

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS



**ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Trichobaris soror*:
DEPREDADOR DE SEMILLAS DE *Datura
stramonium***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

MARÍA BORBOLLA LUNA

MÉXICO, D. F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue realizada bajo la dirección del Dr. Juan S. Núñez Farfán a quien agradezco su apoyo, comprensión y paciencia. Gracias también por estar pendiente de motivar a mi trabajo de tesis, sus oportunos comentarios y sabios consejos. Sin su ayuda y motivación esta tesis no hubiera sido posible.

Agradezco a los miembros del comité tutorial por sus aportes académicos; al Dr. Ken Oyama Nakagawa por el tiempo dedicado a la revisión del manuscrito y sus valiosos comentarios, Al Dr. Zenón Cano Santana por sus atinados comentarios siempre con el tiempo para explicar cada detalle, al Dr. Morales por la confianza en sus revisiones y palabras de aliento y a la Dra. Rosalinda Tapia López quien siempre confió en mi trabajo para seguir adelante siendo un gran apoyo en sus cometarios, su tiempo, su apoyo y su cariño.

A toda la gente del laboratorio de Genética Ecológica y Evolución quienes de una manera siempre estuvieron presentes en el trabajo del laboratorio y de campo a lo largo de este tiempo; Al Dr. Pedro Luis Valverde, a Judith Zamudio, al Dr. Juan Fornoni, Adán, Guadalupe Andraca, Marisol, Jesús y Armando.

Al Dr. Abel Senties y al Dr. Edson Sandoval por preguntar y hacer sus valiosos comentarios así como a todos los alumnos por haber contribuido a mi crecimiento personal y ser un motivo para terminar el trabajo empezado.

Finalmente, en una ocasión como ésta quisiera también agradecer a las personas que son importantes en mi vida. A mis tres pilares, mis hermanos José Ramón, Alejandro y Gerardo quienes han estado conmigo siempre aun cuando lejos los sienta. A mi mamá quien desde antes de nacer ya creía en mí, quien me ha apoyado en todo y no ha hecho otra cosa que buscar mi felicidad. A Alfredo Rangel Díaz porque juntos hemos aprendido a ser más que cómplices del amor, por todo lo compartido con nuestros dos grandes tesoros y por todo lo que nos falta.

ÍNDICE

RESUMEN	
I.INTRODUCCIÓN.....	5
A. Herbivorismo y Coevolución	
B. Descripción del sistema de estudio	
C. Objetivos e hipótesis	
II. MÉTODOS	13
A. Colecta de organismos	
B. Niveles de Infestación	
C. Morfología de <i>Trichobaris soror</i> adultos.	
D. Genética de poblaciones y Análisis de datos Genéticos.	
III. RESULTADOS	23
A. Niveles de Infestación	
B. Morfología	
C. Estructura y diversidad genética de <i>Trichobaris soror</i>	
IV. DISCUSIÓN	36
A. Análisis global	
B. Variación morfológica	
C. Variación infestación	
D. Variación genética	
E. Carrera armamentista coevolutiva	
V.CONCLUSIONES	40
LITERATURA CITADA	41
APÉNDICES	45
Apéndice A: Soluciones amortiguadoras usadas en la electroforesis.	
Apéndice B: Frecuencias alélicas de <i>Trichobaris soror</i>	

RESUMEN

Datura stramonium (Solanaceae) es una hierba anual de amplia distribución geográfica que habita ambientes variables en la abundancia y composición de insectos herbívoros. Esta variación geográfica anticipa que *D. stramonium* confronta distintas presiones selectivas, por lo que la respuesta adaptativa de las características defensivas contra herbívoros debería variar también. El presente estudio analiza (i) la variación geográfica de los niveles de depredación de semillas por el curculiónido *Trichobaris soror* en poblaciones de *D. stramonium*, (ii) el análisis de la variación geográfica en la morfología de *T. soror*, y (iii) la estructura genética de este herbívoro. *T. soror* es un depredador especialista en solanáceas, particularmente en *D. stramonium*, cuyo ciclo de vida está íntimamente asociado a esta planta. Las condiciones físicas del ambiente afectan la abundancia de los depredadores de semillas; en particular, *T. soror* produce niveles de infestación mayores en localidades templadas a frías, y prevalecientes en sitios de altitudes, por arriba de los 2 000m., coincidiendo con el Altiplano mexicano. Este depredador reduce el éxito reproductivo de las plantas (número de semillas; estimador de la adecuación) en un 10%, en promedio. Su estructura genética, analizada mediante 10 loci enzimáticos, indica que existe baja diferenciación genética ($F_{ST} = 0.0273$) entre nueve poblaciones de México, sugiriendo una alta migración, quizá mucho mayor que la de su planta huésped.

I.INTRODUCCIÓN

A. Herbivorismo y Coevolución

El herbivorismo, o el consumo de tejidos vegetales vivos por animales, es una interacción biótica que toma la forma de parasitismo — cuando los herbívoros sólo reducen el vigor de la planta, al reducir el tejido fotosintético (folívoros) floema (chupadores), etc.,— o de depredación cuando consumen al individuo completo, como en el caso de las semillas y los individuos juveniles (Janzen, 1971; Harper, 1977).

En términos de la asignación de recursos hecha por la planta, el consumo del tejido fotosintético no equivale al consumo total de un individuo genéticamente distinto, como la semilla, por lo que la intensidad y dirección de la selección ejercida por distintos herbívoros que consumen distintas partes de la planta, se espera sea distinta en la evolución de la defensa. La depredación de las semillas en la fase pre-dispersión es un caso particular en el que se reduce la adecuación de la planta; sin embargo, esta mortalidad puede ser un caso de selección “suave”, es decir que no se incurre en una “carga selectiva” (Harper, 1977). Sin embargo, si el depredador diferencia entre los genotipos de las semillas, actuaría como una fuerza selectiva aun cuando no afecte el tamaño de la población (Fenner, 1990).

El papel de las asociaciones parásito-huésped en la diversificación de los escarabajos curculiónidos ha sido estudiado a través de la filogenia de las angiospermas (Marvaldi *et al.*, 2002). A partir del uso de marcadores moleculares, como la subunidad 18S del DNAr, y datos morfológicos, se ha propuesto que los curculiónidos han colonizado cada grupo de plantas (cicadas, coníferas y angiospermas) y cada parte o tejido de las mismas; no obstante algunos linajes a menudo muestran un fuerte conservadurismo en la evolución del uso de su huésped (Marvaldi *et al.*, 2002).

La defensa de las plantas puede ser química, en cuyo caso éstas han evolucionado una gran diversidad de “venenos”, generalmente denominados metabolitos secundarios, que reducen el ataque de los herbívoros (Mithöfer, 2012). Los insectos, por su parte, han evolucionado contra-defensas, o mecanismos para “desarmar”, eliminar o tolerar tales “venenos”; por ejemplo, las larvas de *Danaus plexippus* deben metabolizarlos los glucósidos cardíacos de las plantas del género *Asclepias* spp. para no intoxicarse, secretarlos en las heces,

o incluso usarlos en su propia defensa, constituyendo “escudos” defensivos contra depredadores (Mithöfer 2012).

En al menos seis de las 12 especies del género *Datura*, se han encontrado en sus frutos depredadores de semillas del género *Trichobaris* (E. Kariñho-Betancourt, M. De la Mora y J. Núñez-Farfán, com. pers.). La interacción histórica entre especies de *Trichobaris* y *Datura* podría estar reflejada en la correlación entre la filogenia de ambos géneros, con eventos de diversificación acoplados. Incluso podría llegar a una “cascada filogenética”, esto ocurre si los parasitoides de *Trichobaris* también coespecian (Forister, 2011). Por ejemplo, ciertas especies de plantas producen compuestos volátiles cuando son parasitadas o depredadas por herbívoros (Diezel, 2011; Calyecac-Cordero, 2006) y los parasitoides usan estos compuestos como una clave ambiental para localizar a sus víctimas (los herbívoros). En varias poblaciones de *Datura stramonium* parasitadas por *Trichobaris soror* se ha detectado el parasitismo de larvas por avispas de la familia Braconidae (Cabrales-Vargas, 1991; Hernández-Cumplido, 2009; De la Mora, 2012).

Los escarabajos del género *Trichobaris* conocidos como picudos, constituyen un buen modelo para el estudio de la estructura genética de las poblaciones de herbívoros depredadores de semillas que están íntimamente asociados a su planta huésped. En estos sistemas se ha postulado que el origen de una defensa novedosa y efectiva contra los herbívoros promueve la radiación adaptativa en las plantas (Ehrlich y Raven, 1964; Farrell, 1994). Este nicho disponible eventualmente será ocupado por otros herbívoros que evolucionen mecanismos contra-defensivos; de manera análoga, la evolución adaptativa en los herbívoros a sus plantas huésped propiciará su diversificación (Wheat *et al.*, 2007). Esto es, en esencia, el postulado de la coevolución entre plantas y herbívoros, denominado “carrera armamentista” (Dawkins y Krebs, 1979).

La adaptación local, la especialización y la especiación simpátrica son procesos que ocurren en insectos parásitos de plantas, cuyo ciclo de vida está íntimamente asociado a éstas lo que promueve la diferenciación genética y/o morfológica (Mopper, 1996; Filchak *et al.*, 2000). Ya que las plantas huésped constituyen distintos ambientes selectivos para los herbívoros, la variación en las características defensivas de las plantas puede dar lugar al fenómeno de adaptación local por cambio de huésped, o a la plasticidad fenotípica. Aunque

no necesariamente se sigue la ruta de adaptación local → especialización → especiación (ya que la diferenciación puede ser aleatoria por deriva génica), cuando hay evolución adaptativa se espera encontrar regiones donde la interacción es más intensa o “hotspots”, es decir, poblaciones con altos niveles de depredación y alta defensa de las plantas (Thompson, 2005; Castillo *et al.*, 2013); y lugares donde la interacción sea menos estrecha (“coldspots”), dando lugar a un “mosaico selectivo”. No obstante, tanto la variación en el vigor, el éxito reproductivo y la morfología de los interactuantes pueden variar por las condiciones climáticas de las regiones más que por la interacción misma. Por tanto, analizar los patrones de diferenciación entre poblaciones y la divergencia genética no es trivial.

En el marco de las interacciones bióticas, la coevolución es un proceso de adaptación recíproca entre poblaciones de distintas especies. Este proceso coevolutivo está estructurado geográficamente (Thompson, 1999; Gomulkiewicz *et al.*, 2007), implicando que las presiones de selección que median estas interacciones evolutivas varían espacialmente (Toju, 2007). En algunas localidades las interacciones están sujetas a selección recíproca (“hotspots” coevolutivos) mientras que en otras, la selección no es recíproca (“coldspots” coevolutivos; Gomulkiewicz *et al.*, 2002). La estructura genética de las especies que interactúan en una localidad también puede cambiar por mutación (aunque se espera que su efecto sea pequeño), flujo génico entre localidades, deriva génica y extinción de poblaciones (Thompson, 1999; Gomulkiewicz *et al.*, 2007).

A través de la adaptación local, la selección natural tiene el potencial de diferenciar poblaciones mientras que el flujo génico homogeniza los acervos de genes entre poblaciones (Kawecki y Ebert, 2004); la adaptación local surgiría como un producto secundario de la selección a nivel local. En organismos parásitos, la adaptación local se puede medir en términos de su habilidad de infestar a su huésped (Greischar y Koskella, 2007), ya sea como la proporción de huéspedes infestados, la proporción de parásitos que sobreviven en un determinado huésped, o como la intensidad de la infestación (*i.e.* el número de parásitos exitosos que se reproducen en el huésped; Greischar y Koskella, 2007).

Otro proceso evolutivo relevante en la adaptación local de los parásitos a sus huéspedes, después de la selección natural, es el flujo génico (Gandon *et al.*, 1996; Gandon, 2002; Greischar y Koskella, 2007). En un análisis de 54 especies de parásitos de plantas, se

encontró que los parásitos con una mayor tasa de migración en comparación a sus huéspedes, tienen mayor probabilidad de presentar adaptación local. Esto se debe a un efecto genético que puede ser explicado por los altos niveles de polimorfismo a nivel regional debido a introducciones recurrentes por migración de genotipos con gran capacidad de infestación, o a través de mutación (Gandon *et al.*, 1996; Gandon, 2002). Este patrón concuerda con la adaptación local que exhibe el escarabajo *Curculio camelliae* (Coleoptera: Curculionidae) que parasita a la planta *Camellia japonica* (Theaceae) (Toju *et al.*, 2011). En esta interacción la conducta de forrajeo de *Curculio camelliae* está asociada con la de oviposición (Toju, 2007); de igual forma, el *rostrum* (cavidad labial modificada en insectos; Resh y Cardé, 2009) de la hembra es tan largo que le permite perforar el pericarpio del fruto de *Camellia japonica* para alimentarse y ovipositar. El fruto de la camelia es una cápsula con un pericarpio grueso, dehiscente, de tres lóculos y con una semilla por cavidad (Okamoto, 1988). Se encontró que la probabilidad de excavación exitosa es alta cuando *Curculio camelliae* ataca pericarpios gruesos; si la probabilidad de fallar aumenta al atacar un pericarpio grueso, los picudos atacan más a los pericarpios de grosor intermedio (Toju, 2007). La relación de la conducta de forrajeo del escarabajo con su conducta de oviposición concuerda con la hipótesis de oviposición óptima para insectos fitófagos (Jaenike, 1978); esta hipótesis predice que los organismos sin cuidado parental buscan ovipositar donde sus hijos puedan encontrar el alimento necesario para desarrollarse. La variación en la conducta de oviposición de *Curculio camelliae* puede ser blanco (“target”) de la selección natural, produciendo variación interpoblacional en el largo de su *rostrum* y el grueso del pericarpio de los frutos (Iseki *et al.*, 2011).

Al escalamiento de la selección natural en los caracteres que median la interacción de *Curculio camelliae* (Coleoptera: Curculionidae) y *Camellia japonica* (Theaceae) constituye una “carrera armamentista” (Dawkins y Krebs, 1979; Toju y Sota, 2006). Los caracteres que median la interacción (*rostrum*, grueso del pericarpio) en estas dos especies también son afectados por factores abióticos (*e. g.* la latitud; Iseki *et al.*, 2011), aunque a nivel intrapoblacional su correlación es más pronunciada (Iseki *et al.*, 2011).

B. Descripción del sistema de estudio

En México se encuentran 12 especies de *Datura* (*Solanaceae*) por lo que se considera esta región como el centro de origen y diversificación del género (Barclay, 1959). Su distribución se concentra principalmente en México y Estados Unidos, aunque también está presente en Europa, África, Asia y Oceanía (Luna-Cavazos, 2011).

La especies de *Datura* se distinguen entre sí por la forma y tamaño de la flor, las semillas y la cápsula del fruto (Avery 1959). Las especies son: *D. stramonium*, *D. ferox*, *D. quercifolia*, *D. pruinosa*, *D. leichhardtii*, *D. wrightii* (*D. meteloides*), *D. inoxia*, *D. lanosa*, *D. discolor*, *D. metel*, *D. ceratocaula* y *D. reburra*. Algunos polinizadores de estas especies son los esfíngidos *Manduca sexta*, *M. quinquemaculata*, *Hyles lineata* y *Sphinx* sp. (Villanueva, 1998).

Datura stramonium es una planta ampliamente estudiada debido a sus estrategias defensivas contra herbívoros (Núñez-Farfán y Dirzo, 1994; Fornoni y Núñez-Farfán, 2000; Shonle y Bergelson, 2000; Valverde *et al.*, 2001; Castillo, 2009; Cruz, 2009, Kariñho, 2009; Bello-Bedoy y Núñez-Farfán, 2011). *D. stramonium* es una hierba anual con ramificación dicotómica donde se desarrollan las flores y los frutos. En México es conocida como “toloache” y crece en lugares perturbados, a orillas de caminos, donde las condiciones de humedad y temperatura son adecuadas para la germinación de las semillas. Los frutos en la etapa predisposición presentan daño principalmente por herbívoros (*Trichobaris soror*) que en ocasiones pueden consumir el total de las semillas (Cabrales Vargas, 1991).

El género *Trichobaris* según Barber (1935) contiene al menos 13 especies; aunque otras fuentes como GBIF, Zipcodezoo, EOL reportan hasta 28 especies sin especificar ningún criterio taxonómico. La mayoría de las especies de *Trichobaris* se distribuye desde el Istmo de Tehuantepec hasta Canadá.

El escarabajo *Trichobaris soror* pasa todo su ciclo de vida asociado a *Datura stramonium* (Cabrales-Vargas, 1991); presenta dimorfismo sexual en tamaño, siendo las hembras más grandes que los machos. Durante su ciclo de vida *Trichobaris soror* puede cambiar de dieta; en sus estadios larvarios se alimenta exclusivamente de semillas inmaduras (Cabrales-Vargas, 1991) y en el estadio adulto se alimenta de flores y hojas (J. Núñez-Farfán, obs. pers.).

El primer reporte sobre este curculiónido, realizado por Barber (1935) mostró que la especie sólo estaba presente en los estados de Aguascalientes, Colima, Chihuahua, Guerrero, México, Morelos, Oaxaca, Veracruz y el Distrito Federal asociada al tabaco y al tomate. Las especies de curculiónidos cuyas larvas se alimentan del tallo de *D. stramonium* son: *T. texana* (huésped: *Solanum rostratum*) (Barber, 1935); *S. elaeagnifolium* (Barber, 1935), *T. trinotata* (huésped: *Solanum carolinense* y *Solanum tuberosum*) (Cuda, 1991), *T. mucorea* (huésped: *Nicotiana attenuata*) (Diezel, 2011), *T. compacta* (huésped: *Datura pruinosa*) y *T. championi* (huésped: *Physalis ixocarpa*) (Huerta-Paniagua, 2004) mientras que las especies reportadas que se alimentan de las semillas son: *T. bridwelli* (huésped: *Datura stramonium*) y *T. soror* (huésped: *D. stramonium*) (Barber 1935).

De algunas especies de *Trichobaris* se desconoce la planta huésped como: *T. insolita* encontrada en *Physalis* sp. (Barber 1935), *T. major* encontrada en *D. inoxia*, *T. cylindrica* encontrada en *Solanum elaeagnifolium* (Barber 1935) y *T. pellicea* colectada *Solanum* sp. (Barber 1935).

El daño debido a *T. soror* es intenso ya que el ciclo de vida se encuentra estrechamente asociado a *D. stramonium*. El apareamiento de *Trichobaris soror* ocurre en las hojas del toloache. Las hembras ovopositan haciendo agujeros en los pericarpios y depositando un huevo a la vez. Al momento de eclosionar las larvas se alimentan dentro del fruto cerrado de las semillas y parte del fruto. Con los desechos que se acumulan dentro del fruto de los mismos insectos forman una masa blanda en la que se encierran para transformarse en pupas y en la formación del imago que se endurece y permanecen en la temporada seca para salir y comenzar un ciclo. (Cabrales y Vargas, 1991)

Dentro de la misma población se ha encontrado que la capacidad de infestación de *T. soror* afecta diferencialmente a las familias genéticas de su huésped (i.e., variación genética en resistencia; Cruz, 2009). *Datura stramonium* es consumida por dos herbívoros especialistas de tejido foliar; *Epitrix parvula* y *Lema trilineata* (Coleoptera: Chrysomelidae; Núñez-Farfán y Dirzo, 1994), un herbívoro generalista: *Sphenarium purpuracens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae)

que es su consumidor de tejido foliar (Núñez-Farfán *et al.*, 1996) y *T. soror*, parásito de frutos (Cabrales-Vargas, 1991).

En *D. stramonium* se ha medido la tolerancia al daño como la norma de reacción de genotipos bajo un gradiente de presión de defoliación (Fornoni y Núñez-Farfán, 2000), y la resistencia se ha medido como la habilidad de evadir el ataque de herbívoros (Rausher, 1996), por metabolitos secundarios (alcaloides; Shonle y Bergelson, 2000) y tricomas foliares (Valverde *et al.*, 2001). Se ha encontrado que el parásito *T. soror* reduce la adecuación de las plantas y actúa de manera aditiva sobre la resistencia junto con herbívoros foliares (Cruz, 2009).

Una vez que ocurre el apareamiento en las hojas de *D. stramonium*, las hembras del escarabajo ovipositan en las yemas florales, flores y frutos en desarrollo (Cabrales-Vargas, 1991). Dentro del fruto, la larva en desarrollo de *T. soror* se alimenta de semillas inmaduras hasta su estadio adulto (Cabrales-Vargas, 1991). Las larvas pueden comer de 12 a 24 semillas, pero incluso unas cuantas larvas pueden dañar todas las semillas de un fruto causando decremento en la adecuación materna de *D. stramonium* (Cabrales-Vargas, 1991; Cruz 2009, Bello-Bedoy *et al.*, 2011a). Una vez que alcanzan el estadio adulto, los individuos permanecen quiescentes durante la temporada seca hasta la época de lluvias para comenzar un nuevo ciclo (Cabrales-Vargas, 1991).

Con respecto a la estructura genética del sistema *T. soror*-*D. stramonium*, se ha encontrado que el parásito presenta una mayor tasa de migración ($F_{ST} = 0.08$, De la Mora, 2012) que su huésped ($F_{ST} = 0.265$, Andraca, 2009). De acuerdo con la hipótesis de adaptación local asociada a la migración en los sistemas parásito-huésped (Gandon *et al.*, 1996, Gandon, 2002, Greischar y Koskella, 2007, Toju *et al.*, 2011), se esperaría un patrón de adaptación local de *T. soror* a su huésped. En un estudio reciente de la interacción entre *D. stramonium* y su herbívoro foliar, *Lema trilineata*, se encontró adaptación local, bajo el criterio “local vs. foreign” del insecto a la planta en las localidades Esperanza, Pue. y Pedregal de San Ángel, D.F. (Garrido *et al.*, 2012). Estos resultados concuerdan con la hipótesis de adaptación local asociada a la migración en los sistemas parásito - huésped (Gandon *et al.*, 1996; Gandon, 2002, Greischar y Koskella, 2007).

C. Objetivos e hipótesis

El Objetivo general de éste trabajo es determinar a nivel geográfico la estructura genética y la intensidad de la interacción entre *Datura stramonium* y su depredador de semillas, *T. soror*. Los objetivos particulares por su parte son los siguientes:

1. Determinar la variación geográfica en la morfología de *T. soror* y su relación con variables ambientales.
2. Determinar la variación geográfica de la depredación de semillas de *T. soror* a *Datura stramonium* en localidades del Centro de México.
3. Determinar la estructura genética del herbívoro *Trichobaris soror* en poblaciones del Centro de México.

Se hipotetiza que, debido a estrecha asociación entre *T. soror*-*Datura stramonium*, se esperan bajos niveles de migración lo que se reflejaría en una fuerte estructura genética del herbívoro. Al mismo tiempo, se espera una amplia variación en los niveles de infestación entre poblaciones debido a las diferencias ambientales.

III. MÉTODOS

A. Colecta de organismos

Se colectaron todos los frutos de las plantas, de 11 a 43 dependiendo la disponibilidad de la localidad, cerrados en 11 poblaciones naturales de *D. stramonium* entre septiembre y noviembre de 1999, ubicadas en los estados de Puebla, Hidalgo, Michoacán, Guerrero, Morelos, Distrito Federal y Estado de México (Fig. 1; Tabla 1.).

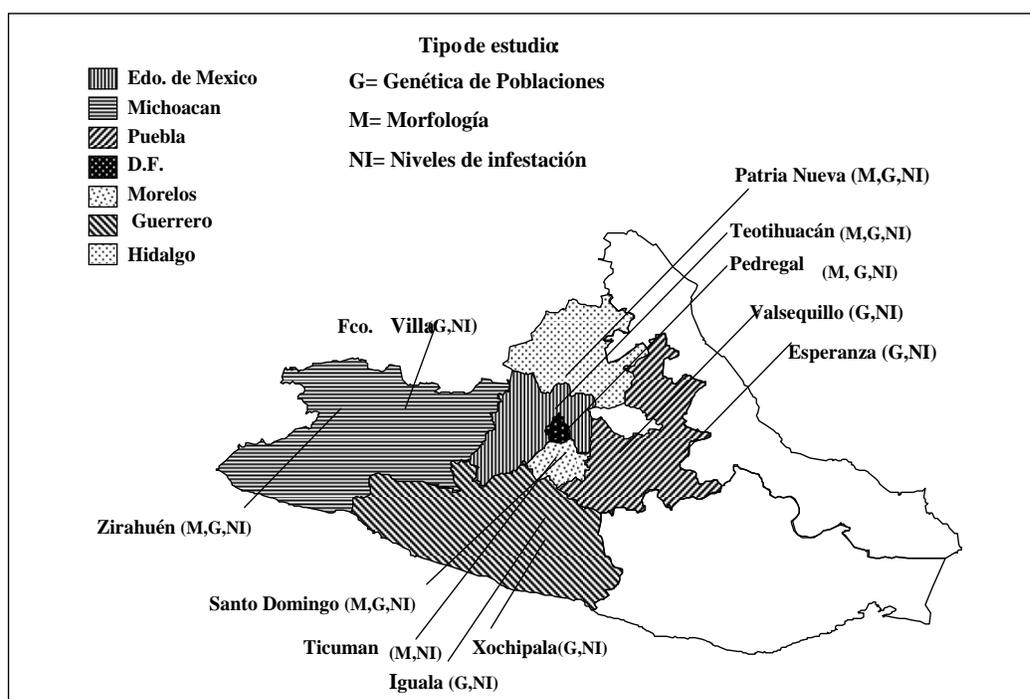


Figura 1. Mapa del Centro de México con las poblaciones muestreadas. En cada población se indica el tipo de estudio realizado.

De las poblaciones elegidas se tomaron los datos de las variables ambientales, como temperatura, precipitación pluvial media anual y la altitud. Estas variables de las localidades se correlacionan con la proporción de frutos infestados por *T. soror* en *D. stramonium* (Hernández-Cumplido 2009). Los datos climáticos fueron tomados de García (1988) y modificados por las capas de temperatura y precipitación media anual tomados de la página de geoinformación de CONABIO (<http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>) proyectados en Google Earth. Las coordenadas y altitudes fueron tomadas de este último.

El índice de humedad de LANG para cada localidad fue calculado como el total de la precipitación media anual en milímetros entre la temperatura media anual en grados Celsius (Mohr y Van Baren 1954).

Tabla 1. Coordenadas geográficas y condiciones ambientales de las poblaciones de *Datura stramonium* en el centro de México. PP y T, precipitación acumulada y temperaturas promedio anuales.

Número y localidad de cada población (Estado)	Código	Latitud N	Longitud W	Altitud ms.n.m.	PP (mm)	T (°C)	Índice LANG
I. Pedregal (Distrito Federal)	PED	19°19'03.14"	99°11'51.74"	2340	800	16.3	49.079
II. Teotihuacán (Estado de México)	TEO	19°41'27.22"	98°52'51.36"	2331	559.6	14.8	37.810
III. Esperanza (Puebla)	ESP	18°51'28.79"	97°22'24.75"	2464	800	16.6	48.192
IV. Valsequillo (Puebla)	VAL	18°55'10.64"	98°06'45.24"	2114	826	16.6	49.759
V. Patria Nueva (Hidalgo)	PN	20°22'14.67"	99°03'10.21"	1943	400	18.4	21.739
VI. Morelia (Michoacán)	MOR	19°42'21.42"	101°11'41.94"	1907	700	15.7	49.585
VII. Zirahuén (Michoacán)	ZIR	19°27'14"	101°43'55"	2098	1400.6	16.4	85.402
VIII. Santo Domingo (Morelos)	SD	18°59'07"	99°05'59"	1720	1200	19.9	60.301
IX. Ticumán (Morelos)	TIC	18°45'42.15"	99°07'14.10"	971	802.1	23.1	34.722
X. Xochipala (Guerrero)	XO	17°46'34.45"	99°41'16.40"	1507	600	26.4	22.727
XI. Iguala (Guerrero)	IG	18°21'00"	99°32'00"	866	800	22	36.363

B. Niveles de infestación

Para evaluar en condiciones naturales la relación entre la infestación por *T. soror* a *D. stramonium* se colectaron todos los frutos de una muestra entre 12 a 43 plantas en cada una de las 11 poblaciones seleccionadas. Para cada fruto se registró el número de semillas, el número de cámaras de las larvas de los escarabajos, el número de escarabajos (divididos en machos, hembras y larvas) y el número de avispa parasitoides (larvas y adultos).

Los niveles de infestación por planta se calcularon haciendo un promedio del daño, esto es:

$$NI = \frac{\text{No. total de frutos dañados}}{\text{No. total de frutos (dañados + sanos)}}$$

Los curculiónidos fueron separados por sexo y estadio larvario, esto con el objeto de obtener los análisis de morfología y genética de poblaciones. Para determinar la identidad de las especies *Trichobaris*, se extrajo la genitalia y se usó la clave de Barber (1935). Los datos de colecta de cada población se describen en Tabla 2.

Tabla 2. Tamaño de la muestra (frutos) colectada en las poblaciones naturales de *Datura stramonium* y número de individuos de *Trichobaris soror* utilizados para el análisis morfológico y de genética de poblaciones. Los símbolos de las poblaciones se señalan en la Tabla 1.

Población	Símbolo	Fecha de Colecta	Clave	No. Plantas	No. Frutos	No. ind. por tratamiento	
						Genética	Morfología
Pedregal	PE	Oct. 1999	PED	40	356	18♂, 18♀	30♂, 30♀
Teotihuacán	TE	Sep. 1999	TEO	39	352	18♂, 18♀	30♂, 30♀
Esperanza	ES	Oct. 1999	ESP	34	498	18♂, 18♀	---
Valsequillo	VA	Oct. 1999	VAL	12	126	18♂, 18♀	---
Patria Nueva	PN	Oct. 1999	PN	41	232	18♂, 18♀	30♂, 30♀
Fco.Villa	F	Oct. 1999	FV	24	184	18♂, 18♀	---
Zirahuén	ZI	Sep. 1999	ZIR	27	215	18♂, 18♀	30♂, 30♀
Sto.Domingo	SD	Sep. 1999	SD	26	165	18♂, 18♀	30♂, 30♀
Ticumán	T	Sep. 1999	TIC	40	464	---	30♂, 30♀
Xochipala	X	Ago. 1999	XO	15	224	12♂, 12♀	---
Iguala	I	Nov. 1999	IG	17	274	12♂, 12♀	---

Se emplearon dos índices para medir la infestación de *T. soror* en cada población: la intensidad de la infestación, medida como el número de individuos de *T. soror* por planta (Greischar y Koskella 2007), y la proporción de frutos infestados por planta (Greischar y Koskella 2007, Hernández-Cumplido 2009).

La intensidad de la infestación y la proporción de frutos infestados entre poblaciones fueron evaluadas mediante análisis de Varianza (ANdeVAs), bajo la hipótesis nula de que los índices de infestación de los escarabajos no varían entre poblaciones. Las proporciones (p_i) fueron transformadas con una función de arcoseno. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete JMP versión 10 (SAS 2012). **C. Morfología de los adultos de *Trichobaris soror***

Se seleccionaron seis de las 11 poblaciones colectadas para medir los caracteres morfológicos de 30 machos y 30 hembras de *Trichobaris* (Figura 2). También se colectaron individuos fuera de los frutos colectados. Los caracteres morfológicos fueron analizados por medio de fotografías tomadas con el Software Win Zip 6.3, con un microscopio estereoscópico y una cámara fotográfica. Los caracteres fueron: largo total (*Lt*), ancho del tórax (*At*), largo de la antena (*La*), largo de la proboscis (*Lp*) y largo del fémur I izquierdo (*Lf*) (Figura 2).

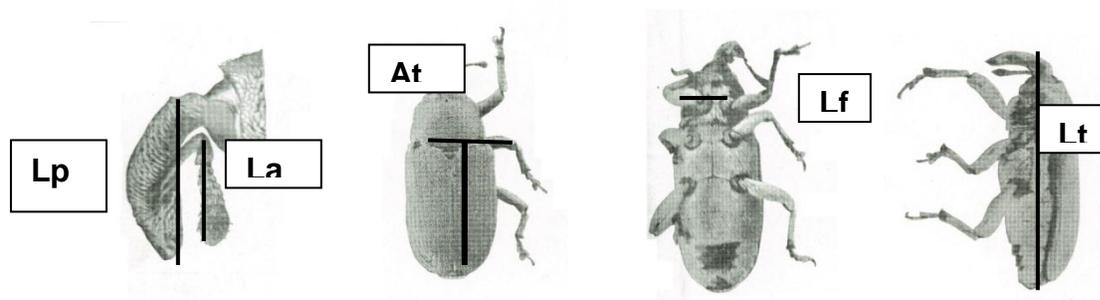


Figura 2. Estructuras medidas en *Trichobaris soror* de seis poblaciones de *Datura stramonium*

Las mediciones se usaron para estimar el tamaño corporal general, así como medidas relativas (i.e., tamaño de la proboscis en relación al tamaño corporal). La variación morfológica se analizó mediante Análisis de Componentes Principales (en inglés, PCA), una técnica utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. Técnicamente, el ACP busca la proyección según la cual los datos queden mejor representados en términos de mínimos cuadrados. En términos menos formales, puede usarse para determinar el número de factores subyacentes explicativos de un conjunto de datos que expliquen su variabilidad.

El dimorfismo sexual en tamaño (DST) fue estimado como $DST = \left[\frac{\bar{X}_{hembras}}{\bar{X}_{machos}} - 1 \right]$.

Cuando las hembras son más grandes que los machos, como en *Trichobaris*, el índice es positivo (Lovich y Gibbons, 1992).

Se realizó un ACP para explorar la posible relación entre los caracteres morfológicos de *T. soror*. Para los caracteres morfológicos se realizaron ANdeVAs por población y por sexo para detectar diferencias en los caracteres morfológicos. Las desviaciones de una proporción sexual 1:1 entre poblaciones fueron evaluadas mediante un modelo log-normal, suponiendo un

error tipo Poisson, con el software R (R Development Core Team, 2011). Una interacción significativa de sexo \times población en el modelo indica diferencias en la proporción sexual entre poblaciones.

D. Análisis de datos genéticos

Para analizar la estructura genética de las poblaciones de *T. soror* se emplearon marcadores genéticos neutrales. Se usó la técnica de electroforesis de isoenzimas en geles de acetato de celulosa (Helena Laboratories; Richardson *et. Al.*, 1986), siguiendo el protocolo detallado de tinción para cada enzima (Hebert y Beaton, 1986).

Para extraer las enzimas se maceró la cabeza de los coleópteros con 150 μ l de buffer en morteros de porcelana y agregando nitrógeno líquido. El homogenizado obtenido se centrifugó a 14000 r.p.m. durante un min; se tomaron 8 μ l del sobrenadante de cada muestra, el resto se congeló a -70°C para realizar posibles repeticiones. La solución amortiguadora utilizada para la electroforesis fue tris citrato con la cual también fueron preparados los geles al 12% de celulosa con un pH 8.2 y corridos a 150v de 90 a 120 min, según fuera necesario para cada enzima (Tabla 2).

Se obtuvieron nueve enzimas para un total de 11 loci (Tabla 2). esterasa (EST; E.C. 3.1.1.1), fosfoglucosa isomerasa (PGI; E.C. 5.3.1.9), fosfoglucomutasa (PGM; E.C. 2.7.5.1), fumarato hidratasa (FUM; E.C. 4.2.1.2), glutamato oxaloacetato transferasa (GOT; E.C. 2.6.1.1), isocitrato deshidrogenasa (IDH; E.C. 1.1.1.42), malato deshidrogenasa (MDH; E.C. 1.1.1.37), enzima málica (ME; E.C. 1.1.1.40) y peptidasa (PEP; E.C. 3.4.11 ó 3.4.13). Los alelos se registraron según su velocidad de corrida en el gel, como 1 para el más rápido, y así sucesivamente. En la Tabla 3 se especifican las condiciones para la electroforesis de cada enzima usada para las poblaciones de *T. soror*. En el apéndice A se proporcionan las fórmulas para preparar las soluciones amortiguadoras y las fórmulas para la tinción de cada enzima utilizada (tomadas de Hebert y Beaton, 1986).

Tabla 3. Enzimas estudiadas y condiciones para la electroforesis en *Trichobaris soror*. La solución amortiguadora para la electroforesis fue tris citrato (J) pH = 8.2 y se aplicó un voltaje de 150v para todas las enzimas.

Enzima	Locus	Estructura cuaternaria	Comisión de números de enzimas (Enzyme Comission number)	Tiempo (min)
Esterasa	EST	Dímero	E.C.3.1.1.1	90
Fosfoglucosa Isomerasa	PGI	Dímero	E.C.5.3.1.9	90
Fosfogluco- Mutasa	PGM	Monómero	E.C.2.7.5.1	90
Fumarato Hidratasa	FUM	Tetrámero	E.C.4.2.1.2	120
Glutamato-Oxaloacetato Transferasa	GOT	Dímero	E.C.2.6.1.1	120
Isocitrato Desidrogenasa	IDH-1 IDH-2	Monómero Dímero	E.C.1.1.1.42	120
Malato Desidrogenasa	MDH	Dímero	E.C.1.1.1.37	120
Enzima Málica	ME	Tetrámero	E.C.1.1.1.40	120
Peptidasa	PEP	Monómero Dímero	E.C.3.4.11 ó 3.4.13	120

Se construyeron las matrices de datos de los genotipos inferidos de todos los individuos analizados para cada uno de los loci estudiados. Estas matrices se utilizaron para correr el programa TFGA (Tools For Population Genetic Analyses; Miller 1997), con este se obtienen, en primer lugar, las frecuencias alélicas para cada locus en las distintas poblaciones. A partir de éstas, es posible calcular los estimadores de la cantidad de variación genética en las poblaciones y la “partición” de esa variación *dentro* y *entre* poblaciones. A esto último se llama estructura genética.

a. Análisis intrapoblacional

De acuerdo con Hartl y Clark (1989), los estimadores más utilizados para medir la variación genética interpoblación son:

1. *Proporción de loci polimórficos o Polimorfismo (P)*. Un locus es polimórfico cuando presenta más de un alelo. Puesto que la probabilidad de encontrar más de un alelo en un locus se incrementa conforme aumenta el número de individuos muestreados, se determinó un criterio arbitrario para decidir si un locus es *polimórfico*, cuando la frecuencia del alelo más

común no excede el 95%. Para estimar el polimorfismo, únicamente se calcula la proporción de loci que fueron polimórficos con respecto al total estudiado.

2. *Heterocigosidad promedio esperada* (H_e). Es la proporción promedio de individuos heterocigos por locus esperada bajo apareamiento aleatorio o en Hardy-Weinberg (lo que implica que la frecuencia de heterocigotos estaría en función del producto de las frecuencias de los alelos que forman los heterocigotos). Para calcularla, es necesario obtener la heterocigosidad en cada locus como $H_e = 1 - \sum p_i^2$; donde p_i es la frecuencia de cada uno de los alelos presentes en el locus, y luego se obtiene el promedio para todos los loci estudiados. Este índice puede tomar valores desde cero, donde no existe variación genética, a uno, donde todos los individuos son heterocigotos (esperado para un número infinito de alelos en un locus).

3. *Número promedio de alelos por locus* (A) Es el resultado de obtener el promedio aritmético del número de alelos presentes en cada uno de los loci estudiados.

Se calcularon estos tres índices para cada una de las poblaciones de coleópteros.

El polimorfismo se obtuvo con el criterio del 95% y la heterocigosidad esperada en cada locus mediante el método de Levene (1949) que permite una estimación no sesgada, aun cuando los tamaños de muestra son pequeños. La heterocigosidad observada se obtuvo contando directamente el número de individuos heterocigos por locus.

Para estimar la estructura intrapoblacional se calcularon (Crow, 1986; Hartl y Clark, 1989):

4. *Coefficiente de endogamia* (F). Mide la reducción en la heterocigosidad dentro de una población debido al cruzamiento entre parientes, con respecto a la heterocigosidad esperada en equilibrio Hardy-Weinberg, cuando no está presente ninguna de las fuerzas evolutivas y las frecuencias alélicas y genotípicas permanecen estables y no cambian de generación en generación (Wright, 1951). Bajo estas condiciones, la relación entre las frecuencias alélicas y genotípicas de dos alelos es la siguiente (para dos alelos en un locus): $(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ donde p = frecuencia del alelo A, q = frecuencia del alelo a, p^2 = frecuencia del genotipo AA; $2pq$ = frecuencia del genotipo Aa y q^2 = frecuencia del genotipo aa.

En aquellas poblaciones en las que ocurren apareamientos entre parientes, las frecuencias genotípicas no se encuentran en esta relación con las frecuencias alélicas, sino que existe un menor o mayor número de heterocigos que el esperado. El estadístico F se

calcula como $F = (H_o - H_e) / H_e$, donde H_o y H_e la heterocigosidad observada y esperada, respectivamente. Los valores positivos indican deficiencia de heterócigos observados y los negativos exceso.

Este índice se calculó para cada locus polimórfico y para cada población. La significancia de los resultados se estimó mediante una prueba de χ^2 de Li y de Horovitz (1953) que utiliza la fórmula $\chi^2 = F^2 N (k-1)$; $gl = [k(k-1)] / 2$; k = número de alelos, N = tamaño de la muestra.

Otra manera de evaluar la importancia de las desviaciones en las frecuencias genotípicas con respecto a lo esperado en equilibrio Hardy-Weinberg, es comparando la frecuencia esperada de cada genotipo con su frecuencia observada mediante una prueba de bondad de ajuste de χ^2 . Esto se hizo para cada locus en cada población utilizando la fórmula de Levene (1949) y la corrección de Yates para muestras pequeñas.

b. Análisis interpopulacionales

Determinar si un locus se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg en todas las poblaciones muestreadas es importante para establecer su neutralidad, lo cual es un requisito para poder utilizarlo en este tipo de análisis. Cuando un locus es neutro, las frecuencias alélicas en cada una de las poblaciones no dependen de los procesos específicos de cada localidad, como el grado de endogamia sino que sólo son el resultado de la cantidad de flujo génico entre poblaciones y de la deriva génica. Una vez cumplido este punto, pueden calcularse los siguientes índices (Crow, 1986; Hartl, 1988 y Hartl y Clark, 1989):

1. *Estadísticos F de Wright* (1951) Son los índices más usados para describir la estructura poblacional. Funcionan a tres niveles jerárquicos: en una población subdividida podemos hablar de individuos (I), subpoblaciones (S) y la población total (T). H_I es la heterocigosidad *observada* promedio de un individuo en una subpoblación dada, H_S es la heterocigosidad *esperada* promedio de un individuo en una subpoblación equivalente en la que todos los apareamientos se realizan al azar y H_T es la heterocigosidad de un individuo si la población total no estuviera subdividida y los apareamientos se realizaran al azar, los tres estadísticos son F_{IS} , F y F_{IT} y se definen como $F_{IS} = (H_S H_I) / H_S$; $F_{ST} = (H_T H_S) / H_T$; $F_{IT} = (H_T H_I) / H_T$. Por lo

tanto, F_{IS} mide la reducción en la heterocigosidad de un individuo debido a apareamientos no aleatorios de la subpoblación en la que se encuentra, con respecto a una subpoblación ideal, en la que todos los apareamientos se realizan al azar. Puede tomar valores positivos cuando la heterocigosidad es menor que la esperada y negativos cuando la heterocigosidad es mayor que la esperada.

F_{ST} por su parte, mide la reducción en la heterocigosidad *esperada* de un individuo que se encuentra en una subpoblación, con respecto a la *esperada* en un individuo que se encontrara en una población no subdividida con apareamientos al azar; es decir, mide los efectos de la subdivisión. Toma valores entre 0 (ambas poblaciones tienen idénticas frecuencias alélicas) y 1 (existen alelos alternativos fijos en cada una de las subpoblaciones).

Finalmente, F_{IT} mide la reducción en la heterocigosidad *observada* de un individuo que se encuentra en una subpoblación, con respecto a la *esperada* en un individuo en una población no subdividida con apareamientos al azar; es decir, toma conjuntamente en cuenta los efectos de los apareamientos no aleatorios dentro de las subpoblaciones y los efectos de la subdivisión.

Weir y Cockerman (1984) introdujeron los estimadores f , θ y F , que son equivalentes a F_{IS} , F_{ST} y F_{IT} , pero que tienen la ventaja de considerar la posibilidad de diferentes tamaños de muestra en términos de poblaciones observadas, individuos muestreados, loci registrados y alelos observados. El estimador θ ocasionalmente puede tomar valores negativos, los cuales se interpretan como un signo de que la estructura poblacional es demasiado pequeña para ser detectada.

Se obtuvieron los valores de las F de Wright, y de los estimadores de Weir y Cockerman para cada locus y sus promedios para todos los loci. Se utilizó el programa TFGA (Tools for Genetic Analyses) para calcular f , θ y F . Este programa emplea un procedimiento de “jackknife” para obtener los promedios de los tres estimadores, con su respectiva desviación estándar y el método “bootstrap” con 1000 réplicas para estimar los intervalos de confianza al 95% de los valores promedio (Weir, 1990).

Se empleó el programa TFGA (Tools for Genetic Analyses; Miller, 1997) para estimar el flujo genético promedio entre poblaciones (Nm), a partir del valor de F_{ST}

empleando el método de Slatkin (1985), de alelos exclusivos. Esta aproximación utiliza la frecuencia promedio de los alelos que se encuentran exclusivamente en cada población (llamados alelos “privados”). Posteriormente, se realizaron pruebas de Mantel (1967) para poner a prueba la hipótesis de aislamiento por distancia. Para obtener las distancias geográficas se utilizaron las coordenadas geográficas obtenidas en campo (Tabla 1), usando una calculadora de distancias geográficas (disponible en: <http://jan.ucc.nau.edu/~cvm/latlongdist.html>). La matriz de distancia genética, F_{ST} , se comparó contra la de distancias geográficas mediante una prueba de Mantel, con el programa Arlequín 3.1 (Excoffier *et al.* 2005), con 10,000 permutaciones para estimar su significancia.

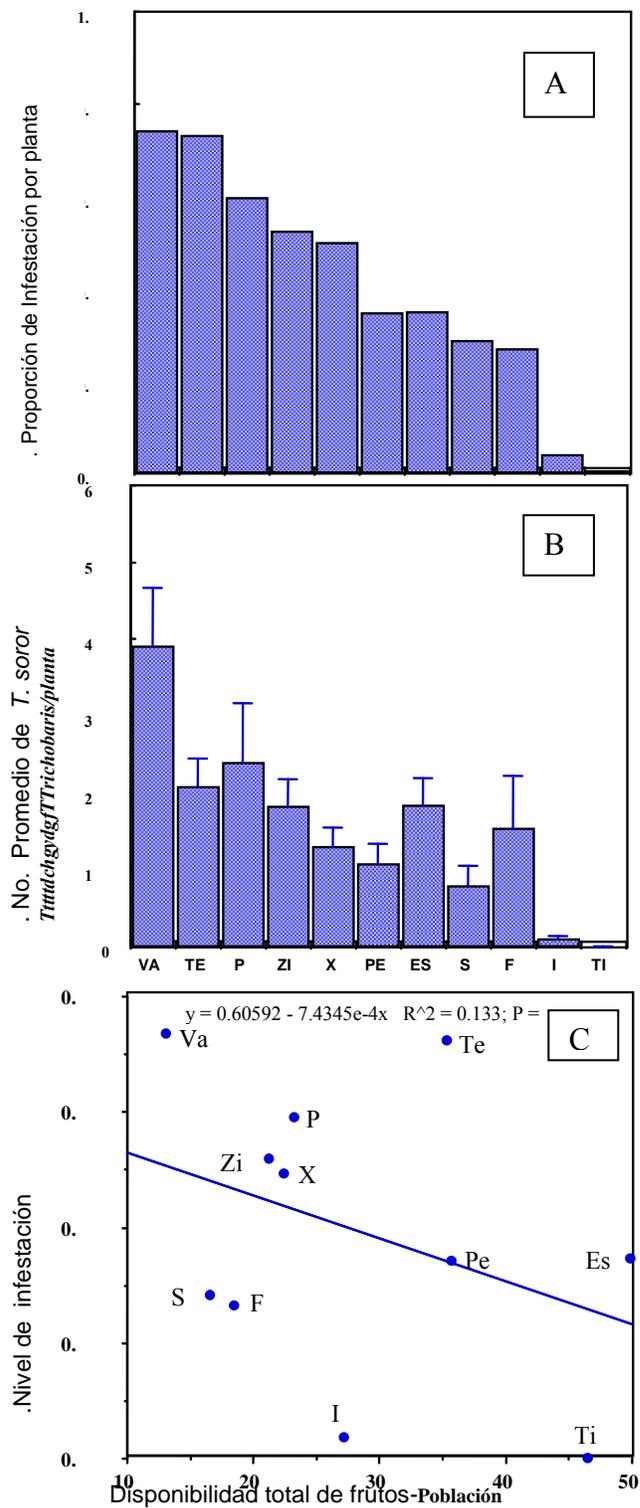
IV. RESULTADOS

A. Niveles de infestación

Se encontró amplia variación entre poblaciones de *D. stramonium* tanto en la proporción de plantas parasitadas por *T. soror* (de 0.6 a 0.8 Fig. 3 A), como en el número promedio de escarabajos encontrados por planta (rango: 0.1-4.0; Fig. 3B). Los niveles de infestación se correlacionaron negativamente con la disponibilidad de frutos (Fig. 3C)

Geográficamente, se encontraron diferencias en la infestación entre poblaciones, desde altitudes de 635 m a 2294 m s.n.m., y temperaturas desde 14.9° a 26.4° C. En sitios con climas semicálidos subhúmedos con lluvias en verano, templados subhúmedos con lluvias en verano y secos semiáridos. Al correlacionar la altitud y la temperatura con el porcentaje de infestación de larvas se encontró una correlación positiva ($R^2 = 0.460$, $P = 0.02$) con la altitud y ($R^2 = 0.977$, $P = 0.0001$) negativa para la temperatura (Figs. 3 y 4).

Figura 3. Proporción de plantas infestadas por población (A); número promedio de *T. soror* por planta en cada población (B) y nivel de infestación vs. disponibilidad de frutos (C). Los símbolos de las poblaciones se presentan en la Tabla 2.



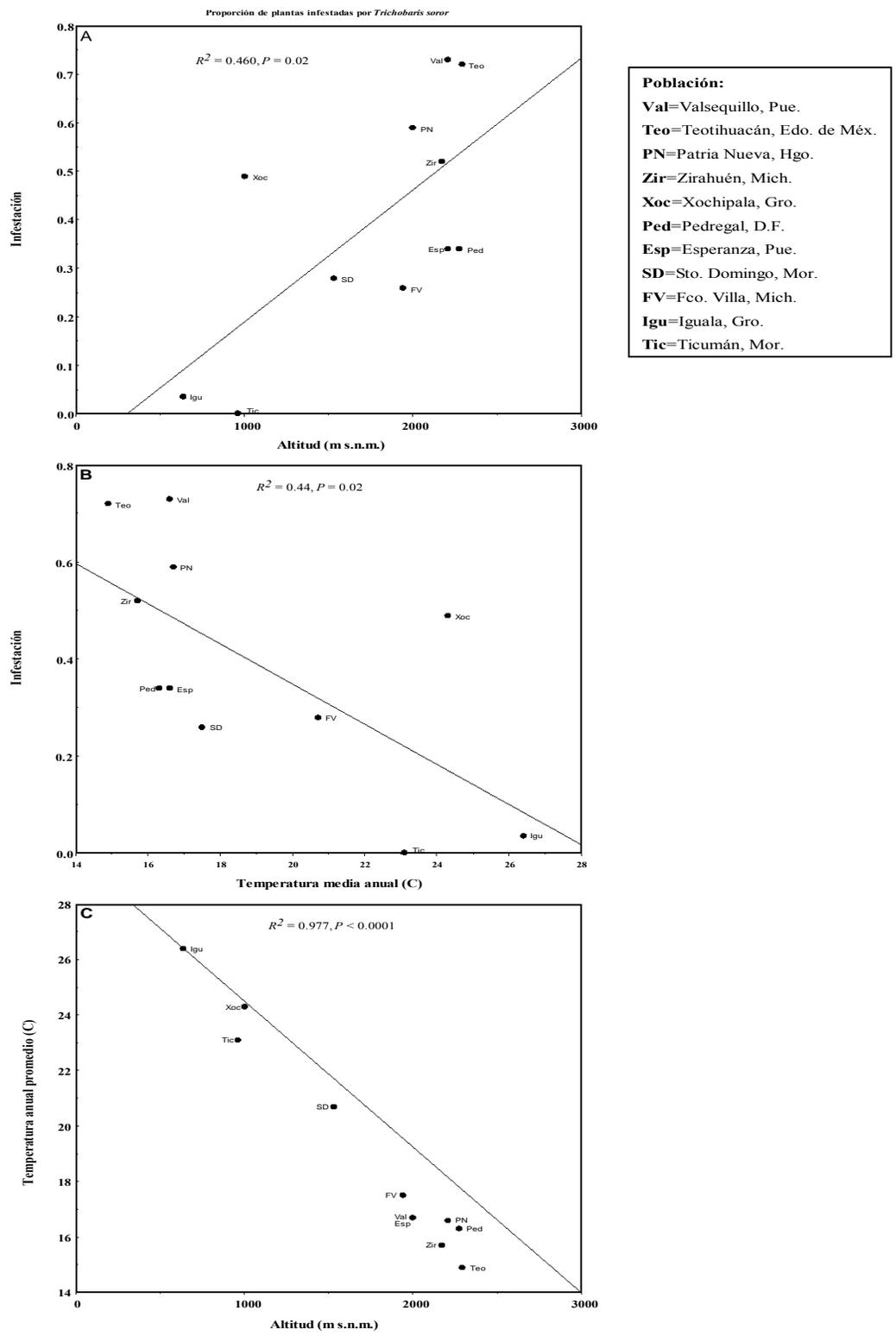


Figura 4. Correlación entre la infestación por *Trichobaris soror* y la altitud y Temperatura promedio anual de las localidades.

De un total de 315 plantas en 11 poblaciones del centro de México, el 65% de las plantas están infestadas y el 41% de los frutos fueron infestados por *Trichobaris soror*; las poblaciones tienen diferencias en la infestación (0.21-75 %, Tabla 4); no todas las plantas en cada población presentaron infestación y la proporción de sexos varió entre poblaciones (Tabla 5)

Tabla 4. Infestación de *Trichobaris soror* en poblaciones del centro de México. En cada población fueron registradas todas las plantas, todos los *Trichobaris* (machos, hembras y larvas), avispas (adultas y larvas), el porcentaje de infestación. Las claves de las localidades se muestran en la Tabla 1.

Localidad	Número de plantas	Frutos	Frutos infestados	Hembras	Machos	Larvas	Avispas adultas	Larvas de avispas	Porcentaje de infestación
PED	40	356	117	148	153	123	0	0	25.61
TEO	39	352	252	383	360	74	0	0	62.23
ESP	34	498	199	227	254	139	2	0	27.53
VAL	12	126	96	153	146	156	27	51	75.39
PN	41	232	176	465	409	106	3	5	39.88
MOR	24	184	99	163	159	51	0	1	27.53
ZIR	27	215	140	202	169	132	18	21	61.82
SD	26	165	84	79	77	48	12	18	22.20
TIC	40	464	1	0	0	1	0	0	00.21
XO	15	224	115	24	16	154	2	14	49.55
IG	17	274	17	12	13	1	0	0	3.98

Tabla 5. Andeva de diferencias entre poblaciones de proporción de machos y hembras. Las claves de las localidades se muestran en la Tabla 1

Localidad	<i>Estimador</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Z</i>	<i>P</i>
ESP	0.055	0.03329	1.664	0.096
IG	2.957	0.20513	14.415	< 0.001
MOR	0.401	0.07200	5.574	< 0.001
PN	0.597	0.05677	6.378	< 0.001
PED	0.469	0.07349	10.519	< 0.001
SD	1.126	0.09214	12.221	< 0.001
TEO	0.435	0.05852	7.430	< 0.001
VAL	0.475	0.07364	6.456	< 0.001
XO	2.487	0.16456	15.113	0.236
ZIR	0.260	0.06910	3.758	< 0.001

Los dos índices para medir la infestación del escarabajo *T. soror* en cada una de las poblaciones, la intensidad de la infestación y la proporción de frutos infestados mostraron diferencias geográficas significativas (Tabla 6). La intensidad de la infestación tiene una

relación negativa con la adecuación de la planta entre poblaciones ($r^2 = 0.6020$, $P = 0.005^*$). Entre la Intensidad de la infestación y la adecuación de la planta, sin el efecto de la altitud y la temperatura, es significativa ($R^2 = 0.5624$, $P = 0.0367^*$).

Tabla 6. Andeva para verificar el efecto de la de intensidad de la infestación y la proporción de frutos infestados por población. Los números en negritas denotan valores $P < 0.05$.

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Proporción de frutos Infestados	10	122.228	20.117	<0.0001
Intensidad de la infestación	10	735.875	22.359	<0.0001

La proporción de frutos infestados presentó una relación significativa con la adecuación de la planta entre poblaciones ($R^2 = 0.469$, $P = 0.020^*$); en relación con la altitud mostró una relación positiva ($r^2 = 0.4978$, $P = 0.0153^*$). La proporción de frutos infestados y la adecuación de la planta, sin el efecto de la altitud, no se relacionan significativamente ($r^2 = 0.243$, $P = 0.123$).

El número de frutos producidos por planta difiere significativamente entre poblaciones (Tabla 7). En la mayoría de las poblaciones la el número de frutos por planta está relacionado con la infestación de los escarabajos (Tabla 8). Aún cuando cada población tiene una producción diferente de fruto se encontró una relación positiva entre la intensidad de la infestación y a la respuesta de la planta (Tabla 9).

Tabla 7. Andeva para verificar el efecto de la población del número de frutos por población. Los números en negritas denotan valores $P < 0.05$.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	P	R²
Población	10	62.9597	6.2959	6.2959	< 0.0001	0.1805
Error	291	285.8488	0.9823			

Tabla 8. Regresión para verificar el efecto del número de *T. soror* por planta en función del número de frutos por planta por población. Los números en negritas denotan valores $P < 0.05$.

Población	Estimador	Error estándar	t	P
ESP	1.0663	0.2998	3.57	0.0013
IG	0.2444	0.1644	1.49	0.1631
MOR	2.2208	0.1745	12.73	< 0.0001
PN	2.8171	0.4293	6.56	< 0.0001
PED	0.8604	0.4699	1.83	0.0756
SD	1.2521	0.3382	3.70	0.0014
TEO	1.5084	0.2076	7.26	< 0.0001
TIC	0.0180	0.0223	0.80	0.4259
VAL	1.9231	0.6357	3.03	0.0128
XO	2.2860	0.7301	3.13	0.0080
ZIR	2.2804	0.2759	8.26	< 0.0001

Tabla 9. Andeva de la regresión que verifica el efecto de la intensidad de la infestación en función del número de frutos. Los números en negritas denotan valores $P < 0.05$.

Fuente de variación	Gl	SC	CM	F	P	r ²
No. De frutos	1	8.2103	8.2103	41.2883	< 0.0001	0.821
Error	9	1.7896	0.1988			
Total	10	10				

B. Morfología

El análisis de componentes principales indica que los tres primeros componentes principales explican el 88% de la variación morfológica en *T. soror* (Tabla 10).

Todas las características medidas contribuyen al tamaño general del cuerpo (CP1), el CP2 representa el tamaño relativo de la antena respecto del tamaño general (Tabla 10) y el CP3 el tamaño relativo del fémur.

Tabla 10. Análisis de Componentes principales de las 6 poblaciones de *Trichobaris soror*.

Auto valor	3.84	0.95	0.52	0.39	0.19	0.10
Porcentaje de Variación	64.09	15.84	8.71	6.45	3.17	1.73
Porcentaje de variación acumulado	64.09	79.93	88.64	95.09	98.2	100.0
Eligen vectores:						
Longitud Total	0.48	-0.06	-0.23	-0.20	0.22	-0.79
Longitud Élitro	0.47	0.05	-0.11	-0.38	0.54	0.57
Ancho Tórax	0.46	-0.02	-0.27	-0.21	-0.80	0.19
Longitud Proboscis	0.36	-0.55	-0.10	0.72	0.10	-0.01
Longitud Antena	0.25	0.83	-0.10	0.49	0.03	-0.001

LongitudFémur	0.38	0.01	0.92	-0.03	0.01	-0.06
---------------	------	------	------	-------	------	-------

Tabla 11. Análisis de Componentes Principales para los caracteres morfológicos de *T. soror*.

Número	Auto valor	% Var acumulada	χ^2	gl	P
1	3.62	72.40	1354.47	7.41	< 0.001
2	0.56	83.66	297.81	8.08	< 0.001
3	0.51	93.92	219.42	4.40	< 0.001

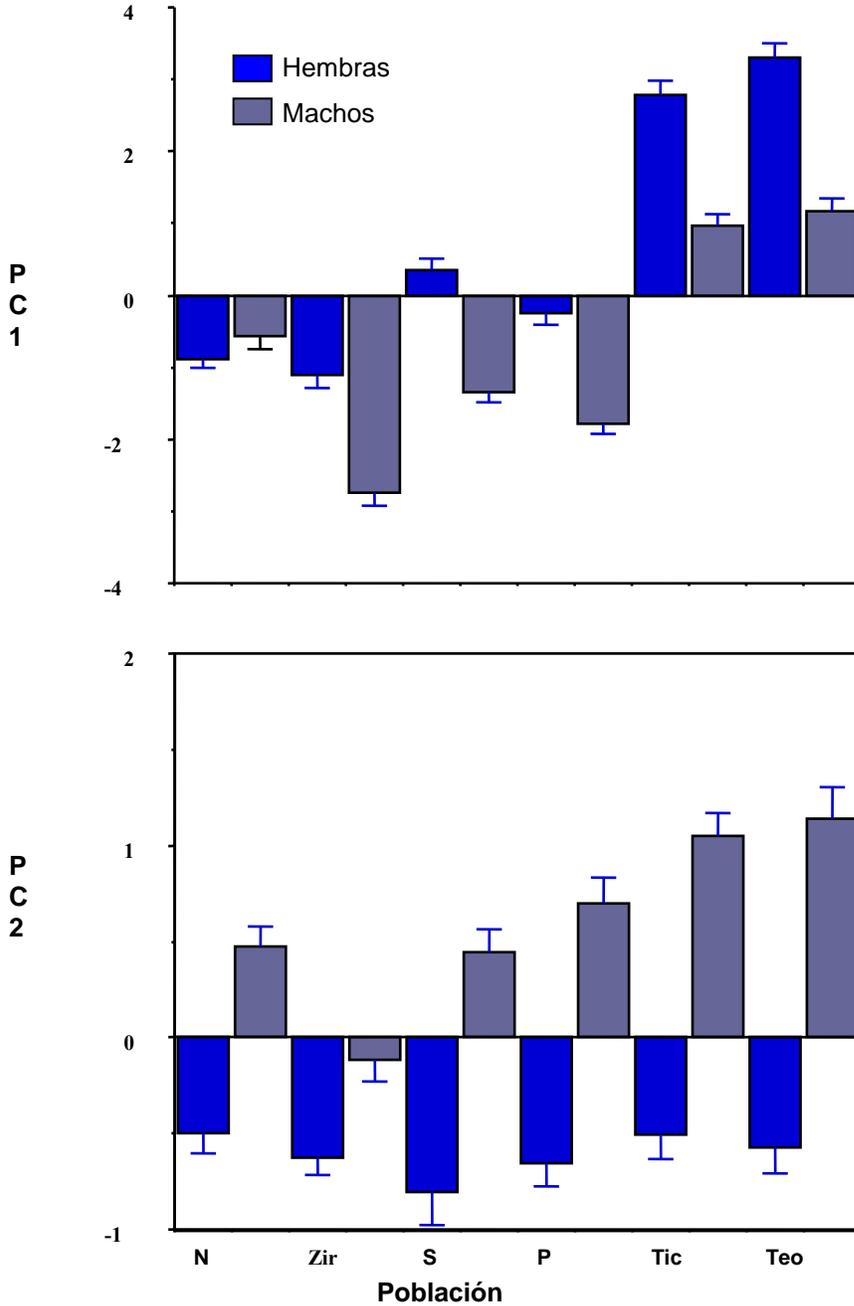


Figura 5. Análisis de componentes principales del tamaño de *Trichobaris soror* de hembras y machos.

La comparación de los “scores” de los componentes principales 1 y 2 indican diferencias significativas entre machos y hembras (Fig. 5, Tabla 11). Las hembras poseen valores mayores en las medidas de tamaño corporal que los machos y, además, diferencias entre poblaciones. Estos resultados se corroboraron mediante análisis de varianza (Andeva) para cada carácter morfológico medido en seis poblaciones (Tabla 12). También se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras en cada carácter morfológico. Se encontró que los individuos con mayor largo, mayor ancho de tórax y con *rostrum* más largo son las hembras (Tabla 13). Se tomó en cuenta como carácter sexual secundario el largo del *rostrum* para hacer la distinción entre machos y hembras en los conteos de las poblaciones.

Tabla 12. Análisis de la varianza de caracteres morfológicos de machos y hembras de distintas poblaciones de *Trichobaris soror* Champion. Se presentan los ANOVAs de los dos componentes principales (CP 1 y CP 2).

a) Largo Total N= 291, $R^2_{ajus} = 0.786$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	85.228	180.154	0.001
Sexo	1	15.559	164.445	0.001
Pob*sex	5	6.489	13.715	0.001
Error	279	26.398		
C. Total	290	128.816		

b) Largo Elitra, N= 291, $R^2_{ajus} = 0.690$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	35.244	119.136	0.001
Sexo	1	2.591	43.793	0.001
Pob*sex	5	2.018	6.824	0.001
Error	279	16.507		
C. Total	290	55.463		

c) Ancho del tórax, N= 291, $R^2_{ajus} = 0.704$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	22.748	125.815	0.001
Sexo	1	2.412	66.707	0.001
Pob*sex	5	1.518	8.395	0.001
Error	279	10.089		
C. Total	290	35.436		

d) Largo de la Proboscis, N= 291, $R^2_{ajus} = 0.712$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	6.316	18.836	0.001
Sexo	1	43.166	643.687	0.001
Pob*sex	5	1.858	5.543	0.001
Error	279	18.710		
C. Total	290	67.750		

e) Largo Antenas, N= 291, $R^2_{ajus} = 0.426$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	4.388	36.256	0.001
Sexo	1	0.517	21.362	0.001
Pob*sex	5	0.406	3.357	0.001
Error	279	6.754		
C. Total	290	12.240		

Tabla 12. (Continúa)

f) Largo Fémur I, N= 291, $R^2_{ajus.} = 0.370$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	4.359	28.255	0.001
Sexo	1	0.708	22.970	0.001
Pob*sex	5	0.839	5.392	0.001
Error	279	8.60		
C. Total	290	14.220		

g) Componente Principal 1, N= 291, $R^2_{ajus.} = 0.755$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	715.825	152.588	0.001
Sexo	1	128.399	136.850	0.001
Pob*sex	5	47.947	10.221	0.001
Error	279	261.770		
C. Total	290	1114.313		

h) Componente Principal 2, N= 291, $R^2_{ajus.} = 0.626$

Fuente de Variación	G.L.	SC	F	P
Población	5	17.09131	10.1802	0.0001
Sexo	1	136.12438	405.4030	0.0001
Pob*sex	5	12.04991	7.1774	0.0001
Error	279	93.68136		
C. Total	290	260.44468		

Dimorfismo sexual

Las hembras son significativamente más grandes que los machos en todos los caracteres medidos excepto en la longitud de las antenas (Tabla 13). El grado de dimorfismo sexual varió de 0.04 (longitud de los élitros) a 0.41 (longitud del *rostrum*). El dimorfismo en la longitud de las antenas fue de -0.06. El dimorfismo en el *rostrum* es 5 a 10 veces más grande que en los otros caracteres.

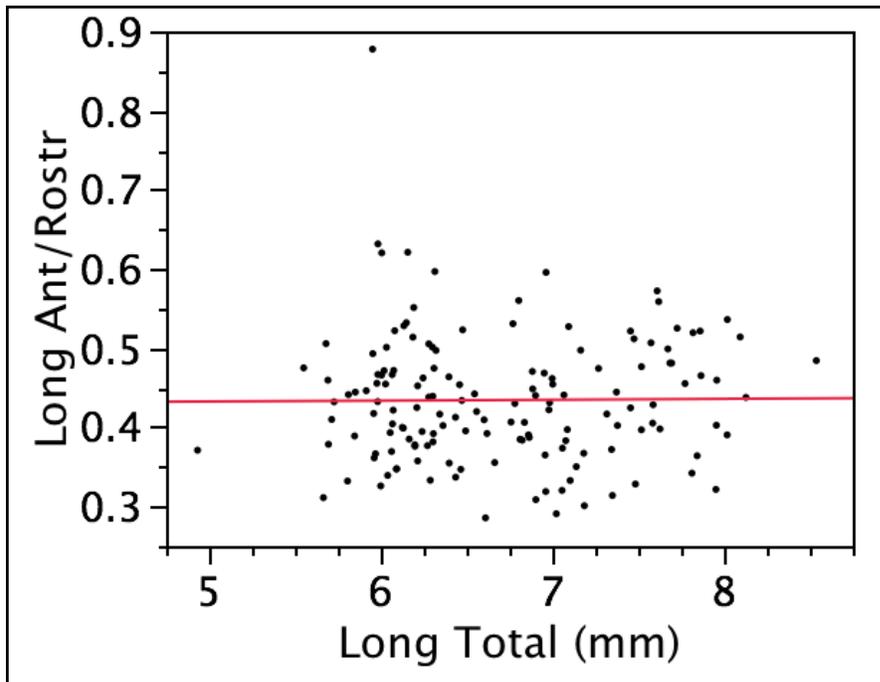
Tabla 13. Valores promedio (mm) para distintos caracteres morfológicos de machos y hembras de *Trichobaris soror* en distintas poblaciones del centro de México. El nivel de dimorfismo, fue calculado de acuerdo con Lovich & Gibbons (1992). Letras diferentes denotan diferencias significativas con $P < 0.05$ (Prueba de Tukey)

Población	N	Hembras	Machos	Dimorfismo
		Longitud total		
Patria Nueva, Hgo.	28	6.127 c	6.250c	-0.020
Zirahuén, Mich.	28	6.030 b	5.551 c	0.086
Sto Domingo, Mor.	28	6.723 b	6.310 b	0.065
Pedregal, D.F.	26	6.539 b	5.986	0.092
Ticumán, Mor.	23	7.591 a	6.857 b	0.107
Teotihuacán, Mex.	17	7.677 a	6.923b	0.109

Tabla 13. (Continúa)

	Longitud Élitra		
Patria Nueva, Hgo.	4.008	4.161	-0.037
Zirahuén, Mich.	3.972	3.652	0.088
Sto Domingo, Mor.	4.344	4.128	0.052
Pedregal, D.F.	4.276	3.983	0.073
Ticumán, Mor.	4.863	4.641	0.048
Teotihuacán, Mex.	4.899	4.650	0.053
	Ancho del Tórax		
Patria Nueva, Hgo.	1.994	2.038	-0.022
Zirahuén, Mich.	1.832	1.700	0.078
Sto Domingo, Mor.	2.165	2.006	0.080
Pedregal, D.F.	2.045	1.919	0.066
Ticumán, Mor.	2.662	2.347	0.134
Teotihuacán, Mex.	2.765	2.347	0.178
	Longitud rostrum		
Patria Nueva, Hgo.	2.492	1.972	0.264
Zirahuén, Mich.	2.376	1.752	0.356
Sto Domingo, Mor.	2.702	1.797	0.504
Pedregal, D.F.	2.549	1.724	0.479
Ticumán, Mor.	2.905	1.951	0.488
Teotihuacán, Mex.	2.920	2.066	0.413
	Longitud de las antenas		
Patria Nueva, Hgo.	1.104	1.230	-0.103
Zirahuén, Mich.	1.033	0.964	0.071
Sto Domingo, Mor.	1.047	1.181	-0.114
Pedregal, D.F.	1.088	1.212	-0.102
Ticumán, Mor.	1.282	1.397	-0.082
Teotihuacán, Mex.	1.309	1.390	-0.058
	Longitud del fémur I		
Patria Nueva, Hgo.	1.697	1.820	-0.067
Zirahuén, Mich.	1.813	1.668	0.087
Sto Domingo, Mor.	1.853	1.678	0.104
Pedregal, D.F.	1.776	1.651	0.076
Ticumán, Mor.	2.092	1.925	0.087
Teotihuacán, Mex.	2.071	1.962	0.056

(a) Hembras



(b) Machos

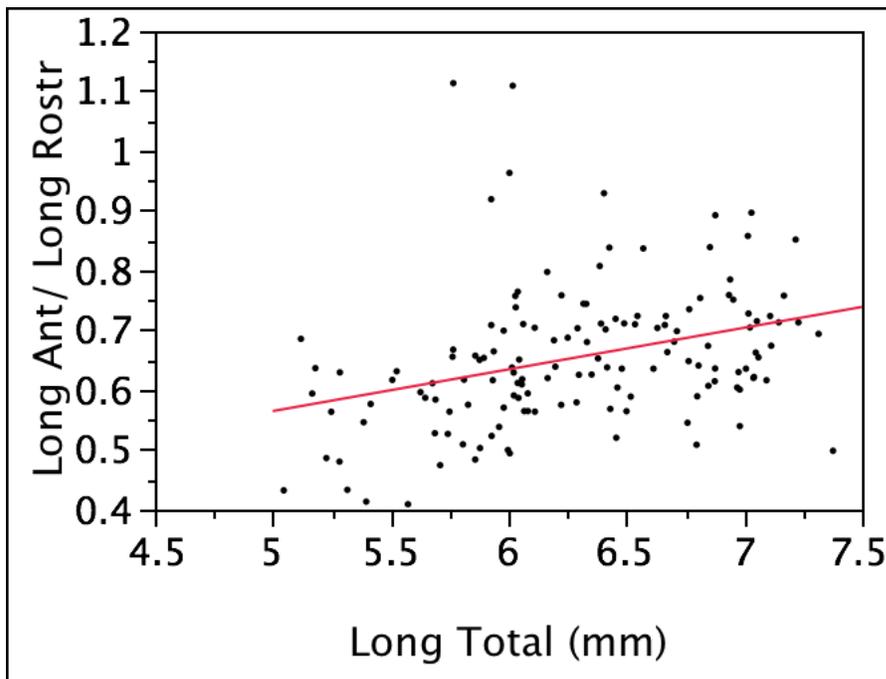


Figura 6. Relación alométrica entre el tamaño corporal y la relación longitud de antenas/longitud *rostrum* de hembras (A) y machos (B) de *Trichobaris soror*.

C. Estructura y diversidad genética de *Trichobaris soror*

Para todas las poblaciones de *T. soror* se encontró que la proporción promedio de *loci* polimórficos es alta (0.94), el número promedio de alelos por *locus* fue de 2.16 y el promedio del número efectivo de alelos por *locus* fue de 1.69. El promedio de heterocigosis observada (H_o) fue de 0.185, y 35 *loci* están en equilibrio HW (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis genético de 10 poblaciones de *Trichobaris soror* para 11 *loci* isoenzimáticos. N = tamaño promedio de la muestra por *locus* (ES), A = número promedio de alelos por *locus*, A_e = número efectivo de alelos por *locus*, P = proporción de *loci* polimórficos, H_e = heterocigosis esperada (ES), H_o = heterocigosis observada (ES), el número de *loci* en HW.

	N	A	A_e	P	H_e	H_o	<i>Loci</i> en HW
ESP	36 (0.0)	2.1	1.71	0.90	0.198 (0.124)	0.101(0.095)	7
MOR	35.3 (0.0)	2.2	1.79	0.90	0.223 (0.124)	0.122(0.168)	2
IG	24 (0.0)	2.0	1.09	0.90	0.169(0.137)	0.049 (0.025)	3
PED	36 (0.0)	2.1	1.90	0.90	0.237 (0.180)	0.152(0.121)	5
PN	35.2 (0.1)	2.2	1.59	1	0.241 (0.168)	0.209 (0.138)	1
SD	35.4 (0.1)	2.3	2.3	1	0.355 (0.185)	0.332 (0.165)	2
TEO	36 (0.0)	2.3	1.88	1	0.253 (0.173)	0.220 (0.140)	1
VAL	35.2 (0.1)	2.2	1.79	1	0.290 (0.128)	0.292 (0.148)	6
XO	23.3 (0.1)	2.0	0.9	0.81	0.135 (0.134)	0.074 (0.051)	5
ZIR	35.8 (0.1)	2.2	1.99	1	0.313 (0.149)	0.302 (0.164)	3
Promedio	33.22	2.16	1.69	0.94	0.241	0.185	3.5

La diferenciación poblacional fue baja ($F_{ST} = 0.027$), con un estimado indirecto del flujo génico alto ($Nm = 0.1527$). No se encontró relación entre las distancias geográficas y las genéticas de las poblaciones ($r = -0.151$, $P = 0.948$; Tabla 15).

Tabla 15. Distancias genéticas (F_{ST}) bajo la diagonal y distancias geográficas (km) sobre la diagonal para cada par de poblaciones de *Trichobaris soror* en el centro de México. Los números en negritas denotan valores $P < 0.05$.

Distancias geográficas (km)										
Población	ESP	MOR	IG	PED	PN	SD	TEO	VAL	XO	ZIR
ESP		412.4	234.8	198.6	243.6	182.3	183.5	78.1	272.6	463.1
MOR	0.032		231.0	214.0	235.9	234.2	242.5	335.4	267.2	62.9
IG	0.022	0.001		113.4	230.5	94.0	164.3	162.7	65.9	276.2
PED	0.025	0.011	0.007		118.2	38.4	53.2	122.4	179.2	266.6
PN	0.052	0.000	0.014	0.019		154.3	77.8	189.2	296.4	298.4
SD	0.110	0.082	0.088	0.06	0.050		81.8	104.2	148.2	287.9
TEO	0.027	0.001	0.004	0.023	0.001	0.088		117.8	229.5	300.2
VAL	0.020	0.027	0.019	0.003	0.037	0.101	0.034		209.5	385.1
XO	0.029	0.021	0.017	0.020	0.042	0.109	0.040	0.003		304.2
ZIR	0.030	0.025	0.035	0.039	0.056	0.139	0.048	0.013	0.011	
F_{ST}										

Existe poca diferenciación genética entre poblaciones de *T. soror* aunque la endogamia local es significativa (Tabla 16)

Tabla 16. Estadísticos de Wright encontrados en las poblaciones de *Trichobaris soror*

Estadísticos F de Wright			
	F_{it}	F_{st}	F_{is}
Prom.	0.253	0.027	0.231
L sup.	0.356	0.038	0.335
L inf.	0.165	0.016	0.148

V. DISCUSIÓN

A. Análisis global

En este estudio demostramos que existe una gran variación interpoblacional en el nivel de infestación de *Trichobaris soror* a los frutos de *Datura stramonium* en el Centro de México. *Trichobaris soror* es un depredador de semillas específico de *D. stramonium* y consume, en promedio, 10% de la producción de semillas, lo que lo convierte en una presión selectiva. Se encontró también amplia variación fenotípica en tamaño y dimorfismo sexual en tamaño, pues las hembras son más grandes. Sin embargo, en contraste con la variación fenotípica entre poblaciones, se encontró baja diferenciación genética en *loci* neutrales entre éstas, y existe evidencia de endogamia local. Estos resultados sugieren que existen las condiciones de un mosaico geográfico selectivo en la interacción (Thompson, 2005), sin embargo, probablemente existe alto flujo génico que podría contrarrestar la adaptación local, a menos que la selección natural sea muy intensa.

B. Variación morfológica

Trichobaris soror es una especie dimórfica pues las hembras son más grandes que los machos, pero especialmente el dimorfismo es notable en el *rostrum*. Posiblemente, el dimorfismo sexual tan marcado en el *rostrum*, está asociado a la reproducción, ya que la hembra horada los frutos inmaduros de *D. stramonium* para ovipositar. El incremento en el tamaño del *rostrum* parece imponer límites al desarrollo de las antenas. En general, las antenas son más grandes en los machos que en las hembras, sin embargo, la relación alométrica entre la longitud antena y la longitud del *rostrum* difiere significativamente entre machos y hembras (0.66 ± 0.01 vs 0.43 ± 0.01 , respectivamente). Además, existe una relación significativa entre la longitud del cuerpo en machos ($\text{Ant/Rost} = 0.216 + 0.0698 \text{ Ltot}$; $N = 41$, $P < 0.0001$), pero no en hembras ($\text{Ant/Rost} = 0.427 + 0.0012 * \text{Ltot}$; $N = 150$; $P = 0.90$) Fig. 6). Este posible *trade-off* entre el tamaño del *rostrum* (un órgano de función alimentaria e involucrado en la reproducción) y el tamaño de las antenas (un órgano sensorial) ha sido demostrado experimentalmente en otros organismos, como el caso de (Emlen 2001). Estos aspectos merecen ser considerados para analizarse en estudios futuros.

B. Variación Infestación

Uno de los hallazgos más importantes de este estudio es la variación geográfica en la infestación de frutos, de *D. stramonium*. Todos los estimadores del parasitismo de *T. soror* muestran diferencias entre poblaciones. La densidad de *T. soror* por planta está directamente relacionado con una reducción en el número de semillas viables por tanto, refleja el impacto de los herbívoros en el *fitness* de las plantas (Cruz 2009). La proporción de frutos infestados se relaciona con la conducta de búsqueda de las hembras para encontrar frutos no parasitados y en una fase de desarrollo que les permita a las larvas concluir su desarrollo por lo tanto, también estaría relacionada con la abundancia del herbívoro y su sincronía con la reproducción de *D. stramonium*. El grado de asociación entre el patrón de parasitismo y el patrón de calidad el recurso determina, en insectos monófagos como *T. soror* la dinámica poblacional (*i.e.*, *eucrexis*, Soberón 1992). La *eucrexis* en insectos parasitoides es de las más altas (*v.gr.*, una *eucrexis* de 1 implica un ajuste perfecto entre la calidad y el uso); sin embargo, los datos indican que un número elevado de frutos no están parasitados, y sólo muy pocos tienen una carga alta de estos curculiónidos. Este desacoplamiento, puede estar relacionado con la mala calidad de ciertos frutos asociada a: 1) enemigos naturales de los herbívoros, y 2) alta concentración de metabolitos secundarios defensivos. En el primer caso, se encontró parasitoidismo de larvas de *T. soror* en seis de las diez poblaciones de *D. stramonium* estudiadas (Valsequillo, Pue., Zirahuén, Mich. y Patria Nueva, Hgo.; (*cf.* Tabla 4). Esto sugiere que los herbívoros también tienen presiones selectivas de sus enemigos naturales (*fuerzas descendientes*); sin embargo, es posible también que exista presiones selectivas por parte de la planta huésped (*fuerzas ascendentes*). Se discute este aspecto posteriormente.

Las condiciones ambientales físicas parecen determinar, también, la abundancia de los depredadores de semillas (o frutos; cf. Toju 2009). Geográficamente, *T. soror* produce niveles de infestación mayores en localidades templadas (cuya temperatura media anual es menor a 18°C) a frías, que generalmente ocurren a una altitud, por arriba de los 2 000 m s.n.m., que es el caso del Altiplano mexicano (Fig. 4). Por el contrario, se sabe que *T. soror* es raro o está ausente en lugares tropicales, como es el caso de Ticumán, Mor. (Huerta-Paniagua, 2004). Y ya que *T. soror* tiene un origen Neártico (Barber, 1935), es probable que la asociación con *D. stamonium* como planta huésped ocurrió conforme esta planta invadió los hábitats templados ya que *Datura*, por el contrario, es de origen Neotropical (Núñez-Farfán *et al.*, en preparación).

D. Variación genética

T. soror muestra niveles moderados de diversidad genética ($H_e = 0.18$); sin embargo, se encontró gran variación en H_e entre poblaciones, siendo las tropicales (Xochipala e Iguala) las de menor diversidad. Las poblaciones del Eje Volcánico Transmexicano poseen los haplotipos en el gen CO I (Citocromo Oxidada I) del DNAm (DNA mitocondrial) más ancestrales, por tanto, *T. soror* podría haberse originado en esta región y posteriormente colonizar la región de la Cuenca del Río Balsas, donde encontramos menor diversidad. Es probable, además, que se trate de una especie nueva (De la Mora 2012). Esta hipótesis podría ser susceptible de ser puesta a prueba con métodos filogenéticos y filogeográficos. Sin embargo, las poblaciones de este herbívoro no están diferenciadas entre sí. Este resultado podría deberse a flujo génico extenso en el pasado (histórico) pero también flujo génico reciente. *Trichobaris soror* parece poseer una gran capacidad de dispersión a través de las zonas templadas, donde es muy abundante. La endogamia local ($F_{is} = 0.23$) es significativa y podría estar relacionada con la conducta de cortejo y oviposición, pues generalmente el cortejo y la cópula se realiza en la planta y específicamente en los frutos en desarrollo donde la hembra oviposita de 1 hasta 23 huevos (Cabrales Vargas, 1991) o incluso más (este estudio). De esa forma los individuos están emparentados como hermanos completos y en la siguiente generación aparearse. La conducta sexual y la endogamia son aspectos que podrían abordarse en estudios futuros.

E. Carrera armamentista coevolutiva

¿En qué medida el sistema *Datura stramonium-Trichobaris soror* establece una carrera armamentista? El presente estudio ofrece evidencia de que existen las condiciones para un mosaico geográfico coevolutivo dado que: existe variación geográfica en la intensidad de la interacción (los niveles de infestación y reducción del *fitness* del huésped varían espacialmente); por tanto, habrá regiones donde la interacción es recíproca e intensa (*hotspots*), y otros donde sólo uno de los interactores, o ninguno, ejerce selección (*coldspots*) (Thompson, 2005). Así mismo, habría sitios donde exista un *matching* entre las características defensivas y ofensivas, y sitios donde incluso no. En algunos sitios la variación es mal-adaptativa.

Un primer paso que nos podría hablar de respuestas adaptativas en la interacción entre los escarabajos (*T. soror*) y su huésped (*D. stramonium*) consiste en profundizar el análisis a nivel geográfico. Se encontraron diferencias significativas en los patrones de infestación del coleóptero en las 11 poblaciones colectadas en el centro de México. Además, del total de plantas colectadas más del 60% presentaron infestación y 41% de los frutos fueron infestados.

Una hipótesis que podría explicar las diferencias en la infestación es de la oviposición óptima para insectos fitófagos (Jaenike, 1978); la cual predice que los organismos sin cuidado parental buscan ovipositar donde su progenie pueda encontrar el alimento necesario para desarrollarse (Jaenike, 1978). La segunda hipótesis es que los *T. soror* infesta a las plantas en relación inversa a su nivel de defensa (Toju, 2009).

En otros experimentos se ha encontrado que el escarabajo (*Trichobaris soror*) disminuye más del 10% del *fitness* total de su planta huésped (Cabrales-Vargas, 1991; Cruz, 2009), aunque existe variación intrapoblacional (Cruz, 2009). Para poner a prueba la hipótesis de que la infestación está relacionada con la defensa de las plantas, primeramente se probó que la infestación del escarabajo presenta relación con la productividad de su planta huésped. Se encontró que las poblaciones presentan diferencias significativas en la producción de frutos (Tabla 8) y la productividad tiene una relación positiva y significativa con la infestación en casi todas las poblaciones (Tabla 9).

Además, datos preliminares indican una relación negativa entre la infestación promedio y la concentración promedio de atropina, un alcaloide en *D. stramonium*, (A. Miranda *et al.* en prep.). Este resultado sugiere una estructuración adaptativa en la variación en defensa de las poblaciones de *D. stramonium* aunque la estructura genética para genes neutros o casi neutros indica una muy baja o nula diferenciación poblacional (De la Mora, 2012). Entonces, si el herbívoro tiene una tasa elevada de migración, ¿por qué no tiene niveles de daño semejantes entre poblaciones? Puede ser que la migración del escarabajo sea mayor que la de su planta huésped (Toju *et al.*, 2011; Andraca-Gómez, 2009) y que este patrón de migración concuerde con la adaptación mostrada por otras especies de curculiónidos (Toju *et al.*, 2011) y crisomélidos (Garrido *et al.*, 2012). Bajo estas premisas, los parásitos con una mayor tasa de migración en comparación con sus huéspedes tendrán mayor probabilidad de presentar adaptación local (Greischar y Koskella, 2007). Esto podría deberse a introducciones recurrentes de genotipos con gran capacidad de infestación a una población por migración, o a través de mutación (Gandon *et al.*, 1996; Gandon, 2002). Estudios experimentales aportarán evidencia de la evolución adaptativa en la interacción *Datura stramonium*–*Trichobaris soror*.

VI. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye que *T. soror* afecta la adecuación de *D. stramonium* disminuyendo, en promedio, 10% la producción de semillas. Además la variación en infestación por *T. soror* a los frutos de *Datura* está asociada a el ambiente físico (temperatura y altitud), así como a caracteres defensivos (concentración de atropina), y quizá la presencia y abundancia de parasitoides. Por otro lado, aunque existe diferenciación fenotípica y dimorfismos sexual en tamaño, los estudios genéticos no muestran estructura en genes neutros; no obstante, aún falta conocer si existe estructura genética en genes adaptativos. Estudios experimentales en curso sugieren que algunas poblaciones pueden constituir *hotspots* coevolutivos. Estos dos factores sugieren la existencia de un mosaico geográfico de coevolución (Thompson).

VII. LITERATURA CITADA

- Avery A.G., Satina S. y J. Rietsema. 1959. *Blakeslee: The Genus Datura*. Ronald Press Co., Nueva York.
- Andraca-Gómez G. 2009. Genética de poblaciones comparada entre *Datura stramonium* y su herbívoro especialista *Lema trilineata*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Barber H.S. 1935 The tobacco and *Solanum* weevils of the genus *Trichobaris*. Departamento de Agricultura de los EE.UU. Miscellaneous publication, 226: 1-27.
- Barclay S.A. 1959. Studies in the genus *Datura* (Solanaceae). Tesis doctoral, Universidad de Harvard, Cambridge, MA.
- Bello-Bedoy R., Cruz L.L., Núñez-Farfán J. 2011a. Inbreeding alters a plant predispersal seed predator interaction. *Evolutionary Ecology* 25: 815-829.
- Bello-Bedoy R., Núñez-Farfán J. 2011b. The effect of inbreeding of defence against multiple enemies in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Ecology*, 24: 518 - 530.
- Brodie E.D., III, y B.J. Ridenhour. 2003. Reciprocal selection at the phenotypic interface of coevolution. *Integrative Comparative Biology*, 43: 408-418.
- Calyecac-Cortero A.G., J. Cibrián-Tovar, J. Lopez-Collado y R. Garcia-Velazco 2006. Emisores de los volátiles de atracción de *Trichobaris championi* Barber. *Agrociencia* 40: 655-663.
- Cuda J.P. y Horace. 1986. Reproduction and development of the potato stalk borer (Coleoptera: Curculionidae) with notes on field biology. *J. Econ. Entomol.* 79: 1548-1554.
- Cuda J.P., Bucke H.R. 1991. Biology of *Trichobaris bridwelli* (Coleoptera: Curculionidae), a Possible Agent for the Biological Control of *Datura stramonium* (Solanaceae). *Environmental Ecology*. 20: 899-908.
- Cabral Vargas R A. 1991. Demografía e historia natural de *Datura stramonium* L. en el Pedregal de San Angel con algunas implicaciones evolutivas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Castillo-Sánchez G.R. 2009. Variación geográfica de los caracteres defensivos en *Datura stramonium*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Castillo G, Cruz L.L., Hernández-Cumplido J., Oyama K., Flores-Ortiz C.M, Fornoni J., Valverde P.L., Núñez-Farfán J. 2013. Geographic association and temporal variation of chemical and physical defense and leaf damage in *Datura stramonium*. *Ecol. Res*, 28: 663-672.
- Cruz-Rodríguez L.L. 2009. Selección natural impuesta por insectos folívoros y depredadores de semillas en *Datura stramonium* L. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- De la Mora-Curiel M. 2012. Filogeografía de *Trichobaris soror* (Coleoptera: Curculionidae) parásito de los frutos de *Datura stramonium*. Maestría en Ciencias Biológicas, Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, UNAM. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Dawkins R., Krebs J.R. 1979. Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 205: 489 - 511.
- Diezel C., Allman S., y Baldwin I.T. 2011. Mechanisms of optimal defense in *Nicotiana attenuata*: flowering attenuates herbivory-elicited ethylene and jasmonate signaling. *J of Integrative Plant Biol.* 53: 971-983.
- Ehrlich P.R. y Raven P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in Coevolution. *Evolution*, 18: 586-608.

- Emlen D. J. 2001. Costs and the diversification of exaggerated animal structures. *Science* 291: 1534-1536.
- Excoffier L., Lischer H.E.L. 2005. Arlequin suite ver 3.5: A new series performance to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564 - 567
- Farrell B.D. y C. Mitter. 1994. Adaptive Radiation in Insects and Plants: Time and Opportunity. *Amer. Zool.* 34: 57-69.
- Fenner M. 1998. The phenology of growth and reproduction in plants. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*. 1: 78-91
- Filchak K.E., Roethele, J.B., y Feder J.L. 2000. Natural selection and sympatric divergence in the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *Nature*, 407: 739-742.
- Forister M.L., Dyer L.A., Singer M.S., Stireman J.I. and Lill J.T. 2011 Revisiting the evolution of ecological specialization, with emphasis on insect-plant interactions. *Ecology*, 93: 981-991.
- Fornoni J., Valverde P.L., Núñez-Farfán J. 2003. Quantitative genetics of plant tolerance and resistance against natural enemies of two natural populations of *Datura stramonium*. *Evolutionary Ecology Research*, 5: 1049-65.
- Fornoni J., Valverde P.L., Núñez-Farfán J. 2004. Population variation in the cost and benefit of tolerance and resistance against herbivory in *Datura stramonium*. *Evolution*, 58: 1696-1704.
- Fornoni J., Núñez-Farfán J. 2000. Evolutionary ecology of *Datura stramonium*: genetic variation and costs for tolerance to defoliation. *Evolution*, 54: 789-97.
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Gandon S., Capowiez Y., DuBois Y., Michalakis Y., Olivieri I. 1996. Local adaptation and gene-for-gene coevolution in a metapopulation model. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 263: 1003 - 1009.
- Gandon S. 2002. Local adaptation and the geometry of host - parasite coevolution. *Ecology Letters*, 5: 246-256.
- Garrido E., Andraca-Gómez G., Fornoni J. 2012. Local adaptation: simultaneously considering herbivores and their host plants. *New Phytologist*, 193: 445-453.
- Gomulkiewicz R., Thompson J. N., Holt R.D., Nuismer S.L., Hochberg M.E. 2002. Hot spots, cold spots, and the geographic mosaic theory of coevolution. *American Naturalist*, 156: 156 - 174.
- Gomulkiewicz R., Drown D.M., Dybahl M.F., Godsoe W., Nuismer S.L., Pepin K.M., Ridenhour B.J. 2007. Does and don'ts of testing the geographic mosaic theory of coevolution. *Heredity*, 249-258.
- Greischar M.A., Koskella B. 2007. A synthesis of experimental work on parasite local adaptation. *Ecology Letters*, 10: 418-434.
- Harper J. L. 1977 *Population biology in plants*.
- Hartl D.L. *A primer of population genetics*. 1988. Sinauer Associates, Inc.
- Hartl D.L. y A.G. Clark. 1989. *Principles of population genetics*, Second Edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Hebert P.D.N., Beaton M.J. 1986. *Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis: a practical handbook*. Helena Laboratories, Beaumont, Texas.
- Hernández-Cumplido J. 2009. *Ecología de la interacción tritrófica Datura stramonium - Trichobaris sp - parasitoides*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Huerta-Paniagua R.A., N. Bautista-Martinez, H. Bravo-Mojica, J.L. Carrillo-Sanchez y O. Díaz-Gómez 2004. Distribución altitudinal de *Trichobaris championi* Barber (Cooleoptera: Curculionide) y observaciones de campo sobre su biología. *Agrociencia* 38: 97-106.

- Ikeda H., T. Kagaya, K. Kubota y T. Abe. 2008. Evolutionary relationships among food habit, loss of flight, and reproductive traits: life-history evolution in the silphinae (Coleoptera: Silphidae). *Evolution* 62: 2065–2079
- Iseki N., Sasaki A., Toju H. 2011. Arms race between weevil rostrum length and camellia pericarp thickness: geographical cline and theory. *Journal of Theoretical Biology*, 285: 1-9.
- Jaenike J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, 14: 350-356.
- Janzen D.H. 1971. Seed predation by animals. *Indid*, 2: 465-492.
- Kariñho-Betancourt E. 2009. Disyuntiva evolutiva entre la resistencia y la tolerancia a los herbívoros en *Datura stramonium*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Kaweki T.J., Ebert D. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7: 1225–1241.
- Luna-Cavazos y R. Bye 2011. Análisis fitogeográfico del género *Datura* (Solanaceae) en México continental. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 977-988.
- Mantel N.1967. The Detection of Disease Clustering and a Generalized Regression Approach. *Cancer research*, 27: 209-220.
- Marvaldi A.E., Sequeira A.S., O'Brien C.W., y Farrel B.D. 2002. Molecular and morphological phylogenetics of weevils (Coleoptera, Curculionoidea): Do niche shifts accompany diversification?. *Syst. Biol.* 51: 761-785.
- Miller M. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3. Computer software. Distributed by the author. Flagstaff, Arizona, USA.
- Mithöfer A. y Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: Chemical aspects. *Annual Rev of Plant Biology*, 63: 431-450.
- Mopper S., Strauss S.Y.1998. Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Populations. Nueva York: Chapman y Hall.
- Mohr E.C.J y F.A Van Baren, 1954. Tropical Soils. Interscience, London.
- Mopper S. 1996. Adaptive genetic structure in phytophagous insect populations. *Trends in Ecology and Evolution*. 11: 235-238.
- Nei M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, Nueva York.
- Núñez-Farfán J. and R. Dirzo 1994 Evolutionary Ecology of *Datura stramonium* L. In Central Mexico: Natural Selection for Resistance to Herbivorous Insects. *Evolution*, 48: 423-436.
- Núñez-Farfán J., R. Cabrales, y R. Dirzo. 1996. Mating system consequences on resistance to herbivory and life history traits in *Datura stramonium* L. *American Journal of Botany* 83: 1041-1049.
- Okamoto M. 1988. Interactions between *Camellia japonica* and its seed predator *Curculio camelliae* I. Observations on morphology, phenology and oviposition behaviors in Kinki district, Japan. *Bulletin of the Osaka Museum of Natural History*, 43, 15–37.
- Rausher M.D. 1996. Genetic analysis of coevolution between plants and their natural enemies. *Trends in Genetics*, 12: 212 – 217.
- Resh V H, Cardé R T. 2009. *Encyclopedia of insects*. Elsevier. Oxford, Reino Unido.
- Richardson B.J., Baverstock P.R., Adams M. 1986. Allozyme Electrophoresis: A Handbook for Animal Systematics and Population Studies. Academic Press, Sydney.
- Ridenhour B.J. 2005. Identification of selective sources: partitioning selection based on interactions. *American Naturalist*, 166: 12–25.
- SAS Institute. 2004. JMP. Statistics and graphics guide, version 5.1. SAS Institute INC., Cary, California del Norte.
- Schneider 2000. ARLEQUIN. Computer program available at:<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>

- Shonle I. y J. Bergelson. 2000. Evolutionary ecology of the trophane alkaloids of *Datura stramonium* L. (solanaceae). *Evolution* 54: 778-788.
- Slatkin M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39: 53-65.
- Slatkin M. y N.H. Barton. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, 43: 1349-1368.
- Thompson J.N. 1999. Specific hypothesis on the geographic mosaic of coevolution. *American Naturalist*, 153: S1-S4.
- Thompson J.N. 2005. *The geographic mosaic of coevolution*. Chicago: Univ. Chicago Press.
- Toju H., Sota T. 2006. Imbalance of predator and prey armament: geographic clines in phenotypic interface and natural selection. *American Naturalist*, 167: 105-117.
- Toju H. 2007. Interpopulation variation in predator foraging behaviour promotes the evolutionary divergence of prey. *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 1544-1553.
- Toju H. 2009. Natural selection drives the fine-scale divergence of a coevolutionary arms race involving a long-mouthed weevil and its obligate host plant. *BMC Evolutionary Biology*, 9: 273.
- Toju H., Ueno S., Taniguchi F., Sota T. 2011. Metapopulation structure of a seed-predator weevil and its host plant arms race coevolution. *Evolution*, 65: 1707-1722.
- Valverde P.L., Fornoni J., Núñez-Farfán J. 2001. Defensive role of leaf trichomes in resistance to herbivorous insects in *Datura stramonium*. *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 424-432.
- Villanueva, R. 1998. Tobacco Hornworm, *Manduca sexta* (Linnaeus), and Tomato Hornworm, *Manduca quinquemaculata* (Haworth), (Insecta: Lepidoptera: Sphingidae), Universidad de Florida. 1-5.
- Weir B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Wheat C.W., Vogel, H., Wittstock U., Braby M.F., Underwood, D. & Mitchell-Olds, T. 2007. The genetic basis of a plant-insect coevolutionary key innovation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 20427-20431.

Enlaces:

<http://www8.nau.edu/cvm/latlongdist.html> 04/08/2015

CONABIO <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/04/08/2015>

VII. APÉNDICES

Apéndice A

Fórmulas para preparar las soluciones amortiguadoras usadas en la electroforesis.

Solución J

Tris citrato 0.1M pH 8.2

12.11g. Tris

3.99 Ácido cítrico

Aforar a 1lt.

Tris HCL pH 7.0

44.4g Trizma base

350ml. 1M HCL

Aforar a 4 lt.

Tris HCL pH 8.0

44.4g Trizma base

248 ml. 1M HCL

Aforar a 4 lt.

Fórmulas para la tinción de enzimas usadas.

IDH

1.0ml. Tris HCL; pH 7.0

1.5 ml. NADP

15 gotas de Acido DL-isocítrico

8 gotas de MgCl₂

5 gotas MTT

5 gotas PMS

2 ml. Agar

MDH

1.0 ml. Tris HCL; pH 8.0

1.5 ml. NAD

13 gotas de sustrato málico

5 gotas MTT

5 gotas PMS

2 ml. Agar

PGI

1.0 ml. Tris HCL ; pH 8.0

1.5 ml. NADP

5gotas de Fructosa-6-fosfato

5 gotas de MTT

5 gotas de PMS

10 μ l.G6PDH 2 ml. Agar

PGM

1 ml. Tris HCL; pH 8.0
1.5 ml. NADP
5 gotas de Glucosa-1-fosfato 5 gotas de MTT
5 gotas de PMS 20 μ l. G6PDH

GOT

2 ml. Sol GOT
10 gotas Azul Rápido sal BB (solución saturada)

ME

0.6 ml. Tris HCL ; pH 8.0
1.5 ml. NAD
12 gotas de substrato málico 2 gotas MgCl₂
5 gotas de PMS
5 gotas de MTT
2 ml. Agar

EST

2.0 ml. 0.1 M Tris maleato ; pH 5.3
200 μ l. Solución α -naphthyl acetato
10 gotas Rojo Rápido sal TR
2 ml. Agar

FUM

1.0 ml. Tris HCL ; pH 7.0
1.5 ml. NAD
5 gotas Acido fumárico ; pH 8.0
5 gotas de PMS
5 gotas de MTT
50 μ l. MDH
2 ml. Agar

PEP

ml. 0.02M NA₂ HPO₄ ; pH 7.5
2 gotas de Peroxidasa
8 gotas de o-dianisidina (diHCL sal)
2 gotas de MgCl₂
8 gotas Peptido
2 gotas laminoácido oxidasa
2 ml Agar

Apéndice B

Frecuencias alélicas de *Trichobaris soror* encontrados en los frutos de las poblaciones naturales de *Datura stramonium*.

Poblaciones										
Locus	ESP	FV	IG	PED	PN	SD	TEO	VAL	XO	ZIR
IDH-1										
(N)	36	34	24	36	36	36	36	36	24	36
A	0.222	0.059	0.146	0.278	0.208	0.431	0.111	0.097	0.083	0.167
B	0.028	0.235	0.000	0.111	0.097	0.042	0.139	0.167	0.021	0.083
C	0.0750	0.706	0.854	0.611	0.694	0.528	0.750	0.736	0.896	0.750
IDH-2										
(N)	36	34	24	36	36	36	36	35	24	36
A	0.236	0.103	0.250	0.278	0.181	0.431	0.306	0.200	0.229	0.361
B	0.764	0.897	0.750	0.722	0.819	0.375	0.694	0.800	0.771	0.639
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000
ME										
(N)	36	35	24	36	36	35	36	36	24	35
A	0.097	0.214	0.146	0.125	0.111	0.457	0.083	0.083	0.125	0.114
B	0.903	0.786	0.854	0.875	0.889	0.543	0.097	0.917	0.875	0.886
MDH-1										
(N)	36	36	24	36	35	35	36	35	23	36
A	0.153	0.181	0.042	0.208	0.129	0.243	0.194	0.200	0.065	0.222
B	0.847	0.819	0.958	0.792	0.871	0.757	0.806	0.800	0.935	0.778
MDH-2										
(N)	36	36	24	36	35	35	36	35	23	36
A	0.167	0.111	0.146	0.250	0.243	0.329	0.208	0.271	0.022	0.319
B	0.833	0.889	0.854	0.750	0.757	0.671	0.792	0.729	0.978	0.681
PGM										
(N)	36	36	24	36	35	35	36	35	23	36
A	0.097	0.083	0.021	0.056	0.057	0.171	0.069	0.114	0.000	0.208
B	0.903	0.917	0.979	0.944	0.943	0.829	0.931	0.886	1.000	0.792
GOT										
(N)	36	36	24	36	35	35	36	35	23	36
A	0.083	0.056	0.021	0.042	0.014	0.057	0.028	0.057	0.022	0.042
B	0.917	0.944	0.979	0.958	0.986	0.943	0.972	0.943	0.978	0.958
PEP										
(N)	36	35	24	36	35	36	36	35	23	35
A	0.083	0.071	0.146	0.167	0.157	0.181	0.292	0.200	0.174	0.271
B	0.042	0.086	0.063	0.056	0.214	0.125	0.125	0.129	0.043	0.100
C	0.875	0.843	0.792	0.778	0.629	0.694	0.583	0.671	0.783	0.629
FUM										
(N)	36	35	24	36	35	36	36	35	23	36
A	0.028	0.057	0.021	0.014	0.071	0.097	0.097	0.214	0.022	0.153
B	0.972	0.914	0.979	0.986	0.929	0.903	0.875	0.786	0.978	0.847
C	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.028	0.000	0.000	0.000
EST										
(N)	36	36	24	36	35	35	36	35	23	36
A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.043	0.014	0.071	0.000	0.042
B	1.000	1.000	1.000	1.000	0.986	0.957	0.986	0.929	1.000	0.958
PGI										
(N)	36	36	24	36	35	36	36	35	23	36
A	0.042	0.111	0.083	0.069	0.114	0.153	0.125	0.157	0.043	0.167
B	0.958	0.889	0.917	0.931	0.886	0.847	0.875	0.843	0.957	0.833