



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

**“INTERACCIÓN *Lema daturaphila*
(CHRYSOMELIDAE)-PARASITOIDES SOBRE
Datura stramonium (SOLANACEAE)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

CAROL ESTEFANÍA VILLANUEVA HERNÁNDEZ



DIRECTOR DE TESIS:
DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN

Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Villanueva
Hernández
Carol Estefanía
5583241940
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Biología
313068504

2. Datos del Tutor

Dr.
Juan Servando
Núñez
Farfán

3. Datos del Sinodal 1

Dra.
Leticia
Ríos
Casanova

4. Datos del Sinodal 2

Dr.
Raúl
Cueva del Castillo
Mendoza

5. Datos del Sinodal 3

Dr.
Héctor Octavio
Godínez
Álvarez

6. Datos del Sinodal 4

Dr.
Oscar Salomón
Sanabria
Urban

7. Datos del trabajo escrito

Interacción *Lema daturaphila* (Chrysomelidae)-parasitoides sobre *Datura stramonium* (Solanaceae).
64 p.
2019

Interacción *Lema daturaphila* (Chrysomelidae)- parasitoides sobre *Datura stramonium* (Solanaceae)

“Instead of asking of what use nuclear genes are to organisms, we should ask why genes chose to group themselves together in a nuclei, and in organisms”
Richard Dawkins.

“Allí estaba la luna. Enfrente de ellos. Una luna grande y colorada que les llenaba de luz los ojos y que estiraba y oscurecía más su sombra sobre la tierra”
Juan Rulfo.

“¿Qué cómo me siento? Bueno, no tengo palabras. Me siento, me siento...como la primavera después del invierno, y el sol sobre el follaje; ¡Y como todas las trompetas y las arpas y todas las canciones que he escuchado en mi vida!”
J.R.R. Tolkien



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme las herramientas necesarias para aprender y crecer profesionalmente. Por abrirme las puertas a sus aulas desde mi querido CCH Azcapo y porque en ellas conocí esta profesión que me apasiona. Gracias a la FES Iztacala, por todas las herramientas y los profesores que me ayudaron a reforzar esta decisión.

Al Dr. Juan Núñez Farfán, por recibirme en su laboratorio y darme la oportunidad de iniciar con esta investigación. Por brindarme todo lo necesario para realizar este proyecto y por apoyarme siempre con las dudas que tenía. Gracias por todo.

A la Dra. Leticia Ríos Casanova, el Dr. Raúl Cueva del Castillo, Dr. Oscar Salomón Sanabria y al Dr. Héctor Godínez Álvarez. Gracias por las revisiones que hicieron a este trabajo, por ser constantes y por brindarme un poco de su tiempo siempre que lo necesite, sus aportaciones fueron muy valiosas para concluir este trabajo.

Al Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución del Instituto de Ecología de la UNAM, por todo el apoyo que me brindaron a lo largo de este proyecto. Principalmente a Rosalinda Tapia, por su disposición a ayudarme siempre que lo requerí y por estar atenta de lo que necesitaba. A Lorena Cruz, por toda su disposición y ayuda en campo y en laboratorio y por recibirme e integrarme en el equipo. Y bueno, a todos los que en algún momento me han ayudado con alguna duda o con su amistad.

A la Dra. Dulce H. Zetina, por el tiempo que me brindó al enseñarme sobre taquínidos y su identificación (aunque yo resulté ser nada talentosa para ello) y muchas gracias por su contribución con la determinación de mis moscas. Al Dr. Enrique Ruiz Cancino y al Dr. Christer Hansson, por su amabilidad, su tiempo y su disposición para ayudarme con la corroboración de mis determinaciones.

Finalmente, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada como Ayudante de Investigador (Exp. Ayte. 18104) y al financiamiento otorgado al proyecto PAPIIT AG200717, con los que se realizó esta tesis. Igualmente, a la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias por el asesoramiento y amabilidad con el uso del MEB.

Agradecimientos a título personal

Dedico este trabajo a mis padres, sin ellos no sería lo que soy ni estaría donde estoy. Gracias por apoyarme siempre aunque mis decisiones no fueran lo que ustedes querían. En especial, gracias por apoyarme en este camino, les prometo que este tiempo y toda la inversión que hemos hecho no será en vano. Los amo infinitamente.

A mi mamá, Damiana Hernández, por todas sus enseñanzas en esta vida. Gracias por ser mi ejemplo de constancia y dedicación, sin duda alguna no sería para nada lo que ahora soy, ni sabría lo que sé si no fuera por toda la educación que me has brindado. Tengo muchas cosas que agradecerte, pero sobretodo quiero que sepas que a pesar de los malos momentos que hemos pasado, valoro mucho tu cariño, tu comprensión, tu preocupación y los abrazos que me das cuando estoy triste o siento que no voy para ningún lado. Siempre me pones de nuevo en el camino. ¡TE AMO!

A mi papá, José Villanueva, por ser el hombre más maravilloso que me pudo tocar como padre. Algún día quisiera tener la sabiduría que tienes cuando me aconsejas o me regañas. Gracias por todos estos años de espera, por llevarme y traerme desde el CCH. Gracias por todas las pláticas que hemos tenido y por todo el cariño que me demuestras. Te aseguro que ese cariño y ese amor es mutuo y de igual o mayor intensidad. Y bueno, a pesar de todo, estoy segura de que no pude tener a alguien mejor, gracias por todas tus enseñanzas y tu confianza en mí. ¡TE AMO!

A mis hermanos, Juan y Gerardo, porque sé que estarán incondicionalmente para mí, como yo lo estoy para ustedes. Sé que las peleas, las bromas pesadas y la cooperación es parte de nuestra relación. Crecer con ustedes ha sido maravilloso, tontos.

A mis amigos. A Cris Tapia por todos estos años de amistad, por tu confianza en mí y por todos los momentos compartidos, te quiero mucho Cris. A Karla Rivera, por todos los buenos momentos en CCH y porque nuestra amistad continúa ahora, te quiero mucho Holi.

A mis amigos Darks porque su obscuridarks iluminó mi vida en CCH y aún lo hace ahora, gracias por su sincera amistad y por ser tan buena onda conmigo. Los quiero mucho Ale, Fer, Karen, Rubí y Atzín, son increíbles.

A los ñoños de Ismael jajaja, por compartir conmigo este arduo camino de la universidad, por hacerlo más ameno con todas las risas y las pláticas “intelectuales”. Gracias por sus enseñanzas buenas y malas y por todo el tiempo compartido. Fer, David y Karen, cada uno aportó muchas cosas a mi vida. Gracias especiales a Fer, por siempre estar dispuesto a ayudarme y a acompañarme con mis complicadas tareas o trámites de titulación. Los quiero.

Al grupito de Apu, César, Efi y Paco, por enseñarme que no todo en la vida es la obligación y por llevarme a divertirme un poquito. Ese cuarto semestre fue el más divertido de mi trayecto por la universidad. En particular, gracias a Apu y a César, por las pláticas, la ayuda y su amistad. Aunque no lo crean me enseñaron muchas cosas en las que quisiera ser como ustedes.

A mis amigos de los viejos y recientes tiempos, con quienes conservo buenas pláticas y por todas las historias que compartimos, por el apoyo y los ánimos. Gracias Lupe (Itzel), Eber, Noé, Mariana, Carlos, Sabi, Paula y todos los que olvido en este momento, pero de quienes aprendí mucho. De igual forma, gracias a los profesores que me ayudaron a reforzar mi amor por la biología y que me enseñaron que desde muchas perspectivas, los científicos y los biólogos tenemos mucho que aportar a nuestro país y al planeta entero.

Y bueno, también a mis pequeños compañeros, que aunque no me apoyan con palabras siempre me demuestran su cariño y hacen que mi día se ilumine por un ratito. Hubiera querido tenerlos a todos pero las cosas no fueron así, los quiero mucho Drack, Puma y Fuffy, hasta donde quiera que estén. Y a Lucke, por ser el perrito güeito más bonito del mundo, que lástima que no sepas leer.

Finalmente, quiero dar gracias especiales a Jaime Solis. Gracias por todo el apoyo que me brindaste durante mi proyecto, tanto con mis bichos como con los trámites y moralmente. Pienso sinceramente que eres la persona más increíble que llegó a mi vida en la universidad, que gusto habernos conocido mejor. Gracias por tus palabras, tu comprensión, tu amistad, por tus oídos sinceros, por tus pláticas, por enseñarme nuevas cosas, por compartir las cosas que te apasionan conmigo y bueno, por todo. Espero que te vaya muy bien en esta vida. Por lo pronto, sólo puedo decirte: ¡Te más que quiero!

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	4
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS	8
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN	11
HIPÓTESIS	16
OBJETIVOS.....	17
MÉTODOS.....	18
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIONES	56
LITERATURA CITADA.....	56

LISTA DE TABLAS

Cuadro 1. Ubicación geográfica y características climáticas de las poblaciones muestreadas de <i>D. stramonium</i> . ((P) Precipitación anual, (T) Temperatura media anual. Sistema Meteorológico Nacional, 2019).	21
Cuadro 2. Número de organismos de <i>Lema daturaphila</i> colectados por población.	31
Cuadro 3. Estadísticos descriptivos de la cantidad de huevos por puesta de <i>L. daturaphila</i> a nivel poblacional: a. 2018 y b. 2019.	34
Cuadro 4. Variación poblacional en la cantidad de huevos por puesta, resultados del análisis de varianza considerando a la población como fuente de variación. a. 2018 y b. 2019.	35
Cuadro 5. Poblaciones que difieren en cuanto al número de huevos por puesta. Resultados de la prueba de Tukey-Kramer, las medias con diferente letra son significativamente diferentes.	36
Cuadro 6. Análisis de covarianza del número de parasitoides entre poblaciones de <i>Datura stramonium</i> , utilizando como covariable el número de huevos por puesta, año 2018.	38
Cuadro 7. Análisis de covarianza del número de parasitoides entre poblaciones de <i>Datura stramonium</i> , utilizando como covariable el número de huevos por puesta, año 2019.	39
Cuadro 8. Poblaciones que difieren en cuanto al número de avispa por puesta. Resultados de la prueba de Tukey-Kramer, las medias con diferente letra son significativamente diferentes.	39

Cuadro 9. Resultados de la correlación con las variables ambientales y entre individuos en diferentes años, 2018 (A) y 2019 (B).	45
Cuadro 10. Tropano alcaloides identificados en las secreciones orales de <i>L. daturaphila</i> . RT= Tiempo de retención, m/z= masa/carga, MS= Referencia de la espectrometría de masas.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Datura stramonium</i> y sus principales depredadores: (a). <i>Lema daturaphila</i> , (b). <i>Trichobaris soror</i> , (c). <i>Epitrix parvula</i> , (d). <i>Sphenarium purpurascens</i>	18
Figura 2. <i>Lema daturaphila</i> , herbívoro especialista de <i>Datura stramonium</i>	19
Figura 3. Poblaciones muestreadas de <i>Datura stramonium</i> . En rojo, las poblaciones que se muestrearon en años consecutivos y en azul, las poblaciones que se muestrearon sólo el segundo año.	20
Figura 4. <i>Emersonella lemae</i> , parasitoide de huevos de <i>Lema daturaphila</i> . Se caracteriza por presentar coxas negras (a); ojos desnudos (b); un pronoto reducido (c) y carenas marcadas (d). Por el gaster o metasoma se puede distinguir a hembra (e) y macho (f).	26
Figura 5. Parasitoidismo en los huevos de <i>Lema daturaphila</i> . <i>Emersonella lemae</i> ovipositando los huevos (a), Manchas verdes en huevos parasitados (b), Apariencia de una puesta parasitada (c), Avispas emergiendo de las pupas (d).	27
Figura 6. Mosca parasitoide y larva de <i>Lema daturaphila</i> (a), pupa de mosca aún dentro del exoesqueleto de la larva (b) y pupa de mosca en un capullo de <i>L. daturaphila</i> (c).	28
Figura 7. Moscas taquínidos parasitoides de <i>Lema daturaphila</i> . <i>Patelloa sp.</i> (a), <i>Winthemia sp.</i> (b), <i>Heliodorus sp.</i> (c) y <i>Pseudochaeta sp.</i> (d). Imágenes de Fleming, A. J. y Hernderson, S., obtenidas de Tachinidae Resources (2017).	29
Figura 8. Parasitoide Ichneumonidae de larvas de <i>D. stramonium</i>	30
Figura 9. Hiperparasitoide <i>Mesochorus sp.</i> , emergiendo de una pupa (a) y vista lateral del adulto (b).	30
Figura 10. Porcentaje de puestas parasitadas por población durante el 2018. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de puestas colectadas por localidad.	32
Figura 11. Porcentaje de puestas parasitadas por población durante el 2019. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de puestas colectadas.	33
Figura 12. Promedios poblacionales del número de huevos por puesta \pm error estándar, para ambos años.	34
Figura 13. Porcentajes de huevos de <i>L. daturaphila</i> , de los cuales emergieron parasitoides y larvas por población, año 2018.	37

Figura 14. Porcentaje de huevos de *L. daturaphila* de los cuales emergieron parasitoides y larvas durante el 2019.38

Figura 15. Análisis de regresión independiente por población para el año 2018: Requena (A), Tzintzuntzan (B), Pedregal (C), Tlaxiaca (D). Sólo se muestran las relaciones significativas o marginalmente significativas y en el caso de Tlaxiaca, porque hubo una relación negativa.....40

Figura 16. Análisis de regresión por población para el año 2019: Pedregal (A), Requena (B), Texcoco (C), Tzintzuntzan (D), Valsequillo (E) y Tlaxiaca (F).....41

Figura 17. Porcentaje de parasitoidismo en el estado larval de *Lema daturaphila* a nivel poblacional. El ancho de las barras es indicativo del tamaño de la muestra.42

Figura 18. Porcentaje de parasitoidismo en el estado larval de *Lema daturaphila*, a nivel poblacional durante el 2019. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de individuos analizados.43

Figura 19. Análisis de regresión entre el número de larvas y parasitoides para ambos años: 2018 (gris) y 2019 (naranja). Los puntos son indicativos de cada población.44

Figura 20. Porcentaje de hiperparasitoides que emergieron del total de parasitoides en las localidades de Tlaxiaca y Toluca durante el 2018 y 2019.....45

Figura 21. Interacción parasitoides-hospedero (*Lema daturaphila*).54

RESUMEN

Los enemigos naturales de los herbívoros pueden modificar el resultado de la “carrera armamentista” coevolutiva entre plantas y herbívoros. Para determinar este potencial es necesario evaluar en qué medida los enemigos (especies y abundancia), afectan a las poblaciones de herbívoros a nivel local y regional. En la interacción entre *Datura stramonium* y sus herbívoros, se ha estudiado ampliamente la variación en la resistencia y los caracteres que confieren defensa a la planta contra sus enemigos. Los herbívoros especialistas, *Epitrix parvula* y *Lema daturaphila*, ejercen selección sobre la defensa y a su vez muestran resistencia a las defensas de la planta. Sin embargo, se desconoce hasta ahora el efecto de los enemigos naturales (e. g. parasitoides) sobre la sobrevivencia de *L. daturaphila*, si afectan su abundancia en distintas poblaciones y si existe una relación entre los tres niveles tróficos. En esta investigación se evaluó la incidencia e infestación de parasitoides sobre *L. daturaphila* en once poblaciones de *D. stramonium* del centro de México. Mediante colectas de huevos y larvas se determinó el porcentaje de parasitoides a nivel poblacional y se identificó a nivel taxonómico a los parasitoides. Los resultados indican variación poblacional en la infestación de huevos y larvas de *L. daturaphila*, sin relación significativa con variables ambientales. Al parecer, el parasitismo en huevos afecta la probabilidad de parasitismo de las larvas. Las larvas de *L. daturaphila* despliegan un mecanismo defensivo ante los parasitoides, elevando la cabeza y liberando una secreción oscura. Se realizó un análisis químico de las secreciones orales de *L. daturaphila* y se determinó que contienen alcaloides de *D. stramonium*, indicando un posible secuestro o excreción. Las especies determinadas son nuevos registros para México o para el hospedero. En conjunto, este trabajo se constituye como una introducción en el estudio de la interacción tritrófica *Datura stramonium*- *Lema daturaphila*- parasitoides, pues sienta las bases para estudiar desde otra perspectiva los factores que intervienen en la relación planta-herbívoro y que han contribuido a la existencia de variación geográfica.

INTRODUCCIÓN

La complejidad de las relaciones tróficas determina en gran medida la diversidad de flora y fauna del planeta (Corcket *et al.*, 2017). Debido a que las plantas y los insectos herbívoros que las consumen representan más de la mitad de las especies descritas, ha sido de gran interés estudiar los factores que intervienen en esta relación bitrófica (Futuyma y Agrawal, 2009). Uno de los temas centrales en dicha interacción antagonista, es la evolución de diferentes mecanismos de defensa y contra-defensa por parte de los dos niveles tróficos (Pashalidou *et al.*, 2013).

Para afectar negativamente el desempeño de los herbívoros, en las plantas se ha favorecido la evolución de atributos de *resistencia directa*. Por ejemplo, desde la deposición de huevos por el herbívoro, las plantas pueden inducir la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), sustancias ovicidas o el crecimiento de tejido vegetal que producen intoxicación, desecación, aplastamiento y muerte de los huevos de los insectos (Hilker y Fatouros, 2015). También, las plantas pueden emitir compuestos volátiles tóxicos conocidos como HIPVs (*herbivore-induced plant volatiles*) que reducen el daño por las larvas y adultos de los herbívoros. Estos compuestos además de eliminar a los herbívoros pueden funcionar como mecanismos de *defensa indirecta*, al atraer a los enemigos naturales de los insectos (Alborn *et al.*, 1997; Fatouros *et al.*, 2012; Bittner *et al.*, 2017; Turlings y Erb, 2018).

Por su parte, los insectos herbívoros pueden evitar o contrarrestar las defensas de las plantas hasta el grado de volverlas más vulnerables a subsecuentes ataques (Hilker y Fatouros, 2015). Por ejemplo, en el escarabajo de la papa (*Leptinotarsa decemlineata*) las bacterias presentes en sus secreciones orales “confunden” a las plantas con un ataque microbiano (Chung *et al.*, 2013). De igual forma, algunas orugas incrementan su consumo al evadir los compuestos tóxicos de la planta mediante la sobreproducción de enzimas que los degradan. E incluso, existen insectos que pueden manipular a las plantas para la formación de estructuras que les benefician, como las agallas (Karban y Agrawal, 2002). Así los herbívoros pueden tomar ventaja de las defensas de las plantas para usarlas a su favor, principalmente en el caso de la defensa de los herbívoros especialistas (Ehrlich y Raven, 1964). Finalmente, en esta “carrera armamentista” entre plantas y herbívoros, los enemigos naturales de los herbívoros han sido incorporados, pues no sólo plantas y herbívoros

tienen un impacto selectivo sobre los enemigos naturales, sino que los enemigos naturales pueden ejercer presiones selectivas recíprocas en la tradicional interacción bitrófica (Ode, 2006).

Enemigos naturales: parasitoides

El ataque por enemigos naturales representa la causa más frecuente de mortalidad en insectos herbívoros (Hawkins *et al.*, 1997). Aunque los enemigos naturales incluyen desde nemátodos hasta virus, los parasitoides son los agentes de mortalidad más comunes, principalmente en los estados de larva y pupa (Hawkins *et al.*, 1997).

Un *parasitoide* es un insecto que en sus estadios inmaduros se alimenta del cuerpo de otro artrópodo y finalmente lo mata. Se considera que funcionan como parásitos, ya que requieren al huésped para madurar, y como depredadores, ya que finalmente matan al hospedero (Godfray, 1994). Los parasitoides representan cerca del 10% de los insectos descritos, pero debido a que pertenecen a grupos pobremente conocidos, se estima que abarcan del 20 al 25% del total de los insectos (Mills, 2009). Pertenecen principalmente a los órdenes Hymenoptera, con 45 familias y Diptera, la mayoría de la familia Tachinidae (Colazza y Wajnberg, 2013).

Los parasitoides se clasifican por su estilo de vida en *idiobiontes* o *koinobiontes*. Los primeros paralizan el desarrollo de su hospedero desde que lo ovipositan y, de esta forma, la larva tiene un recurso estático del cual se alimenta. En contraste, los *koinobiontes* permiten al hospedero continuar su desarrollo y alimentación después de la oviposición y, finalmente, lo matan en un estadio posterior. También, según sus hábitos, los parasitoides se pueden clasificar en ectoparasitoides o endoparasitoides dependiendo de si se alimentan fuera o dentro del hospedero, respectivamente, además de que pueden ser solitarios o gregarios según la cantidad de individuos que se desarrollan dentro de un solo organismo (Mills, 2009).

Las hembras parasitoides hacen uso de diferentes habilidades para potenciar y facilitar la búsqueda durante la selección de hospederos. Generalmente estos procesos están mediados por semioquímicos, sustancias que funcionan como señales entre distintos organismos y eventualmente modifican su comportamiento (Hare y Weseloh, 2009). De igual forma, pueden incluir claves visuales como tamaño, color, textura y movimiento del hospedero. Con la captación de estas

señales a partir de diferentes receptores táctiles y quimiosensoriales, los parasitoides pueden adoptar estrategias directas o indirectas para su oviposición. Las primeras son más comunes en himenópteros, donde el parasitoide deposita los huevos directamente sobre o dentro del hospedero, mientras que las segundas son características de taquínidos, donde la hembra oviposita cerca de él (Dindo y Nakamura, 2018).

Interacción tritrófica planta-herbívoro-parasitoide

En los últimos años se ha remarcado el papel que tienen los enemigos naturales en la evolución y especialización de los niveles tróficos inferiores. Por ejemplo, la depredación juega un rol importante debido a su capacidad para regular las poblaciones de herbívoros (Hairston *et al.*, 1960) y a la vez, los rasgos de los niveles inferiores determinan en muchos casos el éxito de los depredadores. De tal manera que las fuerzas *top-down* son evidentes cuando se altera, por ejemplo, la cantidad de enemigos naturales de los herbívoros y por tanto, se regulan las poblaciones de los niveles tróficos inferiores. Por otro lado, las fuerzas *bottom-up* son evidentes cuando se habla de la heterogeneidad en la composición química o la calidad de las plantas para sus depredadores y esto tiene un efecto en el desarrollo de los herbívoros y a su vez, en el desarrollo de los enemigos naturales de los herbívoros (Wilkinson y Sherratt, 2016).

Es así que los atributos de las plantas determinan la composición de las poblaciones y comunidades de herbívoros y a su vez, la heterogeneidad entre los herbívoros puede determinar la densidad, diversidad y distribución de sus enemigos naturales (Hunter y Price, 1992). Comúnmente se han evaluado los efectos directos entre los niveles tróficos adyacentes, pero el potencial químico de la planta puede tener efectos directos e indirectos sobre el tercer nivel trófico y especialmente sobre las interacciones entre los herbívoros y sus enemigos naturales (Ode, 2006). Una pregunta que ha surgido en este contexto es: ¿qué es lo que conduce a la especialización por ciertas plantas o ciertos hospederos en los insectos? (Bernays y Graham, 1988). Se sabe que la mayoría de los insectos herbívoros son específicos a uno o pocos géneros de ciertas familias de plantas (Bernays y Graham, 1988). En respuesta a esta especialización, una de las propuestas más populares considera que los insectos herbívoros se benefician de los compuestos tóxicos de la planta para su propia defensa (Bernays y Graham, 1988; Termonia *et al.*, 2001).

Debido a que el número de parasitoides que pueden atacar a las especies de herbívoros varía enormemente (desde 1 hasta 20 especies de parasitoides por hospedero), los herbívoros dependen en gran medida del uso de estrategias morfológicas, fisiológicas y conductuales que sirven como defensa contra la búsqueda, el ataque o el desarrollo de los parasitoides (Gross, 1993). Se han documentado casos en los que los herbívoros pueden beneficiarse ampliamente de los recursos que obtienen de sus plantas hospederas, como son los metabolitos secundarios.

Por ejemplo, cuando diversos insectos herbívoros son molestados por enemigos naturales, se ha observado que los herbívoros regurgitan sus contenidos estomacales (Grant, 2006). Estas secreciones orales son mezclas complejas de enzimas digestivas, secreciones salivales y plantas parcialmente digeridas. De esta forma, los insectos herbívoros secuestran los metabolitos secundarios de sus plantas hospederas para después emplearlos durante su propia defensa a través de la regurgitación (Sword, 2001). También se ha encontrado que la eficiencia de defensa de las secreciones orales puede radicar en su capacidad como surfactantes, es decir, en la habilidad que tienen para penetrar la cutícula hidrofóbica de sus depredadores, sin importar el tipo de dieta del que se alimenten (Rostás y Blassmann, 2008).

Sin embargo, las secreciones orales pueden tener una segunda función al fungir como elicitores, pues mientras los insectos se alimentan, estas secreciones proveen señales químicas que activan respuestas defensivas en la planta (Maischak *et al.*, 2007). Así, se puede inducir la liberación de volátiles como terpenos y terpenoides que son atractivos para los parasitoides, incluso en áreas no dañadas de la planta (Turlings *et al.*, 1993). Asimismo, se ha demostrado que las secreciones orales son las causantes de estos volátiles, pues en condiciones de daño artificial, se liberan sólo en cantidades minúsculas (Turlings *et al.*, 1991).

Variación geográfica en interacciones tritróficas

En una interacción tritrófica todos los niveles están íntimamente relacionados, de tal forma que el sistema puede evolucionar o coevolucionar en respuesta a las presiones selectivas que se producen por los efectos *bottom-up* y *top-down* (Ode, 2006). Sin embargo, es posible que las diferencias ambientales también moldeen los caracteres involucrados en las interacciones interespecíficas y,

por tanto, tal como postula el mosaico geográfico de la coevolución, pueden existir diferencias ambientales que promuevan variación inter-poblacional en dicha interacción (Thompson, 2005).

Debido a la heterogeneidad ambiental, a medida que las especies coevolucionan, sus poblaciones pueden co-adaptarse, divergir e incluso especiar o extinguirse, por lo que el cambio evolutivo en esta interacción no ocurre con la misma dirección y/o intensidad en todas las poblaciones. En algunas localidades la interacción puede ser altamente recíproca (*hotspots*) y estar embebidas en una amplia matriz de *coldspots* coevolutivos, donde la reciprocidad es más débil (Thompson, 2005).

De esta forma, la variación en los rasgos dentro de una interacción tritrófica no sólo depende de las características particulares de cada nivel trófico, sino que puede ser influenciada por las condiciones abióticas a lo largo de su distribución geográfica. Como evidencia, se ha observado en muchos estudios que los rasgos de las especies que interactúan (tamaño, densidad, longitud) son moldeados por diferentes presiones selectivas a nivel poblacional (Craig *et al.*, 2007). En estos casos, la heterogeneidad del paisaje (gradientes latitudinales, topografía, vegetación) promueve presiones selectivas distintas incluso entre distancias geográficas cortas y a su vez, esto genera patrones entre los niveles tróficos, modificando, por ejemplo, la presencia y/o abundancia de las especies que los conforman (Connahs *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2015).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El presente estudio evalúa la importancia de los parasitoides en la interacción trófica entre *Datura stramonium*-*Lema daturaphila*. En este sistema se ha demostrado variación geográfica en los patrones de selección de los rasgos defensivos de *D. stramonium* contra herbívoros generalistas y especialistas. Como parte de esta variación las poblaciones muestran diferentes niveles de densidad de tricomas foliares y concentración de tropano alcaloides. Además, en ésta última característica se ha observado variabilidad en función del tipo de herbívoros que la consumen, pues el alcaloide más tóxico (escopolamina) es más efectivo contra los herbívoros que son generalistas (Castillo *et al.*, 2014).

Además, esta variación se asocia con los daños ocasionados por herbívoros. Por ejemplo, las poblaciones que exhiben alto daño foliar también muestran altas densidades de tricomas (Castillo *et al.*, 2013). No obstante, los herbívoros especialistas también muestran un alto grado de resistencia contra las defensas de la planta, lo que sugiere que están adaptados a su consumo (Castillo *et al.*, 2013) y que, las fuerzas *bottom-up* y *top-down* están moldeando esta interacción. Por último, la variación geográfica también se ve reflejada en la composición de herbívoros y en la cantidad de tricomas y concentración de alcaloides con relación a factores ambientales como temperatura, humedad y precipitación (Castillo, 2010).

A pesar de que en múltiples ocasiones se ha reportado la presencia de parasitoides atacando a los herbívoros *Lema daturaphila* y *Trichobaris soror* en *Datura stramonium* (Cabrales, 1991; Hernández-Cumplido, 2006; Garrido, 2004; Llamas, 2010), el conocimiento que se tiene sobre éstos y sobre la interacción entre los tres niveles tróficos es prácticamente nulo. Por ejemplo, no se conocen a las especies parasitoides ni se sabe qué etapa del herbívoro parasitan y qué tipo de parasitoides son. Ya que los enemigos naturales pueden moldear los rasgos defensivos y preferencias alimenticias de los herbívoros, así como la defensa de las plantas y su distribución, es muy importante la inclusión del estudio de un tercer nivel trófico para tener un panorama más completo sobre el conocimiento de la evolución de la interacción planta-herbívoro. Tal es el caso de los herbívoros especialistas como *Lema daturaphila*. Además, debido a que la relación que mantiene con su planta hospedera es uno de los sistemas mejor estudiados, se puede indagar sobre otros aspectos en la evolución de esta interacción. Por ejemplo, en las defensas que despliega *L. daturaphila* contra sus enemigos podría existir la clave de su especialización por el género *Datura*, tal como se mencionó con el caso de las secreciones orales de los herbívoros. Por tanto, este trabajo pretende sentar las bases sobre el conocimiento de los parasitoides de *Lema daturaphila* sobre *Datura stramonium*.

HIPÓTESIS

Debido a la existencia de variación geográfica en los caracteres defensivos de *D. stramonium* y en el tipo y abundancia de herbívoros especialistas y generalistas que la consumen, se puede predecir que también exista variabilidad inter-poblacional en la presencia y abundancia de parasitoides sobre *L. daturaphila*. Se espera que la incidencia de parasitoidismo se relacione positivamente con

la abundancia del herbívoro y las defensas de *D. stramonium* a nivel geográfico. Por último, se espera encontrar una posible relación entre los tres niveles tróficos a partir de las secreciones orales de *L. daturaphila*.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la abundancia y diversidad de parasitoides que atacan a los distintos estados de *Lema daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae), herbívoro especialista trófico de *Datura stramonium*, en distintas poblaciones del herbívoro en el centro de México, así como la posible existencia de una relación entre los tres niveles tróficos.

Objetivos particulares

1. Determinar las especies de parasitoides que atacan a *Lema daturaphila*, el tipo de parasitoides y el estadio del herbívoro que atacan.
2. Determinar la abundancia de parasitoides para conocer la posible existencia de variación geográfica en la incidencia de parasitoidismo.
3. Analizar la composición química de las secreciones orales de las larvas de *Lema daturaphila*, para elucidar su función en la interacción tritrófica.

MÉTODOS

Sistema de estudio

Datura stramonium L. (Solanaceae)

Es una hierba anual robusta, de verano, ampliamente distribuida en México, donde se le conoce comúnmente como “toloache”. Se distribuye principalmente en regiones de clima templado, aunque también puede encontrarse en localidades con clima tropical (Castillo *et al.*, 2013). Es prácticamente cosmopolita debido a su dispersión por humanos e incluso en algunas regiones se le considera una maleza (Weaver y Warwick, 1984). Se caracteriza por ser una planta de ramificación dicotómica, tener propagación por semillas y producir metabolitos secundarios como alcaloides y flavonoides (Núñez-Farfán, 1991). En México, *D. stramonium* ocupa lugares marginales en zonas de cultivo, orillas de caminos y sitios donde se removió la vegetación natural. Sus poblaciones son pequeñas, en parches y constantes a través del tiempo (Obs. pers.).

Esta especie es consumida por diversos insectos folívoros que en ocasiones pueden consumir hasta el 100% del área foliar de la planta, como los especialistas tróficos *Lema daturaphila* y *Epitrix parvula* (Coleoptera: Chrysomelidae) y el generalista *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). Además, *Trichobaris soror* (Coleoptera: Curculionidae), es un depredador de semillas pre-dispersión especializado en *Datura* (Cabrales, 1991) (Figura 1). Las tres especies de coleópteros, al ser especialistas en la planta, pasan gran parte de su vida asociados a *D. stramonium*.

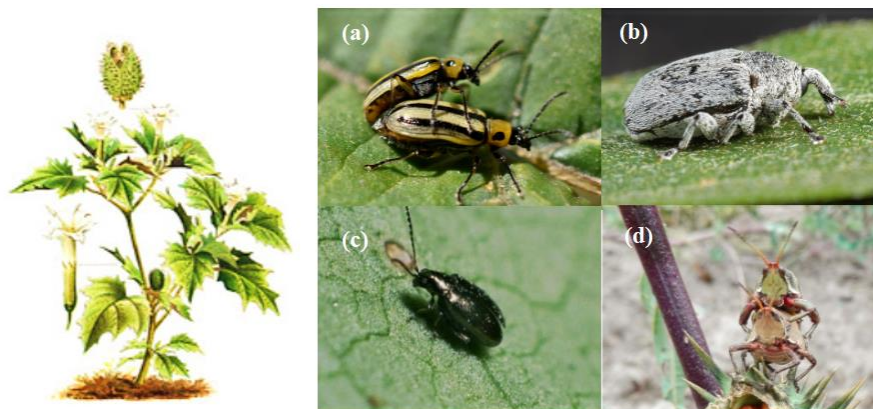


Figura 1. *Datura stramonium* y sus principales depredadores: (a). *Lema daturaphila*, (b). *Trichobaris soror*, (c). *Epitrix parvula*, (d). *Sphenarium purpurascens*.

Lema daturaphila Kogan y Goeden (Coleoptera: Chrysomelidae)

Este crisomélido, anteriormente reconocido como *Lema trilineata daturaphila* (Riley *et al.*, 2013), es el principal herbívoro de *Datura stramonium*, pues puede producir defoliaciones de hasta el 100% debido a la conducta gregaria de las larvas (Núñez-Farfán y Dirzo, 1994). Con excepción de la pupa, todos sus estadios se desarrollan sobre la planta (Garrido, 2004) (Figura 2). Ovipositan en el envés de las hojas y sus puestas contienen entre 15 y 30 huevos ovoides, de alrededor de 1 mm y de color amarillo brillante; están cubiertos de una sustancia pegajosa y se oscurecen gradualmente hasta el momento de la eclosión (Omer-Cooper y Miles, 1951).

Presentan cuatro estadios larvales con características muy similares. El cuarto estadio larval detiene su alimentación y desciende de la planta, luego se interna de 2 a 4 cm en el suelo y construye un capullo a partir de un líquido que secreta por la boca y que se endurece al contacto con el aire. Dicha estructura puede tener partículas de suelo que incrementan su rigidez. Sin embargo, en condiciones de laboratorio *L. daturaphila* es capaz de pupar sin la formación del capullo (Kogan y Goeden, 1970). Finalmente, emerge el adulto que regresa a alimentarse, aparearse y ovipositar sobre la planta (Garrido, 2004).

Las larvas de *L. daturaphila* presentan un comportamiento muy peculiar. Mientras forrajean y principalmente cuando son perturbadas, emiten una secreción oral de color café verdoso (obs. pers.). Debido a que excretan esta sustancia siempre que algo se posa sobre su cuerpo, suponemos que se trata de una estrategia defensiva contra sus depredadores.



Figura 2. *Lema daturaphila*, herbívoro especialista de *Datura stramonium*.

Parasitoides

Omer-Cooper y Miles (1951) reportaron la presencia de una mosca taquírido que ataca el segundo estadio larval de *L. daturaphila*, provocando el 75% de mortalidad de larvas en cultivos de grosella en Estados Unidos. En plantas de *D. stramonium*, Cabrales (1991) también detectó la presencia de un díptero que oviposita sobre las larvas de *L. trilineata*. Finalmente, Hernández-Cumplido (2006) reporta la presencia de dos endoparasitoides que atacan el mismo estado del coleóptero sobre *D. stramonium*, una avispa perteneciente a la familia Ichneumonidae y una mosca de la familia Tachinidae. Estos registros se hicieron en la región del Pedregal, Ciudad de México y en el municipio de Tlaxiaca, Hidalgo. Debido a que los parasitoides sólo se determinaron a nivel de familia, el conocimiento que se tiene es muy general y no hay información sobre su biología.

Área de estudio

En total se estudiaron once poblaciones de *D. stramonium* del centro de México, principalmente a lo largo del Eje Neovolcánico Transversal, la cuenca del río Balsas y la altiplanicie mexicana (Figura 3, Cuadro 1). Estas localidades se seleccionaron debido a que en estudios previos se documentó la presencia tanto del herbívoro (*L. daturaphila*) como del parasitoides (Andraca, 2009; Hernández-Cumplido, 2006).

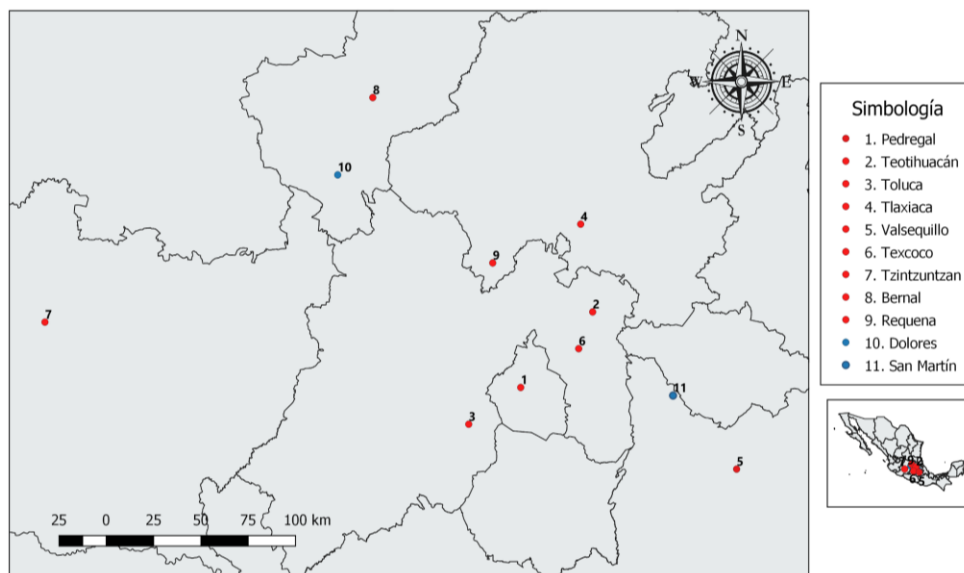


Figura 3. Poblaciones muestreadas de *Datura stramonium*. En rojo, las poblaciones que se muestrearon en años consecutivos y en azul, las poblaciones que se muestrearon sólo el segundo año.

Colecta de material

A finales del mes de agosto y hasta inicios del mes de octubre de 2018, se colectaron aleatoriamente 30 puestas de huevecillos, así como larvas de *L. daturaphila* en plantas de *D. stramonium* de cada población; cuando no había suficientes organismos, se colectaron todos los que estuvieran disponibles. Estos fueron transportados al laboratorio donde continuaron su desarrollo bajo condiciones controladas (22°C, fotoperiodo 12:12 h). Las puestas se separaron individualmente en cajas Petri con papel húmedo. Como se desconocía en qué etapa emergían los parasitoides, una vez que emergieron las larvas, se colocaron de 3 a 5 individuos en recipientes de plástico de 500 mL cubiertos en la parte superior con una tapa transparente que permitía el paso del aire. En cada vaso se colocó una hoja de *D. stramonium* cuyo peciolo se envolvió en un algodón húmedo. Esta hoja se sustituyó cada tercer día hasta el final del ciclo de vida del herbívoro. El mismo procedimiento se siguió con las larvas colectadas. En caso de que emergieran parasitoides, éstos fueron guardados en recipientes de 2 mL con alcohol al 70%, para su posterior identificación. Previamente se registró el número de huevecillos de cada puesta y la cantidad de larvas y parasitoides que emergieron, para determinar la incidencia parasitoidismo por población. Asimismo, se registró la fecha de emergencia de estos últimos. Para las larvas se registró el número de individuos que llegaron a adultos y la cantidad de parasitoides por población.

Cuadro 1. Ubicación geográfica y características climáticas de las poblaciones muestreadas de *D. stramonium*. ((P) Precipitación anual, (T) Temperatura media anual. Sistema Meteorológico Nacional, 2019).

Población	Coordenadas	Altitud	P(mm)	T °C
Pedregal, Ciudad de México	19°18'36"N, 99°11'24"O	2256	816.9	17.5
Teotihuacán, Estado de México	19°40'48"N, 98°49'48"O	2306	616.6	15.9
Toluca, Estado de México	19° 7'48"N, 99°27'0"O	2630	828.9	12.9
Tlaxiaca, Hidalgo	20° 6'36"N, 98°53'24"O	2300	403.2	15.3
Valsequillo, Puebla	18°54'36"N, 98° 6'36"O	2200	668.3	16.2
Texcoco, Estado de México	19°30'0"N, 98°54'0"O	2250	508.3	15.6
Tzintzuntzan, Michoacán	19°37'48"N, 101°34'12"O	2200	669.7	16.4
Peña de Bernal, Querétaro	20°43'48"N, 99°55'48"O	2061	465.5	17.3

Requena, Hidalgo	19°55'12"N, 99°19'48"O	2123	642.5	16.7
Dolores, Querétaro	20°21'4.63"N, 100°6'19.32"O	1937	616.5	18.5
San Martín, Puebla	19°16'13.6"N, 98°25'40.5"O	2265	760.6	15.6

Debido a que el número de organismos colectados fue desigual entre las poblaciones y en algunos casos poco representativo (Cuadro 2), se realizó un segundo periodo de colecta que abarcó de inicios de agosto hasta septiembre de 2019. Los individuos fueron manipulados bajo las mismas condiciones del año anterior. Además, se agregaron dos nuevas poblaciones al muestreo: Dolores Cuadrilla de Enmedio, Querétaro y San Martín Texmelucan, Puebla.

Identificación de especies de parasitoides

Los organismos que emergieron se separaron inicialmente por morfoespecies. La identificación de los parasitoides se realizó con base en caracteres morfológicos con ayuda de las claves de Fernández y Sharkey (2006), Wood (1987), Broad (2012) y Hansson (2002), a nivel de familia y posteriormente a nivel de género y en caso de ser posible, a nivel de especie. Los ejemplares se revisaron con ayuda de un microscopio estereoscópico LEICA® MZ125. Las fotografías digitales SEM se obtuvieron con un microscopio HITACHI® SU1510.

Colecta y análisis de secreciones orales

Con las puestas no parasitadas de la población de Bernal, Querétaro (colectadas en el 2018), se continuó el desarrollo de las larvas de *L. daturaphila*. Se les alimentó con hojas de *D. stramonium* y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de fotoperiodo y humedad. Las secreciones orales se obtuvieron al apretar ligeramente a la larva en cualquier parte de su cuerpo, lo que causó una regurgitación inmediata. Con ayuda de una micropipeta se colectaron entre 1 y 2 µL de secreción oral de cada larva. Posteriormente se guardó de manera conjunta la secreción de 3 a 4 larvas en tubos Eppendorf de 200 µL. En seguida fueron almacenados a -20°C para su posterior manejo.

La composición química de las secreciones se analizó con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), con base en los métodos descritos por Alborn *et al.* (1997) y De-la-Cruz *et al.* (en revisión). Inicialmente se realizó una primera centrifugación de las secreciones orales a 12,000

rpm por 30 min, con el fin de eliminar los restos de la planta y demás sólidos que pudieran existir. Luego, se centrifugó el sobrenadante bajo las mismas condiciones. Finalmente, el sobrenadante recuperado se filtró en una membrana esterilizada de 0.22 μm .

La muestra obtenida se resuspendió en 100 μL de MeOH. Debido a que adquirió una apariencia turbia, la emulsión se centrifugó a 12,000 rpm por 2 min, posteriormente se recuperó el sobrenadante y se resuspendió con 500 μL de MeOH. Esto último se centrifugó bajo las mismas condiciones y se juntó el sobrenadante. Al final se obtuvieron dos tubos con 1.2 mL cada uno.

Las separaciones cromatográficas se realizaron en una columna de HPLC Agilent ZORBAX. Para ello se utilizó una fase móvil dividida en dos partes, la primera con 1% de ácido fórmico en agua y la segunda con 1% de ácido fórmico en metanol. Las muestras fueron analizadas durante 20 min a una temperatura de 50°C. Para la identificación de los compuestos se utilizaron los datos proporcionados por el cromatograma, es decir, el tiempo de retención y la fórmula molecular.

Variables ambientales

A partir de las Normales Climatológicas del Sistema Meteorológico Nacional, se obtuvieron los valores de temperatura, precipitación media anual y altitud de cada localidad (Sistema Meteorológico Nacional, 2019). Además, se obtuvieron los valores mensuales de precipitación y temperatura para cada localidad en el periodo de julio a octubre de 2018 y julio a septiembre de 2019 (CONAGUA, 2019). Todos estos datos se utilizaron para determinar la existencia de una relación entre los niveles de parasitoidismo y las variables ambientales físicas de cada localidad.

Análisis estadísticos

Con el objetivo de cumplir el supuesto de las pruebas paramétricas, cuando fue necesario se transformó el número de huevos por puesta de *L. daturaphila* y la cantidad de avispas parasitoides que emergieron de los huevos, a su raíz cuadrada (Norman y Streiner, 2008). Los análisis estadísticos se realizaron con JMP versión 10 (SAS, 2012). A excepción del análisis de regresión lineal sobre el parasitoidismo en larvas, en el resto de las pruebas los datos se analizaron separadamente para ambos años de colecta.

Variación poblacional en la infestación de puestas

Con el fin de evaluar diferencias en la incidencia de puestas parasitadas por población, se realizó una prueba de X^2 con las variables población y estado de la puesta (parasitada y no parasitada). Asimismo, para evaluar si la cantidad de huevos por puesta difería entre poblaciones se realizó un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el término población como factor predictivo. Posteriormente se realizó una prueba de Tukey-Kramer ($p > 0.05$) para conocer qué poblaciones diferían significativamente.

Para determinar si la relación entre número de huevos por puesta y número de avispas parasitoides emergidas de cada puesta difería entre poblaciones, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA). Se incluyeron los términos número de huevos (covariable), población y su interacción como factores predictivos y el número de avispas como variable de respuesta. Un efecto significativo entre la interacción *número de huevos y población* indicaría que la relación de la cantidad de huevos y cantidad de avispas difiere entre poblaciones. Para este análisis se excluyeron las poblaciones donde no emergieron parasitoides de huevos. Posteriormente se realizó una prueba de Tukey-Kramer ($p > 0.05$) para conocer qué poblaciones diferían significativamente. Con cada población se realizó una regresión con las variables número de huevos y número de avispas por puesta para determinar y visualizar el sentido e intensidad de su relación.

Variación poblacional en la infestación de larvas

Para evaluar diferencias en la incidencia de parasitismo de larvas por población, se realizó una prueba de X^2 con las variables población y estado de la larva (parasitada, no parasitada). Asimismo, se realizó una regresión con las variables número de larvas y número de parasitoides de larva para determinar la existencia de una relación entre éstas.

Influencia de los factores ambientales sobre la incidencia de *L. daturaphila* y parasitoidismo

Mediante correlaciones de Pearson se determinó la existencia de relaciones entre el número de huevos, larvas y la cantidad de parasitoides y las características ambientales de temperatura, precipitación y altitud por población.

De igual forma, se realizaron correlaciones de Pearson para determinar la asociación que existe entre los parasitoides de huevo y los parasitoides de larva y viceversa.

RESULTADOS

De un total de 13 poblaciones de *Datura stramonium* analizadas, sólo en once se detectó a *L. daturaphila* (Fig. 1). En las poblaciones de Zirahuén, Michoacán, no se encontró al herbívoro especialista. Durante el periodo de agosto a octubre de 2018 se colectaron un total de 195 puestas y 197 larvas de *L. daturaphila*. Para el periodo de agosto a septiembre de 2019 se colectó un total de 411 puestas y 838 larvas. Se encontraron en total 6 especies de parasitoides pertenecientes a los órdenes Diptera e Hymenoptera, todos se caracterizan por ser endoparasitoides solitarios.

Identificación de las especies parasitoides

La fase de huevo de *L. daturaphila* fue parasitada por una avispa idiobionte de 1 mm de longitud (Figura 4). Esta especie fue identificada como *Emersonella lemae*, una avispa perteneciente a la familia Eulophidae, de la superfamilia Chalcidoidea. Los organismos de esta especie se caracterizan por presentar flagelómeros cortos en ambos sexos, ojos desnudos, dorso torácico convexo, pronoto reducido, mesoscutum y escutelo con reticulaciones marcadas y coxas de color negro metálico (Hansson, 2002). Además, presentan un marcado dimorfismo sexual en el metasoma, pues en las hembras tiene una forma redondeada mientras que en los machos se aprecia una forma más o menos hexagonal (Figura 4e, f).

La oviposición sucede poco después de que la hembra del crisomélido deposita sus huevos, ya que se encontraron en huevos amarillos recién puestos algunas manchas verdes que contrastaban con la coloración normal (Figura 5b) y de los cuales emergieron avispas. Normalmente, durante el desarrollo de la larva del escarabajo los huevos se oscurecen, pero se mantienen transparentes. Si en lugar de esto se desarrolla un parasitoide, los huevos se tornan opacos y de un color dorado (Figura 5c). Finalmente, si emerge el crisomélido, la larva rompe el huevo por la mitad o longitudinalmente. Por el contrario, la avispa adulta forma un agujero con sus mandíbulas, generalmente en la parte superior del huevo (que ahora es una pupa de avispa). La eclosión del escarabajo ocurre normalmente 5 días desde la puesta, tiempo que se extiende hasta poco más de un mes si los huevos están parasitados.

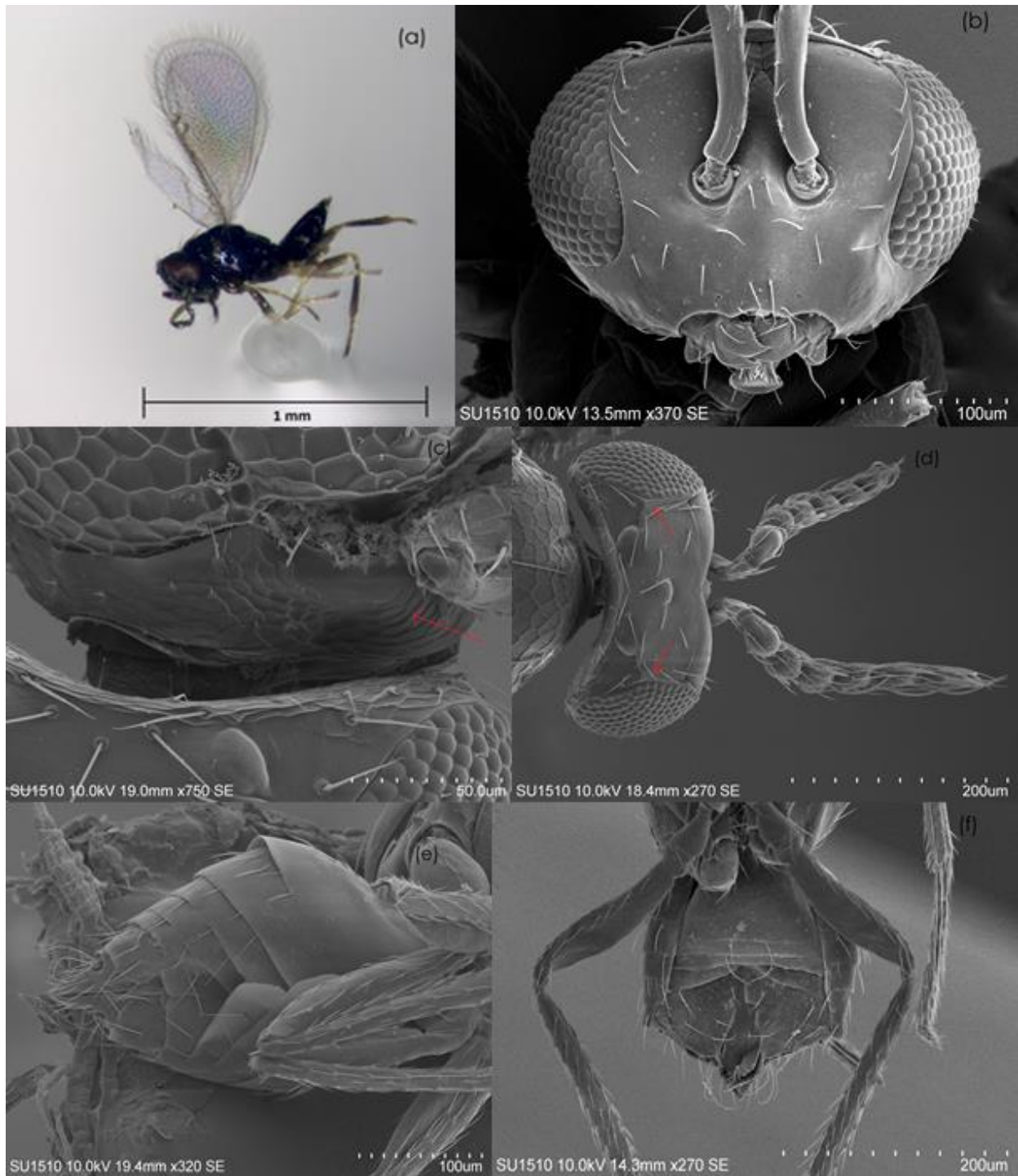


Figura 4. *Emersonella lemae*, parasitoide de huevos de *Lema daturaphila*. Se caracteriza por presentar coxas negras (a); ojos desnudos (b); un pronoto reducido (c) y carenas marcadas (d). Por el gaster o metasoma se puede distinguir a hembra (e) y macho (f).

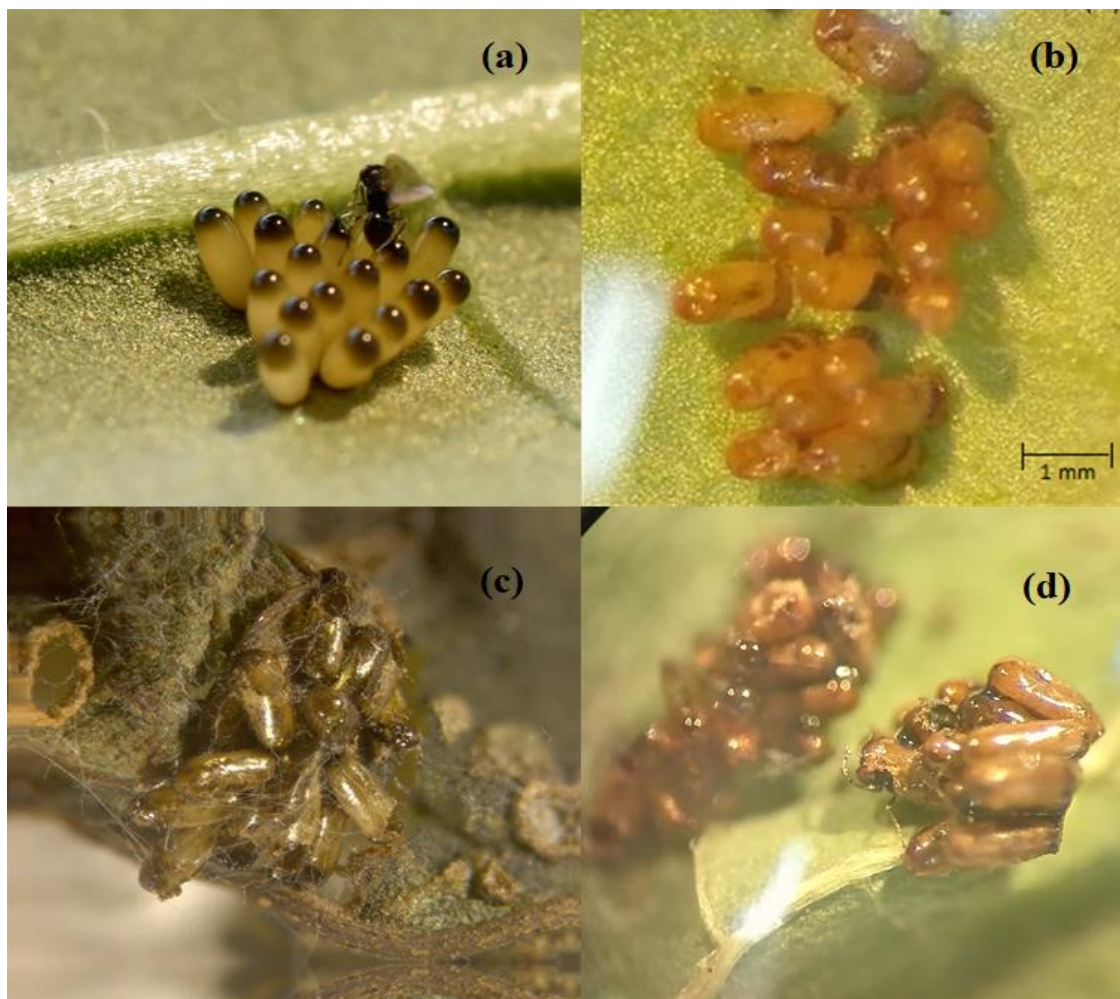


Figura 5. Parasitoidismo en los huevos de *Lema daturaphila*. *Emersonella lemae* ovipositando los huevos (a), Manchas verdes en huevos parasitados (b), Apariencia de una puesta parasitada (c), Avispas emergiendo de las pupas (d).

En el estado larval del herbívoro se encontraron tres especies de moscas koinobiontes de la familia Tachinidae, que emergen posteriormente en el estado de pupa de *L. daturaphila*. En campo se les observa rodeando y posándose sobre las larvas (obs. pers., Figura 6a), lo cual provoca que éstas últimas excreten una burbuja de secreción oral de color café verdoso. Una vez que *L. daturaphila* está lista para pupar, baja de la planta y se entierra en el suelo donde forma un capullo, aunque puede pupar sin la formación de éste. En el laboratorio, ya sea fuera o dentro del capullo, las larvas parasitadas detuvieron su transición hacia la siguiente fase y fue evidente el parasitoidismo, pues se formaron pupas de moscas con variaciones de color, siendo los más evidentes el café-rojizo y el café-anaranjado, a través de la cual se podía ver a la mosca en desarrollo (Figura 6b, c).



Figura 6. Mosca parasitoide y larva de *Lema daturaphila* (a), pupa de mosca aún dentro del exoesqueleto de la larva (b) y pupa de mosca en un capullo de *L. daturaphila* (c).

Las moscas pertenecen a los géneros *Patelloa* sp., *Winthemia* sp, *Heliodorus* sp. y *Pseudochaeta* sp. El género *Patelloa* pertenece a la subfamilia Exoristinae y a la tribu Goniini. Se caracteriza por presentar ojos ligeramente sedosos, katepimeron desnudo o con máximo tres o cuatro pelos en la parte anterior y una cresta facial con una fila de sedas largas y erectas en los dos tercios inferiores (Figura 7a). El género *Winthemia* forma parte de la subfamilia Exoristinae y de la tribu Winthemiini. Se caracteriza por tener ojos densamente sedosos, parafacial con sedas en la mitad superior, pelos inclinados en los terguitos abdominales tres y cuatro y un katepisternum raramente con más de dos sedas (Wood, 1987) (Figura 7b).

Heliodorus también pertenece a la subfamilia Exoristinae, a la tribu Eryciini. Se caracteriza por tener un katepisternum con tres sedas formando un triángulo y porque todos sus terguitos abdominales son de un color gris pruiniscente (Figura 7c). Por último, *Pseudochaeta* corresponde a la misma subfamilia y a la tribu Goniini. Presenta sedas ocelares pequeñas o ausentes, frente con dos o más pelos reclinados que surgen claramente fuera de la primera fila y una cresta facial con sedas gruesas en la mitad inferior (Wood, 1987) (Figura 7d).

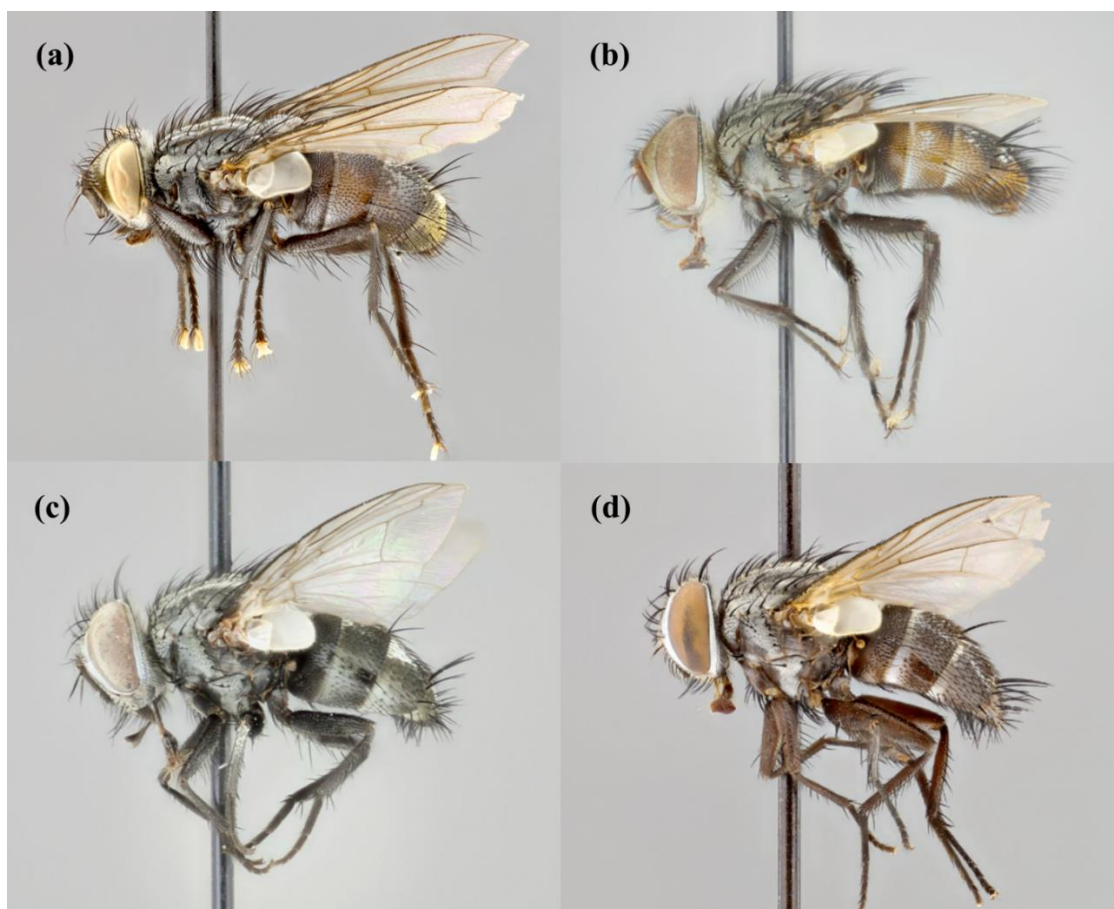


Figura 7. Moscas taquínidos parasitoides de *Lema daturaphila*. *Patelloa* sp. (a), *Winthemia* sp. (b), *Heliodorus* sp. (c) y *Pseudochaeta* sp. (d). Imágenes de Fleming, A. J. y Hernderson, S., obtenidas de Tachinidae Resources (2017).

Únicamente en la población del Pedregal se encontró una avispa parasitoide atacando el estado larval de *L. daturaphila*, perteneciente a la familia Ichneumonidae (Figura 8). La identificación a nivel de subfamilia sigue en proceso.



Figura 8. Parasitoide Ichneumonidae de larvas de *D. stramonium*.

En las poblaciones de Toluca y Tlaxiaca, hubo algunos casos donde en lugar de la mosca que salía de la pupa, emergieron avispas hiperparasitoides. Esta avispa fue identificada como parte del género *Mesochorus sp.*, de la subfamilia Mesochorinae correspondiente a la familia Ichneumonidae. Este género se caracteriza porque todos los individuos son hiperparasitoides de braconidos, taquínidos y otros ichneumónidos. Morfológicamente, se distinguen porque presentan una areola rómbica en el ala posterior y alas anteriores con la abscisa de *Cu* ausente (Figura 9).

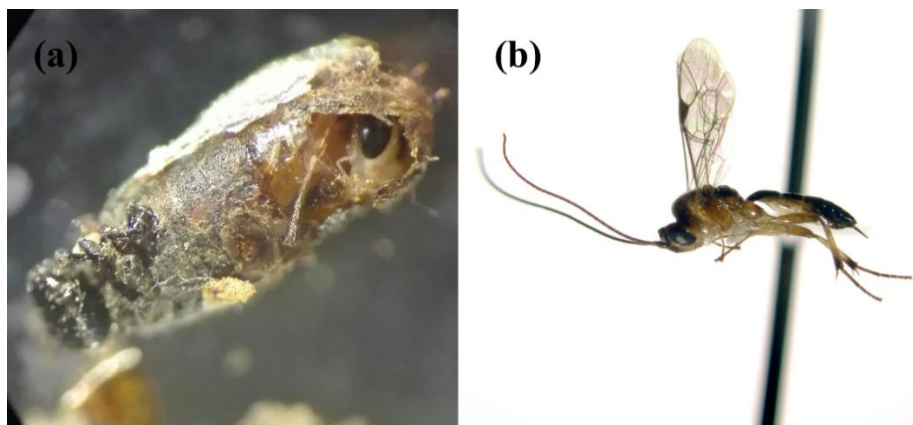


Figura 9. Hiperparasitoide *Mesochorus sp.*, emergiendo de una pupa (a) y vista lateral del adulto (b).

Variación poblacional en la infestación de puestas

En todas las poblaciones se encontró al menos un parasitoide asociado a alguno de los dos estadios del crisomélido.

Cuadro 2. Número de organismos de *Lema daturaphila* colectados por población.

Localidad	Puestas				Larvas	
	2018		2019		2018	2019
	No. puestas	No. Huevos	No. puestas	No. huevos	No. larvas	No. larvas
Bernal	17	207	38	729	50	51
Pedregal	30	648	40	878	5	90
Requena	18	227	50	890	26	14
Teotihuacan	25	516	48	1061	7	152
Texcoco	32	610	55	1170	3	153
Tlaxiaca	19	452	37	658	72	130
Toluca	10	212	35	603	31	75
Tzintzuntzan	12	226	30	1018	0	21
Valsequillo	32	554	36	635	3	10
Dolores	-	-	34	732	-	77
San Martín	-	-	8	109	-	65
TOTAL	195	3,652	411	8,483	197	838

De un total de 195 puestas colectadas durante el 2018, sólo 90 presentaron parasitoidismo. Hubo diferencias significativas en los valores de infestación entre poblaciones ($X^2= 77.65$, g.l.= 8, $p=<0.0001$). En cuanto a éstas, las localidades con mayor porcentaje de puestas infestadas fueron: Tzintzuntzan, con el 91.7%; Valsequillo, con 84.4%; Requena con 83.3% y Texcoco, con el 53.1%. En las poblaciones de Teotihuacán y Toluca no se encontraron parasitoides en 2018 (Figura 10).

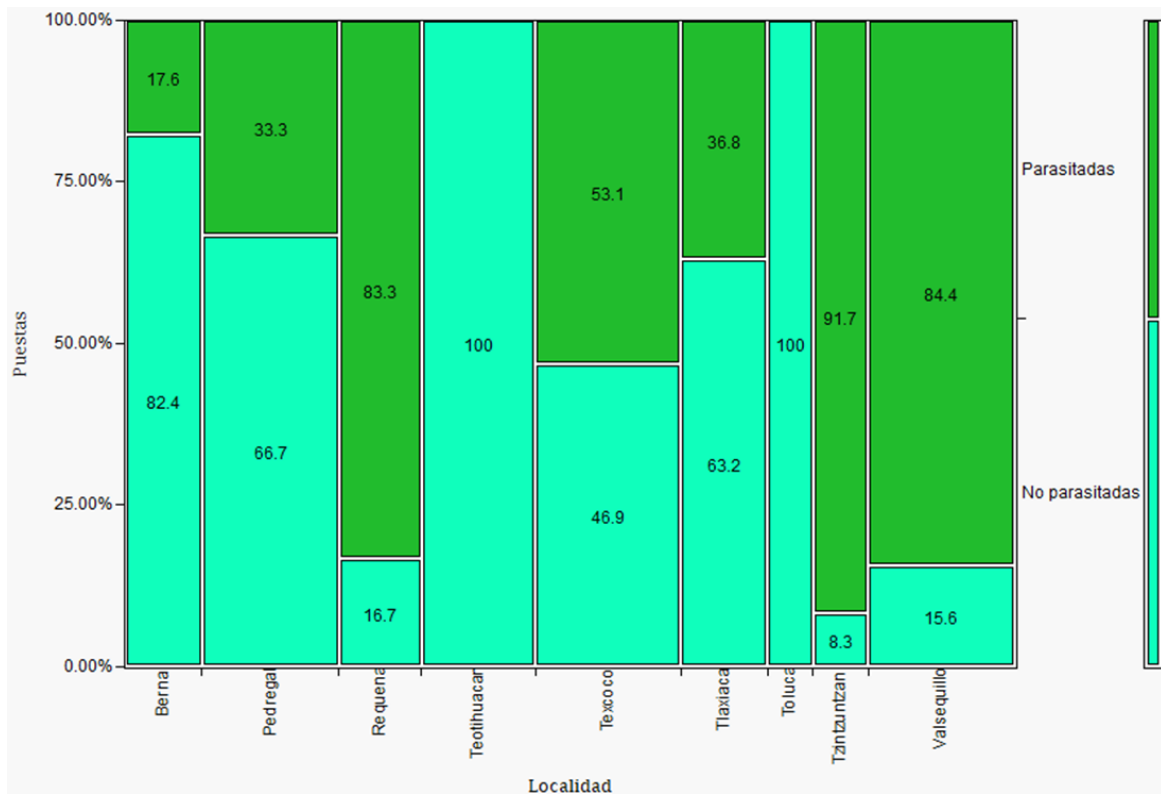


Figura 10. Porcentaje de puestas parasitadas por población durante el 2018. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de puestas colectadas por localidad.

Para el 2019, de un total de 411 puestas, 212 se encontraron parasitadas. Hubo diferencias significativas en el porcentaje de parasitoidismo a nivel poblacional ($X^2= 288.608$, g.l.= 10, $p=<0.0001$). En este año, las poblaciones con mayor porcentaje de puestas parasitadas fueron Pedregal, Tzintzuntzan y Valsequillo con el 100%, seguidas de Requena y Texcoco con el 96% y el 76.4%, respectivamente. En las poblaciones de Bernal y Teotihuacán no se encontraron parasitoides en las puestas y a diferencia del año pasado, en Toluca el 8.6% presentó parasitoidismo (Figura 11).

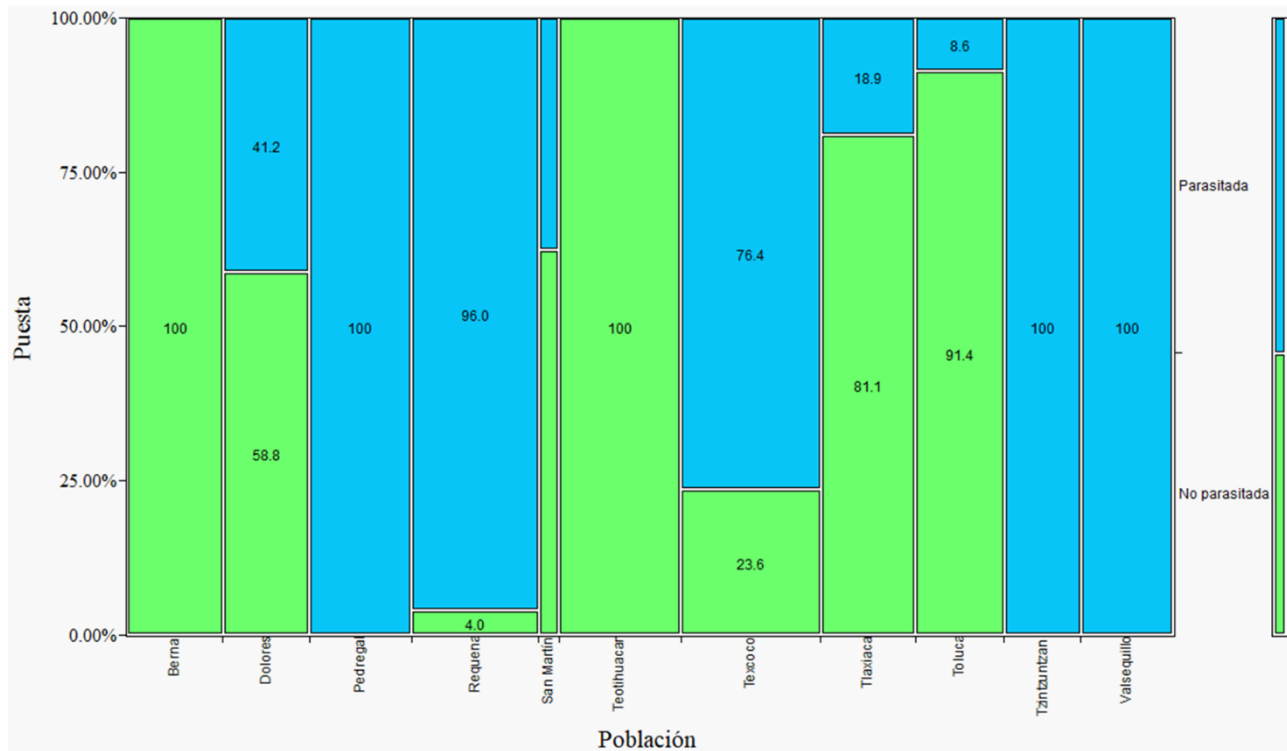


Figura 11. Porcentaje de pupas parasitadas por población durante el 2019. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de pupas colectadas.

El número de huevos por pupa muestra una gran varianza dentro y entre poblaciones. En el 2018, la población con mayor número de huevos por pupa de *L. daturaphila* ($\bar{X} \pm D.E.$) fue Tlaxiaca con 23.78 ± 12.03 , con un coeficiente de variación de 50.58%; seguida del Pedregal con 21.6 ± 8.61 y un coeficiente de variación de 39.87%. La población de Bernal tuvo el menor número de huevos por pupa con 12.17 ± 6.58 y un coeficiente de variación de 54.10% (Figura 12, Cuadro 3a). Para el 2019, fue Tzintzuntzan la población con mayor número de huevos por pupa ($\bar{X} \pm D.E.$) con 33.93 ± 9.35 y un coeficiente de variación de 27.55%. Le siguió Teotihuacán con 22.10 ± 8.29 y un C.V. de 37.53% y finalmente, fue San Martín la población con la menor cantidad de huevos por pupa, con 13.62 ± 11.04 y un coeficiente de variación de 81.06% (Figura 12, Cuadro 3b).

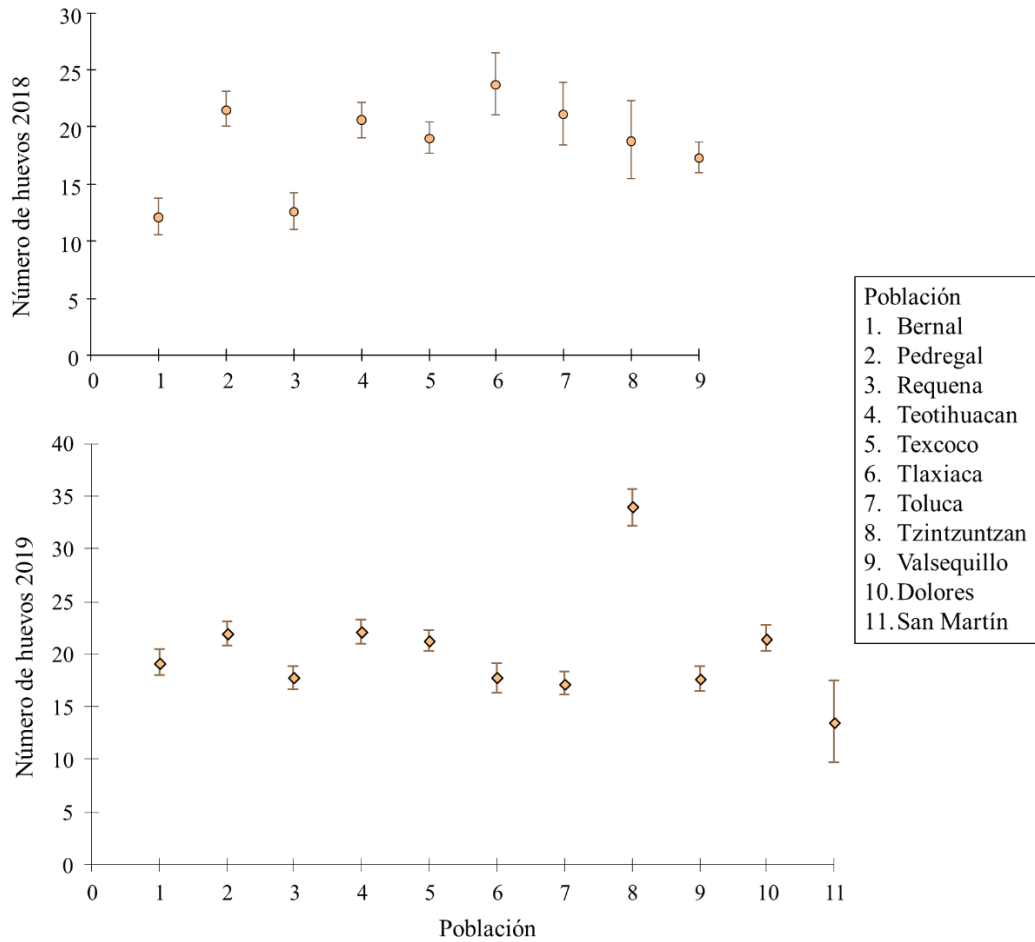


Figura 12. Promedios poblacionales del número de huevos por puesta \pm error estándar, para ambos años.

Cuadro 3. Estadísticos descriptivos de la cantidad de huevos por puesta de *L. daturaphila* a nivel poblacional: a. 2018 y b. 2019.

a. Población	\bar{X}	s^2	Rango	CV (%)
Bernal	12.17	43.40	3-25	54.10
Pedregal	21.6	74.17	11-48	39.87
Requena	12.61	44.83	4-25	53.09
Teotihuacán	20.64	57.49	9-36	36.73
Texcoco	19.06	57.02	7-33	39.61
Tlaxiaca	23.78	144.84	11-60	50.58
Toluca	21.2	73.73	10-33	40.50
Tzintzuntzan	18.83	137.96	2-38	62.36
Valsequillo	17.31	56.80	4-33	43.53

b. Población	\bar{x}	s^2	Rango	CV (%)
Bernal	19.18	55.55	5-38	38.85
Pedregal	21.95	53.89	12-39	33.44
Requena	17.8	57.46	6-42	42.58
Teotihuacán	22.10	68.81	8-46	37.53
Texcoco	21.27	50.23	9-41	33.31
Tlaxiaca	17.78	68.84	6-37	46.65
Toluca	17.22	43.71	6-30	38.37
Tzintzuntzan	33.93	87.44	18-54	27.55
Valsequillo	17.63	49.66	7-41	39.95
Dolores	21.52	55.83	6-34	34.70
San Martín	13.62	121.98	2-37	81.06

El análisis de varianza detectó diferencias significativas en el número de huevos por puesta por población durante 2018 ($F= 4.82$, $p= <0.0001$) y 2019 ($F=11.23$, $p= <0.0001$) (Cuadro 4). Finalmente, la prueba de Tukey-Kramer arrojó que las poblaciones de Tlaxiaca, Pedregal y Teotihuacan fueron significativamente diferentes durante el 2018; mientras que en el 2019 la población de Tzintzuntzan fue significativamente diferente al resto de las poblaciones (Cuadro 5).

Cuadro 4. Variación poblacional en la cantidad de huevos por puesta, resultados del análisis de varianza considerando a la población como fuente de variación. a. 2018 y b. 2019.

a. Fuente de variación	g. l.	S.C.	C.M.	F	p	r²
Población	8	36.25159	4.53145	4.8206	<.0001*	0.17
Error	186	174.8440	0.94002			
C. Total	194	211.09564				
b. Fuente de variación	g. l.	S.C.	C.M.	F	p	r²
Población	10	83.47122	8.34712	11.2331	<.0001*	0.21
Error	400	297.23278	0.74308			
C. Total	410	380.70400				

Cuadro 5. Poblaciones que difieren en cuanto al número de huevos por puesta. Resultados de la prueba de Tukey-Kramer, las medias con diferente letra son significativamente diferentes.

2018			2019		
Población		\bar{x}	Población		\bar{x}
Bernal	C	12.17	Bernal	B C	19.18
Pedregal	A	21.6	Pedregal	B	21.95
Requena	B C	12.61	Requena	B C	17.8
Teotihuacán	A	20.64	Teotihuacan	B	22.10
Texcoco	A B	19.06	Texcoco	B	21.27
Tlaxiaca	A	23.78	Tlaxiaca	B C	17.78
Toluca	A B C	21.2	Toluca	B C	17.22
Tzintzuntzan	A B C	18.83	Tzintzuntzan	A	33.93
Valsequillo	A B C	17.31	Valsequillo	B C	17.63
			Dolores	B	21.52
			San Martín	C	13.62

En cuanto a la cantidad de parasitoides que emergieron, según la cantidad de huevos por puesta, para el 2018 las poblaciones con mayor porcentaje de mortalidad por parasitoides fueron Tzintzuntzan con 67.25%, Requena con 61.67% y Valsequillo con 49.45%. En Toluca y Teotihuacán no se encontraron parasitoides en huevo. Estos resultados contrastan con los valores de puestas infectadas. Por ejemplo, aunque Bernal tuvo el menor porcentaje de puestas infectadas (17.6%), presentó un mayor porcentaje de mortalidad por parasitoides (13.52%), que la población de Tlaxiaca. Ésta última tuvo un 36.8% de puestas infectadas, pero el porcentaje de parasitoides que emergieron respecto al total de huevos de la población fue de 10.61% (Figura 10 y 13). En las poblaciones de Requena y Tzintzuntzan no emergieron larvas de *L. daturaphila*, el resto de los huevos murieron sin eclosionar o fueron infectados por hongos.

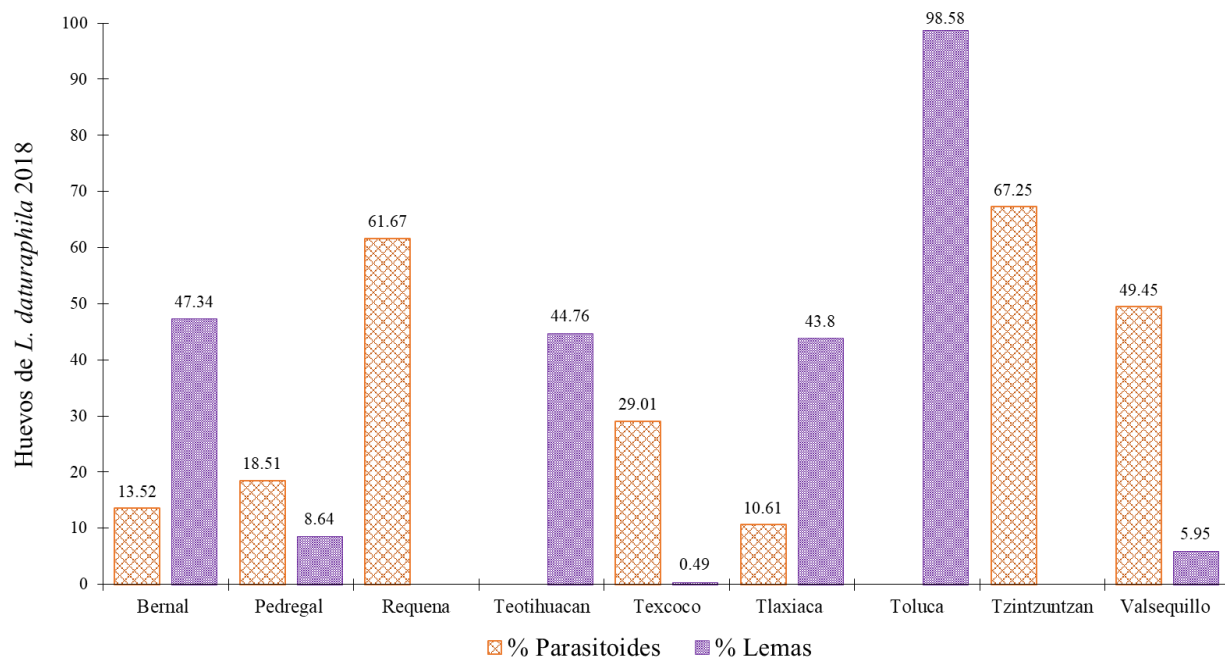


Figura 13. Porcentajes de huevos de *L. daturaphila*, de los cuales emergieron parasitoides y larvas por población, año 2018.

Para el 2019, según la cantidad de parasitoides que emergieron en función del número de huevos por puesta, las poblaciones con mayor porcentaje de mortalidad por parasitoidismo fueron Pedregal y Requena con 96.81% y 93.03%, respectivamente. De igual forma, aunque Tlaxiaca tuvo un mayor porcentaje de puestas infectadas (18.9%), tuvo un menor porcentaje de parasitoides emergidos (4.55%) en comparación con Toluca. En esta última, el 8.6% de puestas estaban infectadas y emergió el 9.45% de parasitoides respecto al total de huevos. En Dolores y San Martín, las poblaciones que se añadieron este año, se obtuvieron valores de parasitoidismo del 34.42% y 22.01%, respectivamente (Figura 14).

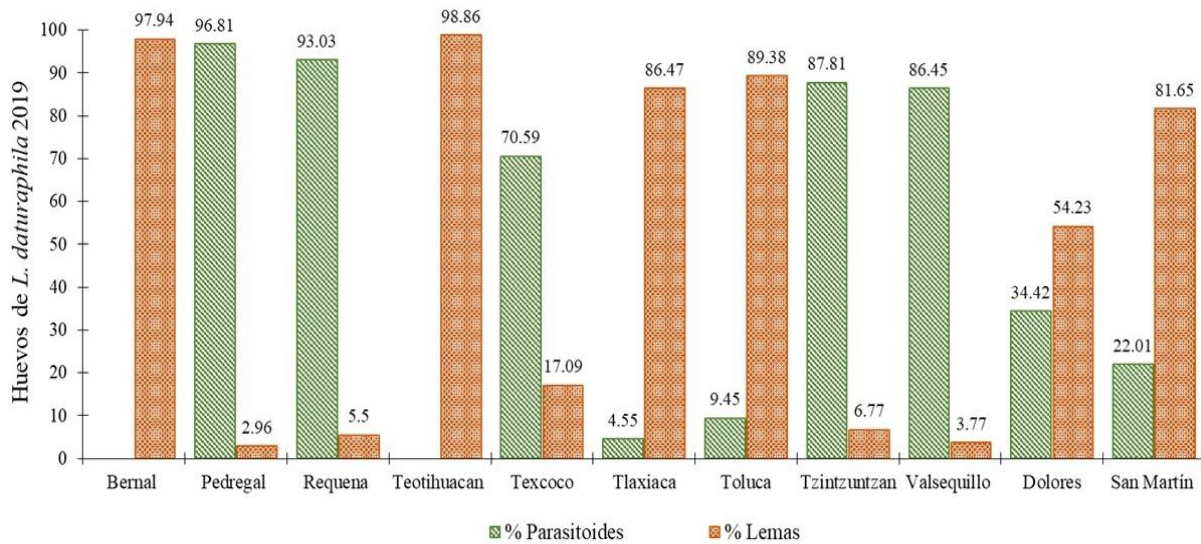


Figura 14. Porcentaje de huevos de *L. daturaphila* de los cuales emergieron parasitoides y larvas durante el 2019.

El análisis de covarianza del número de parasitoides emergidos indicó un efecto dependiente del número de huevos durante el 2018. De igual forma, hubo diferencias significativas en la cantidad de parasitoides por puesta entre poblaciones. No se detectó un efecto dependiente del número de huevos a través de su interacción con la población (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de covarianza del número de parasitoides entre poblaciones de *Datura stramonium*, utilizando como covariable el número de huevos por puesta, año 2018.

a. Fuente de variación	g. l.	S.C.	F	p	r ²
No. Huevos	1	22.045105	14.11	0.0002*	0.32
Población	6	71.450006	7.6254	<.0001*	
Población x No. Huevos	6	17.431934	1.8604	0.0915	
Error	146	228.00327			
Total	159	334.58496			

Para el 2019, el análisis de covarianza indicó diferencias significativas en la cantidad de parasitoides por puesta entre poblaciones y una relación positiva entre el número de huevos y el número de parasitoides, además la magnitud de esta relación fue diferente entre las poblaciones (interacción población* número de huevos; Cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de covarianza del número de parasitoides entre poblaciones de *Datura stramonium*, utilizando como covariable el número de huevos por puesta, año 2019.

a. Fuente de variación	g. l.	S.C.	F	p	r ²
No. Huevos	1	78.85781	66.88	<.0001*	0.6948
Población	8	430.39580	50.93	<.0001*	
Población x No. Huevos	8	46.21141	4.899	<.0001*	
Error	307	361.9330			
Total	159	1185.8865			

La prueba de Tukey-Kramer indicó que durante el 2018, las poblaciones de Requena y Valsequillo fueron significativamente diferentes al resto en cuanto al número de avispas emergidas por puesta. Para el 2019, no hubo diferencias significativas entre Pedregal y Requena y entre Tzintzuntzan y Valsequillo, a su vez, estas se diferenciaron significativamente del resto (Cuadro 8).

Cuadro 8. Poblaciones que difieren en cuanto al número de avispas por puesta. Resultados de la prueba de Tukey-Kramer, las medias con diferente letra son significativamente diferentes.

2018			2019		
Población		\bar{x}	Población		\bar{x}
Bernal	C	1.64	Bernal	-	-
Pedregal	C	4	Pedregal	A	21.25
Requena	A B	7.77	Requena	A	16.56
Texcoco	B C	5.53	Texcoco	B	15.01
Tlaxiaca	C	2.52	Tlaxiaca	D	0.81
Toluca	-	-	Toluca	D	1.62
Tzintzuntzan	A	12.66	Tzintzuntzan	A B	29.8
Valsequillo	A B	8.56	Valsequillo	A B	15.25
			Dolores	C	7.41
			San Martín	C D	3

El análisis de regresión para cada población indicó que durante 2018 sólo en dos poblaciones se encontró una relación significativa entre el número de huevos y la cantidad de avispas por puesta. Tanto en Requena ($R^2= 0.45$, $p= 0.0021$) como en Tzintzuntzan ($R^2= 0.36$, $p=0.0362$) hubo una

relación positiva entre ambas variables, mientras que en el Pedregal la relación fue marginalmente significativa. Y sólo en Tlaxiaca se encontró una relación negativa, aunque no significativa (Figura 15).

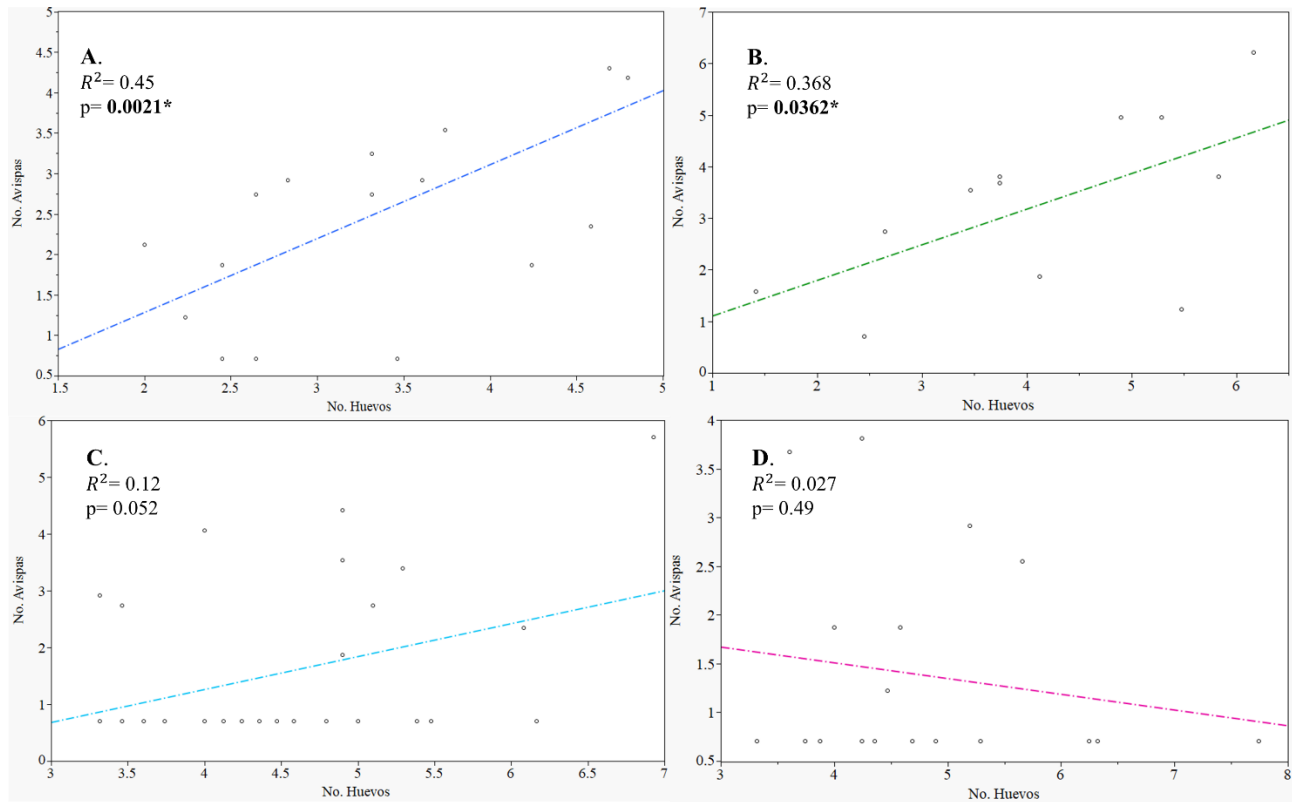


Figura 15. Análisis de regresión independiente por población para el año 2018: Requena (A), Tzintzuntzan (B), Pedregal (C), Tlaxiaca (D). Sólo se muestran las relaciones significativas o marginalmente significativas y en el caso de Tlaxiaca, porque hubo una relación negativa.

Para los datos del 2019, el análisis de regresión por población indicó que en Pedregal ($R^2= 0.96$, $p= <0.0001$), Requena ($R^2= 0.55$, $p= <0.0001$), Texcoco ($R^2= 0.21$, $p= <0.0003$), Tzintzuntzan ($R^2= 0.76$, $p= <0.0001$) y Valsequillo ($R^2= 0.39$, $p= <0.0001$) se encontró una relación positiva significativa entre el número de huevos y la cantidad de avispas y puestas. De igual forma, se encontró una relación negativa en la población de Tlaxiaca (Figura 16).

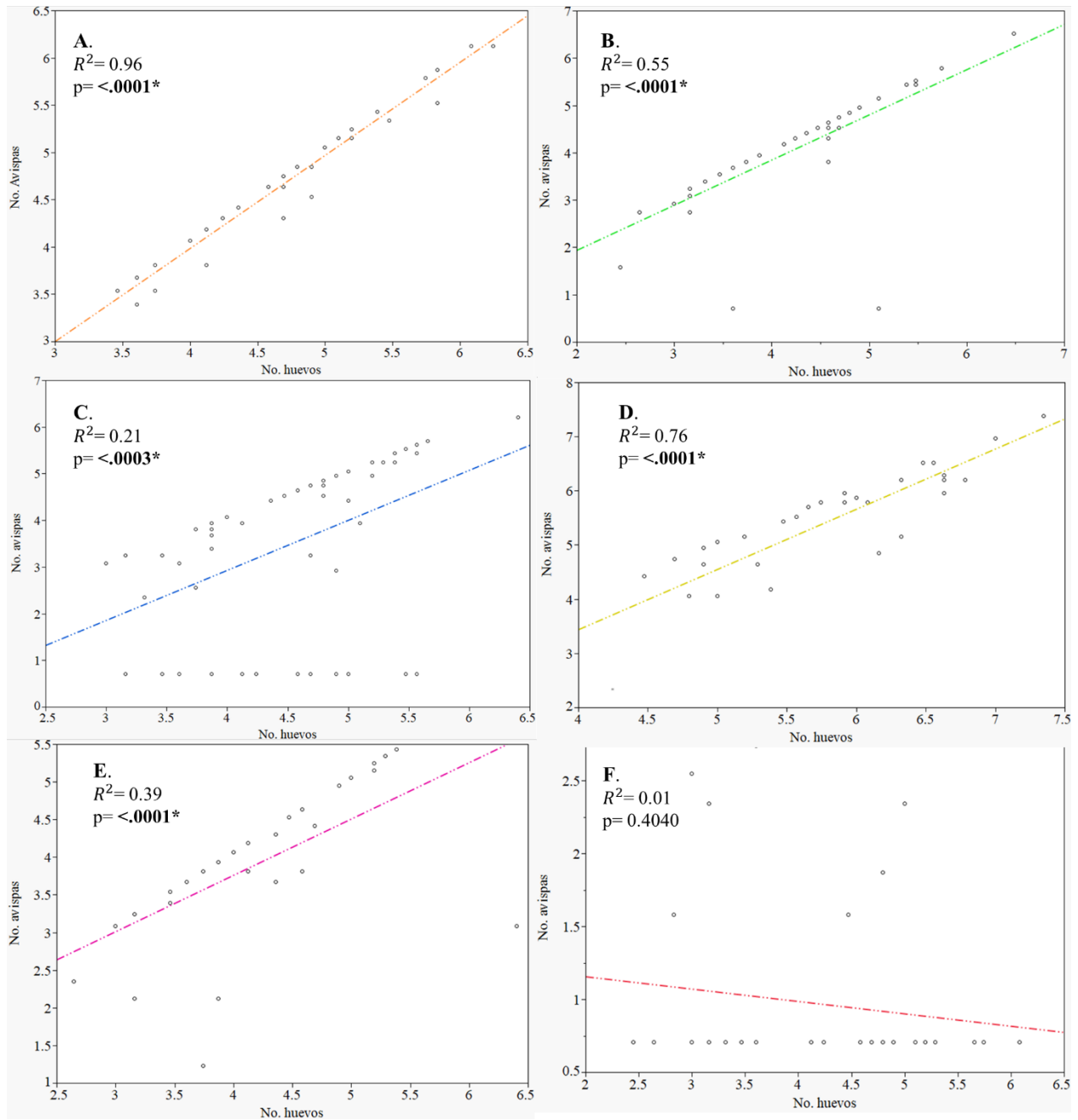


Figura 16. Análisis de regresión por población para el año 2019: Pedregal (A), Requena (B), Texcoco (C), Tzintzuntzan (D), Valsequillo (E) y Tlaxiaca (F).

Variación poblacional en la infestación de larvas

En el 2018 no se encontraron individuos de *L. daturaphila* en estado larval en la población de Tzintzuntzan, Michoacán. En el resto de las poblaciones hubo presencia de moscas parasitoides a excepción del Pedregal. Hubo diferencias significativas en los valores de infestación por población

($X^2 = 21.66$, g.l. = 7, $p = <0.0058$). Las poblaciones con mayor porcentaje de parasitoidismo respecto al total de larvas colectadas, fueron Texcoco y Valsequillo, con 66.6% cada una. No obstante, estos resultados estuvieron sesgados debido a que el número de larvas colectadas en dichas poblaciones fue muy bajo (Cuadro 2, Figura 18). Tlaxiaca fue la población con mayor cantidad de parasitoides emergidos (28 individuos) con 38.9%. En seguida se encuentra Toluca, con un 35.5% (11 individuos).

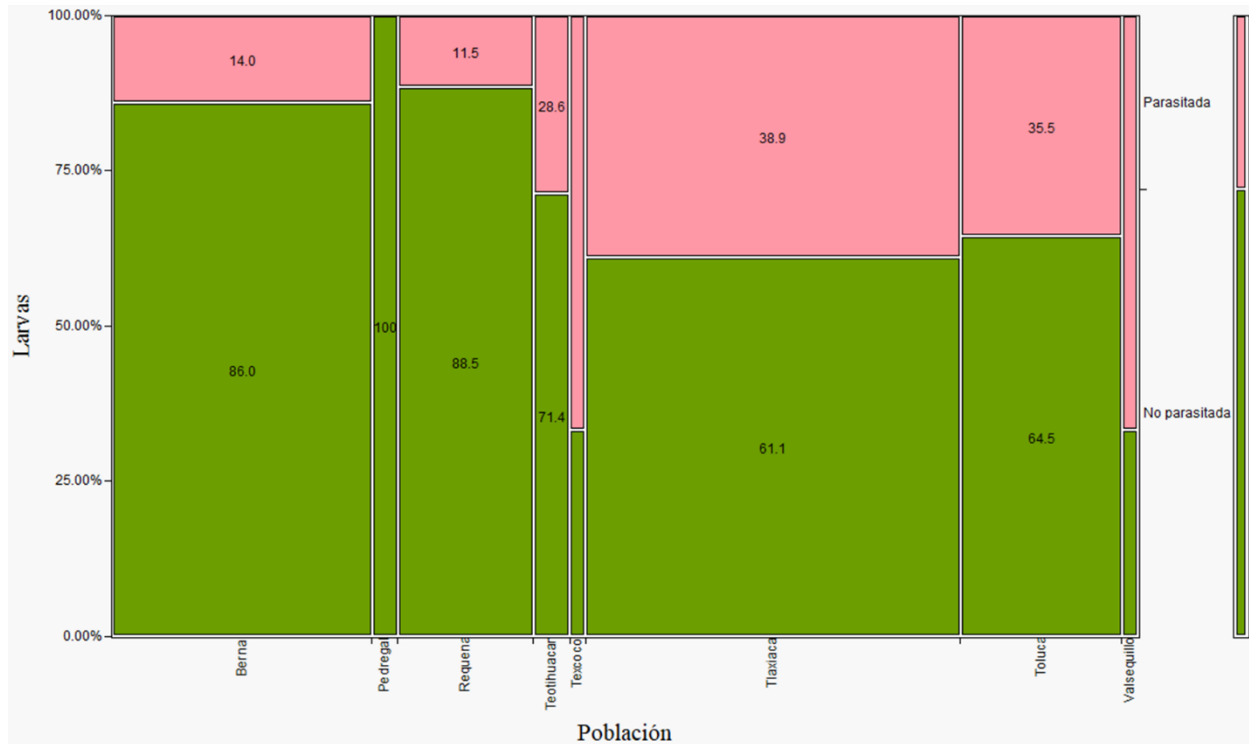


Figura 17. Porcentaje de parasitoidismo en el estado larval de *Lema daturaphila* a nivel poblacional. El ancho de las barras es indicativo del tamaño de la muestra.

Durante el muestreo de 2019 se encontraron muy pocos individuos de *L. daturaphila* en estado larval en las poblaciones de Requena, Valsequillo y Tzintzuntzan. Sin embargo, aún los pocos individuos colectados presentaron parasitoidismo. Se encontraron diferencias significativas en los valores de infestación por población ($X^2 = 194.235$, g.l. = 10, $p = <0.0001$). Tlaxiaca, Texcoco y Teotihuacán fueron las poblaciones con mayor porcentaje de larvas parasitadas con 66.2%, 60.1% y 48%, respectivamente. Las poblaciones con el menor porcentaje de parasitoides respecto al total colectado fueron Pedregal con 2.22% y Toluca con 2.67%. En Valsequillo, aunque se colectó la

menor cantidad de individuos, el 60% presentó parasitoidismo (Figura 19). Por último, es importante mencionar que sólo en Pedregal no se encontraron taquínidos, sino avispas parasitoides de la familia Ichneumonidae.

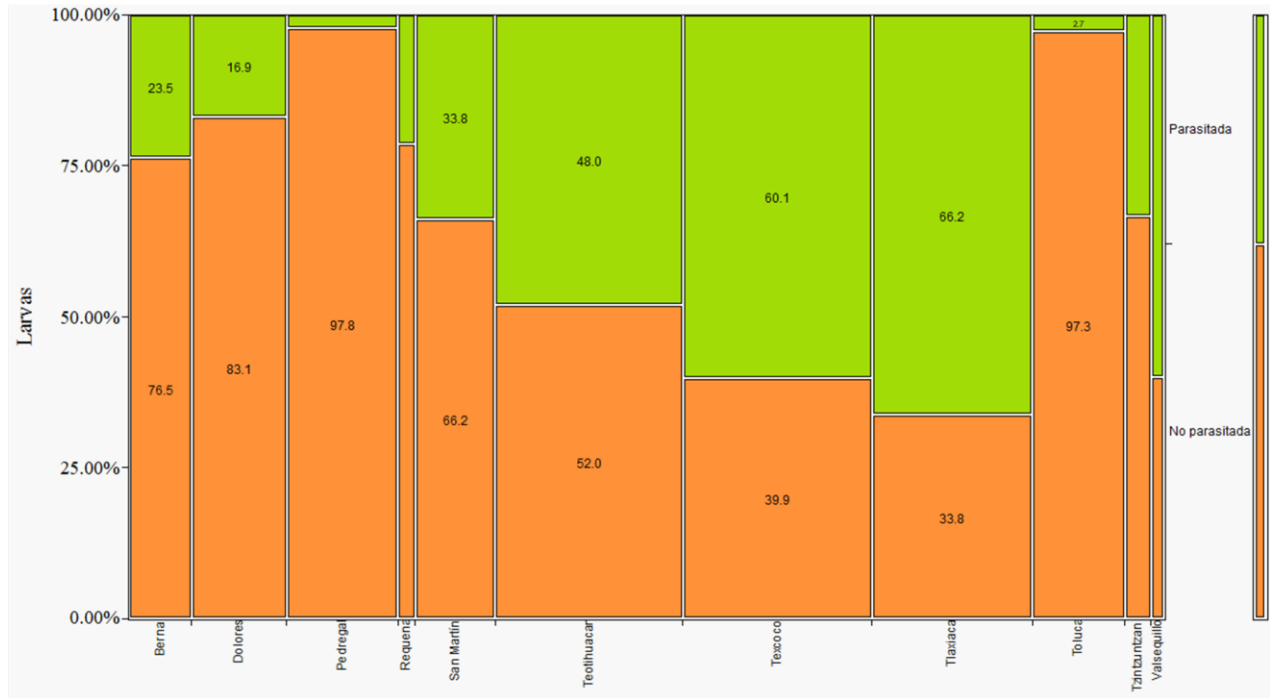


Figura 18. Porcentaje de parasitoidismo en el estado larval de *Lema daturaphila*, a nivel poblacional durante el 2019. El ancho de las barras es indicativo de la cantidad de individuos analizados.

Se encontró una relación positiva significativa entre el número de larvas colectadas y el número de parasitoides emergidos en las poblaciones en ambos años ($R^2= 0.74$, $p= 0.0001$) (Figura 20).

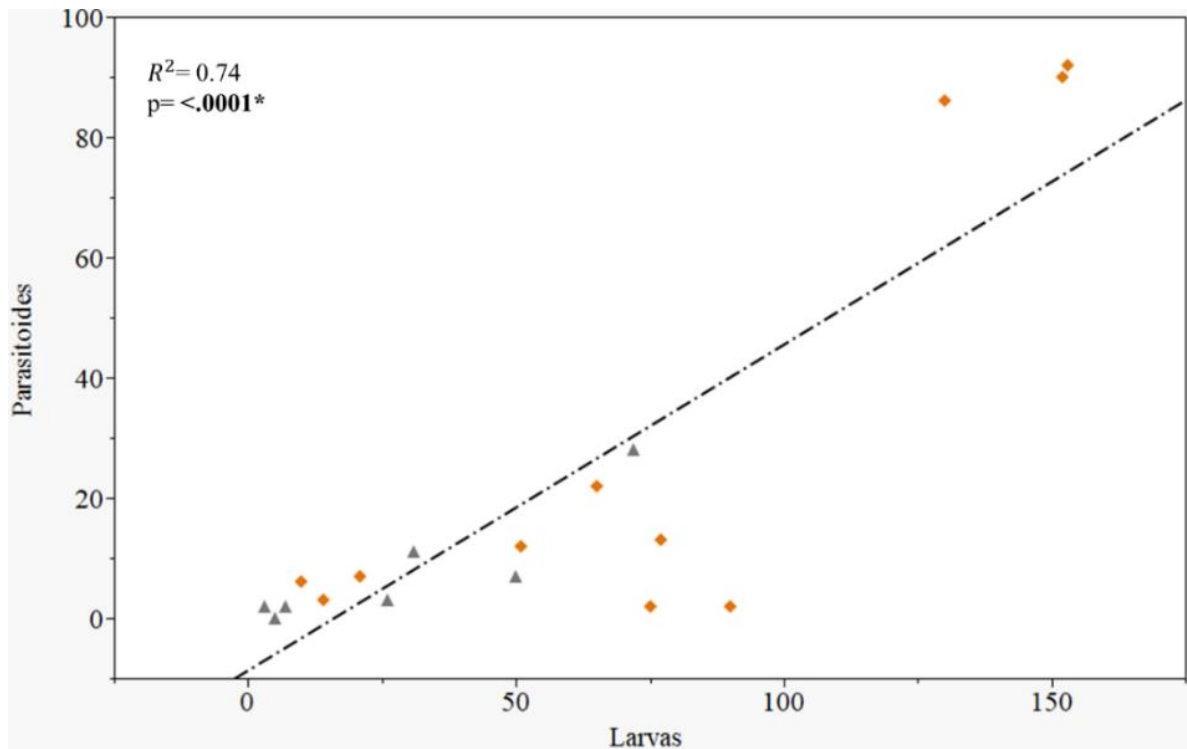


Figura 19. Análisis de regresión entre el número de larvas y parasitoides para ambos años: 2018 (gris) y 2019 (naranja). Los puntos son indicativos de cada población.

Sólo en Toluca y Tlaxiaca se detectó la presencia de hiperparasitoides de taquínidos del género *Mesochorus sp.* En el 2018, el número de individuos fue el mismo para ambas poblaciones. Respecto al total de moscas que emergieron, el porcentaje de hiperparasitoides fue mayor en Toluca, con un 36.36%, mientras que para Tlaxiaca se obtuvo un valor de 14.28%. En el 2019 en Tlaxiaca emergió el 8.13% de *Mesochorus sp.* respecto al total de parasitoides taquínidos que emergieron (Figura 21).

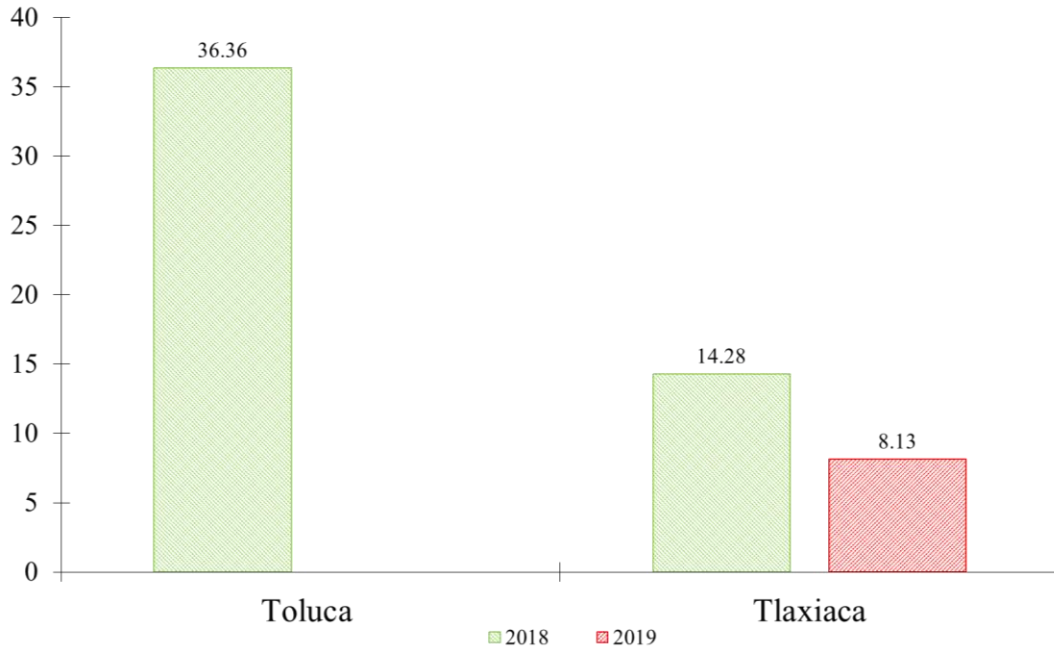


Figura 20. Porcentaje de hiperparasitoides que emergieron del total de parasitoides en las localidades de Tlaxiaca y Toluca durante el 2018 y 2019.

Las correlaciones entre la cantidad de huevos, larvas y parasitoides con respecto a las variables ambientales no resultaron significativas en ningún año. Sin embargo, probablemente esto dependa de la cantidad de poblaciones muestreadas y tal vez un incremento en el número de poblaciones confirme estos resultados (Cuadro 8). Para ambos años se obtuvo una correlación negativa entre el número de parasitoides de huevo y el número de larvas, así como en el número de parasitoides de larvas y el número de huevos, pero fueron valores no significativos (Cuadro 8a y b).

Cuadro 9. Resultados de la correlación con las variables ambientales y entre individuos en diferentes años, 2018 (A) y 2019 (B).

a.Variable 1	Variable 2	Correlación	p
No. huevos	Temperatura	-0.5171	0.1540
No. larvas	Precipitación	-0.6271	0.0707
No. larvas	Temperatura	0.4112	0.2715
No. parasitoides huevo	Precipitación	0.2201	0.5693
No. parasitoides huevo	Altitud	-0.4134	0.2688

No. parasitoides larva	Precipitación	-0.3940	0.2940
No. parasitoides larva	Altitud	0.2982	0.4357
No. parasitoides huevo	No. larvas	-0.5401	0.1334
No. parasitoides larva	No. parasitoides huevo	-0.4344	0.2427
No. parasitoides larva	No. huevos	-0.1381	0.7232
b. Variable 1	Variable 2	Correlación	p
No. huevos	Temperatura	0.0015	0.9965
No. larvas	Precipitación	-0.3154	0.3448
No. larvas	Temperatura	-0.1950	0.5657
No. parasitoides huevo	Precipitación	-0.0396	0.9079
No. parasitoides huevo	Altitud	-0.2046	0.5462
No. parasitoides larva	Precipitación	-0.1381	0.6854
No. parasitoides larva	Altitud	0.1372	0.6876
No. parasitoides huevo	No. larvas	-0.2948	0.3788
No. parasitoides larva	No. parasitoides huevo	0.3253	0.3290
No. parasitoides larva	No. huevos	-0.1381	0.7232

Análisis de las secreciones orales

Se identificaron tropano alcaloides en las secreciones orales de *L. daturaphila*. A partir del tiempo de retención se lograron determinar cuatro sustancias (Cuadro 9).

Cuadro 10. Tropano alcaloides identificados en las secreciones orales de *L. daturaphila*. RT= Tiempo de retención, m/z= masa/carga, MS= Referencia de la espectrometría de masas.

Alcaloide	Fórmula	RT (min)	m/z	MS Ref.
3-tigloyloxy-6-hydroxytropano	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	10.1	240.1549	Witte <i>et al.</i> , 1987
Apoatropina	C ₁₇ H ₂₁ NO ₂	10.4	272.1641	Witte <i>et al.</i> , 1987
Atropina	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	8.7	290.1751	Witte <i>et al.</i> , 1987
Escopolamina	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	15	304.1543	Witte <i>et al.</i> , 1987

DISCUSIÓN

Este trabajo da una contribución al conocimiento de los parasitoides que atacan a *L. daturaphila* herbívoro de *D. stramonium*.

Identificación de las especies parasitoides

La mayoría de los endoparasitoides que se determinaron, son nuevos reportes para el hospedero o para México. En el caso de los parasitoides de huevo, *Emersonella lemae* es una especie cuyo primer registro y descripción fue hecha por Girault (1916) y Chittenden (1924). Estos autores describen a *E. lemae* atacando los huevos de *L. daturaphila* en la región de Washington, D.C., mientras el crisomélido se alimentaba de plantas de *D. stramonium*. Describen que las avispas infestan los huevos inmediatamente después de la oviposición, lo que se refleja en la baja densidad de larvas y adultos, similar a lo que se observó en la población de Pedregal durante el 2019. Estas observaciones subrayan el potencial papel de los parasitoides como reguladores de las poblaciones de herbívoros.

El género *Emersonella* se distribuye sólo en América, principalmente en la región Neotropical, se trata de especies que parasitan huevos de la familia Chrysomelidae. Hansson (2002) ha reportado la presencia de *E. lemae* en Colombia y Costa Rica. Sin embargo, esta especie es una de las dos del género *Emersonella* que también se han reportado en la región Neártica (Alvarenga *et al.*, 2015), principalmente en los Estados Unidos. Para México se trata de un nuevo registro (Natural History Museum, 2019). Hasta hace poco, el único hospedero reportado para *E. lemae* era *L. daturaphila*, pero recientemente también se documentó a esta avispa atacando los huevos de otros crisomélidos pertenecientes al género *Neochlamisus* (Forbes y Funk, 2013). Sin duda, son necesarios estudios genéticos que puedan determinar la identidad de las especies.

En el caso de los parasitoides de larvas, hasta el momento los registros sobre *D. stramonium* sólo se habían hecho a nivel de familia: Tachinidae e Ichneumonidae (Cabral, 1991; Hernández-Cumplido, 2006). El género *Patelloa* *sp.* está confinado a América y para *L. daturaphila* se ha reportado la presencia de *P. leucaniae* en Estados Unidos y Canadá (Arnaud, 1978). Por tanto, en México se trataría de un nuevo registro para el hospedero (Zetina *et al.*, 2018). Las especies del género *Winthemia* son de las más usadas en estudios entomológicos de importancia económica. En

México se han reportado numerosas especies como *W. imitator*, *W. montana* o *W. texana* (Guimarães, 1972). No se ha reportado a *L. daturaphila* como hospedero, por lo que sería un nuevo registro. Del género *Heliodorus* sólo se conocen dos especies, *H. cochisensis* y *H. vexillifer*, ambas sólo reportadas en Estados Unidos (O'Hara y Wood, 2004). Para *L. daturaphila* y para México se trataría de un nuevo registro del género. Finalmente, *Pseudochaeta* también es un género distribuido únicamente en América, se han descrito 26 especies y la mayoría de los registros corresponden a los Estados Unidos (Arnaud, 1978; O'Hara y Wood, 2004). El género y el hospedero son nuevos registros para México.

En cuanto al hiperparasitoide, el género *Mesochorus* corresponde a avispas de distribución cosmopolita. Se conocen aproximadamente 96 especies en la región Neártica y 245 en la región Neotropical. La familia a la que pertenece, Mesochorinae, se caracteriza porque la mayoría de los registros indican que son parasitoides de otros parasitoides, particularmente de las familias Braconidae, Tachinidae e Ichneumonidae (Dasch, 1974). No existen reportes de *Mesochorus* atacando parasitoides de *L. daturaphila*, por lo que también se trataría de nuevos registros.

Por último, en la región del Pedregal, anteriormente Cabrales (1991) había reportado la presencia de una mosca taquínido atacando el estado larval de *L. daturaphila*. En este trabajo no se encontró a ningún parasitoide de esta familia en dicha población, pero se presentaron avispas parasitoides de la familia Ichneumonidae. Es importante mencionar que idealmente las identificaciones deben continuarse hasta el nivel de especie para hacer un registro más completo, pero al menos a nivel de género y a nivel de especie en caso de *E. lemae*, se logró la determinación segura de los parasitoides y su nuevo registro para México y/o el hospedero. Una identificación a nivel específico facilitaría la búsqueda de registros e información extra sobre los parasitoides encontrados. Sin embargo, tanto en el caso de las moscas como en el caso de las avispas, se dificulta este trabajo por falta de especialistas y porque la mayoría de las claves taxonómicas presentan ambigüedades e información no actualizada.

Variación poblacional en el parasitoidismo de los huevos de *Lema daturaphila*

Previo a este trabajo no se había reportado la presencia de parasitoides de huevo atacando a *L. daturaphila* en las poblaciones de *D. stramonium* analizadas. Los datos indican que existe variación

poblacional en los niveles de infestación de las puestas. Las poblaciones de Tzintzuntzan, Valsequillo, Pedregal y Texcoco resultaron ser las más infestadas en ambos años. En Tzintzuntzan y Valsequillo se ha reportado que el principal herbívoro de *D. stramonium* no es *L. daturaphila*, sino *E. parvula*, además se ha encontrado que alcaloides como atropina y escopolamina son seleccionados negativamente y son poco efectivos contra estos herbívoros especialistas (Castillo *et al.*, 2014). Durante nuestros muestreos también se observó que en dichas poblaciones *E. parvula* dominaba sobre *L. daturaphila*, seguramente por su alta mortalidad ocasionada por parasitoides. Debido a la alta resistencia que presenta *L. daturaphila* contra las defensas directas de la planta en estas poblaciones, es probable que *D. stramonium* esté optando por la inversión en defensas indirectas y por ello sea más alto el parasitoidismo de huevos. Por ejemplo, con otras plantas se ha documentado que existe un *trade-off* entre las defensas directas e indirectas cuando las primeras no son tan efectivas contra los herbívoros especialistas. En *Phaseolus lunatus* se ha encontrado una correlación negativa entre la producción de compuestos cianogénicos (defensa directa) y la liberación de Compuestos Orgánicos Volátiles (VOCs) (Ballhorn *et al.*, 2008). Sin embargo, son necesarios estudios experimentales para determinar el impacto de los parasitoides en las poblaciones del herbívoro.

Los altos niveles de infestación en las puestas concuerdan con la baja cantidad de larvas colectadas, principalmente en las poblaciones de Tzintzuntzan, Valsequillo y Pedregal. En este tipo de sistemas los parasitoides compiten por el hospedero, que es un recurso común. Aunque varios pueden coexistir usando diferentes estados de desarrollo de un mismo hospedero (como sucede en *L. daturaphila*), eventualmente las especies que ataquen un estado, afectarán las densidades de los estados subsecuentes al incrementar la mortalidad del hospedero (Briggs *et al.*, 1993). Esta disminución de individuos en estado larval fue muy evidente en la población del Pedregal durante el 2019. En este año el muestreo se realizó a inicios del mes de agosto, encontrando larvas y puestas en abundancia, éstas últimas todas parasitadas. Dos semanas después se regresó al sitio de colecta y lo único que se encontró fueron puestas parasitadas. Estos datos sugieren que la incidencia de parasitoides en un estado afecta la abundancia del otro tipo de parasitoides, pues no hay recurso que aprovechar. Sin embargo, es importante tomar en cuenta otro tipo de factores que puedan intervenir, como la presencia de depredadores o la eficacia de las defensas directas de la planta contra los diferentes estados de *L. daturaphila*.

En el caso de la población de Toluca, durante el 2018 no se encontró la presencia de *E. lemae* (es importante mencionar que se colectó una baja cantidad de puestas, n=10), pero en 2019 estuvieron parasitados el 9.45% del total de los huevos. En el 2019 se presentaron problemas en la localidad de colecta, pues hubo una remoción de tierra en el área donde se encontró la población de *D. stramonium* durante el 2018. Además, el muestreo se realizó alrededor de dos semanas antes de lo que se hizo en el 2018. Estos dos factores contribuyeron a que cuando se realizó la colecta, las plantas fueran muy jóvenes y se encontró en su mayoría sólo puestas de *L. daturaphila* y ninguna larva. Durante esta colecta no se encontraron parasitoides en los huevos; sin embargo, el muestreo se repitió tres semanas después. En esta ocasión había larvas en abundancia y se encontraron puestas parasitadas. Pensamos que en esta situación pudieron influir las señales que usan los parasitoides para detectar a sus hospederos. Se sabe que, durante la búsqueda y aceptación del hospedero, los parasitoides basan su detección en claves físicas y químicas. Particularmente los parasitoides de huevo pueden guiarse por la secreción adhesiva que une los huevos al sustrato (Bin *et al.*, 1993). Sin embargo, también pueden aprovecharse de aquellas señales que sean un indicativo de la presencia de su hospedero, como los restos fecales o los semioquímicos que se liberan a medida que la larva se alimenta (Bin *et al.*, 1993; Meiners y Hilker, 1997). En Toluca, probablemente *E. lemae* se aprovechó de los semioquímicos liberados por la actividad de las larvas y por ello sólo se encontró en el segundo muestreo, ya que en el primero no se encontraban individuos en el estadio larval, a pesar de que había gran cantidad de puestas. Estos resultados también demuestran la importancia de la variación temporal y la fenología en el desarrollo de los parasitoides. Como se observó, pequeñas diferencias en el tiempo de colecta pueden generar diferencias en la presencia o abundancia de los parasitoides. Además, aunque no resultaron significativas las relaciones con los parámetros ambientales, en los muestreos se observó que el 2019 fue más seco. Por ejemplo, en la población de Requena, aunque el muestreo se realizó casi un mes antes que en el 2018, cuando se llegó al sitio de colecta las plantas ya estaban muriendo de desecación.

Para las poblaciones de Texcoco, Pedregal, Requena, Valsequillo y Tzintzuntzan hubo una relación positiva entre el número de huevos y el número de parasitoides en el 2019. Ya que en la mayoría de los casos todos los huevos de una puesta están parasitados, suponemos que cada puesta

es parasitada por una sola hembra; además, en numerosas especies de parasitoides de huevos, se ha reportado que la puesta de un hospedero puede ser suficiente para que la hembra deposite toda su carga de huevos (Boivin, 2010). Sin embargo, esto depende del número total de huevos producidos por la hembra parasitoide y por el riesgo al que se expone. Por ejemplo, se ha visto que las hembras evitan hospederos con alto riesgo de mortalidad y que la búsqueda de nuevos hospederos dependerá de que tan grande es la carga total de huevos que lleve la hembra. Asimismo, puede que entre más tiempo tarde buscando un nuevo hospedero, el riesgo de mortalidad incremente (Iwasa *et al.*, 1984), por lo que se tendrían que evaluar las preferencias de oviposición de la hembra. En cuanto a la correlación que existe, se sabe que pueden establecerse situaciones de denso-dependencia cuando se produce una mayor agregación de parasitoides a altas densidades de hospederos. Esta respuesta puede ser resultado de los procesos que intervienen en la búsqueda de un hospedero, como la presencia de infoquímicos o señales del ambiente cuya concentración es mayor a medida que incrementa la densidad de hospederos (Castelo y Capurro, 2000). A pesar de que no resultó significativa, la denso-dependencia inversa se observó en ambos años en la población de Tlaxiaca y se ha relacionado con la ineficiencia de la búsqueda por parte de la hembra parasitoide (Castelo y Capurro, 2000; Heimpel y Rosenheim, 1996), aunque también se ha observado que ocurre cuando los costos de migración son demasiado altos como para que la hembra parasitoide busque en otro parche (Bernstein *et al.*, 1991).

Otro factor que considerar en la variabilidad de la infestación es la vulnerabilidad local que presentan los huevos de *L. daturaphila* a los parasitoides. Factores como la dureza o delgadez del corión del huevo, su edad o la arquitectura de la puesta, pueden influenciar la capacidad del parasitoide para penetrar y ovipositar (Gross, 1993). Desde un punto de vista ecológico, es crucial para las plantas responder lo más rápido posible a la deposición de huevos para evitar que los herbívoros eclosionen y se alimenten (Pashalidou *et al.*, 2013). En el caso de *D. stramonium* sería interesante evaluar si existe una interacción directa con estos parasitoides, tal vez mediante la emisión de HIPV's que los atraigan, pues como muestran nuestros resultados, los parasitoides pueden "ayudarla" a prevenir la eclosión de la mayoría de sus enemigos.

Por otro lado, es probable que *D. stramonium* presente otros mecanismos de defensa contra los huevos de *L. daturaphila*, pues en muchas ocasiones se encontraron plantas que mostraban

signos de desecación en el tejido foliar que estaba cubierto por una puesta, algunas veces, estas puestas también estaban parasitadas. En otras plantas se ha observado la existencia de una respuesta hipersensitiva a los huevos de los insectos mediante la necrosis del tejido foliar y se ha observado que se trata de una respuesta inducida por la sustancia cementante que une los huevos a la planta (Shapiro y DeVay, 1987; Balbyshev y Lorenzen, 1997). También se ha observado que no hay necrosis si los huevos de los herbívoros son removidos luego de la deposición y que la percepción de las células vegetales depende el nivel de adhesión a la superficie de la hoja (Pashalidou *et al.*, 2013).

Variación poblacional en el parasitoidismo de las larvas de *Lema daturaphila*

Con la excepción del Pedregal, el resto de las poblaciones presentó parasitoidismo en el estado larval causado por moscas taquínidos. Existe variación poblacional en la infestación de las larvas. En ambos años, Tlaxiaca, Toluca y Teotihuacan mostraron el mayor porcentaje de parasitoidismo, aun cuando en el 2018 se colectó un pequeño número de muestras. En estas poblaciones domina la herbivoría de larvas de *L. daturaphila* (obs. pers.) y anteriormente ya se ha reportado que en Joquicingo y San Martín este crisomélido es el principal herbívoro de *D. stramonium* (Castillo *et al.*, 2014). Es común observar la presencia de moscas parasitoides en los lugares donde hay alta densidad de larvas de *L. daturaphila*, probablemente porque la concentración de las señales que usan los parasitoides para la localización del hospedero es mayor (Castelo y Capurro, 2000).

En la población de Tlaxiaca, Hernández-Cumplido (2006) reporta la presencia de parasitoides de la familia Tachinidae e Ichneumonidae en individuos de *L. daturaphila* del cuarto estadio larval. Sus resultados muestran que los parasitoides no responden de manera positiva a la densidad de herbívoros y sugiere que en su lugar podrían estar respondiendo a factores como la emisión de volátiles. En este trabajo no se midió la densidad de larvas por planta, pero se encontró una asociación positiva entre el número de larvas colectadas y el número de parasitoides que emergieron en todas las poblaciones (Figura 19). Al igual que Hernández-Cumplido (2006), se observó que la incidencia de parasitoidismo mermó la población de herbívoros. En nuestro caso, esto también se puede comprobar con la correlación negativa (aunque no significativa) entre el número de parasitoides de larva y la cantidad de huevos de *L. daturaphila* (Cuadro 8). Aunque no hay trabajos donde se detalle una identificación a nivel de género o especie de la avispa

Ichneumonidae que reporta Hernández-Cumplido (2006), por las imágenes que presenta suponemos que se trata de *Mesochorus sp.* y por lo tanto no se trata de otro parasitoide de *L. daturaphila*, sino de un hiperparasitoide de los taquínidos.

Debido a que aún en las poblaciones donde se encontró poca cantidad de larvas se encontraron parasitoides, suponemos que las estrategias de búsqueda de estas moscas son muy eficientes. Las hembras taquínidos se basan en claves olfatorias de largo rango para localizar primero el hábitat y luego al hospedero. Se sabe que las hembras pueden detectar HIPVs hasta 24 horas después de la remoción de la larva en plantas dañadas (Hanyu *et al.*, 2009). Además, a corta distancia son muy importantes estímulos físicos como el tamaño, color, textura y movimientos del hospedero, pues todo esto es un indicio de su calidad (Dindo y Nakamura, 2018). Por lo cual, sería importante evaluar la elección del parasitoide y determinar si la calidad del hospedero depende de las características de la planta.

En la población de Bernal, a pesar de la alta cantidad de larvas no se encontró una incidencia tan fuerte de parasitoidismo. Generalmente frente a las larvas los parasitoides se enfrentan a más dificultades a la hora de ovipositar, por factores como su motilidad. Además, se ha observado que las larvas cubiertas con una gruesa capa de materia fecal son menos susceptibles a ataques (Haye y Kenis, 2004) y éste es un comportamiento común en los juveniles de *L. daturaphila* (Figura 6), por lo que sería interesante evaluar si tiene algún papel defensivo.

Es indudable que para tener una perspectiva más completa de los factores que afectan el parasitoidismo sobre *L. daturaphila*, se necesitan conocer las características de los niveles tróficos inferiores, por ejemplo, si existe variabilidad en la composición química de la planta y qué papel tienen las secreciones orales de *L. daturaphila*, en la defensa o reclutamiento de parasitoides. En este tipo de interacciones tritróficas terrestres predomina la hipótesis de que dominan las fuerzas *bottom-up* (Price, 1997). Por ejemplo, se sabe que los HIPVs (que son muy importantes para la detección del hospedero del parasitoide) pueden variar con el genotipo, las condiciones ambientales donde crece la planta y la cantidad de tiempo que siguió al daño (Hare y Sun, 2011). En este estudio no se encontró ninguna relación significativa de los niveles de parasitoidismo con los factores ambientales, pero probablemente esto se pueda corroborar con un incremento en el número de

poblaciones. Es muy clara la influencia que ejercen los parasitoides de un estado sobre el otro (Figura 22) y por tanto, sería interesante evaluar las fluctuaciones en sus densidades y su efecto sobre el herbívoro y la planta, con el fin de profundizar en el papel de las fuerzas *top-down*.

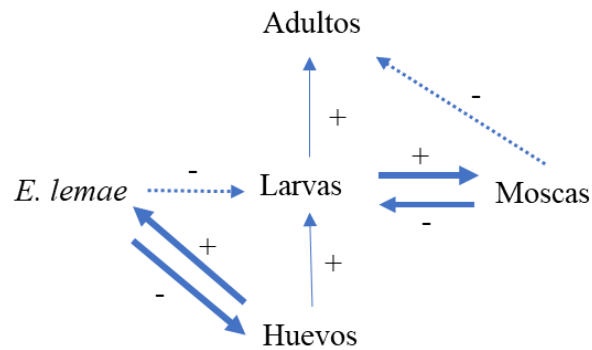


Figura 21. Interacción parasitoides-hospedero (*Lema daturaphila*).

Análisis de las secreciones orales

Los compuestos alcaloides que se encontraron en las secreciones orales de *L. daturaphila* también se encuentran presentes en su planta hospedera. Típicamente se sabe que estos compuestos no tienen una función primaria en plantas, pero que pueden ser tóxicos para sus herbívoros (Mithöfer y Boland, 2012). No obstante, los herbívoros han desarrollado contra-defensas como es el caso de la interacción entre *Passiflora* y *Heliconius*, donde estas mariposas ya no se ven afectadas por las toxinas de su planta hospedera, sino que las almacenan para protegerse de sus depredadores (Whitney y Glover, 2013). Además, en otros casos se ha visto que los compuestos tóxicos pueden servir como fagoestimulantes o claves de oviposición para los herbívoros especialistas (Fürstenberg-Hägg *et al.*, 2013).

En las poblaciones de *D. stramonium* se ha encontrado una relación positiva entre la concentración de atropina y la herbivoría de *L. daturaphila* y *E. parvula*. Además, se ha observado que plantas con alta densidad de tricomas reciben altos niveles de daño foliar, lo que sugiere que los herbívoros especialistas están adaptados a las defensas de *D. stramonium* (Castillo *et al.*, 2013; Castillo *et al.*, 2014). Incluso se ha encontrado que la escopolamina actúa como un fagoestimulante para *E. parvula* (Shonle y Bergelson, 2000). Así, la detección de estos alcaloides en las secreciones

orales de *L. daturaphila*, sugiere que el crisomélido aprovecha las defensas de su planta hospedera para su propio beneficio. Suponemos que tiene esta función porque principalmente excreta esta sustancia cuando la larva es perturbada, tal como sucede en un ataque por parasitoides.

Debido a que los escarabajos crisomélidos se alimentan de un número restringido de plantas, han desarrollado varios mecanismos anti-depredación y muchos de ellos tienen que ver con la defensa química (Pasteels *et al.*, 1988). En algunos estudios se ha demostrado que las secreciones orales pueden tener un papel defensivo contra los enemigos naturales y que esto depende del contenido tóxico que obtenga el herbívoro de su dieta (Calcagno *et al.*, 2004). Aunque este papel defensivo también puede depender de la capacidad que tengan las secreciones orales para humedecer la cutícula hidrofóbica de otros artrópodos (Rostás y Blassmann, 2009).

Estas secreciones orales podrían tener una segunda función como elicitores, ya que proveen a la planta señales químicas del ataque, desencadenando respuestas defensivas como la emisión de terpenos para la atracción de avispas parasitoides (Turlings *et al.*, 1993; Maischak *et al.*, 2007). No obstante, también a nivel de estas secreciones los insectos han desarrollado estrategias para eludir las defensas de las plantas. En *Arabidopsis* se ha observado que las secreciones orales de larvas de *Spodoptera littoralis* suprimen la activación de varios genes involucrados en la defensa de la planta y que esto se relaciona con un alto rendimiento en el crecimiento del herbívoro (Consales *et al.*, 2012). Por tanto, sería muy importante evaluar la función de las secreciones de *L. daturaphila* para esclarecer su papel en esta interacción.

En conjunto, los resultados muestran que existe variación geográfica en el parasitoidismo de *L. daturaphila*. Muy probablemente esto se pueda ligar con la variación inter-poblacional que se ha encontrado en la relación bitrófica entre *D. stramonium* y sus herbívoros. Estudios previos muestran que *L. daturaphila* “está ganando” la carrera armamentista con su planta hospedera, sin embargo, estos trabajos sólo consideran las defensas directas de *D. stramonium* y con base en ellas se ha encontrado la existencia de un Mosaico Geográfico Coevolutivo (Castillo, 2015). Ahora, la variabilidad que existe en los niveles de parasitoidismo refuerza la idea de que las poblaciones de *D. stramonium* y *L. daturaphila* están cambiando independientemente y que en algunas de ellas la interacción entre los tres niveles puede ser más fuerte. Por ejemplo, en Toluca y Tlaxiaca, la

infestación por taquínidos fue muy alta y a pesar de que se han registrado bajas concentraciones de atropina y escopolamina y alta densidad de tricomas en las plantas, el daño foliar reportado es bajo (Castillo *et al.*, 2013). Esto podría implicar que *D. stramonium* se está beneficiando de las defensas indirectas y por tanto, a nivel poblacional se podrían estar seleccionando otro tipo de estrategias defensivas no evaluadas hasta ahora. Estudios genéticos y ecológicos permitirán conocer la dinámica evolutiva de esta interacción tritrófica.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo dan un acercamiento al estudio de los parasitoides que atacan a *L. daturaphila*, herbívoro especialista de *D. stramonium*.

- A nivel taxonómico se logró la identificación de *Emersonella lemae* y los géneros *Patelloa*, *Winthemia*, *Pseudochaeta*, *Heliodoros* y *Mesochorus*. Asimismo, se encontró a una avispa parasitoide de la familia Ichneumonidae. Esto implica una contribución al conocimiento de estos grupos en México, donde es escaso el estudio y la información que se tiene sobre ellos, por lo que la mayoría son nuevos registros para el país o para el hospedero.
- Se encontró variación geográfica en la incidencia de parasitoidismo y en la composición de las especies parasitoides. Por ejemplo, en Teotihuacan hay alta incidencia de taquínidos pero no se ha encontrado a *E. lemae*. Por el contrario, en el Pedregal hay una alta mortalidad por parasitoides de huevo, pero no la presencia de taquínidos. Esta variación implica que las especies interactuantes están bajo presiones distintas a nivel local.
- Se identificaron tropano alcaloides de *D. stramonium* en las secreciones orales de *L. daturaphila*, esto es un indicio de la alta resistencia y adaptación del herbívoro a su planta hospedera.

LITERATURA CITADA

- Alborn, H., Turlings, T., Jones, T., Stenhagen, G., Loughrin, J. & Tumlinson, J. 1997. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 276: 945-949.
- Alvarenga, T., Costa, V., Hansson, C. & Carvalho, C. 2015. Two new species of *Emersonella* (Hymenoptera: Eulophidae: Entedoninae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Zoologia (Curitiba)*, 32: 145-150.

- Andraca, G. 2009. Genética de poblaciones comparada entre *Datura stramonium* y su herbívoro especialista *Lema trilineata*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.
- Arnaud, P.H. 1978. A host-parasite catalog of North American Tachinidae (Diptera). *United States Department of Agriculture. Miscellaneous Publication, 1319*: 1-860.
- Balbyshe, N. & Lorenzen, J. 1997. Hipersensitivity and egg drop: a novel mechanism of host plant resistance to colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Resistance, 90*: 652-657.
- Ballhorn, D., Kautz, S., Lion, U. & Heil, M. 2008. Trade-offs between direct and indirect defenses of lima bean (*Phaseolus lunatus*). *Journal of Ecology, 96*: 971-980.
- Bernays, E. & Graham, M. 1988. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology 69*: 886-892.
- Bernstein, C., Kacelnik, A. & Krebs, J. 1991. Individual decisions and the distribution of predators in a patchy environment. II. The influence of travel costs and structure of the environment. *Journal of Animal Ecology, 60*: 205-225.
- Bin, F., Vinson, S., Strand, M., Colazza, S., Jones, W. 1993. Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis*, a parasitoid of *Nezara viridula*. *Physiological Entomology, 18*: 7-15.
- Bittner, N., Trauer-Kizilelma, U. & Hilker, M. 2017. Early plant defence against insect attack: involvement of reactive oxygen species in plant responses to insect egg deposition. *Planta, 245*: 993-1007.
- Boivin, G. 2010. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. *Neotropical Entomology, 39*: 457-463.
- Briggs, C., Nisbet, M. & Murdoch, W. 1993. Coexistence of competing parasitoid species on a host with a variable life cycle. *Theoretical Population Biology, 44*: 341-373
- Broad, G. 2012. *Key for the identification of British and Irish nocturnal Ichneumonidae*. London: Natural History Museum.
- Cabrales, R. 1991. Demografía e historia natural de *Datura stramonium* L. en el Pedregal de San Ángel con algunas implicaciones evolutivas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Calcagno, M., Avila, J., Rudman, I., Otero, L. & Alonso-Amelot, M. 2004. Food-dependent regurgitate effectiveness in the defence of grasshoppers against ants: the case of bracken-fed *Abracris flavolineata* (Orthoptera: Acrididae). *Physiological Entomology, 29*: 123-128.

- Castelo, M. y Capurro, A. 2000. Especificidad y denso-dependencia inversa en parasitoides con oviposición fuera del hospedador: el caso de *Mallophora ruficauda* (Diptera: Asilidae) en la Pampa Argentina. *Ecología Austral*, 10: 89-101.
- Castillo, G. 2010. Variación geográfica de caracteres defensivos en *Datura stramonium*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.
- Castillo, G., Cruz, L., Hernández-Cumplido, J., Oyama, K., Flores-Ortiz, C., Fornoni, J., Valverde, P., & Núñez-Farfán, J. 2013. Geographic association and temporal variation of chemical and physical defense and leaf damage in *Datura stramonium*. *Ecological Research*, 28: 663-672.
- Castillo, G., Cruz, L.L., Tapia-López, R., Olmedo-Vicente, E., Carmona, D., et al. 2014. Selection mosaic exerted by specialist and generalist herbivores on chemical and physical defense of *Datura stramonium*. *PLOS ONE* 9: 1-7.
- Castillo, G. 2015. Adaptación local en la interacción *Datura stramonium*-herbívoro. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, UNAM. México, D. F.
- Chittenden, F. 1924. *Lema trilineata* Oliv. (Coleop.) controlled by an egg parasite. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 26: 46-48.
- Chung, H., Rosa, C., Scully, E., Peiffer, M., Tooker, J., Hoover, K., Luthe, D. & Felton, G. 2013. Herbivore exploits orally secreted bacteria to suppress plant defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: 15728-15733.
- Colazza, S. & Wajnberg, E. 2013. Chemical ecology of insect parasitoids: towards a new era. En: Wajnberg, E. & Colazza, S. (Eds). *Chemical ecology of insect parasitoids* (pp. 1-8). Oxford: John Wiley & Sons, Ltd.
- CONAGUA. 2019. *Resúmenes mensuales de temperaturas y lluvia*. Gobierno de México. Recuperado el 29 de septiembre de 2019, de <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias>
- Connahs, H., Rodríguez-Castañeda, G., Walters, T., Walla, T. & Dyer, L. 2009. Geographic variation in host-specificity and parasitoid pressure of an herbivore (Geometridae) associated with the tropical genus *Piper* (Piperaceae). *Journal of Insect Science*, 9: 1-11.

- Consales, F., Schweizer, F., Erb, M., Gouhier-Darimont, C., Bodenhausen, N., Bruessow, F., Sobhy, I. & Reymond, P. 2012. Insect oral secretions suppress wound-induced responses in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 63: 727-737.
- Corcket, E., Giffard, B. & Sforza, R. 2017. Chapter Four: Food webs and multiple biotic interactions in plant-herbivore models. Editors: Sauvion, N., Thiéry, D., Calatayud, P. *Advances in Botanical Research*, 81: 11-137.
- Craig, T., Itami, J. & Horner, J. 2007. Geographic variation in the evolution and coevolution of a tritrophic interaction. *Evolution*, 61: 1137-1152.
- Dasch, C. E. 1974. *Neotropic Mesochorinae (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. Memoirs of the American Entomological Institute. Michigan, U.S.A.
- De-la-Cruz, I., Cruz, L., Martínez-García, L., Valverde, P., Flores-Ortiz, C., Hernández-Portilla, L. & Núñez-Farfán, J. En revision. Population differentiation in microsatellite loci, tropane alkaloids and leaf trichomes density in *Datura stramonium*. *Arthropod-Plant Interactions*.
- Dindo, M. y Nakamura, S. 2018. Oviposition strategies of tachinid parasitoids: two *Exorista* species as case studies. *International Journal of Insect Science*, 10: 1-6.
- Ehrlich, P. & Raven, P. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, 18: 586-608.
- Fatouros, N., Lucas-Barbosa, D., Weldegergis, B., Pashalidou, F. van Loon, J., Dicke, M., Harvey, J., Gols, R. & Huigens, M. 2012. Plant volatiles induced by herbivore egg deposition affect insects of different trophic levels. *PLOS ONE*, 7: 1-13.
- Fernández, F. y Sharkey, M. 2006. *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia: Guadalupe Ltda.
- Forbes, A. & Funk, A. 2013. Aspects of the natural history of *Neochlamisus* (Coleoptera: Chrysomelidae) II: Characterization of parasitoid guilds from different plant hosts. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 106: 818-831.
- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M. & Bak, S. 2013. Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 10242-10297.
- Futuyma, D. & Agrawal, A. 2009. Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 18054-18061.

- Garrido, E. 2004. Efecto de la tolerancia en líneas endogámicas de *Datura stramonium* sobre el desempeño de *Lema trilineata*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Girault, A. 1916. Notes on described Chalcidoid hymenoptera with new genera and species. *Societas entomologica, Frankfurt*, 57: 35-38.
- Grant, J. 2006. Diversification of gut morphology in caterpillars is associated with defensive behavior. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 3018-3024.
- Godfray, H. 1994. *Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Princeton N.J.
- Gross, P. 1993. Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 38: 251-273.
- Guimarães, J. H. 1972. A revision of the genus *Winthemia* Robineau-Desvoidy in America North of Mexico (Diptera, Tachinidae). *Arquivos de Zoologia*, 22: 27-112.
- Hairston, N., Smith, F. & Slobodkin, L. 1960. Community structure, population control and competition. *The American Naturalist*, 94: 421-425.
- Hansson, C. 2002. *Eulophidae of Costa Rica* (Hymenoptera: Chalcidoidea). Gainesville, Florida: The American Entomological Institute.
- Hanyu, K., Ichiki, R., Nakamura, S. & Kainoh, Y. 2009. Duration and location of attraction to herbivore-damaged plants in the tachinid parasitoid *Exorista japonica*. *Applied Entomology and Zoology*, 44: 371-378.
- Hare, D. & Sun, J. 2011. Production of induced volatiles by *Datura wrightii* in response to damage by insects: effect of herbivore species and time. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 751-764.
- Hare, D. & Weseloh, R. 2009. Host seeking, by parasitoids. En: Resh, V., & Cardé, R. (Eds.) *Encyclopedia of Insects* (pp. 463-466). California: Academic Press.
- Hawkins, B., Cornell, H. & Hochberg, M. 1997. Predators, parasitoids and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology*, 78: 2145-2152.
- Haye, T. & Kenis, M. 2004. Biology of *Lilioceris spp.* (Coleoptera: Chrysomelidae) and their parasitoids in Europe. *Biological control*, 29: 399-408.
- Heimpel, G. & Rosenheim, J. 1996. Egg limitation, host quality, and dynamic behavior by a parasitoid in the field. *Ecology*, 72: 2410-2420.

- Hernández-Cumplido, J. 2006. Historia natural de la interacción tritrófica entre la planta *Datura stramonium*, dos insectos herbívoros, un depredador de semillas pre-dispersión y los parasitoides asociados. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, Hidalgo.
- Hilker, M. & Fatouros, N. 2015. Plant responses to insect egg deposition. *The Annual Review of Entomology*, 60: 26.1-26.23.
- Hunter, M. & Price, P. 1992. Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology*, 73: 724-732.
- Iwasa, Y., Suzuki, Y. & Matsuda, H. 1984. Theory of oviposition strategy of parasitoids. I. Effect of mortality and limited egg number. En: Rosenberg, N. (Ed.) *Theoretical population biology* (pp. 205-227). Elsevier.
- Karban, R. & Agrawal, A. 2002. Herbivore offense. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33: 641-664.
- Kogan, M. y Goeden, R. 1970. The biology of *Lema trilineata daturaphila*, (Coleoptera: Chrysomelidae) with notes on efficiency of food utilization by larvae. *Annals of the Entomological Society of America*, 63: 537-546.
- Llamas, L. 2010. Efecto de la frecuencia de la estrategia defensiva de la planta *Datura stramonium* sobre la preferencia de oviposición de su herbívoro especialista *Lema trilineata*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Maischak, H., Grigoriev, P., Vogel, H., Boland, W. & Mithöfer, A. 2007. Oral secretions from herbivorous lepidopteran larvae exhibit ion channel-forming activities. *Federation of European Biochemical Societies*, 581: 898-904.
- Meiners, T. & Hilker, M. 1997. Host location in *Oomyzus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of the elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia*, 112: 87-93.
- Mills, N. 2009. Parasitoids. En: Resh, V. & Cardé, R. (Eds.). *Encyclopedia of insects* (pp. 748-751). University of California: Academic Press.
- Mithöfer, A. & Boland, W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review Plant Biology*, 63: 431-450.

- Moreira, X., Abdala-Roberts, L., Parra-Tabla, V. & Mooney, K. 2015. Latitudinal variation in herbivory: influences of climatic drivers, herbivore identity and natural enemies. *Oikos*, 124: 1444-1452.
- Natural History Museum. 2019. *Universal Chalcidoidea Database*. London. Recuperado el 25 de junio de 2019, de <https://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/database/>
- Norman, G. y Streiner, D. 2008. *Biostatistics: the bare essentials*. Canadá: People's Medical Publishing House.
- Núñez-Farfán, J. 1991. Biología evolutiva de *Datura stramonium* en el centro de México: selección natural de la resistencia a los herbívoros, sistema de cruzamiento y variación genética intra e interpoblacional. Tesis de doctorado. UNAM. México, D.F.
- Núñez-Farfán, J. & Dirzo, R. 1994. Evolutionary ecology of *Datura stramonium* L. in Central Mexico: natural selection for resistance to herbivorous insects. *Evolution*, 48: 423-436.
- Ode, P. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, 51: 163-185.
- O'Hara, J. E. & Wood, D. M. 2004. Catalogue of the Tachinidae (Diptera) of America north of Mexico. *Memoirs on Entomology, International*, 18: iv + 410 pp.
- Omer-Cooper, J. & Miles, P. 1951. On *Lema trilineata*, a beetle closely resembling the tobacco slug, attacking the cape gooseberry. *Suid-Afrikaanse Joernaal van Wetenskap*. pp. 330-333.
- Pashalidou, F., Lucas-Barbosa, D., van Loon, J., Dicke, M. & Fatouros, N. 2013. Phenotypic plasticity of plant response to herbivore eggs: effects on resistance to caterpillars and plant development. *Ecology*, 94: 702-713.
- Pasteels, J. M., Braekman, J. C. & Daloze, D. 1988. Chemical defence in the Chrysomelidae. In *Biology of chrysomelidae* (ed. P. Jolivet, E. Petitpierre & T. H. Hsiao), pp. 233-252. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer.
- Price, P. 1997. *Insect ecology*. 3rd ed. John Wiley, New York.
- Riley, E., Clark, S. & Seeno, T. 2003. *Catalog of the leaf beetles of America north of Mexico*. Coleopterists Society, Sacramento, Texas.
- Rostás, M. & Blassmann, K. 2008. Insect had it first: surfactants as a defence against predators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276: 633-638.
- SAS Institute Inc. 2012. JMP version 10. SAS Publishing. North Carolina, USA.

- Shapiro, A.M. & DeVay, J. E. 1987. Hypersensitivity reaction of *Brassica nigra* L. (Cruciferae) kills eggs of *Pieris* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Oecologia* (Berl.), 71: 631-632.
- Shonle, I. & Bergelson, J. 2000. Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution*, 54: 778-788.
- Sistema Meteorológico Nacional. 2019. *Información estadística climatológica: Normales Climatológicas por Estado*. Gobierno de México. Recuperado el 10 de Agosto de 2019, de <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado>
- Sword, G. 2001. Tasty on the outside, but toxic in the middle: grasshopper regurgitation and host plant-mediated toxicity to a vertebrate predator. *Oecologia*, 128: 416-421.
- Tachinidae Resources. 2017. *TachImage Gallery*. North American Diperists Society. Recuperado el 9 de octubre de 2019, de <http://www.nadsdiptera.org/Tach/WorldTachs/Tachgallery/Tachgalleryhom.html>
- Termonia, A., Pasteels, J., Windsor, D., Milinkovitch, M. 2001. Dual chemical sequestration: a key mechanism in transitions among ecological specialization. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269: 1-6.
- Thompson, J. 2005. *The geographic mosaic of coevolution*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Turlings, T., Tumlinson, J., Eller, F., & Lewis, W. 1991. Larval-damaged plants: source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the micro-habitat of its hosts. *Entomol. Exp. Appl.*, 58: 75-82.
- Turlings, T., McCall, P., Alborn, H., & Tumlinson, J. 1993. An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 411-425.
- Turlings, T. & Erb, M. 2018. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annual Review of Entomology*, 68: 433-452.
- Weaver, S. E. & Warwick, S.I. 1984. The biology of Canadian weeds. *Canadian Journal of Plant Science*, 64: 979-991.
- Whitney, H. & Glover, B. 2013. Coevolution: plant-insect. En John Wiley & Sons, Ltd (Eds.). *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester. Pp. 1-8.

- Witte, L., Müller, K. & Arfmann, H. 1987. Investigation of the alkaloid pattern of *Datura innoxia* plants by capillary gas-liquid-chromatography-mass spectrometry. *Planta medica*, 53: 192-197.
- Wilkinson, D. & Sherratt, T. 2016. Why is the world green? The interactions of top-down and bottom-up processes in terrestrial vegetation ecology. *Plant Ecology and Diversity*, 9: 127-140.
- Wood, D. 1987. Tachinidae. En: Brown, B., Borkent, A., Cumming, J., Wood, D., Woodley, N. & Zumbado, M. (Eds). *Manual of Nearctic Diptera. Agriculture Canada*, Vol. 2, Research Branch Agriculture Canada, Ontario, 1193-1269.
- Zetina, D., Romero-Napoles, J., Contreras-Ramos, A. & Carrillo-Sánchez, J. 2018. Checklist of Tachinidae (Insecta, Diptera) in Mexico. *Transactions of the American Entomological Society*, 144: 1-90.