpuyecá, 1054 m Coor:18°43'03.84"N -99°16'12.83"O	21-VIII-2009
melx09004-01	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: Guerrero: 3 km al S de Jalapa (cerca de Atlixnac), 1547 m Coor:17°37'46.16"N-99°35'53.33"O	22-VIII-2009
melx09004-02	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: Guerrero: 3 km al S de Jalapa (cerca de Atlixnac), 1547 m Coor:17°37'46.16"N-99°35'53.33"O	22-VIII-2009
melx09036-01	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 1 km al E de San Isidro, 1300 m Coor:18°34'27.9"N-98°24'56.1"O	30-IX-2009
melx09036-02	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 1 km al E de San Isidro, 1300 m Coor:18°34'27.9"N-98°24'56.1"O	30-IX-2009
melx09036-03	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 1 km al E de San Isidro, 1300 m Coor:18°34'27.9"N-98°24'56.1"O	30-IX-2009
melx09044-01	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al NE de Xayacatlán, 1293 m Coor:18°13'22.7"N-97°56'36.9"O	1-X-2009

melx09044-02	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al NE de Xayacatlán, 1293 m Coor:18°13'22.7"N-97°56'36.9"O	1-X-2009
melx09044-03	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al NE de Xayacatlán, 1293 m Coor:18°13'22.7"N-97°56'36.9"O	1-X-2009
melx09039-01	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al SO de San Miguel de las Minas, 1390 m Coor:18°32'37.2"N-98°21'45.8"O	30-IX-2009
melx09039-02	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al SO de San Miguel de las Minas, 1390 m Coor:18°32'37.2"N-98°21'45.8"O	30-IX-2009
melx09039-03	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al SO de San Miguel de las Minas, 1390 m Coor:18°32'37.2"N-98°21'45.8"O	30-IX-2009
melx09042-01	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: San Miguel de las Minas, 1250 m Coor:18°31'34.1"N-98°20'03.1"O	30-IX-2009
melx09040-01	<i>Epicauta sp.</i>	México: PUEBLA: 5 km al SO de San Miguel de las Minas, 1390 m Coor:18°32'37.2"N-98°21'45.8"O	30-IX-2009
melx09040-03	<i>Epicauta bipunctata</i>	México: PUEBLA: 5 km al SO de San Miguel de las Minas, 1390 m Coor:18°32'37.2"N-98°21'45.8"O	30-IX-2009
mel08090-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Querétaro: 3 km al NNO de Coto hacia La D y Los Cues Coor:	18-VIII-2007
mel08102-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 6 km al oeste de El Vigil, al noroeste de Ocampo Coor:	25-VIII-2007
mel08114-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007
mel08114-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007
mel08114-03	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007

mel08112-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 4 km al norte de Palo Colorado Coor:	26-VIII-2007
mel08112-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 4 km al norte de Palo Colorado Coor:	26-VIII-2007
mel08112-03	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 4 km al norte de Palo Colorado Coor:	26-VIII-2007
mel08113-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 4 km al norte de Palo Colorado Coor:	26-VIII-2007
mel08113-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: 4 km al norte de Palo Colorado Coor:	26-VIII-2007
mel08115-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007
mel08115-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007
mel08115-03	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Salto Coor:	26-VIII-2007
mel08116-02	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Vergel, 8 km al sur de Ibarra Coor:	26-VIII-2007
mel08116-03	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Vergel, 8 km al sur de Ibarra Coor:	26-VIII-2007
mel08117-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Vergel, 8 km al sur de Ibarra Coor:	26-VIII-2007
mel08118-01	<i>Epicauta stigmata</i>	MÉXICO: Guanajuato: El Vergel, 8 km al sur de Ibarra Coor:	26-VIII-2007
mel 06158-01	<i>Epicauta alastor</i>	ARIZONA: Pinal Co.: 6 km SE Picacho Peak. 559m Coor:32°35'69.7"N-111°20'07.7"O	10-VIII-2006

mel 06162-01	<i>Epicauta tricostata</i>	ARIZONA: Cochise Co.: 7 mi SE Willcox, 1268m. Coord:32°10'46.8"N-109°45'37.8"O	12-VIII-2006
mel 06162-02	<i>Epicauta tricostata</i>	ARIZONA: Cochise Co.: 7 mi SE Willcox, 1268m. Coord:32°10'46.8"N-109°45'37.8"O	12-VIII-2006
mel 06163-01	<i>Epicauta uniforma</i>	ARIZONA: Cochise Co.: Sulphur Hills. 1287m Coord:N31°56'85.7"N-109°45'75.8"O	12-VIII-2006
mel 06163-02	<i>Epicauta uniforma</i>	ARIZONA: Cochise Co.: Sulphur Hills. 1287m Coord:	12-VIII-2006
mel 06165-01	<i>Epicauta arizonica</i>	ARIZONA: Cochise Co.: Elfrida. 1267m Coord:31°41'13.1"N-109°41'23.1"O	12-VIII-2007
mel 06172-01	<i>Epicauta costata</i>	NEW MEXICO: Hidalgo Co.: Lordsburg, 1320m Coord:32°20'44.8"N-108°42'79.8"O	12-VIII-2006
mel 06175-01	<i>Epicauta costata</i>	NEW MEXICO: Hidalgo Co.: Lordsburg, 1320m Coord:32°20'44.8"N-108°42'79.8"O	12-VIII-2006
mel 06175-02	<i>Epicauta arizonica</i>	NEW MEXICO: Hidalgo Co.: Lordsburg, 1320m Coord:32°20'44.8"N-108°42'79.8"O	12-VIII-2006
mel 06173-03	<i>Epicauta lauta</i>	NEW MEXICO: Hidalgo Co.: Lordsburg, 1320m Coord:32°20'44.8"N-108°42'79.8"O	12-VIII-2006
mel 06173b-01	<i>Epicauta lauta</i>	NEW MEXICO: Hidalgo Co.: Lordsburg, 1320m Coord:32°20'44.8"N-108°42'79.8"O	12-VIII-2006
mvz004-01	<i>Epicauta flagellaria</i>	Venezuela: Aragua: Mpio. Urdaneta: Carretera Nacional El Sombrero - La Pascua, Km. 40, Caserío Simborino. Coord:	16-V-2009
mvz004-02	<i>Epicauta flagellaria</i>	Venezuela: Aragua: Mpio. Urdaneta: Carretera Nacional El Sombrero - La Pascua, Km. 40, Caserío Simborino. Coord:	16-V-2009
mvz004-03	<i>Epicauta flagellaria</i>	Venezuela: Aragua: Mpio. Urdaneta: Carretera Nacional El Sombrero - La Pascua, Km. 40, Caserío Simborino. Coord:	16-V-2009

**Anexo II: Set de coordenadas utilizadas en pruebas de similitud de nicho y *linear range breaking*.**

Espece	Latitud	Longitud
<i>Epicauta stigmata</i>	16.931	-96.3572
<i>Epicauta stigmata</i>	18.6	-98.4667
<i>Epicauta stigmata</i>	18.9109	-97.8375
<i>Epicauta stigmata</i>	18.9335	-99.1553
<i>Epicauta stigmata</i>	18.985	-99.1
<i>Epicauta stigmata</i>	19.0413	-98.2062
<i>Epicauta stigmata</i>	19.0767	-98.3129
<i>Epicauta stigmata</i>	19.1727	-96.1333
<i>Epicauta stigmata</i>	19.1833	-98.65
<i>Epicauta stigmata</i>	19.2258	-101.457
<i>Epicauta stigmata</i>	19.2879	-99.6468
<i>Epicauta stigmata</i>	19.3086	-99.2249
<i>Epicauta stigmata</i>	19.3307	-98.943
<i>Epicauta stigmata</i>	19.3531	-97.9676
<i>Epicauta stigmata</i>	19.4519	-99.6506
<i>Epicauta stigmata</i>	19.5164	-101.61
<i>Epicauta stigmata</i>	19.6139	-101.306
<i>Epicauta stigmata</i>	19.6635	-101.363
<i>Epicauta stigmata</i>	19.6639	-101.429
<i>Epicauta stigmata</i>	19.7006	-101.186
<i>Epicauta stigmata</i>	19.7212	-99.7864
<i>Epicauta stigmata</i>	19.7788	-103.779
<i>Epicauta stigmata</i>	19.917	-100.18
<i>Epicauta stigmata</i>	19.9583	-100.872
<i>Epicauta stigmata</i>	19.9842	-99.0676
<i>Epicauta stigmata</i>	19.9883	-103.019
<i>Epicauta stigmata</i>	19.9887	-102.286
<i>Epicauta stigmata</i>	19.9978	-101.157
<i>Epicauta stigmata</i>	20.0047	-100.77
<i>Epicauta stigmata</i>	20.0069	-102.459
<i>Epicauta stigmata</i>	20.0326	-100.594
<i>Epicauta stigmata</i>	20.0843	-102.753
<i>Epicauta stigmata</i>	20.1017	-99.7089
<i>Epicauta stigmata</i>	20.1191	-102.576
<i>Epicauta stigmata</i>	20.1269	-103.146
<i>Epicauta stigmata</i>	20.1358	-102.071

<i>Epicauta stigmata</i>	20.1522	-102.623
<i>Epicauta stigmata</i>	20.2971	-103.189
<i>Epicauta stigmata</i>	20.33746	-100.616
<i>Epicauta stigmata</i>	20.4888	-99.273
<i>Epicauta stigmata</i>	20.5663	-100.416
<i>Epicauta stigmata</i>	20.5923	-100.488
<i>Epicauta stigmata</i>	20.5931	-100.392
<i>Epicauta stigmata</i>	20.6416	-101.196
<i>Epicauta stigmata</i>	20.6736	-103.344
<i>Epicauta stigmata</i>	20.6787	-101.355
<i>Epicauta stigmata</i>	20.6822	-99.5567
<i>Epicauta stigmata</i>	20.6857	-99.3342
<i>Epicauta stigmata</i>	20.8102	-102.762
<i>Epicauta stigmata</i>	20.8917	-100.66
<i>Epicauta stigmata</i>	21.0103	-100.444
<i>Epicauta stigmata</i>	21.0155	-102.327
<i>Epicauta stigmata</i>	21.0177	-101.258
<i>Epicauta stigmata</i>	21.0614	-102.296
<i>Epicauta stigmata</i>	21.1236	-101.681
<i>Epicauta stigmata</i>	21.1508	-102.274
<i>Epicauta stigmata</i>	21.1727	-102.023
<i>Epicauta stigmata</i>	21.1841	-102.265
<i>Epicauta stigmata</i>	21.1882	-102.105
<i>Epicauta stigmata</i>	21.2648	-102.112
<i>Epicauta stigmata</i>	21.2995	-102.12
<i>Epicauta stigmata</i>	21.3282	-101.927
<i>Epicauta stigmata</i>	21.3615	-101.406
<i>Epicauta stigmata</i>	21.4781	-101.533
<i>Epicauta stigmata</i>	21.80754	-101.537
<i>Epicauta stigmata</i>	21.875	-101.588
<i>Epicauta stigmata</i>	21.8826	-102.309
<i>Epicauta stigmata</i>	22.143	-102.382
<i>Epicauta stigmata</i>	22.2295	-102.331
<i>Epicauta stigmata</i>	22.2391	-101.088
<i>Epicauta stigmata</i>	22.4579	-102.345
<i>Epicauta stigmata</i>	22.4909	-102.368
<i>Epicauta uniforma</i>	22.55	-104.4
<i>Epicauta uniforma</i>	22.9626	-101.097
<i>Epicauta uniforma</i>	23.1719	-102.861
<i>Epicauta uniforma</i>	23.2196	-100.983
<i>Epicauta uniforma</i>	23.3583	-103.642
<i>Epicauta uniforma</i>	23.8456	-100.962

<i>Epicauta uniforma</i>	23.8459	-100.842
<i>Epicauta uniforma</i>	23.8665	-100.699
<i>Epicauta uniforma</i>	23.9242	-100.677
<i>Epicauta uniforma</i>	24.2999	-101.413
<i>Epicauta uniforma</i>	24.7357	-103.836
<i>Epicauta uniforma</i>	24.8265	-101.125
<i>Epicauta uniforma</i>	25.123	-103.787
<i>Epicauta uniforma</i>	25.3247	-101.052
<i>Epicauta uniforma</i>	25.3453	-101.033
<i>Epicauta uniforma</i>	29.2666	-103.3
<i>Epicauta uniforma</i>	30.7501	-104.084
<i>Epicauta uniforma</i>	31.3403	-110.934
<i>Epicauta uniforma</i>	31.3445	-109.545
<i>Epicauta uniforma</i>	31.4156	-110.73
<i>Epicauta uniforma</i>	31.7128	-110.068
<i>Epicauta uniforma</i>	31.7311	-106.463
<i>Epicauta uniforma</i>	31.7898	-111.587
<i>Epicauta uniforma</i>	31.9571	-109.771
<i>Epicauta uniforma</i>	32.2217	-110.926
<i>Epicauta uniforma</i>	32.3058	-107.728
<i>Epicauta uniforma</i>	32.7116	-111.495
<i>Epicauta uniforma</i>	34.3439	-99.4186
<i>Epicauta uniforma</i>	37.281	-104.382
<i>Epicauta uniforma</i>	37.985	-103.544

---