



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS

---

---

VARIACIÓN GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE AVISPAS PARASITOIDES  
ASOCIADAS A LA INTERACCIÓN *YUCCA-TEGETICULA* EN  
LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

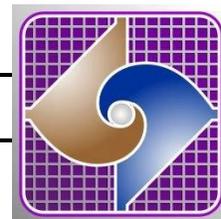
PRESENTA

CYNTHIA ROCÍO ALAMO HERRERA

---

---

Ensenada, Baja California, Agosto de 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



VARIACIÓN GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE AVISPAS PARASITOIDES  
ASOCIADAS A LA INTERACCIÓN *YUCCA-TEGETICULA* EN  
LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

PRESENTA

**CYNTHIA ROCÍO ALAMO HERRERA**

Ensenada B.C.

Agosto de 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE CIENCIAS

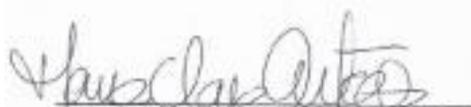
VARIACIÓN GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE AVISPAS PARASITOIDES  
ASOCIADAS A LA INTERACCIÓN *YUCCA-TEGETICULA* EN  
LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA

CYNTHIA ROCÍO ALAMO HERRERA

APROBADO POR:

  
Dra. Maria Clara Arceaga Uribe  
PRESIDENTE

  
Dr. Rafael Bello Bedoy  
SECRETARIO

  
Dr. Ernesto Campos González  
1er VOCAL

## AGRADECIMIENTOS

A CICESE, principalmente al Departamento de Biología de la Conservación y a la Facultad de Ciencias de UABC, por ser las instituciones que me han permitido formarme tanto académica como profesionalmente.

A CONACYT por el financiamiento otorgado al proyecto: Diversidad genética y variación fenotípica de las *Yuccas* (Agavaceae) de la península de Baja California (CB-2014-01-238843). Del cual se desprende la beca para la realización de la presente tesis (Registro: 25154). Igualmente al proyecto de infraestructura: “Genética Ecológica y Química de Plantas (Infra2014#226239) otorgado al Dr. Rafael Bello Bedoy, del Laboratorio de Genética Ecológica de Plantas de UABC, donde se realizaron fotografías estereoscópicas y se empleó equipo de cómputo y software.

Un especial agradecimiento a mis asesores la Dra. María Clara Arteaga Uribe y el Dr. Rafael Bello Bedoy, por todos los consejos y sugerencias dados durante la realización de este trabajo. Principalmente por todo el apoyo, la paciencia y la amistad brindada durante el tiempo que llevamos de conocernos.

Al Dr. Ernesto Campos por su asesoría y por los comentarios brindados que ayudaron a mejorar el trabajo escrito.

A mis compañeros del Laboratorio de Genética para la Conservación, los que se fueron y los que han llegado, por haber contribuido de manera directa o indirecta en la elaboración de este trabajo, con sus sugerencias, preguntas o simplemente con su interés. Particularmente a Leonardo de la Rosa y Darlenne van der Heiden, por la convivencia diaria y las pláticas de laboratorio que vuelven ameno el trabajo. A Mario Salazar por la ayuda y consejos brindados durante las salidas al campo y la medición de las avispas.

A mis padres por todo el apoyo, amor, paciencia y confianza que me han brindado a lo largo de mi vida.

A Carlo German, por soportarme en las desveladas, el estrés y las preocupaciones, gracias por el amor y la paciencia.

Finalmente agradezco a Dios, a mi hermano, a mi familia y amigos, Anaid y Juan, que me impulsan a seguir adelante en todo lo que me propongo.

Resumen de la tesis de Cynthia Rocío Alamo Herrera presentado como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en biología. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México.

VARIACIÓN GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE AVISPAS PARASITOIDES  
ASOCIADAS A LA INTERACCIÓN YUCCA-TEGETICULA EN  
LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA

Resumen aprobado:



Dra. Maria Clara Arteaga



Dr. Rafael Bello Bedoy

En especies que se distribuyen en un amplio gradiente ambiental es común encontrar variación genética o fenotípica dentro de sus poblaciones, además, un creciente número de estudios muestran cómo las interacciones con otras especies ya sean mutualistas o antagónicas, favorecen dicha variación. En el presente trabajo se examinó la variación morfométrica (30 caracteres) y genética (mtDNA) de las avispas *Digonogastra sp.* y *Bassus sp.* (Hymenoptera: Braconidae) parasitoides de las polillas *Tegeticula spp.*, quienes son polinizadoras de especies del género *Yucca*. Se analizaron 54 secuencias de la subunidad I del Citocromo Oxidasa. En las 8 secuencias de 610pb analizadas en *Bassus sp.* no se encontraron diferencias genéticas entre ellos. Por su parte, los 46 individuos de *Digonogastra sp.* presentaron 9 haplotipos. No se encontró estructura genética del parasitoide relacionada con la distribución geográfica ni con las especies de hospedero que ataca. Sin embargo, los individuos de *Digonogastra sp.* presentaron caracteres morfológicos que varían entre sexo y entre especie de hospedero, siendo más grandes los que atacan a *T. mojavella* (norte de la Península) que los que atacan a *T. baja* (centro y sur de la Península). *Digonogastra sp.* tiene un hábito generalista que puede estar causando la falta de diferenciación genética entre sus poblaciones. Sin embargo, el tamaño de las avispas puede depender del tamaño de las larvas de *Tegeticula spp.* al momento de la ovoposición y causar las diferencias observadas en el parasitoide.

**Palabras clave:** Parasitoide, hospedero, variación morfológica, estructura genética.

## ABSTRACT

In species with a distribution over a wide environmental gradient it's common to find genotypic or phenotypic variation within its populations, furthermore a growing number of studies show that interactions with other species, be it mutualistic or antagonistic, favor this variation. In the present work the morphometric (30 characters) and genetic (mtDNA) variation were examined in *Digonogastra sp.* and *Bassus sp.* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid wasps of *Tegeticula spp.* moths, which pollinate species of the genus *Yucca*. 54 sequences of subunit I of Cytochrome Oxidase were analyzed. In the 8 sequences of 610bp analyzed for *Bassus sp.* no genetic differences were found. The 46 individuals of *Digonogastra* were divided in 9 haplotypes. No genetic structure of the parasitoids was found related to the geographical distribution of the species they attack. Individuals of *Digonogastra sp.* presented morphological characteristics that vary with sex and species of host, those that attack *T. mojavelle* (north of the Peninsula) being larger than those that attack *T. baja* (center and south of the Peninsula). *Digonogastra sp.* has a generalist habit may cause the lack of genetic differentiation between its populations. Nonetheless, the size of the wasps may depend on the size of *Tegeticula spp.* larvae at the moment of oviposition, thus causing the differences observed in the parasitoid.

**Keywords:** Parasitoid, host, morphologic variation, genetic structure.

## CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>i</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iii</b>
<b>CONTENIDO</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>ix</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
▪ Fuentes de variación	<b>3</b>
▪ Historia de vida de los parasitoides	<b>6</b>
▪ Registro histórico de los parasitoides de las polillas de la <i>Yucca</i>	<b>8</b>
▪ Interacción <i>Yucca-Tegeticula</i> en la Península de Baja California	<b>9</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>10</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>12</b>
▪ Recolecta	<b>12</b>
▪ Sitios de recolecta	<b>13</b>
▪ Identificación taxonómica	<b>14</b>
▪ Análisis de variación morfológica	<b>14</b>
▪ Medición	<b>14</b>
▪ Análisis estadístico	<b>17</b>
▪ Análisis de la variación genética	<b>18</b>
▪ Extracción de ADN	<b>19</b>
▪ Amplificación del ADN mitocondrial	<b>19</b>

▪ Análisis genético	20
▪ Análisis de diversidad	20
▪ Estructura poblacional	21
▪ Redes haplotípicas	21
▪ Análisis filogenético	21
▪ Demografía	22
<b>RESULTADOS</b>	<b>23</b>
▪ Análisis de variación morfométrica	23
▪ Coeficiente de variación	26
▪ ANOVA	27
▪ Análisis de variación genética	31
▪ Análisis de diversidad	31
▪ Estructura poblacional	32
▪ Redes haplotípicas	33
▪ Análisis filogenético	35
▪ Demografía histórica	36
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
▪ Distribución de los parasitoides de la polilla de la <i>Yucca</i>	37
▪ Variación y estructura genética de <i>Digonogastra sp.</i>	39
▪ Variación morfológica de <i>Digonogastra sp.</i>	44
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>50</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>51</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla I.</b> Coordenadas geográficas y número de individuos muestreados (n) por localidad (ID). Se especifica el estado de la península donde se recolectó y la especie de <i>Yucca</i> y <i>Tegeticula</i> al que corresponde.	<b>13</b>
<b>Tabla II.</b> Caracteres medidos para los parasitoides de <i>Tegeticula sp.</i> , se muestran las siglas correspondientes y la explicación de la toma de medidas.	<b>16</b>
<b>Tabla III.</b> Valores promedio, desviación estándar (D.E.), coeficiente de variación (C.V.) y talla de muestreo (n) de las medidas tomadas a individuos de <i>Digonogastra sp.</i> en la Península de Baja California.	<b>27</b>
<b>Tabla IV.</b> Análisis de varianza de caracteres morfológicos de individuos de <i>Digonogastra sp.</i> en la Península de Baja California. Caracteres significativos: $P < 0.05$	<b>28</b>
<b>Tabla V.</b> Haplotipos, sitios variables, número de individuos por haplotipo y frecuencias haplotípicas.	<b>33</b>
<b>Tabla VI.</b> Análisis de diversidad, utilizando dos modelos de agrupamiento.	<b>34</b>
<b>Tabla VII.</b> Resultados del AMOVA utilizando dos modelos de agrupamiento entre individuos de <i>Digonogastra sp.</i> De la Península de Baja California.	<b>34</b>

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b>	Ejemplo hipotético de parasitoides específicos y generalistas.	<b>3</b>
<b>Figura 2.</b>	Historia de vida de los parasitoides	<b>4</b>
<b>Figura 3.</b>	Clasificación de las avispas parasitoides.	<b>7</b>
<b>Figura 4.</b>	Distribución geográfica de las tres especies de <i>Yucca</i> .	<b>9</b>
<b>Figura 5.</b>	Mapa del área de estudio y sitios de recolecta.	<b>13</b>
<b>Figura 6.</b>	Esquema de las mediciones morfométricas realizadas a <i>Digonogastra sp.</i>	<b>15</b>
<b>Figura 7.</b>	Mapa de los géneros de avispas parasitoides de polillas de la <i>Yucca</i> en la Península de Baja California.	<b>22</b>
<b>Figura 8.</b>	Géneros de parasitoides de la polilla de la <i>Yucca</i> en la Península de Baja California.	<b>25</b>
<b>Figura 9.</b>	Promedio y error estándar de los caracteres que resultaron significativamente diferentes entre individuos que parasitan diferente hospedero.	<b>26</b>

## LISTA DE FIGURAS

(Continuación)

	<b>Página</b>
<b>Figura 10.</b> Promedio y error estándar de los caracteres que resultaron significativamente diferentes entre individuos que parasitan diferente hospedero.	<b>31</b>
<b>Figura 11.</b> Redes haplotípicas para dos modelos de agrupamiento de <i>Digonogastra sp.</i>	<b>36</b>
<b>Figura 12.</b> Árbol filogenético de los haplotipos para el marcador COI de <i>Digonogastra sp.</i>	<b>37</b>
<b>Figura 13.</b> Distribución mismatch para el gen mitocondrial COI en la población de <i>Digonogastra sp.</i>	<b>38</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

**Coefficiente de variación (C.V.):** Cociente de la desviación estándar y la media. Se expresa en porcentaje e indica el grado de variabilidad de los datos.

**Desviación estándar (D.E.):** Raíz cuadrada de la variancia de la variable. Indica la dispersión de los datos respecto a la media aritmética.

**Diferencias nucleotídicas (K):** Proporción de nucleótidos diferentes entre secuencias.

**Diversidad haplotípica (Hd):** Probabilidad de que dos individuos de la población elegidos al azar presenten haplotipos diferentes.

**Diversidad nucleotídica (Pi):** Número promedio de diferencias por sitio entre secuencias tomadas a pares.

**Número de haplotipos (h):** Número total de haplotipos presentes en una población.

**Proporción de sitio segregante (S):** Cociente del número de sitios segregantes y el número total de sitios.

**Prueba F (F):** Cociente de la variación intra y entre poblaciones. Indica el grado de diferencia entre las medias comparadas.

**Suma de cuadrados (S.S.):** Suma de los cuadrados de las diferencias respecto a la media. Indica la variación atribuida a los factores analizados.

**Suma de las desviaciones cuadradas (S.S.D):** Relación entre la distribución observada del mismatch y su expectativa bajo un modelo particular.

**Tamaño de la muestra (n):** Número de individuos extraídos de la población de estudio.

**Valor de P (P):** Probabilidad de haber obtenido el resultado que hemos obtenido si suponemos que la hipótesis nula es cierta. Se toma como una medida de significación estadística.

## INTRODUCCIÓN

La variación genética y fenotípica es un fenómeno común en las poblaciones. La variabilidad se refiere a las diferencias en el material genético y fenotípico de los individuos dentro y entre poblaciones (Futuyma, 2006). La presencia de dicha variación es importante porque puede determinar la capacidad de los organismos para responder a los retos impuestos por el ambiente y su capacidad de adaptarse a la heterogeneidad ambiental, particularmente a factores estresantes que influyen sobre la supervivencia de los organismos (Frankham, 1995; Frankham et al., 2002). La mayoría de las especies están conformadas por muchas subpoblaciones que poseen diferente constitución genética y diferencias fenotípicas (Hedrick, 2005). Entre otros factores, la intensidad de las diferencias entre las poblaciones puede variar de forma gradual o de forma abrupta, dependiendo del gradiente ambiental en los que ocurren las poblaciones (Conner & Hartl, 2004). Si bien la variación en las subpoblaciones parece una regla inquebrantable en la naturaleza de las especies, es importante entender describir su distribución espacial y temporal y explicar los factores que pueden determinar dicha variación.

### **Factores que determinan la distribución de la diversidad genética y la variación fenotípica**

La distribución de la variación genética es determinada por diferentes factores que homogeneizan su distribución entre poblaciones como el flujo genético y las fuerzas que favorecen la diferenciación como, la selección natural local, la deriva génica y su nivel de endogamia (Whitlock & McCauley, 1999; Schluter, 2007). Igualmente, la

variación fenotípica es determinada por genes que controlan los caracteres fenotípicos y del efecto del ambiente sobre la expresión de dichos genes (Schlichting & Pigliucci, 1998). Por ejemplo, si el ambiente en el que ocurren dos o más poblaciones de una especie es heterogéneo, se espera encontrar diferencias genotípicas y fenotípicas (Brandon, 1992). De esta forma, los factores que explican la distribución de la variación genética serán igualmente relevantes para entender la distribución de la variación fenotípica entre las poblaciones.

Con base en estos factores, el balance entre el flujo genético y la selección natural determinará el grado de diferenciación entre poblaciones. Por ejemplo, cuando la tasa de flujo genético es mayor que la intensidad de selección natural a nivel local, un alto intercambio genético homogeneizará la variación genética y fenotípica entre poblaciones. En contraste, si la tasa de flujo genético es baja y la selección favorece a los genotipos/fenotipos locales, se promoverá la diferenciación poblacional (Hedrick, 2005). Así la distribución de la variación genética y fenotípica podrá ser entendida por la efectividad del flujo genético y la variación en el patrón de selección que experimenten las poblaciones en sus diferentes ambientes.

### **El papel de las interacciones bióticas en la distribución de la diversidad genética y la variación fenotípica**

El ambiente biótico es uno de los factores más importantes en la distribución de la diversidad genética y la variación fenotípica. El ambiente biótico está determinado por las interacciones intra- e inter-específicas (Del Val & Boege, 2012) y es común que

cuando organismos de diferentes especies interactúan, ya sea en una relación antagónica o mutualista, ajusten sus fenotipos, de comportamiento o morfológicos, de manera recíproca en respuesta a la interacción (i.e., coevolución: Agrawal, 2001; Carmona et al., 2015). Sin embargo, las interacciones bióticas varían a través del espacio geográfico y del tiempo, resultando en diferencias notables en la constitución genética y fenotípica entre poblaciones (Carmona et al., 2015). Bajo este escenario variación geográfica, se propone que si la interacción entre dos especies difiere entre subpoblaciones, la diversidad genética puede ser estructurada de acuerdo al patrón que muestra la interacción (Thompson, 2005), propiciando la diferenciación entre las subpoblaciones. Sin embargo, una alternativa es que la interacción no limite las fuerzas que determinan la estructuración de la variación genética y fenotípica (i.e., flujo genético y adaptación local) y que el genotipo y fenotipo sea más bien homogéneo a lo largo de la distribución de al menos una de las especies implicadas en la interacción.

Particularmente, los parasitoides son organismos que presentan una relación antagonista con su hospedero, depositando su larva dentro o sobre este y eventualmente lo matan (Godfray, 1994). Los hospederos tienden a evolucionar para resistir el parasitismo y los parasitoides para ser más efectivos en su ataque (van Nouhuys et al., 2012). La interacción entre un parasitoide y su hospedero tiene el potencial de crear patrones de variación genética y fenotípica en las poblaciones de parasitoides dado que se seleccionan aquellas variaciones relacionadas con una capacidad de parasitismo incrementada, o de defensa en los hospederos (Althoff & Thompson, 2001; Kankare et al., 2005).

Este tipo de estructura genética llega a observarse como patrones recíprocos de variación genética y/o fenotípica entre parasitoide y hospedero (Thompson, 2005). En relación al efecto de la interacción hospedero-parasitoide sobre la diversidad genética, Kankare et al., (2005) encontraron que la variación genética del parasitoide *Cotesia melitaearum* (Hymenoptera: Braconidae) se estructura notablemente en dos grupos dependiendo de la especie de hospedero que ataca. Este estudio demuestra que el hospedero puede tener una alta influencia sobre los patrones de variación genética de los huéspedes que las emplean. Sin embargo, este patrón no es general para todas las interacciones planta-parasitoide; Althoff (2008) no detectó diferencias en un estudio similar. A nivel fenotípico, Althoff y Thompson (2001) encontraron variación fenotípica en el parasitoide *Agathis sp.*, relacionado a las diferencias en el tamaño de la capsula de semillas entre las especies de plantas hospederas, *Heuchera cylindrica* y *H. grossulariifolia*, apoyando la idea de la influencia del hospedero sobre la variación fenotípica del parasitoide. En conjunto, estos estudios apoyan parcialmente la idea de que el ambiente biótico puede determinar explicar la diversidad genética y fenotípica de las especies, remarcando la necesidad de más estudios que permitan entender la relevancia de la interacción en la distribución espacio-temporal genética y fenotípica de las especies.

### **Interacción *Yucca – Tegeticula* - Parasitoide**

La interacción *Yucca – Tegeticula* es un ejemplo clásico de coevolución entre planta y polinizador (Pellmyr, 2003), y esta interacción está acompañada del

parasitoidismo sobre la polilla (Althoff, 2008). En esta interacción, cuando la hembra visita las flores para depositar el polen sobre el estigma, coloca sus huevos en la base interna del ovario y las larvas de la polilla eclosionan consumen tejido de fruto y semilla durante el desarrollo del fruto (Engelmann, 1872). Durante la fructificación, las hembras del parasitoide visitan los frutos y lo perforan con su largo ovopositor, paralizan a una larva de la polilla permanentemente y depositan un huevo sobre ella. La larva de la avispa se alimenta del hospedero y pupa dentro del fruto hasta completar su desarrollo y salir de él como adulto (Crabb & Pellmyr, 2006; Althoff, 2008). De esta manera, se ha visto que la presencia del parasitoide ayuda indirectamente a la planta al eliminar una proporción de larvas de *Tegeticula* de los frutos de *Yucca*, evitando así la pérdida de semillas (Crabb & Pellmyr, 2006).

En la Península de Baja California se distribuyen tres especies de *Yucca*; *Yucca schidigera*, *Yucca valida* y *Yucca capensis* (Turner et al., 1995; Lenz, 1998). La primera es polinizada por *Tegeticula mojavello*, mientras que las últimas tienen el mismo polinizador, *Tegeticula baja*. Respecto al parasitoide, no hay registro de avispas parasitoides asociadas a las poblaciones de *Tegeticula spp.* Por ello, en el presente trabajo se mencionan los géneros de las avispas relacionadas a esta interacción y se pone énfasis en evaluar la variación genética y morfológica de las poblaciones de los parasitoides y cómo esa variación se distribuye en relación con la interacción *Yucca – Tegeticula* en la Península de Baja California.

## ANTECEDENTES

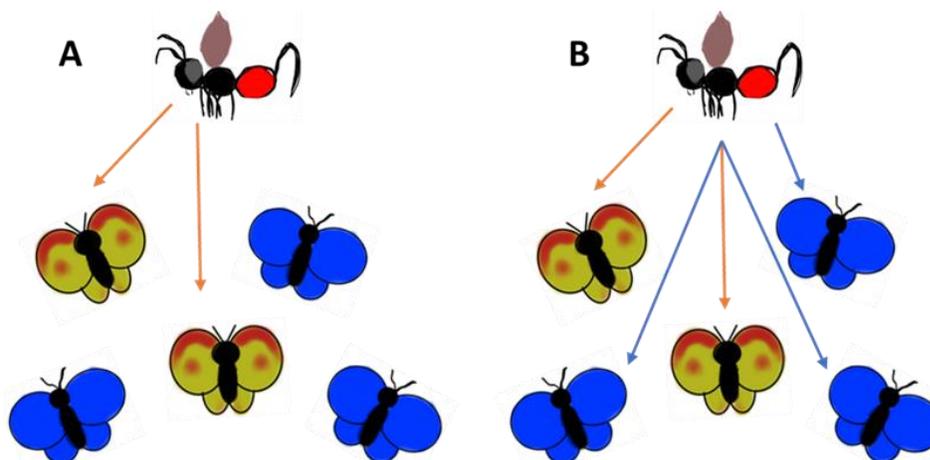
### Fuentes de variación biológica

La variación biológica hace referencia a las diferencias en las características heredables de los organismos y constituye la base sobre la cual actúa la evolución (Darwin, 1859; Gould, 2002; Mayr, 2002). Por su parte, la variabilidad genética se refiere a las diferencias en el material genético que hay en una agrupación de individuos que pertenecen a una o varias especies (Gould, 2002; Rieger et al., 2012). La expresión de la variación fenotípica de una especie depende en gran medida de la variación genética. Sin embargo, el fenotipo de los organismos es también resultado de la interacción entre el componente genético y el medio ambiente (Zegers, 2004; Campbell, 2007).

En las especies distribuidas a lo largo de un amplio gradiente ambiental se puede observar variación fenotípica intra-específica como resultado de variabilidad genética o plasticidad fenotípica (Zegers, 2004). Por ejemplo, el fenotipo de los insectos es propenso a variar ante diferentes factores ambientales (Resh & Cardé, 2009; Moczek, 2010). Diferencias en la temperatura, la disponibilidad de recursos y la calidad y cantidad de alimento, pueden fomentar la aparición de variación fenotípica en los organismos de una misma especie a lo largo de su distribución (Gouws, 2007; Resh & Cardé, 2009). Por otra parte, estudios con insectos han mostrado patrones de variación genética relacionados a la capacidad de movimiento de los organismos y a las adaptaciones locales de sus poblaciones (Jaenike & Holt, 1991; Loxdale & Lushai, 1999; Finn et al., 2006; Mock et al., 2007).

Las interacciones ecológicas como la polinización y herbivoría, han generado una gran diversidad de insectos (Godfray et al. 1994). Del mismo modo, la gran cantidad de insectos herbívoros y polinizadores ha fomentado la aparición de un gran número de insectos parasitoides que los usan como hospederos (Godfray et al. 1994). A nivel micro-evolutivo, estudios con parasitoides han demostrado que la variación genética y/o fenotípica dentro de una especie puede estar estructurada en relación al uso de diferentes hospederos y en un mayor grado conducir el proceso de especiación (Jager & Menken, 1994; Althoff & Thompson, 2001; Kankare et al. 2005). En contraste, en otras investigaciones la variación asociada al hospedero no se encuentra (Althoff & Thompson, 2001; Althoff, 2008; Cronin & Abrahamson, 2001).

El grado de especificidad de los parasitoides también puede influir sobre la variación genética y morfológica dentro y entre sus poblaciones (Figura 1). Si los parasitoides se restringen a una especie de hospedero o por el contrario, a un grupo de especies relacionadas dentro de un hábitat determinado (Godfray et al. 1994). Por ejemplo, la avispa parasitoide de amplia distribución geográfica *Cotesia melitaearum* la cual ataca a dos especies diferentes de mariposas (*Melitaea cinxia* y *Euphydryas aurinia*) se estructura genéticamente en dos grupos asociados al hospedero (Kankare et al. 2005).



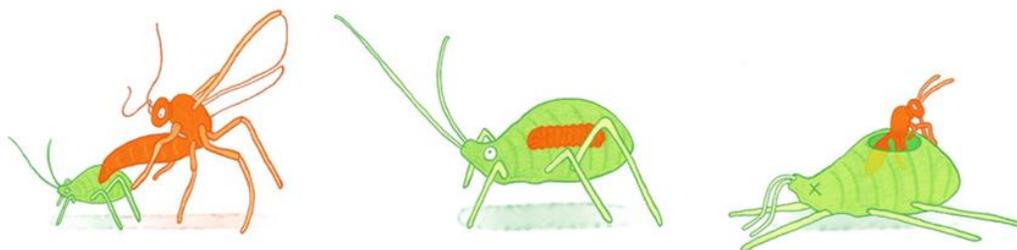
**Figura 1.** Ejemplo hipotético de parasitoides con diferente especificidad. **A)** Parasitoide específico, restringido a una sola especie de hospedero **B)** Parasitoide generalista, grupo de especies relacionadas dentro de un hábitat determinado

En general, es común encontrar un patrón de estructura en la variación genética o morfológica en especies cuya distribución se presenta en un amplio gradiente ambiental (Zegers, 2004; Mock et al., 2007; Nicola et al., 2014), sobre todo en los insectos donde la plasticidad fenotípica responde a los factores ambientales (Resh & Cardé, 2009). Sin embargo, cuando una especie depende de un hospedero, la distribución y estructura genética y/o fenotípica de sus poblaciones estarán más o menos relacionadas a la distribución del hospedero dependiendo de lo estrecho de la relación (Kankare et al., 2005; Weiblen & Bush, G. L. 2002; Krasnov et al., 2004).

### **Biología de los parasitoides**

Los parasitoides llaman la atención por su peculiar historia de vida. En la etapa larval, estos organismos se alimentan del cuerpo de otros artrópodos para completar su

desarrollo. A diferencia de los parásitos que dañan a su hospedero, pero rara vez lo matan, los parasitoides lo hacen como consecuencia de su alimentación (Figura 2). Se podría decir que son el punto intermedio entre depredador y parásito (Godfray, 1994). El parasitoidismo ha evolucionado de forma independiente en diferentes linajes de insectos como Coleóptera y Díptera, y son los Himenópteros (por ejemplo, avispas, abejas y hormigas) quienes poseen un mayor número de especies en relación a otros, sobre todo las avispas (Godfray, 1994).

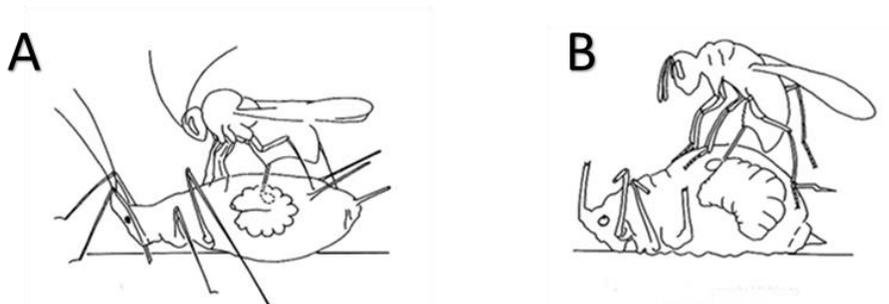


**Figura 2.** Los parasitoides son insectos que durante su etapa larval se alimentan y desarrollan dentro o sobre otro artrópodo (hospedero) el cual eventualmente muere por el ataque. Imagen modificada de Christine Fleming, disponible en: <http://buzzhootroar.com/parasitoids/>

Las avispas parasitoides se clasifican en dos categorías, koinobiontes e idiobiontes, estas categorías se relacionan a la estrategia de desarrollo de los individuos (Figura 3). Los koinobiontes, después de la ovoposición permiten que su hospedero siga alimentándose, este comportamiento permite que el hospedero siga su desarrollo. Por ejemplo, la avispa del género *Rhysipolis* (Hymenoptera: Braconidae) deposita sus huevecillos en una membrana intersegmental de la oruga hospedera, y este puede eclosionar mientras la oruga aún se alimenta, la larva de *Rhysipolis* se mantiene sujeta

hasta que el hospedero busca un sitio para construir su crisálida, momento en el que la larva comienza a alimentarse activamente (Quicke, 2015). En contraste, las avispa idiobiontes al ovopositar paralizan definitivamente al hospedero, por lo que el alimento de estos últimos se limita al recurso al momento de la ovoposición (Quicke, 2015). Por ejemplo, *Atanycolus cappaerti* (Hymenoptera: Braconinae) es una avispa idiobionte que deposita sus huevos sobre la larva de un escarabajo que se encuentra dentro de árboles. Posee un ovopositor largo para llegar a su hospedero e inyectar el veneno, después deposita un huevecillo sobre este. Posteriormente la larva de la avispa comienza a alimentarse del hospedero (Quicke, 2015).

Varios estudios han documentado que las avispa parasitoides paralizan a la larva hospedera del género *Tegeticula* definitivamente y depositan un solo huevecillo sobre su ella para que su progenie se aliemente (Crabb & Pellmyr, 2006). De acuerdo con este comportamiento, los parasitoides de *Tegeticula spp.* son considerados como idiobiontes. Además, los idiobiontes son mayormente ectoparasíticos y tienden a ser generalistas, se relacionan a hospederos que se encuentran protegidos por tejidos vegetales, como tallos, cortezas o frutos y por ello, las hembras suelen desarrollar ovoposidores largos y flexibles que les permitan llegar hasta su hospedero (Resh & Cardé, 2009; Quicke, 2015).



**Figura 3.** Clasificación de las avispas parasitoides. **A)** Koinobiontes, permiten el desarrollo del hospedero después de la ovoposición. **B)** Idiobiontes, paralizan permanentemente a su hospedero después de la ovoposición. (Imagen modificada de Minks & Harrewijn 1988)

### **Registro histórico de los parasitoides de la polilla de la *Yucca*.**

Desde la década de los años 80's ya se había hecho registro de parasitoides de larvas de los géneros *Prodoxus*, *Tegeticula* y *Parategeticula*, polillas polinizadoras del género *Yucca*. Force y Thompson (1984) reportaron tres familias de parasitoides, Braconidae (dos especies), Eupelmidae (tres especies) y Eurytomidae (cuatro especies), todas ellas avispas del orden Himenóptera. Cabe mencionar que solo dos especies *Heterospilus koebelei* y *Eudecatoma flamminneiventris* están descritas, todas las demás son mencionadas como nuevas especies y aún no existe descripción para ellas. Para las polillas del género *Tegeticula* se reportaron dos géneros; *Eurytoma* (Eurytomidae) con dos posibles nuevas especies e *Iphiaulax* (Braconidae) también como una posible nueva especie (Force & Thompson 1984). Posteriormente las especies neárticas del género *Iphiaulax* fueron reasignadas al género *Digonogastra* (Quicke, 1998). El género *Digonogastra* ha sido registrado atacando a las larvas de *Tegeticula* en *Y. bevifolia*, *Y. schottii*, *Y. treculeana* y en poblaciones norteñas de *Y. schidigera* (Force y Thompson,

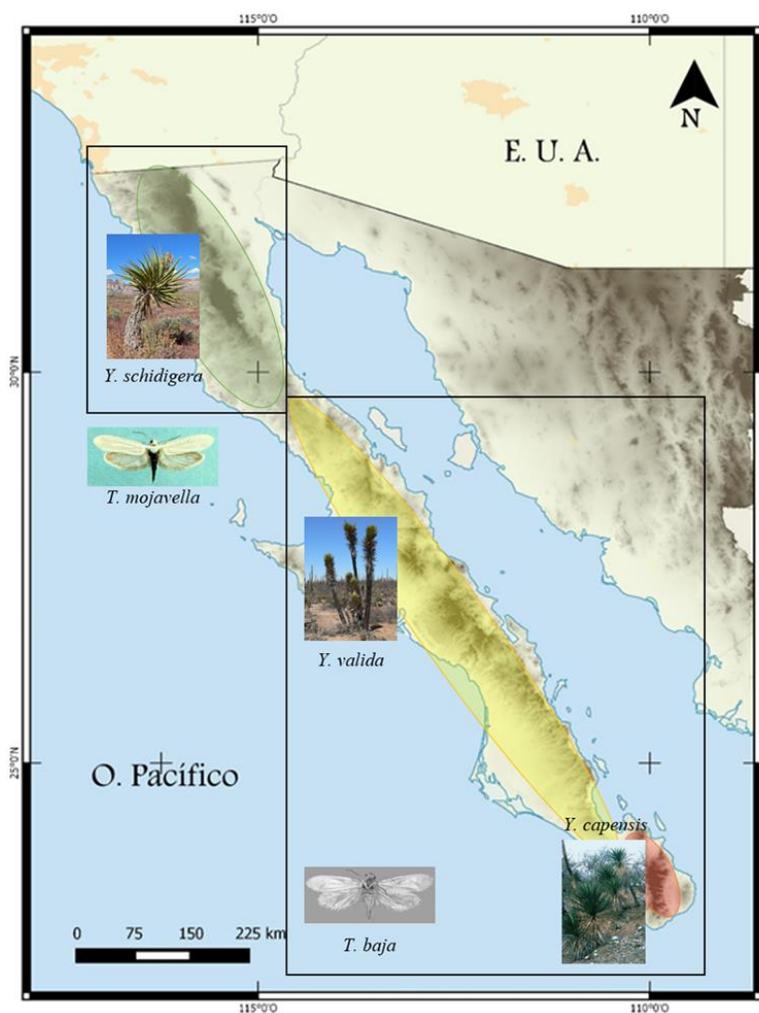
1984; Crabb & Pellmyr, 2006). Aunque estos registros son para Estados Unidos, la distribución de *Y. schidigera* se extiende hasta Baja California y se esperaba la presencia del parasitoide también en la Península.

### **Especies de *Yucca* y *Tegeticula* en la Península de Baja California**

Los parasitoides del género *Tegeticula* en la península de Baja California, interactúan con polillas que polinizan a tres especies de planta anfitrión. *Y. schidigera* se distribuye en el norte de la península en pendientes rocosas y suelos arenosos. Ésta especie está presente desde el desierto de Sonora y se extiende en Baja California por la base oeste de la Sierra Juárez, hasta la latitud 30°N (Turner et al., 1995). Para *Y. schidigera* se reporta a *Tegeticula mojavelle* y *T. californica* como sus polinizadores (Pellymer et al 2008). Sin embargo, para las localidades de colecta solo se registró *T. mojavelle*.

La especie endémica *Yucca valida* se encuentra en suelos de textura fina y pendientes suaves. Su distribución inicia en el límite sur de la distribución de *Y. schidigera* en la latitud 30°N y se extiende hasta la latitud 24°N y es polinizada por *Tegeticula baja* (Pellmyr et al., 2008). La distribución de *Y. valida* era considerada hasta el sur de la península (Turner et al., 1995), pero posteriormente se descubrió que las poblaciones más sureñas en la región del Cabo constituían un nuevo grupo taxonómico que se denominó *Yucca capensis* (Lenz, 1998). La especie *Y. capensis* es entonces

endémica para Baja California Sur, formando parte de la selva baja caducifolia (de la Luz et al., 2012) y también es polinizada por *T. baja* (Pellmyr et al., 2008).



**Figura 4.** Distribución geográfica de las tres especies de *Yucca* en la Península de Baja California. Los recuadros indican la especie de *Tegeticula* polinizadora.

## HIPOTESIS

Ya que en la Península de Baja California las avispas parasitoides interactúan con dos especies de polillas polinizadoras (*Tegeticula sp.*) en una distribución discontinua y con variación en sus ambientes, se plantean dos hipótesis:

### **Hipotesis 1.**

Cada una de las especies de polilla polinizadora (*Tegeticula spp.*) es atacada por diferente especie de avispa parasitoide.

### **Hipotesis 2.**

Las especies de polillas polinizadoras (*Tegeticula spp.*) son atacadas por la misma especie de avispa parasitoide, la cual, presentará estructura genética y variación fenotípica.

## OBJETIVOS

### Objetivo general:

- Examinar la variación genética y morfológica de los parasitoides de las polillas polinizadoras de las tres especies de *Yucca* (Asparagaceae) de la Península de Baja California.

### Objetivos específicos:

- Determinar los género de avispas parasitoides asociados a la interacción *Yucca* - *Tegeticula* en la Península de Baja California.
- Comparar la variación morfológica entre parasitoides de diferentes polillas.
- Determinar la estructura y variación genética entre parasitoides que atacan diferente polilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

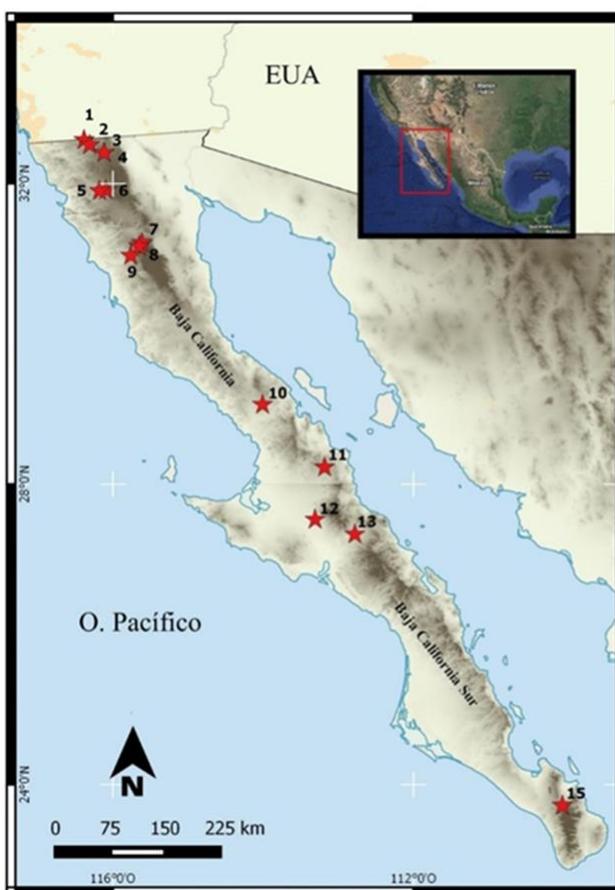
### Recolecta

Las avispas parasitoides provienen de recolectas de frutos de las tres especies de *Yucca* que se distribuyen a lo largo de la Península de Baja California, las cuales se realizaron entre los años 2013 y 2015. Los especímenes se obtuvieron de dos maneras; al guardar los frutos dentro de una malla de red durante determinado tiempo a la espera de su salida y mediante la disección de los frutos. Los individuos fueron conservados en alcohol al 70% a -80 °C en las instalaciones del laboratorio de Genética de la Conservación en CICESE.

Se obtuvieron un total de 54 individuos adultos de 15 localidades diferentes; nueve localidades para la distribución de *Y. schidigera*, cinco para *Y. valida* y una para *Y. capensis* (Tabla 1). De los 54 individuos, seis de ellos no tienen un lugar de recolecta concreto, de los cuales tres son del stock de frutos de *Y. valida* y fueron etiquetados con el nombre Oct2013 por su fecha de colecta y los otros tres corresponden a los únicos individuos provenientes de las localidades de *Y. capensis*, recolectados en los alrededores de la sierra de la Laguna, por lo que se agruparon y etiquetaron como localidad 15.

**Tabla I.** Coordenadas geográficas y número de individuos muestreados (n) por localidad (ID). Se especifica el estado de la península donde se recolectó y la especie de *Yucca* y *Tegeticula* al que corresponde.

Estado	ID	Longitud	Latitud	n	Yucca	Tegeticula
BC	1	-116.3844	32.5819	6	Y. schidigera	T. mojavella
BC	2	-116.3083	32.5161	2	Y. schidigera	T. mojavella
BC	3	-116.1174	32.4103	2	Y. schidigera	T. mojavella
BC	4	-116.1169	32.4099	1	Y. schidigera	T. mojavella
BC	5	-116.1797	31.9029	1	Y. schidigera	T. mojavella
BC	6	-116.0925	31.9135	2	Y. schidigera	T. mojavella
BC	7	-115.614	31.2088	3	Y. schidigera	T. mojavella
BC	8	-115.651	31.1636	10	Y. schidigera	T. mojavella
BC	9	-115.7624	31.0412	9	Y. schidigera	T. mojavella
BC	10	-114.0085	29.0586	3	Y. valida	T. baja
BC	11	-113.1831	28.2237	2	Y. valida	T. baja
BCS	12	-113.3097	27.5291	1	Y. valida	T. baja
BCS	13	-112.78	27.3328	5	Y. valida	T. baja
BCS	<b>Oct2013</b>			3	Y. valida	T. baja
BCS	15	-110.0184	23.7223	3	Y. capensis	T. baja



**Figura 5.** Mapa del área de estudio y sitios de recolecta de frutos de *Yucca* sp. de donde se obtuvieron las muestras de los parasitoides de *Tegeticula* sp. explicado a detalle en la tabla I.

### **Identificación taxonómica**

La observación de todos los individuos se realizó por medio de un microscopio estereoscópico Nikon SMZ745-T implementado con una cámara fotográfica digital Lumenera's INFINITY1. Las imágenes se tomaron con en el software del mismo Lumenera's INFINITY ANALYZE y se realizaron a 10X, 20X y 50X. Con base en la clave dicotómica de géneros de avispas para el estado de Guanajuato (Sánchez et al., 1998), se realizaron observaciones iniciales que permitieron crear una base de datos cualitativa con los siguientes rasgos; presencia o ausencia de la carina occipital, carinas longitudinales en el primer terguito, vena 1-SR+M, posición de los espiráculos, color de las patas posteriores y para el caso de las hembras la presencia o ausencia de aserraciones en la punta del ovopositor. Estos caracteres permitieron separar a los individuos en dos grupos que posteriormente fueron identificados como géneros diferentes; *Digonogastra* Viereck (1912) con 46 individuos y *Bassus* Fabricius (1804) con 8 (Ver resultados).

### **Análisis de variación morfométrica**

#### **Medición**

Las partes anatómicas escogidas para la medición corresponden a las importantes para la identificación de los géneros de la familia Braconidae y la descripción de las especies (Sánchez et al., 1998; Viereck, 1912; Fabricius, 1804). Se escogieron 26 medidas para ser analizadas, en el caso de las hembras fue un total de 30 al incluir 4 relacionadas al ovopositor (Tabla II). Para la región cefálica se midió el ancho y largo

del escapo, ancho y largo de los flagelómeros primero, medio y penúltimo. Cabe mencionar que el clípio fue indispensable para la identificación de los géneros, pero el color negro intenso de los organismos no permitió tomar medidas exactas, por lo que se descartó la medición de este carácter. Para el cuerpo se midió el ancho y largo del mesosoma (torax) y metasoma (abdomen). Para las patas se consideró el ancho y largo del fémur, la tibia y el tarso. Se midió además el largo de la ala anterior así como la longitud de 5 venaciones de la misma; C+SC+R, 1RS, (RS+M)a, 2RS y r-rs. Para las hembras se incluyeron medidas del largo y ancho del ovopositor, el largo de la punta del ovopositor y la distancia entre los dos nodos de la punta (Figura 6). Las mediciones fueron realizadas con el software INFINITY ANALYZE antes mencionado, calibrado a milímetros y corroborado con una regla convencional.

**Tabla II.** Caracteres medidos en los parasitoides de *Tegeticula sp.*, se muestran las siglas correspondientes y la explicación de la toma de medidas.

<b>Caracter</b>	<b>Siglas</b>	<b>Explicación</b>
Longitud del cuerpo	LC	Medida desde la frente hasta el borde posterior del metasoma, sin tomar en cuenta antenas ni ovopositor
Longitud de la Antena	LA	Medida desde la punta de la antena hasta la unión del escapo con la cabeza
Longitud del escapo	LE	Medida desde el extremo más largo del escapo hasta la unión de la cabeza
Ancho del escapo	AE	Medida del extremo más ancho del escapo
Longitud del primer flagelómero	LPF	Medida del eje vertical del flagelómero
Ancho del primer flagelómero	APF	Medida del eje horizontal del flagelómero
Longitud del flagelómero	LFM	Medida del eje vertical del flagelómero

medio		
Ancho del flagelómero medio	AFM	Medida del eje horizontal del flagelómero medio
Longitud del penultimo flagelómero	LPUF	Medida del eje vertical del flagelómero
Ancho del penúltimo flagelómero	APUF	Medida del eje horizontal del flagelómero
Longitud del mesosoma	LMS	Longitud en vista dorsal desde el extremo anterior hasta el extremo posterior del mesosoma
Ancho del mesosoma	AMS	Longitud en vista dorsal del extremo más ancho del mesosoma
Longitud del metasoma	LMT	Longitud en vista dorsal desde el extremo anterior hasta el extremo posterior del metasoma
Ancho del metasoma	AMT	Longitud en vista dorsal del extremo más ancho del metasoma
Longitud del fémur	LF	Medida de la distancia entre articulaciones
Ancho del fémur	AF	Medida del extremo más ancho del fémur
Longitud de la tibia	LT	Medida de la distancia entre articulaciones
Ancho de la tibia	AT	Medida del extremo más ancho de la tibia
Longitud del tarso	LTS	Medida tomando la distancia de la articulación hasta la almohadilla de la pata, sin tomar en cuenta la uña.
Ancho del tarso	ATS	Medida del extremo más ancho del metatarso
Longitud del ala anterior	LAA	Medida desde el extremo proximal hasta el borde distal.
Longitud de la venación C+SC+R	LV1	Tomando la distancia entre la unión con otras venaciones
Longitud de la venación 1RS	LV2	Tomando la distancia entre la unión con otras venaciones
Longitud de la venación (RS+M)a	LV3	Tomando la distancia entre la unión con otras venaciones
Longitud de la venación 2RS	LV4	Tomando la distancia entre la unión con otras venaciones
Longitud de la venación r-rs	LV5	Tomando la distancia entre la unión con otras venaciones
Longitud del ovipositor	LO	Medida desde el final del metasoma hasta la punta del ovopositor.
Ancho del ovipositor	AO	Tomado debajo de la punta del ovopositor



JMP 5.01 (SAS Cary, New Jersey, USA). Finalmente, con el promedio y el error estándar de los caracteres significativos se elaboraron gráficas en el programa Graphpad Prism (cita). no se realizaron para los individuos de *Bassus sp.* por representar una muestra muy pequeña.

## **Análisis de variación genética**

### **Extracción de ADN**

Para la extracción de ADN se cortó una de las patas posteriores de los individuos previamente identificados. Cada pata fue pesada y macerada con ayuda de pinzas y bisturí, y transferida a un tubo Eppendorf. La extracción de ADN se realizó con el kit comercial Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit, con las siguientes modificaciones: 90µl de Buffer ATL, 15µl de proteinasa K y la reducción a la mitad de todos los reactivos del protocolo. Para corroborar la presencia y calidad de la extracción de ADN, se utilizó un gel de agarosa a 1%. Se corrieron 4µl de ADN de cada muestra mezclada con 1µl de regulador de carga adicionado con revelador fluorescente GelRed, las condiciones de corrida fueron de 90 voltios por 30 minutos. Las bandas se visualizaron por medio de un transiluminador de luz UV Bio-Rad y el software ImageLab 4.1. Para cuantificar la concentración de ADN se utilizó espectrofotometría por medio del equipo NANODROP 2000 el cual da valores en ng/µl e indica el grado de pureza de los ácidos nucleicos. El ADN obtenido de las extracciones osciló entre los 5 y 15 ng/µl, con algunas excepciones que sobrepasaron los 40 ng/µl.

### **Amplificación del ADN mitocondrial**

Se amplificó un fragmento de 680pb del marcador Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) por medio de PCR utilizando los cebadores universales para invertebrados descritos por Folmer et al. (1994); LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCA TAAAGATATTGG-3') y HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'). La mezcla de PCR consistió de 5 µl de Buffer (1x), 1.5 µl de MgCL (2.5mM), 0.3 µl de dNTps (0.16mM), 0.6 µl de cada cebador a 10 µM, 0.2 µl de la Taq polimerasa (1u), 1 µl de ADN y 5.8 µl de agua grado molecular, para obtener un volumen de reacción de 15 µl. Las condiciones del termociclador fueron: 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de la desnaturalización a 94 °C por 1min, alineación a 50 °C por 1min, extensión a 68 °C por 1min y una elongación final de 72 °C por 5 minutos, finalmente 4 °C indeterminadamente. Se utilizaron 2µl del producto para visualizar la presencia del amplificado en gel de agarosa al 2%, las muestras se cargaron con 1 µl de regulador de carga adicionado con GelRed. Junto a ellas se corrieron 0.7µl de escalera para comprobar el tamaño del amplificado, las condiciones de corrida fueron de 80 voltios por 30 minutos. Los productos de PCR fueron enviados a un instituto especializado para su secuenciación.

### **Análisis genético**

Las secuencias fueron visualizadas, alineadas y editadas por medio del programa BioEdit (Hall, 1999). Para corroborar los géneros de parasitoide encontrados, las secuencias de dos individuos para cada género identificados morfológicamente fueron

puestas en BLAST (Blast.ncbi.nlm.nih.gov) que busca coincidencias con secuencias depositadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Para los individuos del género *Bassus* se encontró una identidad de 97% con la especie *Bassus binominatus*, mientras que para los individuos de *Digonogastra* la máxima coincidencia se encontró con el género *Euplectrus sp.* (89% de identidad). En el NCBI solo hay depositada una sola secuencia del marcador COI asignada al género *Digonogastra* la cual fue generada de un individuo proveniente de Costa Rica. Sin embargo, solo obtuvo un 87% de identidad con respecto a los individuos identificados taxonómicamente. Las ocho secuencias de los individuos asignados al género *Bassus* no presentaron sitios polimórficos por lo que se excluyeron de los análisis de diversidad y estructura genética.

**Análisis de diversidad genética.** Para el género *Digonogastra* se realizó un análisis de diversidad genética empleando el software DNAsp (Rozas et al., 2003). Se obtuvo el número de haplotipos, la diversidad haplotípica y la diversidad nucleotídica, donde la diversidad haplotípica es la probabilidad de que dos individuos de la población elegidos al azar presenten haplotipos diferentes y la diversidad nucleotídica considera que tan diferentes son esos haplotipos (Nei, 1987; Nei & Li, 1979). Se analizaron dos escenarios poblacionales: **Modelo A** en el que se agruparon los individuos considerando a la especie de polilla hospedera y el **Modelo B** que representa la variación de los individuos debida a la geografía. Para este último modelo solo se utilizaron los individuos provenientes de la distribución de *T. mojavella*, debido a que se contó con

una muestra mayor. Estos individuos se agruparon en dos poblaciones, siguiendo un criterio geográfico de norte y sur de la distribución de la polilla hospedera.

**Análisis de estructura genética.** La estructura genética de una especie está dada por el nivel y distribución de la variación genética entre sus poblaciones (Slatkin, 1987). Para evaluar dicha estructura entre poblaciones de *Digonogastra sp.* en cada uno de los modelos (Modelo A y Modelo B), se llevó a cabo un análisis molecular de varianza (AMOVA), que mide la distribución de la varianza entre y dentro de los grupos. Este análisis se realizó en el programa ARLEQUIN (Excoffier et al. 2005).

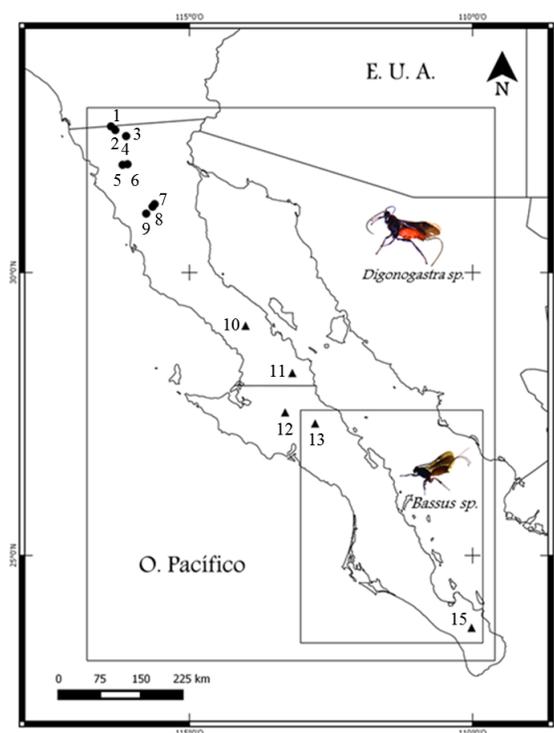
**Redes haplotípicas.** Para analizar las relaciones genealógicas de los haplotipos encontrados se construyó una red haplotípica por medio del programa NETWORK 5.0 (Bandelt et al. 1999). Se utilizó el método de unión por la mediana (Median-Joining) para inferir las relaciones entre los haplotipos y se eliminaron las uniones menos parsimoniosas. Se construyó una red de haplotipos para cada uno de los modelos (considerando la polilla hospedera y considerando la geografía).

**Análisis filogenético.** Por medio del software MEGA 4.0 (Tamura et al., 2007), se elaboró un árbol filogenético entre los haplotipos, utilizando el método de Máxima Verosimilitud (ML) y un boostrap de 1000 repeticiones. El modelo de sustitución usado fue HKY+I el cual mostró el mayor ajuste (valor AIC menor) a los datos y fue determinado en el programa jModelTest (Darriba et al. 2012).

**Demografía histórica.** Para evaluar los cambios históricos en la demografía de la población de *Digonogastra sp.* en la Península, se empleó el análisis de distribución de las diferencias pareadas entre secuencias (mismatch). La forma de la distribución mismatch se utiliza para inferir si ha ocurrido una expansión poblacional (Rogers y Harpending, 1992; Rogers, 1995). Una distribución unimodal indica la expansión de la población, mientras que una distribución multimodal indica una población en equilibrio estable. Por su parte, la suma de las desviaciones cuadráticas (SSD) se utiliza para validar el modelo de expansión (Navascués et al., 2006). Un SSD significativo ( $P < 0.05$ ) descarta el modelo de expansión de la población. Para este análisis se utilizó el programa ARLEQUIN y los gráficos fueron obtenidos en Excel.

## RESULTADOS

Se encontraron dos géneros de avispas parasitoides de la polilla de la *Yucca* (*Tegeticula sp.*) en la península de Baja California; *Digonogastra* Viereck (1912) y *Bassus* Fabricius (1804) ambas avispas perteneces a la familia Braconidae (Figura 8). Se colectaron 46 individuos (86%) del género *Digonogastra sp.* 17 hembras y 29 machos. Estas se encontraron en todas las localidades muestreadas con excepción de la localidad 13, parasitando tanto a *Tegeticula mojavella* y *Tegeticula baja* (Figura 7). Se colectaron 8 individuos del género *Bassus* (14% del total de avispas colectadas), únicamente en dos localidades. En la localidad 13, parasitando a *Tegeticula Baja* en frutos de *Y. valida* se hallaron 7 hembras y en la localidad 15 se colectó una hembra parasitando a *Tegeticula baja*, pero en un fruto de *Y. capensis* (Figura 7).



**Figura 7.** Mapa de los géneros de avispas parasitoides de polillas de la *Yucca* en la Península de Baja California. Los círculos indican la distribución de *Tegeticula mojavella* y los triángulos de *Tegeticula baja*; Los recuadros incluyen las poblaciones con registro de los géneros de parasitoides encontrados



**Figura 8.** Géneros de avispas parasitoides de la polilla de la *Yucca* (*Tegeticula* sp.) en la Península de Baja California. En la parte superior *Digonogastra* sp. en la parte inferior *Bassus* sp.

### **Análisis de la variación morfométrica**

Para el análisis morfométrico se midieron 44 individuos del género *Digonogastra*, 34 de ellos provenientes de la distribución de *T. mojavella* y 10 de la distribución de *T. baja*. Los coeficientes de variación de los caracteres estudiados se mantuvieron alrededor del 20% siendo las partes de la antena los valores de variación más bajos (LFPU, AFPU y LFM) y el valor más alto correspondió al ancho del metasoma (AMT). Para el caso particular de las hembras se midieron 17 individuos. El coeficiente de variación más bajo corresponde al ancho del ovopositor y el valor más alto a la distancia entre los nodos de la punta (Tabla III).

De los 26 caracteres medidos, 16 (61.5%) resultaron ser significativamente diferentes entre los individuos que atacan a especies distintas de polilla. La parte anatómica más destacable fue la pata posterior donde todas las mediciones resultaron significativamente diferentes (Tabla IV). Para el caso de las hembras ningún carácter del ovopositor resultó significativo (Tabla IV). Se encontró dimorfismo sexual, resultando todos los caracteres, menos la longitud del flagelómero medio (LFM), significativamente diferentes entre sexos. En general, los valores de la media de los caracteres estadísticamente diferentes son mayores en los parasitoides que atacan a *T. mojavella*, lo que nos sugiere que estos son significativamente más grandes que los individuos que atacan a *T. baja* (Figuras 9 y 10).

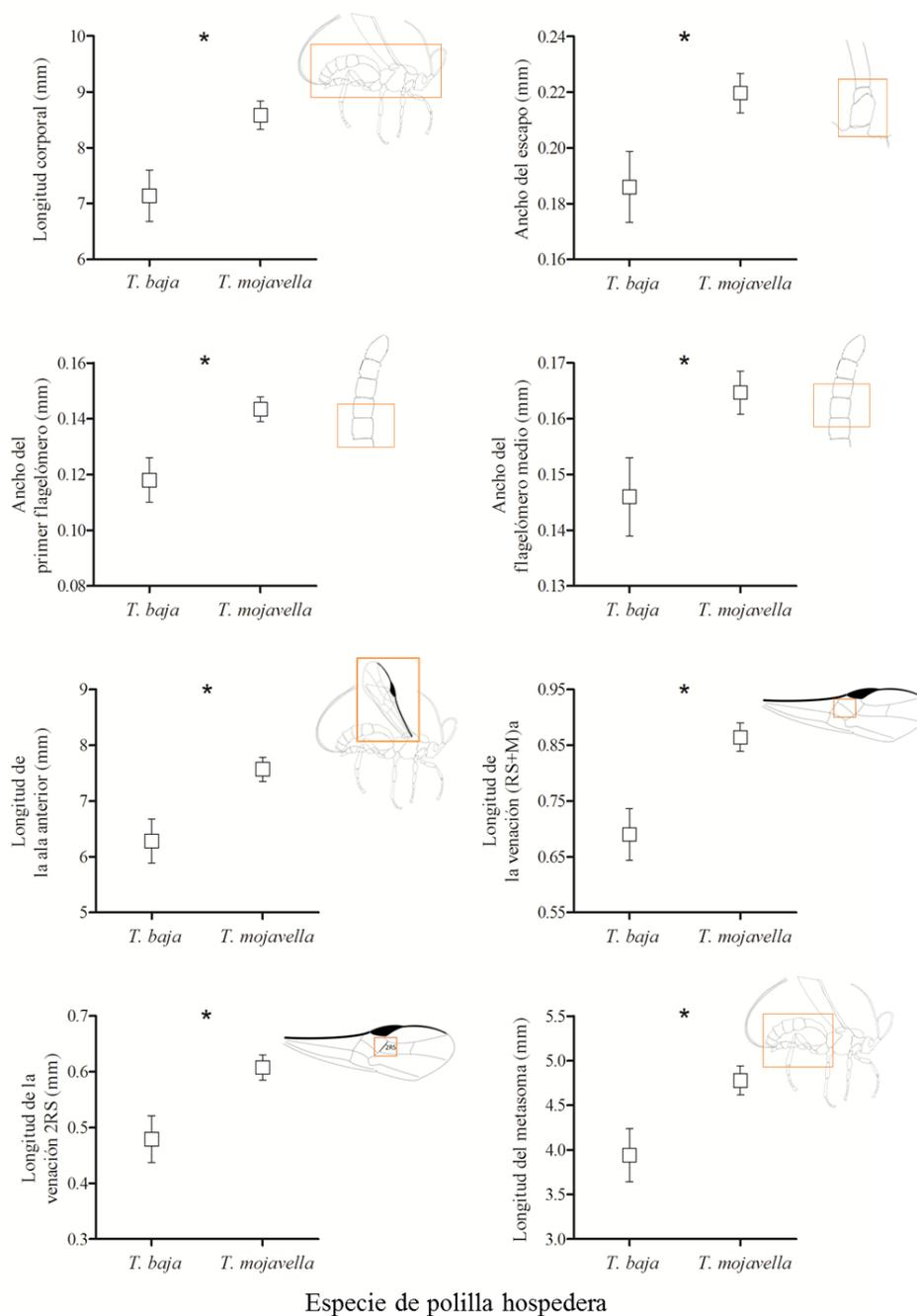
**Tabla III.** Valores promedio, desviación estándar (D.E.), coeficiente de variación (C.V.) y talla de muestreo (n) de las medidas tomadas a individuos de *Digonogastra sp.* en la Península de Baja California. Todas las medidas fueron hechas en milímetros.

<b>Carácter</b>	<b>Promedio</b>	<b>D.E.</b>	<b>C.V.</b>	<b>n</b>
Longitud corporal	8.37	1.71	20.47	42
Antena				
Longitud de la antena	6.57	1.04	15.88	41
Ancho del escapo	0.22	0.04	20.59	42
Longitud del escapo	0.39	0.09	22.24	42
Ancho del primer flagelómero	0.14	0.03	19.94	42
Longitud del primer flagelómero	0.19	0.07	19.22	42
Ancho del flagelómero medio	0.16	0.02	15.13	42
Longitud del flagelómero medio	0.14	0.01	10.26	42
Ancho del penúltimo flagelómero	0.12	0.01	10.99	40
Longitud del penúltimo flagelómero	0.12	0.01	8.65	40
Tórax				
Ancho del mesosoma	1.91	0.46	24.04	43
Longitud del mesosoma	2.82	0.62	22.12	43
Abdomen				
Ancho del metasoma	1.87	0.69	36.94	38
Longitud del metasoma	4.63	1.05	22.70	44
Pata posterior				
Ancho del fémur	0.43	0.10	24.05	43
Largo del fémur	1.56	0.36	23.06	43
Ancho de la tibia	0.29	0.07	24.63	43
Longitud de la tibia	2.34	0.52	22.34	43
Ancho del tarso	0.17	0.04	25.89	43
Longitud del tarso	2.20	0.49	22.40	42
Ala anterior				
Longitud de la ala anterior	7.37	1.67	22.66	43
Longitud de la venación C+SC+R	3.55	0.80	22.63	43
Longitud de la venación 1RS	0.23	0.05	23.63	43
Longitud de la venación (RS+M)a	0.84	0.21	25.31	43
Longitud de la venación 2RS	0.60	0.14	23.47	43
Longitud de la venación r-rs	0.25	0.06	27.10	43
Ovopositor				
Longitud del ovopositor	8.21	1.35	16.51	17
Ancho del ovopositor	0.06	0.004	7.46	17
Longitud de la punta del ovopositor	0.60	0.19	30.95	17
Distancia entre nodos del ovopositor	0.28	0.17	61.74	17

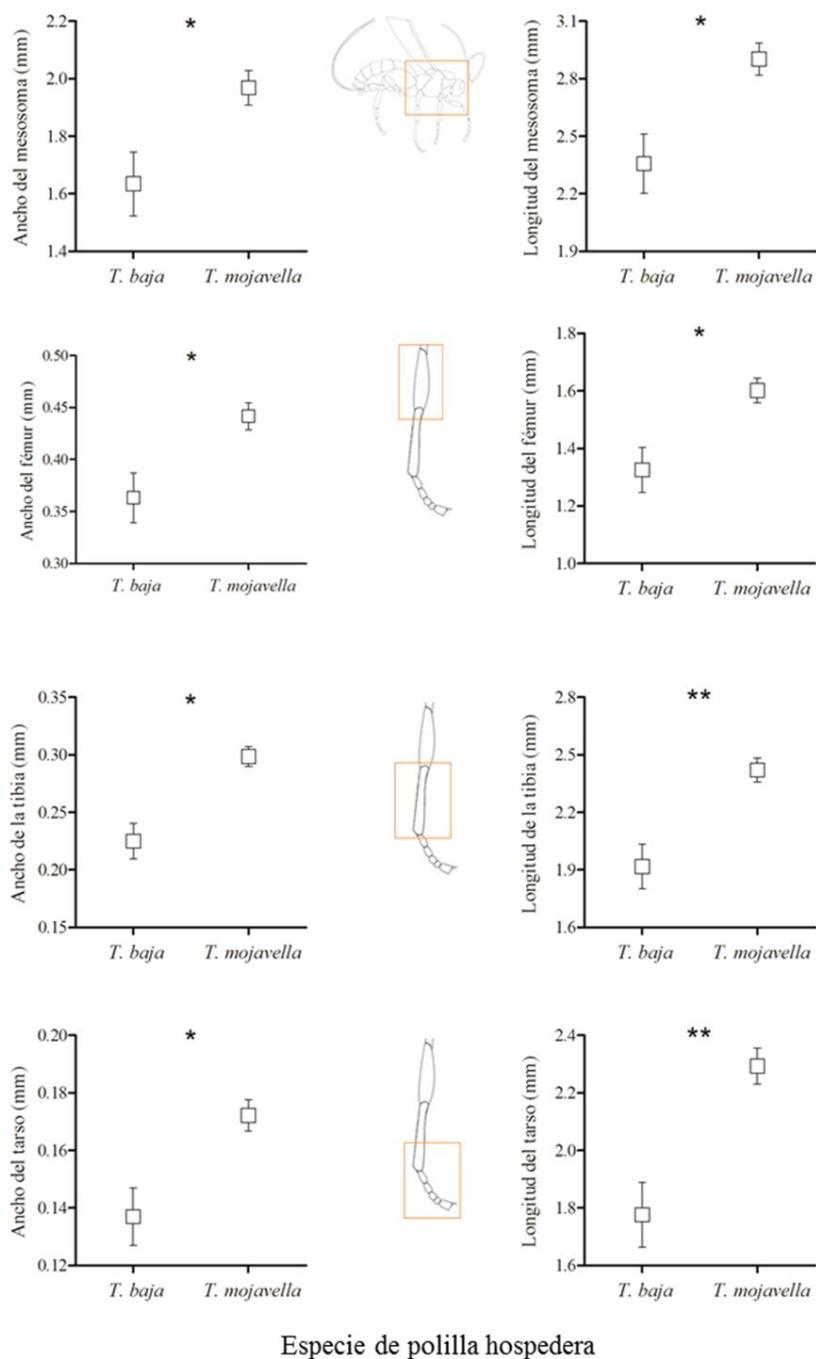
**Tabla IV.** Análisis de varianza de caracteres morfológicos de individuos de *Digonogastra sp.* en la Península de Baja California. Grados de libertad 1. Caracteres significativos:  $P < 0.05$ .

Carácter	Fuente de variación	S.S	F	P
Longitud corporal	<i>Tegeticula</i>	12.043	5.938	0.0195
Longitud corporal	sexo	28.282	13.945	0.0006
Antena				
Longitud de la antena	<i>Tegeticula</i>	1.347	0.699	0.4
Longitud de la antena	sexo	8.644	4.486	0.0408
Ancho del escapo	<i>Tegeticula</i>	0.007	4.275	0.0454
Ancho del escapo	sexo	0.014	8.741	0.0053
Longitud del escapo	<i>Tegeticula</i>	0.000	0.016	0.8
Longitud del escapo	sexo	0.048	7.799	0.0081
Ancho del primer flagelómero	<i>Tegeticula</i>	0.004	6.652	0.0138
Ancho del primer flagelómero	sexo	0.005	7.473	0.0094
Longitud del primer flagelómero	<i>Tegeticula</i>	0.001	1.060	0.3
Longitud del primer flagelómero	sexo	0.005	4.503	0.0402
Ancho del flagelómero medio	<i>Tegeticula</i>	0.002	4.442	0.0416
Ancho del flagelómero medio	sexo	0.004	7.915	0.0076
Longitud del flagelómero medio	<i>Tegeticula</i>	0.000	1.910	0.1
Longitud del flagelómero medio	sexo	0.000	0.248	0.6
Ancho del penúltimo flagelómero	<i>Tegeticula</i>	0.000	3.436	0.07
Ancho del penúltimo flagelómero	sexo	0.001	6.956	0.0121
Longitud del penúltimo flagelómero	<i>Tegeticula</i>	0.000	1.386	0.2
Longitud del penúltimo flagelómero	sexo	0.001	5.441	0.0252
Torax				
Ancho del mesosoma	<i>Tegeticula</i>	0.531	4.468	0.0408
Ancho del mesosoma	sexo	3.179	26.725	<.0001
Longitud del mesosoma	<i>Tegeticula</i>	1.590	6.954	0.0119
Longitud del mesosoma	sexo	4.980	21.781	<.0001
Abdomen				
Ancho del metasoma	<i>Tegeticula</i>	0.583	1.917	0.1
Ancho del metasoma	sexo	5.004	16.452	0.0003
Longitud del metasoma	<i>Tegeticula</i>	4.196	4.967	0.0314
Longitud del metasoma	sexo	8.051	9.531	0.0036
Pata				
Ancho del fémur	<i>Tegeticula</i>	0.029	5.257	0.0272
Ancho del fémur	sexo	0.194	35.470	<.0001
Longitud del fémur	<i>Tegeticula</i>	0.350	5.975	0.019

Longitud del fémur	sexo	2.463	42.062	<.0001
Ancho de la tibia	<i>Tegeticula</i>	0.029	12.731	0.001
Ancho de la tibia	sexo	0.083	35.743	<.0001
Longitud de la tibia	<i>Tegeticula</i>	1.357	10.614	0.0023
Longitud de la tibia	sexo	4.288	33.545	<.0001
Ancho del tarso	<i>Tegeticula</i>	0.006	6.358	0.0158
Ancho del tarso	sexo	0.031	32.260	<.0001
Longitud del tarso	<i>Tegeticula</i>	1.566	12.635	0.001
Longitud del tarso	sexo	3.281	26.461	<.0001
Ala				
Longitud de la ala anterior	<i>Tegeticula</i>	8.084	5.318	0.0264
Longitud de la ala anterior	sexo	42.836	28.178	<.0001
Longitud de la venación C+SC+R	<i>Tegeticula</i>	1.113	2.685	0.1
Longitud de la venación C+SC+R	sexo	8.376	20.203	<.0001
Longitud de la venación 1RS	<i>Tegeticula</i>	0.000	0.029	0.8
Longitud de la venación 1RS	sexo	0.036	16.234	0.0002
Longitud de la venación (RS+M)a	<i>Tegeticula</i>	0.145	6.895	0.0122
Longitud de la venación (RS+M)a	sexo	0.851	40.45	<.0001
Longitud de la venación 2RS	<i>Tegeticula</i>	0.084	4.960	0.0316
Longitud de la venación 2RS	sexo	0.362	21.392	<.0001
Longitud de la venación r-rs	<i>Tegeticula</i>	0.004	1.655	0.2
Longitud de la venación r-rs	sexo	0.080	29.947	<.0001
Ovopositor				
Longitud del ovopositor	<i>Tegeticula</i>	2.251	1.244	0.2
Ancho del ovopositor	<i>Tegeticula</i>	0	1.471	0.2
Longitud de la punta del ovopositor	<i>Tegeticula</i>	0.043	1.27	0.2
Distancia entre bordes del ovopositor	<i>Tegeticula</i>	0.0469	1.679	0.2



**Figura 9.** Promedio y error estándar ( $\pm 1$ ) de los caracteres que resultaron significativamente diferentes entre individuos de *Digonogastra* sp. que atacan a *Tegeticula mojavelle* y *T. baja*. En anaranjado parte anatómica medida. Caracteres significativos:  $P < 0.05$  (\*),  $P < 0.01$  (\*\*),  $< 0.001$  (\*\*\*)).



**Figura 10.** Promedio y error estándar ( $\pm 1$ ) de los caracteres que resultaron significativamente diferentes entre individuos de *Digonogastra sp.* que atacan a *Tegeticula mojavelle* y *T. baja*. En anaranjado parte anatómica medida. Caracteres significativos:  $P < 0.05$  (\*),  $P < 0.01$  (\*\*),  $< 0.001$  (\*\*\*)

## Análisis de la variación genética

### Estimados de diversidad genética

El alineamiento, corte y edición de las 46 secuencias de individuos asignados al género *Digonogastra* resultó en un fragmento del marcador COI de 610 pb. Se detectó un total de 5 sitios variables que definen 9 haplotipos, donde todas las sustituciones resultaron ser transiciones (C-T ó A-G). El estimado de diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) fue de 0.0022 y el de diversidad haplotípica ( $h$ ) fue de 0.757 respectivamente. Los haplotipos 1 y 3 se encontraron en alta frecuencia, mientras que los haplotipos 2, 4, 6, 7, 8 y 9, fueron únicos para alguna localidad (Tabla V).

**Tabla V.** Haplotipos, sitios variables, número de individuos por haplotipo y frecuencias haplotípicas.

Haplotipo	Sitios variables					Individuos	Frecuencia
	62	74	167	221	371		
<b>H1</b>	T	C	G	G	T	19	41%
<b>H2</b>	C	C	A	A	T	1	2%
<b>H3</b>	C	C	G	G	T	12	26%
<b>H4</b>	T	C	G	A	T	1	2%
<b>H5</b>	C	C	A	G	T	5	11%
<b>H6</b>	C	T	G	G	T	2	4%
<b>H7</b>	T	T	G	G	T	3	7%
<b>H8</b>	C	C	G	G	C	1	2%
<b>H9</b>	T	C	A	G	T	2	4%

Se consideraron dos modelos de agrupamiento de las poblaciones de *Digonogastra sp.* para evaluar dos fuentes posibles de variación posibles (Tabla VI).

**Modelo A** que representa la variación de los individuos debida a la polilla hospedera y el

**Modelo B** que representa la variación de los individuos debida a la geografía.

**Tabla VI.** Estimados de diversidad, utilizando dos modelos de agrupamiento. Sitios segregantes (S), número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (Hd), diferencias nucleotídicas (K) y diversidad nucleotídica (Pi).

Modelo	No. Sec	S	h	Hd	K	Pi
<b>A</b>						
T. mojavella	36	5	8	0.7587	1.1793	0.0023
T. baja	10	3	4	0.7111	0.9333	0.0018
<b>B</b>						
Norte	11	3	3	0.5636	0.8727	0.0017
Sur	25	4	7	0.8233	1.3066	0.0025

### Estructura poblacional

En los análisis de varianza genética donde se consideró el tipo de hospedero y la región geográfica (Modelo A y B) se encontró que la mayor parte de la variación (>90%) se encuentra dentro de los grupos y no entre ellos ( $F_{st}$  entre hospederos=0.02,  $P=0.2$ ;  $F_{st}$  entre regiones geográficas=0.03,  $P=0.1$ ) lo que muestra que no existe estructura genética a lo largo de la distribución de *Digonogastra sp.* en la península (Tabla VII).

**Tabla VII.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) utilizando dos modelos de agrupamiento entre individuos de *Digonogastra sp.* de la Península de Baja California.

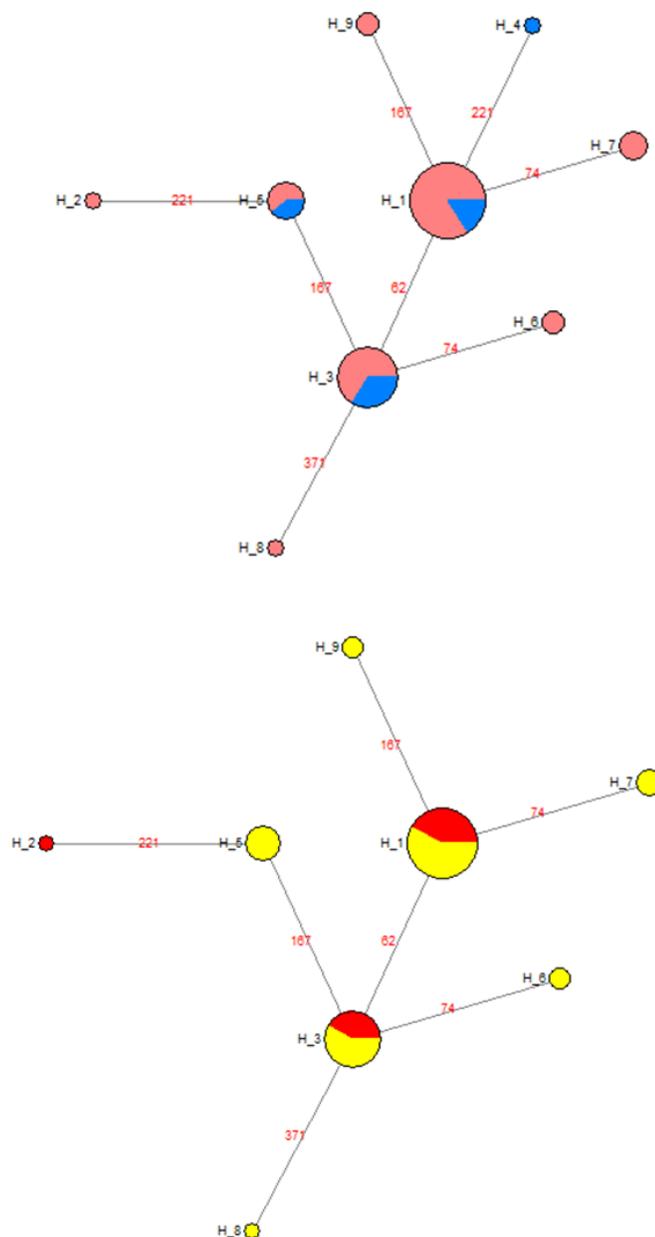
	df.	S.S.	Varianza	% variación	$F_{st}$	$P$
<b>Modelo A</b>						
Entre hospederos	1	0.544	0.01083Va	2.81		
Dentro de hospederos	44	16.478	0.37449Vb	97.19		
Total	45	17.022	0.38532		0.0281	0.2
<b>Modelo B</b>						
Entre regiones geográficas	1	0.580	0.01349 Va	3.49		
Dentro de regiones geográficas	34	12.698	0.37348 Vb	96.51		
Total	35	13.278	0.38697		0.0348	0.1

### **Relación genealógica entre haplotipos.**

Las redes haplotípicas presentan un patrón de haplotipos con alta frecuencia (H1 y H3) y otros poco abundantes, todos unidos entre sí por uno o dos pasos mutacionales (Figura 11). Además, se observa que los haplotipos más frecuentes están presentes en más de un huésped (Modelo A) o más de una localidad (Modelo B), lo que apoya la baja estructura genética encontrada en el análisis de varianza molecular (Tabla VII).

**Modelo A.** El haplotipo con mayor número de individuos fue H1 ( $n=19$ ) y los de menor frecuencia fueron H2, H4 y H8, con solo un individuo cada uno. De los seis haplotipos únicos 5 se encuentran en la distribución de *T. mojavella* y uno en la distribución de *T. baja* (Figura 11).

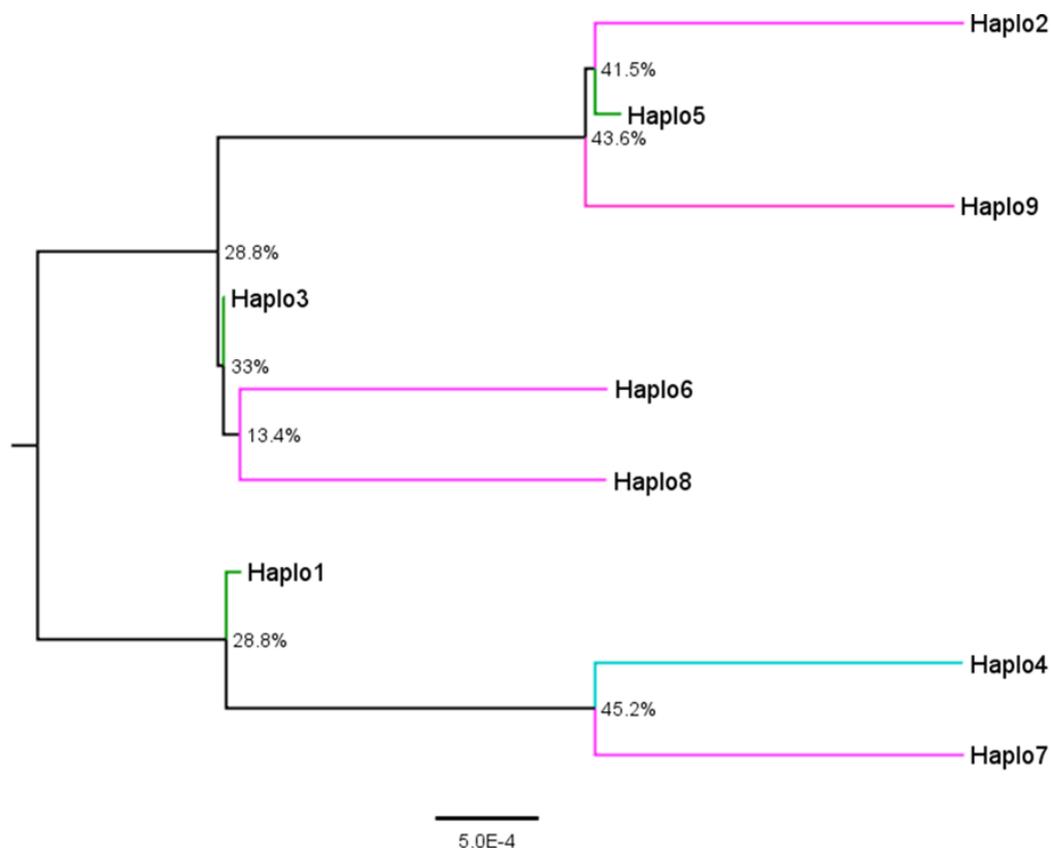
**Modelo B.** El haplotipo con mayor número de individuos fue H1 ( $n=16$ ), y los de menor frecuencia fueron H2 y H8 con un solo individuo cada uno. De los seis haplotipos únicos, 5 son para la región sur de la distribución de *Y. schidigera* y solo uno para la distribución norteña (Figura 11).



**Figura 11.** Redes haplotípicas para dos modelos de agrupamiento de *Digonogastra* sp. Los círculos representan los haplotipos y el tamaño representa la frecuencia de los mismos, los números en rojo indican la base nucleotídica dentro de la secuencia de 610pb del COI, donde ocurrió la mutación. **Modelo A:** Los colores representan la distribución de la polilla hospedera; *T. mojavella* en rosa y *T. baja* en azul. **Modelo B:** Los colores representan la distribución geográfica de *Tegeticula mojavella*; rojo para las poblaciones norteñas y amarillo para las poblaciones sureñas.

### Análisis filogenético

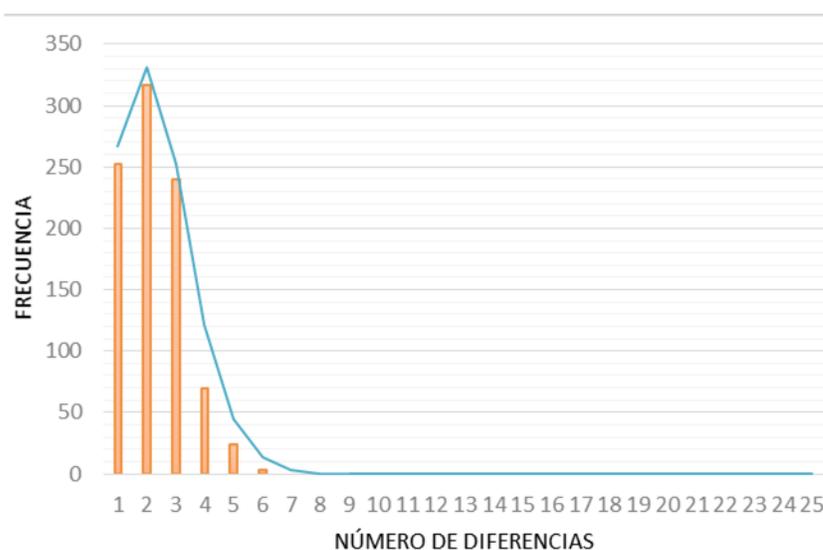
El árbol filogenético presentó ramas con bajo soporte de bootstrap (<50%) y las relaciones observadas en la topología no tienen correspondencia con la especie de hospedero (Figura 12) ni con la región geográfica.



**Figura 12.** Árbol filogenético de los haplotipos identificados en 610 pb del marcador molecular COI amplificado en individuos de *Digonogastra* sp. Los números sobre los nodos indican el valor de Bootstrap en porcentaje. Los colores indican la polilla hospedera donde se encontró dicho haplotipo: Rosa para *T. mojavella*, Azul para *T. baja* y verde para ambos.

### Demografía histórica

Considerando la baja diferenciación genética detectada entre individuos de *Digonogastra sp.* colectados a lo largo de la Península, se realizó el análisis demográfico (análisis mismatch) incluyendo al total de individuos como una población. La distribución de diferencias pareadas fue unimodal (Figura 13) y la hipótesis de expansión no fue rechazada por la prueba de SSD ( $P=0.26$ )



**Figura 13.** Distribución de diferencias pareadas para el gen mitocondrial COI en la población de *Digonogastra sp.* en la península de Baja California. La línea continua representa la frecuencia simulada para una población en expansión, las barras representan la frecuencia observada

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se reporta por primera vez a los parasitoides de las polillas *Tegeticula spp.* en la Península de Baja California. Estas polillas polinizan a tres especies de *Yucca* distribuidas en la región. Además se hace un estudio detallado de la variación genética y morfológica del género *Digonogastra*, el cual presentó mayor abundancia (n=46), en comparación con el otro género encontrado, *Bassus sp.* (n=8).

### **Distribución de los parasitoides de la polilla de la *Yucca***

*Digonogastra sp.* presentó una amplia distribución geográfica, registrándose desde la latitud 32.5819°N, en la localidad más norteña de *Y. schidigera* en Baja California, hasta los alrededores de la sierra de la Laguna, en Baja California Sur. Por su parte, *Bassus sp.* se encontró solo en una localidad de *Y. valida* y una de *Y. capensis* (Figura 7), siendo esta más restringida a la zona centro y sur de la península, respectivamente. De este modo, *Digonogastra sp.* se encuentra interactuando con las dos especies de *Tegeticula* de la Península a lo largo de la distribución de las tres especies de *Yucca*, mientras que *Bassus sp.* sólo interactúa con *T. baja* la cual está asociada a *Y. valida* y *Y. capensis*.

Lo anterior indica que no existe segregación entre las especies parasitoides debida al hospedero ya que, *T. baja* es atacada por ambos géneros. Desafortunadamente, las localidades donde se encontró la presencia tanto de *Digonogastra sp.* como de *Bassus sp.* no tienen registro exacto del fruto de origen (Oct2013 y localidad 15) por lo que no se sabe si estos pueden compartir el mismo recurso (fruto de *Yucca*) donde están

presentes las larvas de *Tegeticula* o si lo están segregando espacial y/o temporalmente. Entre tanto, se ha observado que las especies de parasitoides donde existe coexistencia no son comunes procesos de desplazamiento o extinción de una especie respecto a otra (Reeve, 1998; Amarasekare, 2000), ya que es favorecido el parasitoide que encuentre primero al hospedero (Resh & Cardé, 2009) o debido a cuestiones intrínsecas de la historia de vida de los parasitoides (Mucheru et al., 2009; László & Béla, 2013).

### **Variación y estructura genética de *Digonogastra* sp.**

Los individuos colectados en este estudio que fueron identificados en el género *Bassus* sp. presentaron un único haplotipo, lo que no permitió realizar análisis posteriores de variación y estructura genética. Por otro lado, las secuencias obtenidas del marcador COI en los 44 individuos identificados como *Digonogastra* sp. presentaron niveles medio de variación y permitieron poner a prueba la hipótesis de estructuración genética de sus poblaciones debida al cambio de hospedero o a su distribución geográfica en la Península. Contrario a lo esperado, no se encontró diferencias significativas entre las poblaciones del parasitoide, ya que solo el 2% de la variación es explicada por el cambio de hospedero y 3% por la distribución geográfica (Tabla VII). La mayor diferenciación se halló entre individuos colectados en la misma localidad. La ausencia de estructura genética en las poblaciones de estudio puede estar relacionado a varios factores como la especificidad del parasitoide, un alto flujo genético y la baja variabilidad del marcador COI.

Con relación a la especificidad del parasitoide, este factor juega un papel importante en la estructuración genética de sus poblaciones (Althoff, 2003; Kankare et al., 2005; Althoff, 2008). Por ejemplo, el género *Eusandalum* (Braconidae), es un parasitoide generalista que ataca a 11 especies de polillas polinizadoras (*Prodoxus sp.*) en un complejo de *Yuccas* en el sur de Estados Unidos. Althoff (2008) utilizó el marcador COI para evaluar la estructura poblacional del parasitoide debida al hospedero y encontró un efecto de aislamiento por distancia, siendo que las poblaciones más lejanas eran más diferentes posiblemente por presentar menores tasas de flujo genético entre ellas. Sin embargo, no halló estructura relacionada a las diferentes especies hospederas del parasitoide, probablemente debido al hábito generalista que presentan las avispas idiobiontes, al cual pertenece el género estudiado (Althoff, 2008). En contraste, un estudio donde se evaluó la estructura genética de *Cotesia melitaearum*, una avispa koinobionte, se encontró diferenciación genética debida al hospedero. A diferencia de los organismos koinobiontes que crean mecanismos especiales para evadir el sistema inmune de sus hospederos, los idiobiontes directamente paralizan a su presa sin crear mecanismos específicos para ellos (Askew & Shaw, 1986; Althoff, 2003). Según la evidencia obtenida en el presente estudio, donde se encontró a las avispas del género *Digonogastra* parasitando a dos especies de polillas diferentes, puede proponerse que este género pertenece al grupo de los idiobiontes y por lo mismo, se esperaría baja diferenciación genética a lo largo de su distribución, como fue lo observado.

La conectividad genética es otro factor que también determina el nivel de diferenciación entre poblaciones. Un alto flujo genético propicia la homogenización de

las poblaciones, mientras que un bajo flujo genético permite un mayor efecto de otros mecanismos evolutivos, propiciando diferenciación (Slatkin, 1985). En el presente trabajo se encontró poca diferenciación debida a la geografía, y este resultado puede deberse a un alto flujo genético. Estudios de dispersión con avispas parasitoides de control biológico, revelan que el movimiento de las poblaciones varía mucho de especie a especie, el tiempo de dispersión registrado en algunas especies es de 100m al año y en otras hasta 1.3 km al año (Barlow et al. 1998; Quicke, 2015). Así mismo, la distancia recorrida se ve limitada por el tiempo de vida de los organismos, se ha encontrado que avispas idiobiontes tienen un tiempo de vida adulta menor a los 23 días, lo cual estaría restringiendo el movimiento a grandes distancias (Quicke, 2015). La baja diferenciación de las poblaciones de *Digonogastra sp.* en la Península probablemente es influenciada por tasas de flujo genético. Sin embargo, deben existir otros factores que tienen un efecto más fuerte, dado que las distancias físicas entre poblaciones son muy grandes y es poco probable que los individuos puedan moverse entre ellas. Por ejemplo, en diversas especies, procesos poblacionales de extinción y recolonización a nivel local, pueden ser el principal mecanismo de flujo genético y mantenerlo pese a las largas distancias (Slatkin, 1985; Van Nouhuys & Lei, 2004).

Otro factor importante a considerar es la variabilidad del marcador genético empleado en este estudio, el cual es una región del ADN mitocondrial, el Citocromo Oxidasa I (COI). Por su variabilidad, el COI es mayormente empleado para abordar la variabilidad poblacional y estructura genética (Finn et al., 2006; Pfeiler et al., 2006; Torres et al., 2013) y para el estudio de relaciones evolutivas entre especies (Mardulyn

& Whitfield, 1999; Hebert et al., 2003; Jung et al., 2011). Aunque se ha visto que en poblaciones naturales puede presentar altos niveles de variación intraespecífica (Barth et al., 2006; Wong & Tan 2011), también se ha encontrado que diferentes regiones del COI pueden mostrar patrones de variación diferentes (Lunt et al., 1996). Se ha visto que para diferentes taxa la misma región del COI empleada en este estudio (amplificada con los cebadores universales para invertebrados LCO1490 y HCO2190; Folmer et al. 1994) puede presentar un número diferente de regiones conservadas (Sharma & Kobayashi, 2014). En estudios previos donde se utiliza ésta región del COI, se han descrito patrones de alta estructura genética en unas especies (Kankare et al., 2005; Torres et al., 2013), pero no ha sido útil para describir la variación en otras (Hellberg, 2006; Wörheide, 2006). Para evaluar la estructura genética y hacer estimaciones de flujo genético, se recomienda el uso de marcadores nucleares como los microsatélites, los cuales tienen mayores niveles de variación, en comparación de marcadores mitocondriales (Selkoe & Toonen, 2006). Desafortunadamente, una de las cualidades de los microsatélites es que son específicos para una especie o especies emparentadas (Selkoe & Toonen, 2006), por lo que, para grupos poco estudiados, como el caso del género *Digonogastra*, no se han caracterizado y no se han desarrollado cebadores. Finalmente, el uso simultáneo de marcadores genéticos permite tener una aproximación más realista para abordar diferentes aspectos de la historia evolutiva de una especie, ya que diferentes regiones del genoma tienen diferentes tasas mutacionales así como diferentes regímenes selectivos, causando variación en el grado de diferenciación entre poblaciones (Slatkin, 1985)

Dada la baja diferenciación genética observada, se considera que los organismos evaluados pertenecen a una única población. Los estimados de variación genética de *Digonogastra sp.* en la Península son moderados. Para otras especies de avispa parasitoides de la familia Braconidae se han reportado valores menores de diversidad nucleotídica ( $P_i$ ), (Baer et al., 2004; Hufbauer et al., 2004). Un bajo valor de  $P_i$  respecto a un alto valor de diversidad haplotípica ( $H_d$ ), indica que los haplotipos de la población son muy semejantes entre sí y esto es observado en las redes de haplotipos, donde los haplotipos están separados por uno o dos pasos mutacionales (Figura 11). Este patrón puede relacionarse a una expansión poblacional (Harpending & Rogers, 2000). La cual también está sustentada por el análisis de distribución mismatch (Figura 13) (Harpending & Rogers, 2000) y la suma de las desviaciones cuadradas (SSD) (Navascués et al., 2006). La expansión histórica detectada puede estar relacionada con la colonización de la especie en la región y la historia geológica de la Península, como se ha visto en otros grupos taxonómicos (Whorley, 2004; Recuero, 2006; Garrick, 2009). Sin embargo, aún no se cuenta con datos de la tasa de mutación y el tiempo generacional para hacer una estimativa del tiempo en el que ocurrió la expansión demográfica.

En conclusión, la ausencia de especificidad del parasitoides idiobionte respecto a su hospedero, fomenta una baja diferenciación genética entre las poblaciones de esta especie a lo largo de la Península. Entre tanto, la poca diferenciación debida a la geografía puede deberse a un alto flujo o procesos demográficos de extinción y recolonización de poblaciones a escala local que podrían mantener conectividad en las poblaciones a lo largo de la Península. Por otra parte, una baja variabilidad del marcador

COI dificulta la detección de diferencias entre poblaciones, por lo que es recomendable ampliar el estudio con marcadores moleculares que presenten mayor variación como los microsatélites. El uso del COI en este trabajo permitió obtener por primera vez, estimados de diversidad genética del parasitoide *Digonogastra* sp. y hacer inferencia de la historia demográfica de la especie en la región.

### **Variación morfológica de *Digonogastra* sp.**

La variación geográfica del fenotipo es un factor comúnmente encontrado en las poblaciones de los insectos (Stillwell & Fox, 2009; Gouws et al., 2011). Sin embargo, la estructuración espacial de dicha variación puede ser determinada por las condiciones ambientales, por factores intrínsecos de variación genética y por la historia de sus interacciones (Resh & Cardé, 2009; Agrawal, 2001). Sumado a ello, los rasgos fenotípicos individuales de los organismos pueden mostrar una variación diferente y además, esta variación puede diferir entre hembras y machos (Fairbairn et al., 2007; Stillwell et al., 2010; del Castillo & Fairbairn, 2012). Debido al amplio gradiente ambiental de la Península y a los diferentes hospederos que ataca el parasitoide *Digonogastra* sp., se esperaba encontrar la variación registrada en este estudio.

De los 26 caracteres morfológicos analizados para todos los individuos, 16 fueron significativamente diferentes entre individuos que parasitan distinto hospedero (Tabla IV), lo cual apoya la hipótesis de la ocurrencia de variación morfológica en *Digonogastra* sp. relacionada a la interacción con las dos polillas que parasita. Los 10 caracteres que no presentan diferencias, probablemente no responde a la interacción con

su hospedero o pueden estar siendo afectados por otro factor. Por ejemplo, caracteres como el tamaño de la antena y el ovopositor no fueron significativos independientemente del tamaño del individuo (Tabla IV). Se ha registrado que en avispa parasitoides, las antenas de los machos están involucradas en la búsqueda y cortejo de las hembras (Grosch, 1947). Entre tanto, en las hembras, caracteres como las antenas y el ovopositor son importantes en la localización de hospederos que se resguardan en estructuras vegetales (Henaut & Guerdoux, 1982; Vilhelmsen et al. 2001; Resh & Cardé, 2009). La función de estos caracteres en aspectos de la historia de vida como la reproducción y la ubicación de hospederos, puede estar favoreciendo que se mantengan conservados, en comparación a otros (Tabla III). Los estudios de integración fenotípica muestran patrones de correlación funcional y/o de desarrollo entre los diferentes rasgos de un organismo (Pigliucci, 2003). Un futuro análisis de este tipo, podría revelar correlación entre los caracteres morfológicos medidos e indicar que están variando en conjunto. O por el contrario, mostrar patrones de correlación diferentes, donde caracteres como la antena o el ovopositor pueden mantenerse independientes al resto.

Las medias de los valores de los caracteres que resultaron significativos son mayores en los parasitoides que atacan a *T. mojavella* que aquellos cuyo hospedero es *T. baja*, lo que sugiere que estos últimos son significativamente más pequeños (Figuras 6 y 7). El patrón de variación observado puede estar relacionado a las diferencias en el tamaño de las larvas de las diferentes especies de *Tegeticulas*, que son el principal recurso de las larvas de *Digonogastra sp.* Se ha visto que en organismos holometábolos

(que realizan metamorfosis) la morfología y el tamaño de los adultos están relacionados al alimento acumulado en la etapa larval (Rivero et al., 2001; Boggs & Freeman, 2005). La asignación de los recursos obtenidos por la larva es crucial para el desarrollo del adulto durante la metamorfosis, por lo que una variación en la cantidad o calidad de alimento de la larva puede causar alteraciones en la morfología del adulto. Además, en himenópteros se ha visto cómo estas variaciones en la nutrición de la larva influyen en el éxito reproductivo de las hembras (Rivero et al., 2001; Boggs & Freeman, 2005). *Digonogastra sp.*, al ser una avispa idiobionte, paraliza a su hospedero definitivamente y su alimento se limita a la cantidad de recurso al momento de la ovoposición (Quicke, 2015), por lo que una diferencia en el tamaño de las larvas de las diferentes especies de *Tegeticula* al momento de la ovoposición, podrían estar causando una diferencia entre los individuos adultos de *Digonogastra sp.* Está documentado que los individuos adultos de *T. mojavella* son más grandes que los de *T. baja* (Pellmyr, 1999; Pellmyr et al., 2008), pero no hay registro del tamaño de sus larvas y se desconoce en qué momento del desarrollo larval ocurre el ataque del parasitoide. Por ello, un estudio que determine el tamaño y peso de las larvas de cada hospedero al momento de la ovoposición puede confirmar una mayor cantidad de recurso para los parasitoides que atacan a *T. mojavella*.

Otro posible factor que puede explicar el patrón de variación registrado es que la variación entre sexos influye en dicha diferenciación fenotípica. El dimorfismo sexual observado entre los individuos colectados puede deberse a un mecanismo llamado determinación del sexo complementario (CSD). En himenópteros, la CSD determina el sexo de la descendencia donde los huevos fertilizados se desarrollaran en hembras

diploides y huevos no fertilizados en machos haploides (Quicke, 2015; Resh & Cardé, 2009). En idiobiontes, es común que a los huevos fertilizados se les destinen mayores recursos, ya que de ellos surgirán hembras, las cuales son las encargadas de buscar al hospedero y se ha visto que las hembras más grandes presentan mayor capacidad reproductiva (mayor número de huevos y mayor capacidad de búsqueda del hospedero), mientras que un macho tiene la misma capacidad independientemente de su tamaño (Visser, 1994; Quicke, 2015; Resh & Cardé, 2009; Ellers & Jervis, 2003). En la avispa idiobionte *Dendrocerus carpenteri* se observó que ante variación en la calidad de huésped (determinado por el tamaño del huésped) la avispa hembra deposita los huevos que resultaran en hembras en hospederos más grandes y a los huevos que resultaran en machos en hospederos más pequeños (Otto & Mackauer, 1998). Así mismo, se observó que cuando los huevos se depositan en hospederos sub óptimos el resultado son adultos de menor tamaño, independientemente del sexo (Otto & Mackauer, 1998). El resultado morfológico de este trabajo puede estar vinculado a la diferencia en el patrón y efectividad de búsqueda de las hembras hacia el hospedero entre los individuos que parasitan diferente *Tegeticula*. Se ha visto que dichos patrones de búsqueda sí pueden crear variación en el fenotipo de los insectos (Althoff & Thompson, 2001; Roff & Fairbairn, 2014).

En resumen, se encontró variación morfológica entre individuos de *Digonogastra* sp. que parasitan diferente especie de *Tegeticula*, lo cual apoya la hipótesis de diferenciación morfológica debida al hospedero. Los caracteres que no presentan variación significativa entre hospederos, pueden mantenerse conservados debido a su

papel en aspectos reproductivos de la historia de vida de los parasitoides, como las antenas y el ovopositor que están implicados en la búsqueda del hospedero. Estudios futuros de integración fenotípica podrían esclarecer la correlación entre los caracteres morfológicos medidos. Por otra parte, el patrón de variación observado entre individuos con diferente hospedero, podría estar causado directamente por las diferencias entre las larvas de las dos especies de hospedero o por las diferencias en la capacidad de búsqueda de los individuos adultos. Trabajos futuros más detallados podrían determinar la causa específica que propicia la variación. Se concluye, que el fenotipo del parasitoide sí se encuentra respondiendo a la interacción con su hospedero y está causando variación en sus poblaciones dentro de la Península de Baja California.

El contraste entre los resultados genéticos y fenotípicos de este trabajo no es un caso aislado y se debe a que el marcador genético utilizado no tiene relación con los caracteres morfológicos estudiados (Bernatchez et al., 1992; Althoff, 2001; Meier et al., 2006). Las estimaciones de estructura genética a partir de marcadores moleculares conservados, como el COI, deben ser analizados cuidadosamente porque pueden estar relacionados con procesos actuales e históricos (Bossart & Prowell, 1998). Por otra parte, está documentado que el fenotipo de los insectos es propenso a variar ante los efectos del ambiente y sus interacciones, por lo que es común encontrar este tipo de variación en las poblaciones naturales (Resh & Cardé, 2009; Agrawal, 2001). En este sentido, es acertado un estudio integrativo de variación genética y fenotípica, porque permite abordar diferentes niveles de la interacción entre parasitoide y huésped (Althoff & Thompson, 2001).

## CONCLUSIONES

En este trabajo se identificaron los géneros *Digonogastra sp.* y *Bassus sp.* (Braconidae) formando parte de la interacción *Tegeticula-Yucca* en la Península de Baja California.

La relación hospedero-parasitoide no fue específica, es decir, las avispas no atacaron a diferente especie de hospedero. *T. mojavella* es atacada exclusivamente por *Digonogastra sp.* Por su parte, *T. baja* esta siendo atacada tanto por *Digonogastra sp.* como por *Bassus sp.*

*Digonogastra sp.* no presentó estructuración genética debido al hospedero, su historia de vida sugiere que es de hábito generalista y puede atacar a ambas especies sin ocasionar diferenciación. Tampoco se encontró estructura genética relacionada a la distribución geográfica, lo cual sugiere un alto flujo genético o la necesidad de utilizar un marcador molecular de mayor resolución.

El fenotipo de *Digonogastra sp.* sí difirió entre individuos que atacan a diferente especie de polilla. Este patrón puede estar relacionado a las estrategias de búsqueda de los individuos adultos o directamente ser provocada por diferencias entre las larvas del hospedero. Se concluye, que la interacción con la polilla hospedera está ocasionando estructura geográfica en la morfología de las poblaciones de *Digonogastra sp.*

**LITERATURA CITADA**

- Agrawal, A. A. (2001). Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, 294(5541), 321-326.
- Althoff, D. M. (2003). Does parasitoid attack strategy influence host specificity? A test with New World braconids. *Ecological Entomology*, 28(4), 500-502.
- Althoff, D. M. (2008). A test of host-associated differentiation across the parasite continuum in the tri-trophic interaction among yuccas, bogus yucca moths, and parasitoids. *Molecular Ecology*, 17(17), 3917-3927.
- Althoff, D. M., & Thompson, J. N. (2001). Geographic structure in the searching behaviour of a specialist parasitoid: combining molecular and behavioural approaches. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(3), 406-417.
- Amarasekare, P. (2000). Spatial dynamics in a host–multiparasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, 69(2), 201-213.
- Baer, C. F., Tripp, D. W., Bjorksten, T. A., & Antolin, M. F. (2004). Phylogeography of a parasitoid wasp (*Diaeretiella rapae*): no evidence of host-associated lineages. *Molecular Ecology*, 13(7), 1859-1869.
- Bandelt, H. J., Forster, P., & Röhl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 16(1), 37-48.
- Barlow, N. D., Beggs, J. R., & Moller, H. (1998). Spread of the wasp parasitoid *Sphecophaga vesparum vesparum* following its release in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 205-208.
- Barth, D., Krenek, S., Fokin, S. I., & Berendonk, T. U. (2006). Intraspecific genetic variation in *Paramecium* revealed by mitochondrial cytochrome c oxidase I sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(1), 20-25.
- Bazin, E., Glémin, S., & Galtier, N. (2006). Population size does not influence mitochondrial genetic diversity in animals. *Science*, 312(5773), 570-572.

- Bernatchez, L., Guyomard, R., & Bonhomme, F. (1992). DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, 1(3), 161-173.
- Boggs, C. L., & Freeman, K. D. (2005). Larval food limitation in butterflies: effects on adult resource allocation and fitness. *Oecologia*, 144(3), 353-361.
- Bossart, J. L., & Prowell, D. P. (1998). Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(5), 202-206.
- Campbell, N. A. (2007). *Biología*. Ed. Médica Panamericana.
- Carmona, D., Fitzpatrick, C. R., & Johnson, M. T. (2015). Fifty years of co- evolution and beyond: integrating co- evolution from molecules to species. *Molecular ecology*, 24(21), 5315-5329.
- Conner, J. K., & Hartl, D. L. (2004). *A primer of ecological genetics*. Sinauer Associates Incorporated. Sunderland, MA.
- Crabb, B. A., & Pellmyr, O. (2006). Impact of the third trophic level in an obligate mutualism: Do yucca plants benefit from parasitoids of yucca moths?. *International Journal of Plant Sciences*, 167(1), 119-124.
- Cronin, J. T., & Abrahamson, W. G. (2001). Do parasitoids diversify in response to host-plant shifts by herbivorous insects?. *Ecological entomology*, 26(4), 347-355.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9(8), 772-772.
- Darwin, C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or, the preservation of favoured races in the struggle for life*. London: J. Murray.
- de la Luz, L., Luis, J., Domínguez-Cadena, R., & Medel-Narváez, A. (2012). Florística de la selva baja caducifolia de la Península de Baja California, México. *Botanical Sciences*, 90(2), 143-162.

- del Castillo, R. C., & Fairbairn, D. J. (2012). Macroevolutionary patterns of bumblebee body size: detecting the interplay between natural and sexual selection. *Ecology and evolution*, 2(1), 46-57.
- del Val, E., & Boege, K. (2012). *Ecología y evolución de las interacciones bióticas*. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.
- Ellers, J., & Jervis, M. (2003). Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps. *Oikos*, 102(1), 164-172.
- Engelmann, G. (1872). The flower of *Yucca* and its fertilization. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 3(7), 33-33.
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics online*, 1, 47.
- Fairbairn, D. J., Blanckenhorn, W. U., & Székely, T. (2007). *Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism*. Oxford University Press.
- Finn, D. S., Theobald, D. M., Black, W. C., & Poff, N. L. (2006). Spatial population genetic structure and limited dispersal in a Rocky Mountain alpine stream insect. *Molecular Ecology*, 15(12), 3553-3566.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Force, D. C., & Thompson, M. L. (1984). Parasitoids of the immature stages of several southwestern yucca moths. *The Southwestern Naturalist*, 45-56.
- Futuyma, D. J. (2005). *Evolution*. Sunderland, MA. USA
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., & Hurst, G. D. D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular ecology*, 18(22), 4541-4550.

- Garrick, R. C., Nason, J. D., Meadows, C. A., & Dyer, R. J. (2009). Not just vicariance: phylogeography of a Sonoran Desert euphorb indicates a major role of range expansion along the Baja peninsula. *Molecular Ecology*, 18(9), 1916-1931.
- Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Biology*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Gould, S. J. (2002). *The structure of evolutionary theory*. Harvard University Press.
- Gouws, E. J. (2007). *Intraspecific body size variation in insects* (Doctoral dissertation, Stellenbosch: Stellenbosch University).
- Gouws, E. J., Gaston, K. J., & Chown, S. L. (2011). Intraspecific body size frequency distributions of insects. *PLoS One*, 6(3), e16606.
- Grosch, D. S. (1947). The importance of antennae in mating reactions of male *Habrobracon*. *Journal of comparative and physiological psychology*, 40(1), 23.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).
- Harpending, H., & Rogers, A. (2000). Genetic perspectives on human origins and differentiation. *Annual review of genomics and human genetics*, 1(1), 361-385.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., & de Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(Suppl 1), S96-S99.
- Hedrick, P. W. (2005). *The genetics of populations*. 3<sup>rd</sup> edition. Jones & Bartlett. Sudbury, MA.
- Hellberg, M. E. (2006). No variation and low synonymous substitution rates in coral mtDNA despite high nuclear variation. *BMC evolutionary biology*, 6(1), 24.

- Henaut, A., & Guerdoux, J. (1982). Location of a lure by the drumming insect. *Pimpla instigator*, 346-347.
- Hoballah, M. E. F., & Turlings, T. C. (2001). Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. *Evolutionary ecology research*, 3(5), 583-593.
- Hufbauer, R. A., Bogdanowicz, S. M., & Harrison, R. G. (2004). The population genetics of a biological control introduction: mitochondrial DNA and microsatellite variation in native and introduced populations of *Aphidus ervi*, a parasitoid wasp. *Molecular Ecology*, 13(2), 337-348.
- Jaenike, J., & Holt, R. D. (1991). Genetic variation for habitat preference: evidence and explanations. *The American Naturalist*, 137, S67-S90.
- Jager, C. R., & Menken, B. J. (1994). Sympatric speciation in *Ageniaspis fuscicollis* (Hymenoptera: Encyrtidae), an endoparasitoid of *Yponomeuta* spp. (Lepidoptera: Yponomeutidae), revealed by RAPD markers. In *Proc. Exp. Appl. Entomol* (Vol. 5, pp. 19-23).
- Jung, S., Duwal, R. K., & Lee, S. (2011). COI barcoding of true bugs (Insecta, Heteroptera). *Molecular Ecology Resources*, 11(2), 266-270.
- Kankare, M., Van Nouhuys, S., & Hanski, I. (2005). Genetic divergence among host-specific cryptic species in *Cotesia melitaearum* aggregate (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of checkerspot butterflies. *Annals of the Entomological Society of America*, 98(3), 382-394.
- Krasnov, B. R., Mouillot, D., Shenbrot, G. I., Khokhlova, I. S., & Poulin, R. (2004). Geographical variation in host specificity of fleas (Siphonaptera) parasitic on small mammals: the influence of phylogeny and local environmental conditions. *Ecography*, 27(6), 787-797.
- László, Z., & Tóthmérész, B. (2013). Landscape and local effects on multiparasitoid coexistence. *Insect Conservation and Diversity*, 6(3), 354-364.

- Leebens-Mack, J., & Pellmyr, O. L. L. E. (2004). Patterns of genetic structure among populations of an oligophagous pollinating yucca moth (*Tegeticula yuccasella*). *Journal of Heredity*, 95(2), 127-135.
- Lenz, L. E. (1998). *Yucca capensis* (Agavaceae, Yuccoideae), a new species from Baja California Sur, Mexico. *Cact. Succ. J.(USA)*, 70(6), 289-296.
- Loon, J. J., Boer, J. G., & Dicke, M. (2000). Parasitoid-plant mutualism: parasitoid attack of herbivore increases plant reproduction. *Entomologia experimentalis et applicata*, 97(2), 219-227.
- Loxdale, H. D., & Lushai, G. U. G. S. (1999, September). Use of genetic diversity in movement studies of flying insects. In SYMPOSIUM-ROYAL ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF LONDON (Vol. 20, pp. 361-386).
- Lunt, D. H., Zhang, D. X., Szymura, J. M., & Hewlitt, O. M. (1996). The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect molecular biology*, 5(3), 153-165.
- Mardulyn, P., & Whitfield, J. B. (1999). Phylogenetic signal in the COI, 16S, and 28S genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera; Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids. *Molecular phylogenetics and evolution*, 12(3), 282-294.
- Mayr, E. (2002). *What evolution is*. Great Britain : PHOENIX.
- Meier, R., Shiyang, K., Vaidya, G., & Ng, P. K. (2006). DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic biology*, 55(5), 715-728.
- Miles, N. J. (1983). Variation and host specificity in the yucca moth, *Tegeticula yuccasella* (Incurvariidae): a morphometric approach. *J. Lepid. Soc*, 37, 207-216.
- Minks A. K, Harrewijn P. (1988). *Aphids their biology, Natural enemies and control*, Vol B. Elsevier Ed, 364.
- Mock, K. E., Bentz, B. J., O'neill, E. M., Chong, J. P., Orwin, J., & Pfrender, M. E. (2007). Landscape-scale genetic variation in a forest outbreak species, the

- mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*). *Molecular Ecology*, 16(3), 553-568.
- Moczek, A. P. (2010). Phenotypic plasticity and diversity in insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1540), 593-603.
- Mucheru, O. M., Jiang, N., Kongoro, J., Bruce, A. Y., & Schulthess, F. (2009). Intrinsic competition between two oligophagous parasitoids, *Sturmiopsis parasitica* and *Cotesia sesamiae*, attacking the same life stages of lepidopteran cereal stemborers. *Entomologia experimentalis et applicata*, 130(1), 10-20.
- Navascués, M., Vaxevanidou, Z., González-Martínez, S. C., Climent, J., Gil, L., & Emerson, B. C. (2006). Chloroplast microsatellites reveal colonization and metapopulation dynamics in the Canary Island pine. *Molecular Ecology*, 15(10), 2691-2698.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia university press. New York.
- Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), 5269-5273.
- Nicola, M. V., Johnson, L. A., & Pozner, R. (2014). Geographic variation among closely related, highly variable species with a wide distribution range: the South Andean-Patagonian *Nassauvia* subgenus *Strongyloma* (Asteraceae, Nassauvieae). *Systematic Botany*, 39(1), 331-348.
- Nosil, P., Vines, T. H., & Funk, D. J. (2005). Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution*, 59(4), 705-719.
- Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual review of entomology*, 43(1), 63-83.
- Otto, M., & Mackauer, M. (1998). The developmental strategy of an idiobiont ectoparasitoid, *Dendrocerus carpenteri*: influence of variations in host quality on offspring growth and fitness. *Oecologia*, 117(3), 353-364.

- Pellmyr, O. (1999). Systematic revision of the yucca moths in the *Tegeticula yuccasella* complex (Lepidoptera: Prodoxidae) north of Mexico. *Systematic Entomology*, 24(3), 243-271.
- Pellmyr, O. (2003). Yuccas, yucca moths, and coevolution: a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 35-55.
- Pellmyr, O., Balcázar-Lara, Manuel, Segraves, K. A., Althoff, D. M., & Littlefield, R. J. (2008). Phylogeny of the pollinating yucca moths, with revision of Mexican species (*Tegeticula* and *Parategeticula*; Lepidoptera, Prodoxidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152(2), 297-314.
- Pfeiler, E., Bitler, B. G., Ramsey, J. M., Palacios-Cardiel, C., & Markow, T. A. (2006). Genetic variation, population structure, and phylogenetic relationships of *Triatoma rubida* and *T. recurva* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the Sonoran Desert, insect vectors of the Chagas' disease parasite *Trypanosoma cruzi*. *Molecular phylogenetics and evolution*, 41(1), 209-221.
- Pigliucci, M. (2003). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters*, 6(3), 265-272.
- Quicke, D. L. J. (1988). Digonogastra: the correct name for Nearctic *Iphiaulax* of authors (Hymenoptera, Braconidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 90(2), 196-200.
- Quicke, D. L. J. (2015). *The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics. Evolution and Ecology. Metopiinae*. Wiley Blackwell.
- Recuero, E., Martínez-Solano, Í., Parra-Olea, G., & García-París, M. (2006). Phylogeography of *Pseudacris regilla* (Anura: Hylidae) in western North America, with a proposal for a new taxonomic rearrangement. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(2), 293-304.
- Reeve, J. D. (1988). Environmental variability, migration, and persistence in host-parasitoid systems. *The American Naturalist*, 132(6), 810-836.
- Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). (2009). *Encyclopedia of insects*. Academic Press.

- Rieger, R., Michaelis, A., & Green, M. M. (2012). Glossary of genetics and cytogenetics: classical and molecular. Springer Science & Business Media.
- Rivero, A., Giron, D., & Casas, J. (2001). Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1473), 1231-1237.
- Roff, D. A., & Fairbairn, D. J. (2014). The evolution of phenotypes and genetic parameters under preferential mating. *Ecology and evolution*, 4(13), 2759-2776.
- Rozas, J., Sánchez-Del Barrio, J. C., Messeguer, X., & Rozas, R. (2003). DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18), 2496-2497.
- Sánchez, J. A., Romero, J., Ramírez, S., Anaya, S., & Carrillo, J. L. (1998). Géneros de Braconidae del estado de Guanajuato (Insecta: Hymenoptera). *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (74), 59-137.
- Schlichting, C. D., & Pigliucci, M. (1998). *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sinauer Associates Incorporated. Oxford
- Schneider, S., & Excoffier, L. (1999). Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA. *Genetics*, 152(3), 1079-1089.
- Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. (2006). Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*, 9(5), 615-629.
- Sharma, P., & Kobayashi, T. (2014). Are “universal” DNA primers really universal?. *Journal of applied genetics*, 55(4), 485-496.
- Sheehan, W., & Hawkins, B. A. (1991). Attack strategy as an indicator of host range in metopiine and pimpline Ichneumonidae (Hymenoptera). *Ecological Entomology*, 16(1), 129-131.
- Slatkin, M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual review of ecology and systematics*, 16(1), 393-430.

- Slatkin, M. (1994). Gene flow and population structure. *Ecological genetics*, 3-17.
- Stillwell, R., & Fox, C. W. (2009). Geographic variation in body size, sexual size dimorphism and fitness components of a seed beetle: local adaptation versus phenotypic plasticity. *Oikos*, 118(5), 703-712.
- Stillwell, R. C., Blanckenhorn, W. U., Teder, T., Davidowitz, G., & Fox, C. W. (2010). Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annual review of entomology*, 55, 227.
- Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(5), 199-203.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular biology and evolution*, 24(8), 1596-1599.
- Torres, E., Alvarez, F., & Botello, A. (2013). Variación genética de *Procambarus llamas* (Decapoda: Cambaridae) en la península de Yucatán: evidencia de conectividad en un paisaje fragmentado. *Latin american journal of aquatic research*, 41(4), 762-772.
- Turner, R. M., Bowers, J. E., & Burgess, T. L. (1995). *Sonoran Desert plants: an ecological atlas*. University of Arizona Press.
- Van der Niet, T., Peakall, R., & Johnson, S. D. (2014). Pollinator-driven ecological speciation in plants: new evidence and future perspectives. *Annals of botany*, 113(2), 199-212.
- Van Nouhuys, S., & Lei, G. (2004). Parasitoid–host metapopulation dynamics: the causes and consequences of phenological asynchrony. *Journal of Animal Ecology*, 73(3), 526-535.
- Via, S., Bouck, A. C., & Skillman, S. (2000). Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution*, 54(5), 1626-1637.

- Vilhelmsen, L., Isidoro, N., Romani, R., Basibuyuk, H. H., & Quicke, D. L. (2001). Host location and oviposition in a basal group of parasitic wasps: the subgenual organ, ovipositor apparatus and associated structures in the Orussidae (Hymenoptera, Insecta). *Zoomorphology*, 121(2), 63-84.
- Visser, M. E. (1994). The importance of being large: the relationship between size and fitness in females of the parasitoid *Aphaereta minuta* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Animal Ecology*, 963-978.
- Wharton, R. A. M., Sharkey, P. M., & Michael, J. (1997). Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera) (No. C/595.79 M35).
- Weiblen, G. D., & Bush, G. L. (2002). Speciation in fig pollinators and parasites. *Molecular Ecology*, 11(8), 1573-1578.
- Whitlock, M. C., & McCauley, D. E. (1999). Indirect measures of gene flow and migration:  $F_{ST} \approx 1/(4Nm + 1)$ . *Heredity*, 82(2), 117-125.
- Whorley, J. R., Alvarez-Castañeda, S. T., & Kenagy, G. J. (2004). Genetic structure of desert ground squirrels over a 20-degree-latitude transect from Oregon through the Baja California peninsula. *Molecular Ecology*, 13(9), 2709-2720.
- Wong, Y. T., Meier, R., & Tan, K. S. (2011). High haplotype variability in established Asian populations of the invasive Caribbean bivalve *Mytilopsis sallei* (Dreissenidae). *Biological Invasions*, 13(2), 341-348.
- Wörheide, G. (2006). Low variation in partial cytochrome oxidase subunit I (COI) mitochondrial sequences in the coralline demosponge *Astrosclera willeyana* across the Indo-Pacific. *Marine Biology*, 148(5), 907-912.
- Zegers, C. D. (2004). Variación intraespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria.
- Zhang, D. X., & Hewitt, G. M. (1997). Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. *Insect Molecular Biology*, 6(2), 143-150.