



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**PARÁMETROS DE LAS INTERACCIONES PLANTA-HERBÍVOROS-
ENEMIGOS NATURALES EN *Schoepfia schreberi* J.F. GMEL.
(OLACACEAE): EL FRUTO ES EL DETALLE**

MAURILIO LÓPEZ ORTEGA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

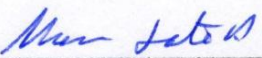
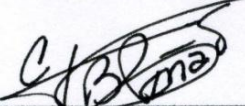

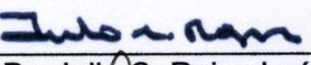
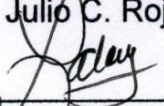
MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada “**Parámetros de las interacciones planta-herbívoros-enemigos naturales en *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel. (Olacaceae): El fruto es el detalle**”, realizada por el alumno Maurilio López Ortega, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
BOTÁNICA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 _____
	Dr. R. Marcos Soto Hernández
ASESORA	 _____
	Dra. Cecilia B. Peña Valdivia
ASESOR	 _____
	Dr. Víctor Rico-Gray
ASESOR	 _____
	Dr. Julio C. Rojas León
ASESOR	 _____
	Dr. Lauro López Mata

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre de 2012

**PARÁMETROS DE LAS INTERACCIONES PLANTA-HERBÍVOROS-ENEMIGOS
NATURALES EN *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel. (Olacaceae): EL FRUTO ES
EL DETALLE**

**Maurilio López Ortega, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2012**

En este trabajo se describe de manera general las interacciones de las especies de herbívoros asociados a los frutos de *Schoepfia schreberi* (Olacaceae). La investigación se llevó a cabo en tres sitios experimentales durante tres años (2009-2011). Los arbustos de *S. schreberi* producen frutos de enero a mayo, periodo en el que se establecen relaciones directas e indirectas por el uso de sus frutos entre la mosca de la fruta *Anastrepha spatulata* (Diptera: Tephritidae), dos especies de palomillas; *Coleotechnites* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) y una especie de tortricido no identificada, y dos especies de hemípteros *Ramosiana insignis* y *Vulcirea violacea* (Hemiptera-Heteroptera: Pentatomidae). Con *A. spatulata* y las palomillas se evaluó la acción de diversas especies de parasitoides en los estados inmaduros de éstas. Los experimentos de campo revelaron que *A. spatulata* posee superioridad competitiva, ya que individuos de esta especie infestaron un mayor número de frutos, desplazando significativamente a las palomillas. La presencia, en espacio y tiempo de poblaciones de *R. insignis* en el uso de los frutos de *S. schreberi*, regula las poblaciones de *A. spatulata* y niveles tróficos superiores. La dinámica poblacional de *R. insignis* fue afectada por la precipitación pluvial en contraste, *A. spatulata* incrementa sus poblaciones en ambos sitios de estudio. La heterogeneidad del hábitat, contribuye a la relaciones planta-herbívoros y niveles tróficos superiores. En general, los resultados indican

la ocurrencia de un nivel de coexistencia en el uso de los frutos por las especies de insectos estudiadas, aunque la acción en gremio de todas las especies induce a una limitada formación de semillas, las semillas tienen una viabilidad de más del 60%. La percepción y respuesta a las señales químicas de *S. schreberi* por parte de *R. insignis* es clave para que las hembras encuentren los sitios adecuados de oviposición. Las características físicas de los frutos, son seleccionadas antes de ovipositar en el caso de *A. spatulata*.

Los análisis fitoquímicos mostraron una mayor cantidad y calidad de flavonoides en los extractos crudos de hojas, mientras que en los extractos de frutos se identificaron terpenoides.

Palabras clave: *Anastrepha spatulata*, relaciones planta–insecto, depredación de frutos y semillas, *Coleotechnites* sp, parasitoides, coexistencia, búsqueda de hospedero, preferencia de oviposición, repartición del recurso.

PARAMETERS OF THE INTERACTIONS PLANT-HERBIVORES-NATURAL ENEMIES IN *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel. (Olacaceae): THE DETAIL LIES IN THE FRUIT

**Maurilio López Ortega, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2012**

In this paper the general interactions of herbivorous species associated with the fruits of the plant *Schoepfia schreberi* (Olacaceae) are described. The study was performed in three experimental sites for three years (2009-2011). Shrubs of *S. schreberi* produce fruits during January through May, a period during which direct and indirect relationships are established among the species that exploit these fruits including: the fruit fly *Anastrepha spatulata* (Diptera: Tephritidae), two species of moths [*Coleotechnites* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) and an unidentified tortricid species], and two species of Hemiptera: *Ramosian insignis* and *Vulcirea violacea* (Hemiptera-Heteroptera: Pentatomidae). In *A. spatulata* and moths the action of natural enemies was evaluated, particularly focusing on different parasitoid species of the immature stages. Field experiments showed that *A. spatulata* is a superior competitor because females of this species infested more fruit, and displaced a large proportion of the moth population. The presence in space and time of populations of *R. insignis* that feed on the fruits of *S. schreberi*, regulate populations of flies and those of higher trophic levels. The population dynamics of *R. insignis* between years was affected by rainfall. In contrast populations of *A. spatulata*, increased at both study sites. Habitat heterogeneity contributed to the dynamics of plant-herbivore interactions and those of higher trophic levels. Overall, the results indicate the occurrence of a level of coexistence

in the use of *S. schreberi* fruits for the phytophagous insect species tested. Although the action of the entire species guild resulted in reduced seed set, seeds had a viability of more than 60%. The perception and response to chemical cues from *S. schreberi* by *R. insignis* seem to be key to the females' ability to locate suitable oviposition sites. In the case of *A. spatulata*, the physical characteristics of the fruits seem to be the primary criteria for host acceptance. Phytochemical analysis revealed a higher quantity of flavonoids in fractions of crude extracts of leaves, whereas in fractions of extracts of fruits, terpenoid were identified.

Keywords: *Anastrepha spatulata*, plant–insect interactions, fruit-seed predators, *Coleotechnites* sp, parasitoids, species coexistence, host-finding behavior, oviposition preference, resource sharing.

Agradecimientos

Al pueblo de México, que con sus contribuciones sostiene al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), el cual me otorgó una beca para realizar mis estudios de doctorado. Al Colegio de Postgraduados por permitirme formarme en sus aulas y hacer uso de sus instalaciones. Al Programa de Mejoramiento al Profesorado (PROMEP) por la beca tesis No. 103.5/11/5784 (UV-525) para concluir este documento.

Al Dr. R. Marcos Soto Hernández, mi consejero por su destacado papel como investigador y profesor, particularmente por su calidad humana y sencillez en el constante y valioso apoyo en el proceso de mis estudios de doctorado.

A la Dra. Cecilia B. Peña Valdivia. Por sus observaciones y recomendaciones para mejorar este trabajo, y con ello, mis habilidades como investigador.

De manera particular reconozco al Dr. Víctor Rico-Gray por hacerme un adepto de las interacciones ecológicas, un concepto verdaderamente interesante por su complejidad.

De igual forma mi gratitud al Dr. Julio C. Rojas León por su valiosa orientación y oportunos argumentos en el trabajo, pero sobre todo, por brindarme siempre su apoyo y amistad.

Al Dr. Lauro López Mata como profesor y consejero, gracias por sus acertadas sugerencias.

Al Dr. Edmundo García Moya, a quien expreso mi reconocimiento por sus enseñanzas y amables consejos.

Mi agradecimiento a Paulino Pérez-Rodríguez por su valiosa colaboración, tu ayuda en los análisis de datos, fue sin hacerme sentir incomodo ante mi frustrante estadística.

A René Valdez Lazalde y familia por su amistad y por hacerme agradable la estancia en esta ciudad.

Al personal y compañeros del laboratorio y cursos por las facilidades y apoyo brindado durante mis estudios: Rubén San Miguel, Mercedes Alvarado, Domingo González, Emanuel Ibarra, Mariana Palma, Teresa Uriostegui, José Agapito.

A los profesores del Colegio de Postgraduados, por transmitir sus conocimientos y contribuir en mi formación académica.

Deseo destacar con una gratitud inmensa el apoyo brindado por el Dr. Trevor Williams, Francisco Díaz-Fleisher, Diana Pérez-Staples, Jaime Piñero, Emanuel Herrera, Castulo Covarrubias Luis Cervantes, Lázaro Sánchez, Juan C. Carrazana y Ángel Ortiz-Ceballos, los cuales de una forma u otra se han ocupado y preocupado por mi superación, brindándome además todo su apoyo de manera incondicional.

Por supuesto a todos los que irreflexivamente omití.....

Sinceramente.....Gracias a la vida por todo lo que tenemos, porque nadie sabe cuando lo perderemos.

DEDICATORIA:

A mi familia, madre, hermanos (as) y sobrinos (as), en especial a la familia Faisal León y Arias Faisal por su apoyo constante sin esperar nada a cambio, por enseñarme que no importa el camino que haya que recorrer cuando uno quiere alcanzar un objetivo. Gracias por estar siempre a mi lado!!!

CONTENIDO

Introducción general.....	1
Capítulo I. Dinámica de las interacciones entre depredadores de frutos-semillas y sus parasitoides en <i>Schoepfia schreberi</i> J.F. Gmel (Olacaceae).....	7
Resumen.....	7
Abstract.....	8
Introducción.....	8
Materiales y métodos.....	10
Sitios de estudio.....	10
Sistema de estudio: planta e insectos.....	11
Diseño experimental.....	13
Recolecta de frutos, evaluación de la comunidad de insectos y semillas.....	14
Pruebas de infestación y viabilidad de la semilla.....	16
Pruebas de germinación.....	17
Análisis estadísticos.....	18
Resultados.....	18
Nivel de infestación los insectos y efecto en la producción de semillas.....	18
Fluctuaciones en la cantidad frutos y niveles de infestación por año.....	22
Infestación y germinación de semillas.....	26
Discusión.....	26
Conclusiones.....	30
Literatura citada.....	31
Capítulo II. Interacciones en el uso y repartición de los frutos infestados por insectos en <i>Schoepfia schreberi</i> J.F. Gmel (Olacaceae).....	38
Resumen.....	38
Abstract.....	38
Introducción.....	39
Materiales y métodos.....	41

Sitios experimentales.....	41
Insectos.....	41
Exclusión de insectos.....	41
Uso de los frutos como sitios de oviposición o alimentación: Interacciones directas.....	43
Alimentación de <i>R. insignis</i> entre frutos sanos y frutos ovipositados por <i>A. spatulata</i>	44
Análisis estadístico.....	45
Resultados.....	47
Exclusión de insectos y su impacto en la producción de semillas.....	47
Efecto de las interacciones directas entre insectos.....	49
Factores que influyen el uso de los frutos como sitios de oviposición.....	51
Discusión.....	52
Selección y uso del recurso.....	52
Efecto de la depredación de frutos en la producción de semillas viables.....	53
Efecto de las interacciones directas entre insectos.....	54
Conclusiones.....	55
Literatura citada.....	55
Capítulo III Hembras de <i>Ramosiana insignis</i> (Hemiptera: Pentatomidae) ponen sus huevos lejos de la planta hospedera, pero son atraídas por los volátiles de ésta..	59
Resumen.....	59
Abstract.....	59
Introducción.....	60
Materiales y métodos.....	62
Sitios experimentales.....	62
Planta.....	62
Insectos.....	62
Aceptación y preferencia del sitio de oviposición (condiciones de campo).....	63
Preparación de los bioensayos.....	64
Respuesta comportamental de los insectos.....	65

Análisis	
estadístico.....	66
Resultados.....	67
Número de huevos puestos en las plantas hospederas y en la no hospedera.....	67
Respuesta comportamental de <i>R. insignis</i> hacia los olores/volátiles de la planta Hospedera.....	69
Probabilidades y tiempo de elección.....	72
Discusión.....	73
Conclusiones.....	76
Literatura citada.....	77
Capitulo IV Análisis de extractos crudos de <i>Schoepfia schreberi</i> J.F. Gmel (Olacaceae).....	83
Resumen.....	83
Abstract.....	83
Introducción.....	83
Materiales y métodos.....	85
Sitios de recolecta del material biológico.....	85
Secado y molido del material.....	85
Extracción con solvente orgánico.....	86
Análisis de los extractos mediante cromatografía en capa fina (CCF).....	87
Fraccionamiento de los extractos por cromatografía en columna (CC).....	88
Resultados y discusión.....	90
Conclusiones.....	101
Literatura citada.....	102
Discusión general.....	105
Literatura citada.....	111
Conclusiones generales.....	117
Literatura citada general.....	118

Anexo 1 cuadros.....	138
Anexo 2 figuras.....	139

ÍNDICE DE CUADROS

Pág.

Capítulo I

- Cuadro 1. Cálculo del tamaño de muestra obtenido para determinar el número de árboles de *Schoepfia schreberi*.....14
- Cuadro 2. Resultados de los análisis de varianza para variables del número de frutos y semillas y el uso por las especies de insectos durante tres años de estudio (2009-2011).....23

Capítulo II

- Cuadro 1. Coeficientes estimados para el modelo (1) exclusión de insectos. La comparación de los tratamientos se hizo con el control sin insectos (T5). Las tasas de ataque son más altas en el tratamiento sin proteger (T6), y en los tratamientos con hemípteros (T2y T4).....48
- Cuadro 2. Coeficientes estimados de las variables que afectan la selección de frutos de *Schoepfia schreberi* por *Anastrepha spatulata*.....51

Capítulo III

- Cuadro 1. Respuesta de atracción de *Ramosiana insignis* machos y hembras a diferentes tratamientos con material de su planta hospedera *Schoepfia schreberi*.....70
- Cuadro 2. Coeficientes estimados para la respuesta de hembras y machos de *Ramosiana insignis* en las probabilidad de elegir los diferentes tratamientos, en respuesta al tiempo, tomando como base el tratamiento.....72

Capítulo IV

Cuadro 1. Cantidad obtenida del material de cuatro partes vegetativas de la planta <i>Schoepfia schreberi</i>	86
Cuadro 2. Rendimiento de los extractos de las cuatro partes vegetativas de la planta <i>Schoepfia schreberi</i>	91
Cuadro 3. Número de fracciones de hojas y frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> extraídos con tres diferentes compuestos por columna, su clave y el peso de la muestra analizadas.....	94
Cuadro A-1. Resultados del número de fracciones por columna; peso y rendimiento final de los compuestos de hojas de <i>Schoepfia schreberi</i> extraídos con hexano, diclorometano y metanol.....	1
Cuadro A-2. Resultados del número de fracciones por columna; peso y rendimiento final de los compuestos de frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> extraídos con hexano, diclorometano y metanol.....	1

ÍNDICE DE FIGURAS

Introducción

Figura 1. Interacciones multitróficas en frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> . El uso de los recursos establece la competencia indirecta (líneas punteadas) o la competencia directa o interferencia (líneas solidas) por otros organismos.....	5
--	---

Capítulo I

Figura 1. Mapa y ubicación de los sitios de estudio en El estado de Veracruz México.....	11
Figura 2. Ubicación de árboles de <i>Schoepfia schreberi</i> en el área de Osto en una superficie de aproximadamente 60 has, símbolos en rojo indican la ubicación de los 36 árboles muestreados, mas la ubicación de 78 árboles no muestreados.....	14
Figura 3. A) trampa colocada en campo, B) Recipiente de plástico que retiene los insectos, C) Tubo o cilindro de pvc para retener los frutos, D) Sustrato de pupación.....	15
Figura 4. Frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> (A) visualizados a través de una máquina de rayos X (B). Los frutos presentan en su interior el daño por las diferentes especies de insectos de izquierda a derecha <i>Coleotechnites</i> n. sp, <i>Anastrepha spatulata</i> , <i>Ramosiana insignis</i> y fruto sin daño con semilla viable (C).....	17
Figura 5. Cantidad de frutos por unidad de área recolectados en trampas y el número total de semillas viables durante la temporada de fructificación, en La Camelia (A) y en Osto (C), número de insectos obtenidos de los frutos recolectados en La Camelia (B) y en Osto (D) durante 2009, 2010 y 2011.....	19

Figura 6. Temperatura promedio en Alamo (A) y Osto (B), Veracruz, México, registrada durante el estudio, de diciembre a mayo de 2009, 2010 y 2011.....	20
Figura 7. Precipitación promedio en Alamo (A) y Osto (B), Veracruz, México, registrada durante el estudio, de diciembre a mayo de 2009, 2010 y 2011, precipitación promedio mensual de 10 años de 2002 a 2011 en los sitios de estudio (C).....	20
Figura 8. Temperatura promedio mensual de 10 años de 2009 a 2011 en los sitios de estudio (A). Temperatura promedio, mínima y máxima en Alamo (B) y en Osto (C) Veracruz, México.....	21
Figura 9. Relación entre el número de frutos recolectados por unidad de área y el número de <i>Anastrepha spatulata</i> que emergen de ellos ($P= 0.0020$, $y = \text{número de } A. \text{ spatulata } \times \text{número de frutos}$).....	22
Figura 10. Fluctuaciones a través de los años del número de semillas producidas y de las poblaciones de insectos herbívoros y sus parasitoides asociados a frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> en Alamo (A) y en Osto (B) Veracruz, México durante tres años de estudio (2009, 2010 y 2011).....	24
Figura 11. Número de <i>Anastrepha spatulata</i> (<i>A. spatulata</i>) y sus parasitoides (<i>Asp-parasitoid</i>) por árbol en relación con el grado de infestación de <i>Ramosiana insignis</i> (<i>R. insignis</i>) y la cantidad de frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> (Frutos) en Alamo (A) y en Osto (B).....	25
Figura 12. Análisis del número de <i>Ramosiana insignis</i> en relación al número de frutos por árbol de <i>Schoepfia schreberi</i> en Alamo (A) y en Osto (B) durante tres años de estudio (2009-2011).....	26

Capítulo II

Figura 1. Hembras de <i>A. spatulata</i> en frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> : al inicio de la temporada (A), buscando (B), ovipositando (C), marcando el fruto ovipositado (D).....	43
--	----

Figura 2. Elección de frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> por <i>Anastrepha spatulata</i> Hembra ovipositando (A) hembra buscando (B) hembra ovipositando (C) Hembra marcando el fruto ovipositado (D).....	44
Figura 3. Elección de <i>Ramosiana insignis</i> entre frutos infestados y no infestados.....	45
Figura 4. Promedio de las frecuencias de los frutos utilizados por los insectos en cada tratamiento (A), porcentaje de frutos con semillas viables producidas por tratamiento (B). Los tratamientos fueron: 1= palomillas (dos especies), 2= palomillas + hemípteros 3= <i>Anastrepha spatulata</i> (acceso solo a <i>A.</i> <i>spatulata</i>) 4= <i>Anastrepha spatulata</i> + hemípteros 5= control (protegido), 6= sin exclusión (no protegido).....	49
Figura 5. Semillas producidas por la interacción de palomillas y <i>A. spatulata</i> con <i>Ramosian insignis</i> o <i>Vulcirea violacea</i>	50
Figura 6. Porcentaje de individuos de <i>Anastrepha spatulata</i> obtenidos sin competencia y con interacción entre cada una y todas las especies.....	50
Figura 7. Probabilidad de oviposición por <i>Anastrepha spatulata</i> en dependencia del peso y anchura de los frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> modelado como $p = \frac{\exp(-0.7930Anchura + 31.0245Peso)}{1 + \exp(-0.7930Anchura + 31.0245Peso)}$, con los coeficientes estimados del modelo jerárquico binario.....	52

Capítulo III

Figura1. Hembra <i>Ramosiana insignis</i> cuidando sus huevos en su planta hospedera <i>Schoepfia schreberi</i> (A) Hembra <i>R. insignis</i> con progenie emergida en la planta no hospedera <i>Coffea arabica</i> (B).....	64
Figura 2. Representación gráfica de los ensayos de comportamiento de respuesta de atracción de <i>Ramosiana insignis</i> a los diferentes tratamientos utilizando un olfatómetro en forma de Y.....	66

Figura 3. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de <i>Ramosiana insignis</i> en plantas manipuladas (control del sitio de oviposición) y no manipuladas (elección natural del sitio de oviposición) en condiciones de campo.....	67
Figura 4. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de <i>Ramosiana insignis</i> en la planta hospedera y en la no hospedera (no manipuladas).....	68
Figura 5. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de <i>Ramosiana insignis</i> en la planta hospedera y en la no hospedera (manipuladas).....	68
Figura 6. Efecto del periodo en días en que ocurrió la oviposición de hembras de <i>Ramosiana insignis</i> en plantas hospederas vs no hospederas (manipuladas).....	69
Figura 7. Probabilidades estimadas de selección de tratamientos vs testigo para <i>Ramosiana insianis</i> (A) hembras (B) (machos) como función del tiempo.	71

T-1 hojas frescas ○ T-2 corteza fresca ● T-3 extracto de Hojas ○ T-4 extracto corteza ● T-5 volátiles hojas frescas ● T-6 volátiles corteza ○

Capítulo IV

Figura 1. Procedimiento para la obtención de extractos de cuatro partes vegetativas de la planta <i>Schoepfia schreberi</i>	87
Figura 2. Placas cromatográficas de los extractos, de arriba hacia abajo: hexano, diclorometano y metanol y de izquierda a derecha: M: Madera, C: Corteza, H: Hoja: F: Frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> . Placas vistas bajo luz ultravioleta de onda larga (1) y revelada con Vainillina (2).....	88
Figura 3. Procedimiento para la separación de los compuestos presentes en los extractos de hojas y frutos de la planta <i>Schoepfia schreberi</i>	89
Figura 4. La placa de compuestos de hojas (arriba) y frutos (abajo) revelada para flavonoides y terpenoides evidenció similitudes en la zona de alta polaridad, separación de los compuestos presentes en los extractos de hojas y frutos de la planta <i>Schoepfia schreberi</i>	92

Figura 5. Cromatografía en capa fina, de fracciones (18, 32,35, 40 y 45) de compuestos metanólicos de hojas revelada para flavonoides; Luz UV (254nm) (A); Vapores de NP al 1% + PolietilenGlicol al 5% (B).....	93
Figura 6. Placa de cromatografía de capa fina con fase móvil para flavonoides: sin revelar luz blanca (A), con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) (B), de onda larga (366 nm) sin revelar (C) y de onda larga (366 nm) revelada (D), los carriles 1 y 2 de cada figura corresponden a hojas (H) y los carriles 3 y 4 a frutos.....	95
Figura 7. Placa de cromatografía de capa fina con fase móvil para terpenoides: sin revelar luz blanca (A), con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) (B), de onda larga (366 nm) sin revelar (C) y de onda larga (366 nm) revelada (D), los carriles 1 y 2 de cada figura corresponden a hojas (H) y los carriles 3 y 4 a frutos.....	95
Figura 8. Análisis de los extractos hexánicos para terpenoides por video escáner	96
Figura 9. Análisis de los extractos de diclorometano para terpenoides por video escáner.....	97
Figura 10. Análisis de los extractos metanólicos revelado para flavonoides por video escáner.....	98
Figura 11. Análisis de los extractos metanólicos revelado para terpenoides por video escáner.....	99

Capítulo de discusión general

Figura A-1. Ninfas de <i>Ramosiana insignis</i> alimentándose de frutos de <i>Schoepfia schreberi</i> (A), las ninfas han agotado los frutos en un árbol (C).....	2
Figura A-2. Comportamiento de hembras de <i>Anastrepha spatulata</i> en frutos de <i>Schoepfia schreberi</i>	3
Figura A-3. Larva de <i>Anastrepha spatulata</i> totalmente desarrollada abandonando el fruto.....	3

Figura A-4. Parasitoides de *Anastrepha spatulata*; hembra de *Doryctobracon areolatus* (Szepligeti) ovipositando (Braconidae) (A), Hembra de *Doryctobracon toxotripanae* (Muesebeck) (Braconidae) ovipositando (B) y hembra de *Calliephialtes sittenfeldae* Gauld Ugalde-Gómez et Hanson (Ichneumonidae) atraída por las señales de la planta en sinergia con su hospedero (C a la D).....4

Figura A-5. Diversidad de parasitoides utilizando como hospederos a palomillas en frutos de *Schoepfia schreberi*.....5

Figura A-6. *Coleotechnites* n. sp; larva y pupa visualizados a través de una máquina de rayos X (A), pupa en fruto (B) características de los frutos utilizados por esta especie (C) y adulto recién emergido.....6

Introducción general

Las comunidades ecológicas son grupos de especies con diferentes adaptaciones espaciales y temporales. Una de las más comunes, y potencialmente importante, es la coexistencia e intercambio (e.g. mutualismo, simbiosis) entre especies, que incluye la utilización de recursos entre insectos herbívoros y sus enemigos naturales (Strong *et al.*, 1984; Price, 2003; Craig, 2007). En el que las características de los organismos tales como morfología, comportamiento y su historia de vida influyen fuertemente en sus relaciones ecológicas (Price, 2003).

Los insectos representan más de la mitad de toda la diversidad biológica. Se encuentran en movimiento constante en búsqueda de alimento, apareamiento, refugio, y hospederos para ovipositar, hasta alcanzar el objetivo de acuerdo a sus necesidades fisiológicas. Ese objetivo son las plantas que representan el primer nivel trófico (Schoonhoven *et al.*, 2005; Schowalter, 2006).

En ecología de comunidades el estudio de las relaciones tróficas ha ido de un enfoque bitrófico, por ejemplo planta–herbívoro o presa-depredador, a un enfoque más complejo, ya que en la naturaleza, las interacciones entre organismos son más complejas, generalmente involucrando tres o más niveles. Este es un enfoque que trata la complejidad de las cadenas alimenticias de manera mucho más realista (Tscharnke y Hawkins, 2002; Fagundes, *et al.*, 2005). Las interacciones entre una especie de insecto y su planta hospedera pueden ser afectadas por otras especies directa e indirectamente (Ohgushi *et al.*, 2007). Al poseer diversas especies de plantas una comunidad grande de herbívoros, las plantas responden al daño por herbivoría con cambios en su composición química, crecimiento y estructura de la célula, en su fisiología, morfología y fenología (Karban y Baldwin, 1997; Ode 2006; Hilker y Meiners, 2011) que puede beneficiar o perjudicar a otros niveles tróficos (Turlings *et al.*, 1990; Dicke, 2009; Wu y Baldwin, 2010).

Los insectos herbívoros tienden a especializarse a una especie de planta para su alimentación y también al órgano vegetal (e.g., fruto, hoja, tallo, raíz) (Schoonhoven *et al.*, 2005). Varios insectos herbívoros utilizan como recurso alimenticio los frutos y semillas de sus plantas hospederas. La

depredación pre dispersión de frutos y semillas por insectos es frecuentemente la causa más importante del aborto de los frutos o la mortalidad de semillas (Herrera, 1989; Sallabanks y Courtney, 1992) el efecto de la depredación puede determinar fuertemente la regeneración (e.g. germinación, sobrevivencia y crecimiento de plántulas) de muchas especies de plantas (Wenny, 2000; Maron y Crone, 2006).

Muchas especies de insectos se especializan en una o algunas plantas hospederas relacionadas (Bernays y Chapman, 1994). La hipótesis de “preference-performance” (Jaenike, 1978) indica que la preferencia de oviposición de los adultos, está determinada por la calidad del sitio para maximizar el desarrollo y supervivencia de la progenie (Mayhew 1997; Scheirs *et al.*, 2000; Gripenberg *et al.*, 2010; Shikano *et al.*, 2010; Clark *et al.*, 2011). En la localización del hospedero puede haber variaciones individuales asociadas con las decisiones de oviposición (Papaj y Rausher, 1983; Craig *et al.*, 2000). Los patrones de adaptación, también, influyen en la selección del hospedero (Prokopy *et al.*, 1994; Davis *et al.*, 2011). Esto hace que las comunidades estén dominadas por las especies que son superiores en la obtención de recursos; es decir, una especie puede ser desplazada o eliminada por otras a través del principio de la exclusión competitiva (Hardin, 1960). Cuando los recursos son abundantes y ricos en nutrientes es posible observar individuos de varias especies utilizando el recurso y formando gremios ecológicos, conformando modelos ideales con interacciones complejas de competencia intra- e inter-específicas (Denno *et al.*, 1995; Munday *et al.*, 2001), como la repartición de recursos esenciales entre especies (Behmer y Joern 2008).

Las plantas son el componente base de todas las cadenas alimenticias y un sitio para vivir, es decir, son los recursos esenciales para los herbívoros y otros niveles tróficos superiores. *Schoepfia schreberi* J. F. Gmel. (Olacaceae) es una planta endémica de México que se encuentra en el estado de Veracruz (Sánchez, 1996); sus frutos son utilizados por un gremio de insectos de diversos órdenes. Esta planta ha sido reportada como hospedera natural de la mosca de la fruta *Anastrepha spatulata* Stone de la que es especialista, y de varias especies de parasitoides (Hymenóptera). Por lo anterior, *S. schreberi* es relevante como reservorio de enemigos naturales asociados a especies de moscas de la fruta que son de importancia económica (Aluja *et al.*, 2000; López

y Khalaim, 2012). Además, la planta alberga a dos especies de hemípteros *Ramosiana insignis* (Blanchard) y *Vulcirea violacea* (F) y sus parasitoides (López y Cervantes, 2010). Los frutos también son usados por dos especies de micro-lepidópteros, una es *Coleotechnites* sp (Lepidoptera: Gelechiidae) y otra de la familia Tortricidae y su gremio de parasitoides de diferentes familias (datos no publicados). Con base en estos antecedentes dada la riqueza de especies de insectos y observaciones preliminares a los frutos de este sistema, es posible sugerir, la existencia de interacciones múltiples en varios niveles.

Las interacciones inter-específicas afectan los procesos de una población cuando las acciones de sus individuos, originan cambios en los atributos de las especies de otra población. Entre los cambios está la tasa demográfica como sobrevivencia, crecimiento, reproducción, tamaño y emigración (Barber *et al.*, 2012). Lo anterior puede dilucidarse si se conocen las interacciones y los mecanismos de como ocurren.

El conocimiento de las relaciones plantas-insectos que se alimentan de frutos y sus semillas ha sido motivado por los impactos negativos socioeconómicos (Clarke *et al.*, 2005), principalmente por las pérdidas en las cosechas causadas por los insectos, más que el efecto en las aptitudes de la planta; ya que, a diferencia de los que se alimentan de hojas o tallos, los frugívoros depredadores de semillas, tiene un impacto directo y negativo en la aptitud de la planta hospedera, pues se alimentan directamente sobre el tejido reproductivo. Por ello, la información ecológica básica es necesaria para entender la organización de las comunidades e identificar los mecanismos esenciales del mantenimiento de la biodiversidad (Tscharntke y Hawkins, 2002). Sin embargo, las interacciones directas e indirectas, sus efectos y características en la organización de las comunidades ecológicas han sido estudiadas escasamente debido a su complejidad y diversidad biológica (Ohgushi, 2005).

En la presente investigación se aborda el enfoque teórico y empírico con base en la información de la teoría ecológica generada hasta hoy, se explica lo que ocurre en dos sitios de estudio con características ambientales diferentes (composición vegetal, clima, altitud) y las interacciones naturales. Para lo

anterior, se evaluaron las comunidades de insectos y semillas y su impacto en la adecuación de *S. schreberi* durante un periodo de tres años. En el laboratorio, mediante técnicas fitoquímicas, se detectó la presencia de algunos compuestos orgánicos en los frutos de *S. schreberi* y fueron contrastados con los de sus hojas para determinar aquellos compuestos químicos más abundantes y observar cuales influyen en la ecología de los insectos (e.g. en la localización de su planta hospedera).

Entre las cuestiones que surgen están las siguientes:

- 1) ¿Cómo la ubicación de los sitios de estudio, la fenología de fructificación y el número de frutos por árbol, influyen en la utilización de las especies, la coexistencia de sus poblaciones y en los niveles tróficos superiores (parasitoides)?
- 2) ¿Los factores abióticos y los efectos a nivel intertrófico durante un periodo de tres años, influyen en la dinámica espacio-temporal, del sistema tritrófico planta–herbívoro–parasitoide?
- 3) ¿Las especies de insectos herbívoros, tienen algún impacto en la capacidad reproductiva de la planta dependiendo del contexto de la exclusión?
- 4) ¿Cuál particularidad puede conducir a una especie a ser más exitosa que otra en la utilización del recurso?

El modelo (Figura 1) que incluye a los frutos de *S. schreberi*, permitirá identificar las interacciones directas e indirectas: planta-insectos herbívoros clasificados en tres órdenes con una o dos especies por orden y de los enemigos naturales de los herbívoros, que son las especies de parasitoides de cada uno de los insectos herbívoros, donde la planta y las especies que interactúan pueden ser afectadas positiva o negativamente por la acción de una o cada una de las especies participantes. La explotación de los recursos es debido a la relación directa planta-herbívoro, herbívoro-parasitoides o la interferencia por parte de otros organismos. La relación indirecta planta-parasitoides y entre especies de parasitoides de los diferentes herbívoros.

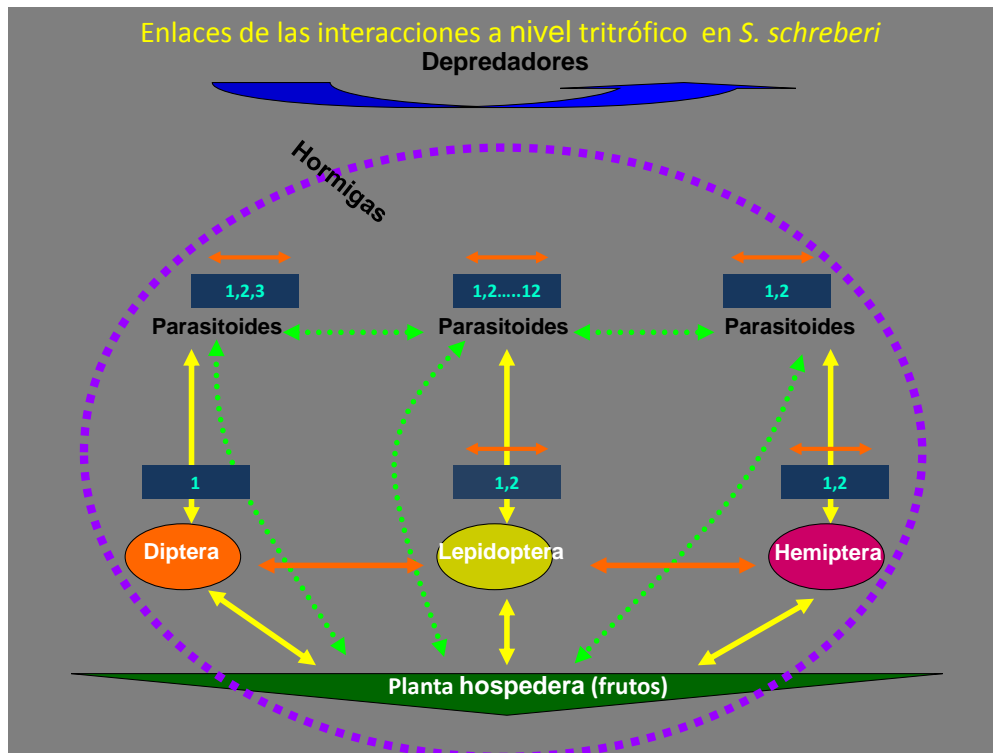


Figura 1. Interacciones multitróficas en frutos de *Schoepfia schreberi*. El uso de los recursos establece la competencia indirecta (líneas punteadas) o la competencia directa o interferencia (líneas sólidas) por otros organismos.

Los objetivos del estudio fueron dilucidar las interacciones directas e indirectas de un gremio de insectos herbívoros y sus enemigos naturales, con los frutos de *S. schreberi* como un recurso compartido y evaluar la influencia de los factores abióticos.

Estimar el efecto del uso de los frutos y la habilidad de los insectos herbívoros en reducir la capacidad reproductiva de la planta (producción de semillas).

Explicar cómo los insectos herbívoros encuentran la planta hospedera y seleccionan los recursos como sitio de oviposición o alimentación.

Identificar los tipos de compuestos en frutos y hojas de *S. schreberi*,

Las hipótesis planteadas fueron:

Las interacciones interespecíficas de diversos herbívoros que utilizan los frutos de *S. schreberi* están influenciadas por las características fisiológicas y

morfológicas de los frutos, los factores ambientales, los niveles poblacionales de cada miembro del gremio y sus enemigos naturales.

Las características físicas y químicas del hospedero influyen en la preferencia como sitio de oviposición o alimentación, de las especies de insectos herbívoros que lo utilizan.

No existen efectos directos e indirectos sobre los frutos de *S. schreberi*, debido a las interacciones entre insectos herbívoros.

Capítulo I. Dinámica de las interacciones entre depredadores de frutos-semillas y sus parasitoides en *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae)

Resumen

Se estudiaron durante tres años y en dos sitios experimentales los patrones temporales y espaciales de la infestación por la mosca de la fruta *A. spatulata* (Diptera: Tephritidae) y 3 especies de parasitoides, dos especies de palomillas *Coleotechnites* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) y una no identificada de la familia Tortricidae y 12 especies de parasitoides, dos especies de hemípteros; *Ramosian insignis* y *Vulcirea violacea*, Hemiptera-Heteroptera: Pentatomidae) en los frutos de *Schoepfia schreberi* (Santalales: Olacaceae) y su relación con la producción de semillas. Estudios en campo con condiciones de abundancia del recurso (frutos), revelaron que *A. spatulata* posee superioridad competitiva, ya que individuos de esta especie infestaron un número mayor de frutos y desplazó significativamente a las palomillas. Las condiciones ambientales y el tipo de vegetación prevalecientes en los sitios de estudio, tuvieron efectos positivos y negativos asociados a la fructificación y presencia e infestación de insectos herbívoros. Existió una fuerte asociación entre la cantidad de frutos disponibles y la presencia de *R. insignis* ($P= 0.002$), sin embargo su dinámica poblacional entre años fue afectada por la precipitación pluvial, en contraste *A. spatulata*, aumenta su porcentaje poblacional en ambos sitios. La acción de los niveles tróficos superiores, parasitoides de palomillas y *A. spatulata* fue afectada por la ubicación del sitio de estudio y por la interferencia directa entre sus hospederos y los hemípteros. La heterogeneidad del hábitat contribuye a la relaciones planta-herbívoros y niveles tróficos superiores. La proporción total de semillas intactas, producida por *S. schreberi*, no difirió entre lugares y la variación interanual en la producción de semillas, se debió a la presión ejercida por las especies del sistema.

Palabras clave: *Anastrepha spatulata*, fluctuaciones, interferencia directa, parasitoides, condiciones ambientales.

Dynamic interactions between fruit-seed predators and their parasitoids in *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae)

Abstract

Temporal and spatial patterns of infestation associated with fruit and seed production of *Schoepfia schreberi* (Santalales: Olacaceae) by a phytophagous insect community and its parasitoids were studied for three years at two study sites. The community consisted of a fruit fly *Anastrepha spatulata* (Diptera: Tephritidae) with three associated parasitoid species, two species of moths [*Coleotechnites* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) and an unidentified species of the family Tortricidae] with 12 associated parasitoid species, and two species of Hemiptera, *Ramosiana insignis* and *Vulcirea violacea*. Field studies conducted under conditions of resource abundance (fruit), at the population level revealed that *A. spatulata* was a superior competitor, and individuals of this species that infested fruit displaced a large proportion of the moth populations. Environmental conditions and the prevailing vegetation type in the study sites, had positive and negative effects, respectively, associated with fruiting and the presence and levels of infestation by herbivorous insects. A strong association was observed between the amount of fruit available and the presence of *R. insignis* ($P = 0.002$). However annual variation in population dynamics was affected by rainfall, whereas *A. spatulata* populations increased in both sites. The action of higher trophic levels, parasitoids of moths and flies, was affected by the location of the study site and direct interference between their hosts and hemipteran species. Habitat heterogeneity contributed to the dynamics of plant-herbivore interactions and those of higher trophic levels. The total proportion of intact seeds produced by *S. schreberi* not differ between sites but the inter-annual variation in seed production was related to the feeding damage exerted by the herbivorous species in this system.

Keywords: *Anastrepha spatulata*, fluctuations, direct interference, parasitoids, environmental conditions.

Introducción

Los insectos herbívoros tienden a especializarse en su alimentación en una especie de planta y también en el tipo de recurso (e.g., fruto, hoja, tallo, raíz)

(Schoonhoven *et al.*, 2005). Varios insectos herbívoros utilizan como recurso a los frutos y semillas de sus plantas hospederas. Las especies interactúan de formas diversas a través del mutualismo, antagonismo, facilitación, transformación de recursos, zoocoria, suministro de sitios de reproducción, modificación del hábitat, y otros (Berlow *et al.*, 2004; Olf *et al.*, 2009; Barber *et al.*, 2012; Track *et al.*, 2012). El conocimiento de las interacciones entre plantas, dispersores vertebrados e invertebrados depredadores de semillas, es utilizado para discernir la importancia de cada factor en la dinámica de la población de una especie vegetal, ya que determinan en gran medida su regeneración (Wenny, 2000; Maron y Crone 2006; Andreazzi *et al.*, 2012). Las adaptaciones de la fructificación, para minimizar o compensar la depredación de frutos y semillas, incluye sincronía o asincronía de este evento fisiológico (Korine *et al.*, 2000; Bouchier y Crowe, 2011), aborto de frutos y semillas (Stephenson, 1981; Ostergard *et al.*, 2007), vecería (Lázaro *et al.*, 2006) y cambios en el crecimiento (apariencia) de la planta (Juenger *et al.*, 2005).

Las interacciones entre las especies son modificadas por los cambios ambientales, ya que afectan a todos los atributos del ecosistema desde la productividad primaria hasta la dinámica de las poblaciones (Tylianakis *et al.*, 2007). El funcionamiento de las comunidades ecológicas está críticamente relacionado con la diversidad de las especies de plantas, que son la base de las cadenas tróficas terrestres y el microhábitat para la mayoría de las especies de insectos (Price, 2003). Los herbívoros afectan a las plantas con efectos directos, como el daño a los tejidos. Así, la depredación por insectos es frecuentemente la causa más importante del aborto de frutos o la mortalidad de semillas (Sallabanks y Courtney, 1992) y a través de efectos indirectos que alteran las interacciones entre especies y niveles tróficos superiores, por lo tanto, los efectos a través del sistema trófico de abajo hacia arriba se consideran enérgicos (Price, 2002; Ohgushi *et al.*, 2007).

Los frutos de *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae) son utilizados por un gremio de insectos de diversos órdenes. Esta planta en México ha sido reportada como hospedera natural de la mosca de la fruta *Anastrepha spatulata* Stone (Diptera: Tephritidae) de la que es especialista, y de tres especies de parasitoides (Hymenoptera). En Florida los frutos de esta planta son utilizados por *Anastrepha interrupta* Stone y dos especies de parasitoides,

que no se han encontrado en los frutos de *S. schreberi* en nuestro país. Por lo anterior la planta es relevante como reservorio de enemigos naturales asociados a especies de moscas de la fruta que tienen importancia económica (Aluja *et al.*, 2000; Pereira *et al.*, 2007 López y Khalaim, 2012). Asimismo, la planta alberga a dos especies de hemípteros *Ramosiana insignis* (Blanchard) y *Vulcirea violacea* (F) y sus parasitoides (López y Cervantes, 2010). Los frutos también son usados por dos especies de micro-lepidópteros y su gremio de parasitoides de diferentes familias (datos no publicados). Observaciones preliminares en frutos de este sistema sugieren la existencia de interacciones múltiples en varios niveles.

Los objetivos de este estudio fueron estimar el efecto de la herbivoría de los insectos sobre los frutos de *S. schreberi*, su distribución espacio temporal, repartición y utilización del recurso. Además, conocer la dinámica poblacional de los insectos parasitoides (enemigos naturales), a la vez que se estimó el número de frutos con semilla viable y su porcentaje de germinación.

Materiales y métodos

Sitios de estudio

Las dos sitios se ubican en el estado de Veracruz, México: (1) “La Camelia” (CM; 20° 85´ N, 97° 83´ 0, altitud 245 msnm), municipio de Alamo. Esta localidad se caracteriza por la asociación de bosque de *Quercus* sp con bosque tropical mediano subperennifolio, rodeado de extensas plantaciones de cítricos (Figura 1); (2) El área natural conservada “Osto” (OT; 19° 18´ N, 96° 50´ 0, altitud de 838 msnm), cerca del municipio de Tlaltetela. Es una zona de fragmentos de bosque de encinos mezclados con bosque seco, praderas de pastos y plantaciones de caña de azúcar (Figura 1).

En estos lugares se seleccionaron árboles de *S. schreberi* de entre 2.5 m y 3.5 m de altura, para realizar el estudio.

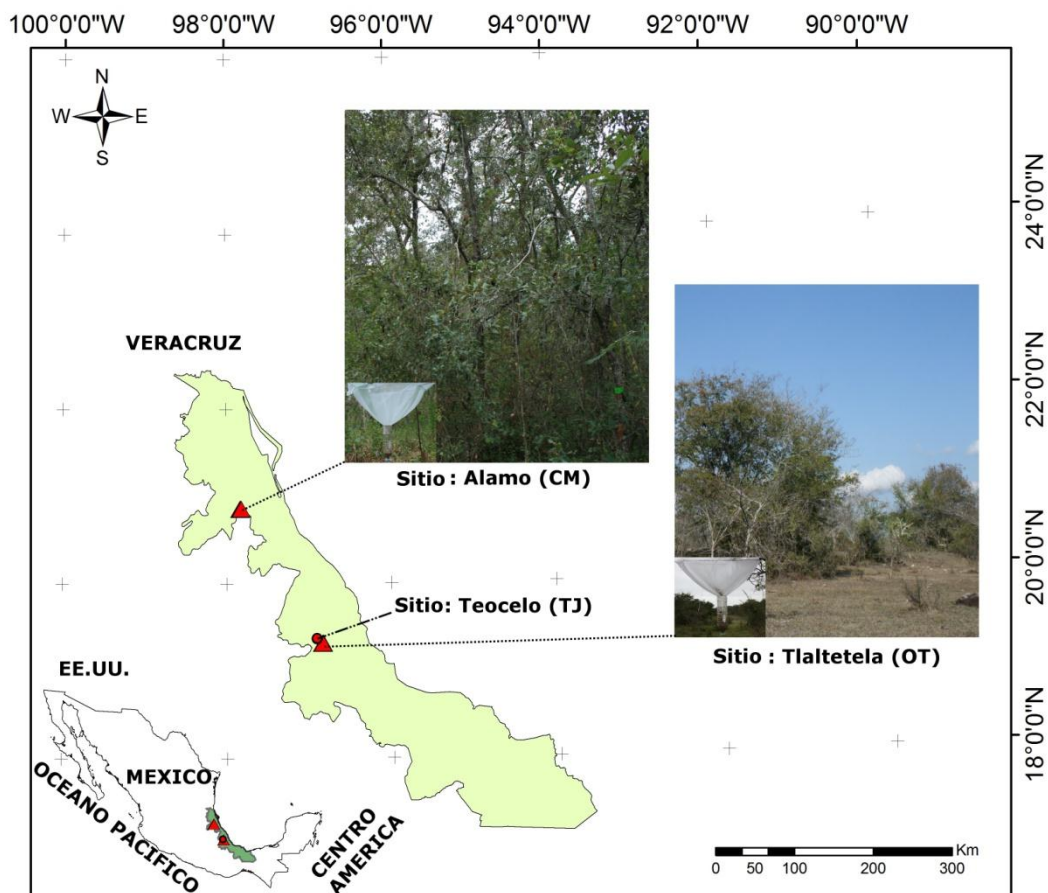


Figura 1. Mapa y ubicación de los sitios de estudio en El estado de Veracruz México.

Sistema de estudio: planta e insectos

Schoepfia schreberi (Olacaceae). Nombres comunes registrados: coloradillo, its'am te' (lengua huasteca) en Alamo, guayabillo en Osto y Tejeria, en otros lugares de México; palo de hamaca o guayabillo (zoque, Chiapas); palo fierro, tecolotillo (Sinaloa); sak-baké (Yucatán) sip che' (maya) (Calderón de Rzedowski, 1995). Es una especie hemiparásita, que obtiene nutrientes a través de las raíces de otros árboles (Werth *et al.*, 1979), el arbusto es glabro o con una fina e inconspicua pubescencia, sobre todo en las partes jóvenes, de 2 a 7 m de alto, a veces con tronco bien definido, hasta de 40 cm de diámetro, crece desde la selva baja caducifolia hasta en el bosque seco de *Quercus* sp. y se distribuye desde Venezuela, en toda América Central y México hasta Florida

y en algunas islas del Caribe (tropic.org). Las hojas son simples y alternas de forma lanceolada y margen entero. El haz es verde oscuro y el envés verde claro. Su longitud aproximada es de 4 a 5 cm, la nervadura media es evidente en ambas caras, es prominente sobre todo en el envés y las laterales pueden ser 4 a 6 pares. El peciolo es cilíndrico y mide aproximadamente 0.4 cm.

Las inflorescencias son racimos axilares, las flores son de color rosa a rojo, los pétalos están fusionados en la base, el pistilo es amarillo, los estambres son blancos y están adheridos a la parte superior de la corola. Las flores son perfectas (ambos sexos en la misma flor), son conspicuas desde mediados del otoño y hasta mediado del invierno, que es cuando ocurre el amarre del fruto ocurre, ocurre entre diciembre-febrero. Los frutos son indehiscentes, drupas globosas o elipsoidales de 5 a 12 mm, de color verde cuando están inmadura y rojo oscuro cuando el fruto llega a la madurez, este contiene solo una semilla. La semilla está cubierta con un arilo rojo (Sánchez, 1996).

En los sitios de estudio, se han detectado *A. spatulata*, dos especies de palomillas (Lepidóptera) de las familias Tortricidae (sp1.) y *Coleotechnites* sp Gelechoideae (sp2.), estos depredadores son pre dispersores de semillas, ovipositan los frutos y en el caso de *A. spatulata* una larva se desarrolla por fruto, en las palomillas, una larva puede abandonar un fruto e invadir a otros para completar su desarrollo. Otras características son que la larva de la sp 1 forma su pupa en el exterior del fruto, mientras que la sp 2 lo hace internamente para esto la larva hace un agujero antes de pupar y lo sella con una capa fina de moco cementante que luego facilita la salida del adulto recién emergido (datos no publicados). *A. spatulata* es univoltina y especialista en *S. schreberi*, sus larvas pueden ser infestadas por tres especies de parasitoides himenópteros: *Doryctobracon areolatus* (Szepliget), *Doryctobracon toxotrypanae* (Muesebeck) (Braconidae) y *Calliephialtes sittenfeldae* Gauld Ugalde-Gómez et Hanson (Ichneumonidae). Los parasitoides ovipositan en larvas dentro de los frutos. En larvas y pupas de palomillas se han encontrado 12 especies de parasitoides de diferentes familias (en proceso de identificación). El estudio involucra a las especies de hemípteros *R. insignis* y *V. violacea* que se alimentan de los frutos. Aunque pueden estar presentes en la misma planta, *R. insignis* aparece desde el inicio de la época reproductiva de

S. schreberi, se alimenta de los botones florales y demás estructuras reproductivas; mientras que, debido al desplazamiento del ciclo de vida, *V. violacea* sólo utiliza frutos inmaduros y frutos maduros más tarde en la estación. La presencia de insectos herbívoros puede afectar de manera significativa la reproducción de *S. schreberi*. La producción de semillas se afecta por el desarrollo de los estadios inmaduros de los insectos, la sobrevivencia del embrión no es posible debido a que el contenido total del endospermo que formaría la semilla, es consumido.

Diseño del experimento

En el sitio de OT el número de árboles censados fue 114, el número de árboles utilizados cada año fue 22, el tamaño de muestra obtenido fue de 16.6 árboles (Cuadro 1). No fue posible utilizar los mismos árboles cada año porque su fructificación es irregular. El total de árboles muestreados en los tres años fue 36 (Figura 2). El mismo diseño con el mismo número de árboles fue empleado para CM.

$$n = \frac{Nz_{(\alpha/2)}^2 P(1-P)}{(1-P)e^2 + z_{(\alpha/2)}^2 P(1-P)} \quad (1)$$

Cuadro 1. Cálculo del tamaño de muestra obtenido para determinar el número de árboles de *Schoepfia schreberi*

Tamaño de la población	N	114
Error Alfa	α	0.05
Nivel de Confianza	1- α	0.95
Cuantil (1- α) de la distribución normal estandar	Z (1- α)	1.96
Proporcion de árboles con frutos	p	0.50
Complemento de p	q	0.50
Precisión	e	0.05
Tamaño de la muestra	n	16.6

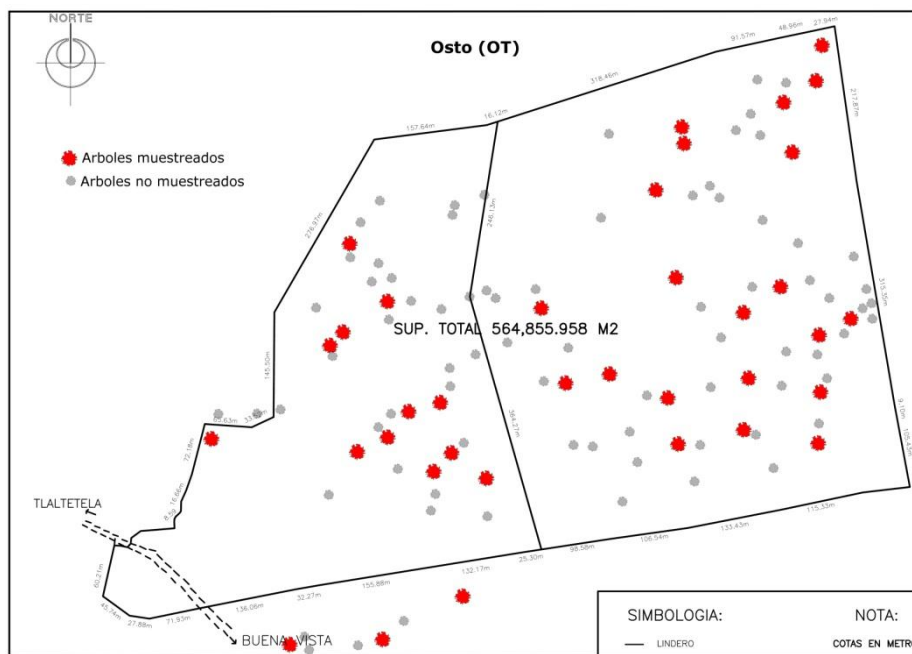


Figura 2. Ubicación de árboles de *Schoepfia schreberi* en el sitio Osto en una superficie de aproximadamente 60 has, símbolos en rojo indican la ubicación de los 36 árboles muestreados, mas la ubicación de 78 árboles no muestreados.

Recolecta de frutos, evaluación de la comunidad de insectos y semillas

La evaluación de las unidades de estudio fue en dos áreas; de 60 ha en OT y 100 ha en CM. En un muestreo aleatorio simple a través de un transecto se eligieron 22 árboles de *S. schreberi*. En cada sitio se colocó por árbol, una trampa tipo embudo de 0.60 m x 0.08 m de diámetro superior e inferior y 0.50 m de altura, hechas de un aro metálico de 60 cm de diámetro y tela traslúcida

de color blanco (tergal francés), en el fondo del embudo se adecuó un cubo de pvc de 7.62 cm de diámetro y 8 cm de altura con una rejilla para capturar los frutos, la cual permitía el paso de las larvas a un recipiente plástico con capacidad de un litro, conteniendo vermiculita, como sustrato de pupación (Figura 3). En total se colocaban 44 trampas por año.

Datos de temperatura, humedad relativa y precipitación fueron tomados con un sistema automatizado tipo “data logger” (HOBO H8 Pro Series, Onset Computer Corporation; Bourne, MA) y de los registros de información meteorológica de las estaciones cercanas o ubicadas en los municipios de Alamo, Teocelo y Jalcomulco (cerca de Osto), en Veracruz. La información fue proporcionada por el Departamento de Hidrometría de la Subgerencia de Generación Hidroeléctrica Golfo (CFE, Xalapa, Veracruz) y del Organismo de cuenca Golfo Centro (CONAGUA, Xalapa, Veracruz).



Figura 3. A) trampa colocada en campo, B) Recipiente de plástico que retiene los insectos, C) Tubo o cilindro de pvc para retener los frutos, D) Sustrato de pupación.

La recolección de frutos fue sistemática desde el amarre del fruto y durante la abscisión por efecto del daño de los insectos, madurez u otros factores desconocidos, hasta que ningún fruto permaneció en el árbol. Los frutos fueron transportados al laboratorio del INBIOTECA (Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada) ubicado en Xalapa, Veracruz. A un grupo de los frutos se les midió (longitud y anchura) y biomasa individual. Una parte de los frutos se colocaron individualmente en cajas con compartimentos individuales (Catalog #8530B, BioQuip Products, Inc.) y otra parte, en grupos en recipientes plásticos de 100 ml (Solo Cup, Urbana ILL., EUA), cubiertos con una tapa de tela de organdí, en condiciones ambientales estándar hasta que sucedió la emergencia y se realizó la identificación, recuento de los insectos adultos y se cuantificó el número de semillas producidas. Ejemplares de las dos especies de palomillas fueron depositados en el Mississippi Entomological Museum y en Arizona State University-Hasbrouck Insect Collection. La palomilla de la familia Gelechiidae fue identificada como *Coleotechnites* n. sp (Sangmi Lee, Arizona State University, comunicación personal). Algunas de las especies de insectos parasitoides de palomillas han sido enviadas a entomólogos especialistas de México y otros países para su identificación; los parasitoides de *A. spatulata* *D. areolatus* y *D. toxotripanae* ya han sido identificados con anterioridad, la especie *C. sittenfeldae* es el primer registro ya fue publicado como parte de este proyecto por Lopez-Ortega y Khalaim (2012).

Pruebas de infestación y viabilidad de la semilla

Prueba de rayos X. Para conocer el estado de desarrollo de los insectos en el interior del fruto, identificar el daño producido por cada especie de insecto a la semillas del fruto y contabilizar las semillas no dañadas, con potencial para germinar, parte de lotes de frutos recolectados fueron analizados con un método no destructivo, que involucro el uso de una máquina de rayos X Faxitron (MX-20 Faxitron X-Ray Corporation, Wheeling, IL., EUA) (Figuras 4A, 4B). Además, debido a que la cantidad de frutos obtenidos, el muestreo destructivo eventualmente fue utilizado para determinar el daño por los insectos y obtener semillas viables. Los frutos radiografiados se colocaron en cajas plásticas con compartimentos individuales hasta la emergencia de los insectos

y confirmar la identidad de las especies y obtener las semillas viables (Figura 4C).

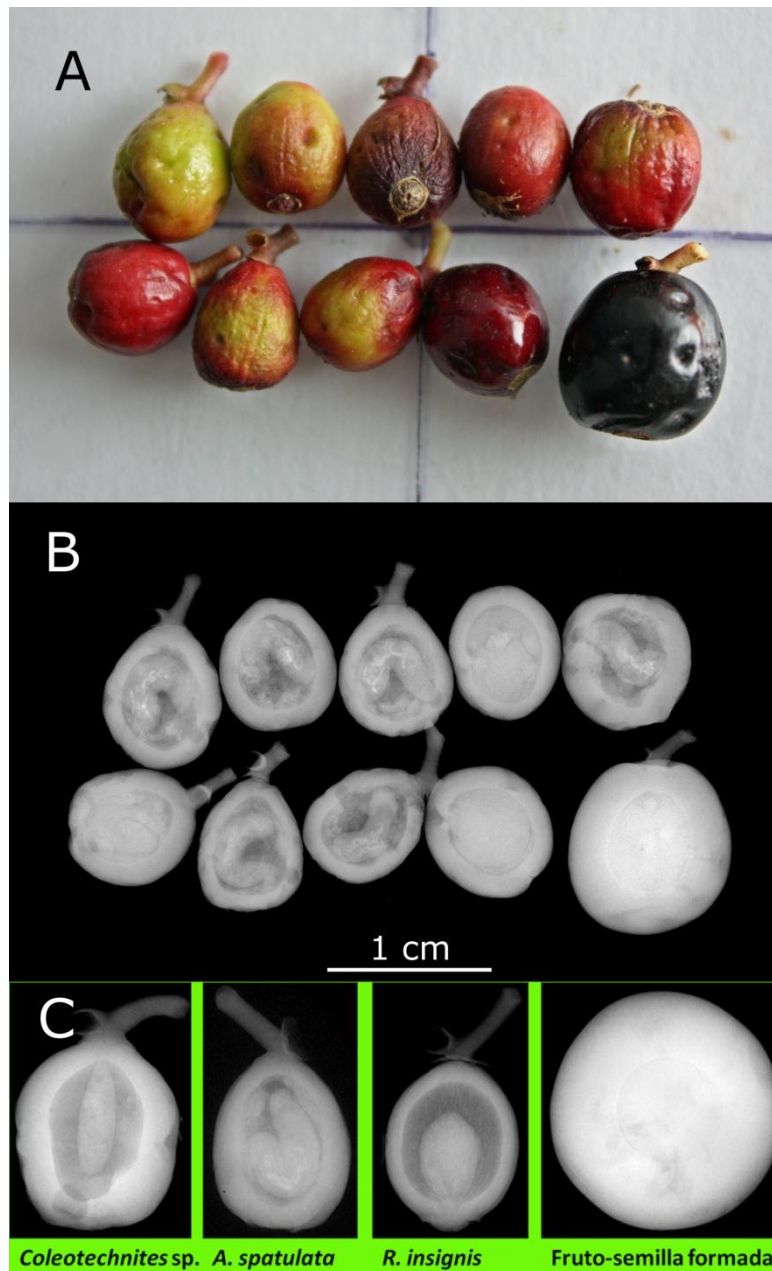


Figura 4. Frutos de *Schoepfia schreberi* (A) visualizados a través de una máquina de rayos X (B). Los frutos presentan en su interior el daño por las diferentes especies de insectos de izquierda a derecha *Coleotechnites* n. sp, *Anastrepha spatulata*, *Ramosiana insignis* y fruto sin daño con semilla viable (C).

Pruebas de germinación

Este estudio fue realizado en 2009 y 2010 con lotes de semillas de frutos separados en dos categorías; los utilizados por insectos y los maduros sin

daño, de diferentes árboles, e identificados con esta característica por el método no destructivo o directamente, después de colocarlos en vasos de precipitados con agua. Se consideraron viables aquellos que flotaban. Las dos categorías de semillas se sembraron en cajas germinadoras con tierra para macetas (The Scotts Miracle-Gro Company LLC) como sustrato. Después de 75 días se cuantificó el número de semillas germinadas en cada categoría y las plántulas fueron trasplantadas.

Análisis estadísticos

Para determinar si había diferencias entre los sitios de recolecta, los datos del número total de frutos recolectados de las especies de insectos y de las semillas producidas, se analizaron con la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney y entre los años, dentro del sitio, se realizó un análisis de varianza y su respectiva comparación de medias entre las variables, con la prueba de Duncan. Se realizó el análisis de correlación de Pearson (Cox y Hinkley, 1974) para determinar el grado de asociación lineal entre el número de *A. spatulata* y el número de frutos recolectados. La asociación entre la cantidad de frutos disponibles y la presencia de *R. insignis*, se cuantificó mediante regresión lineal simple.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en SAS/STAT 9.1 para Windows utilizando las rutinas LOGISTIC y GLIMMIX.

Resultados

Nivel de infestación los insectos y efecto en la producción de semillas

Se recolectaron 51,909 frutos durante los tres años. El mayor número se obtuvo en OT (62.95%, CM 37.05%). En CM el periodo de producción de frutos fue de enero a mayo y el pico de fructificación ocurrió en marzo (Figura 5A); mientras que, en OT el periodo de producción de frutos ocurrió de enero a marzo, con el pico de fructificación en febrero (Figura 5C). La intensidad en la depredación de frutos fue elevada y pocos formaron semillas (Figuras 5A, 5C). En ambos sitios las plantas produjeron frutos sólo una vez al año en el periodo estudiado.

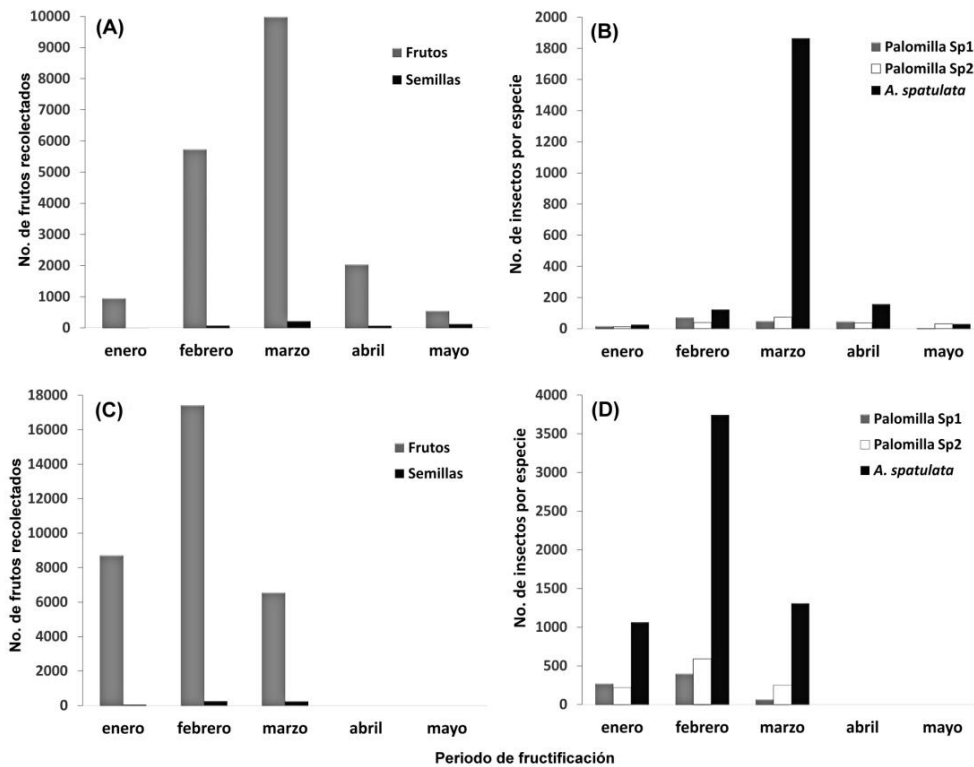


Figura 5. Cantidad de frutos por unidad de área recolectados en trampas y el número total de semillas viables durante la temporada de fructificación, en La Camelia (A) y en Osto (C), número de insectos obtenidos de los frutos recolectados en La Camelia (B) y en Osto (D) durante 2009, 2010 y 2011.

La temperatura y la precipitación promedio en los meses de estudio difirió entre sitios, durante los tres años de estudio, el promedio de la temperatura en CM fue 22.44 °C, la mínima y la máxima fueron 12.1 y 35.08 °C, en OT el promedio fue 23.64 °C, la mínima y la máxima fueron 8.00 y 45.00 °C, el promedio de la precipitación en CM fue 34.69 mm y en OT fue 20.74 mm (Figura 6 y Figura 7 A, B). Los datos de 10 años de 2002 a 2011 indican que las temperaturas son menos variables en CM (Figura 8) y que la planta fructifica en los meses de la estación seca del año, en ambos sitios; también se muestran que la precipitación fue más alta en CM que en OT (Figura 7C). Las temperaturas promedio (Figura 8) se relacionan con la precipitación y también son menores en la época de fructificación de la planta.

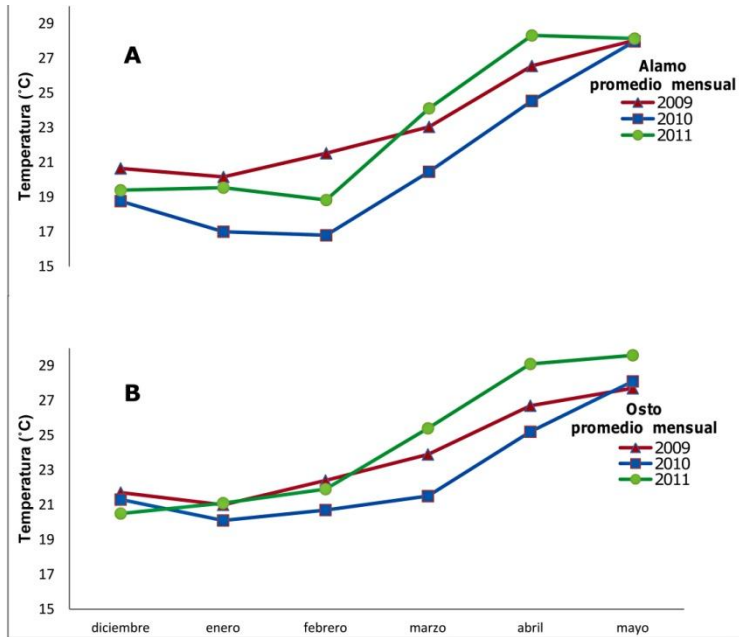


Figura 6. Temperatura promedio en Alamo (A) y Osto (B), Veracruz, México, registrada durante el estudio, de diciembre a mayo de 2009, 2010 y 2011.

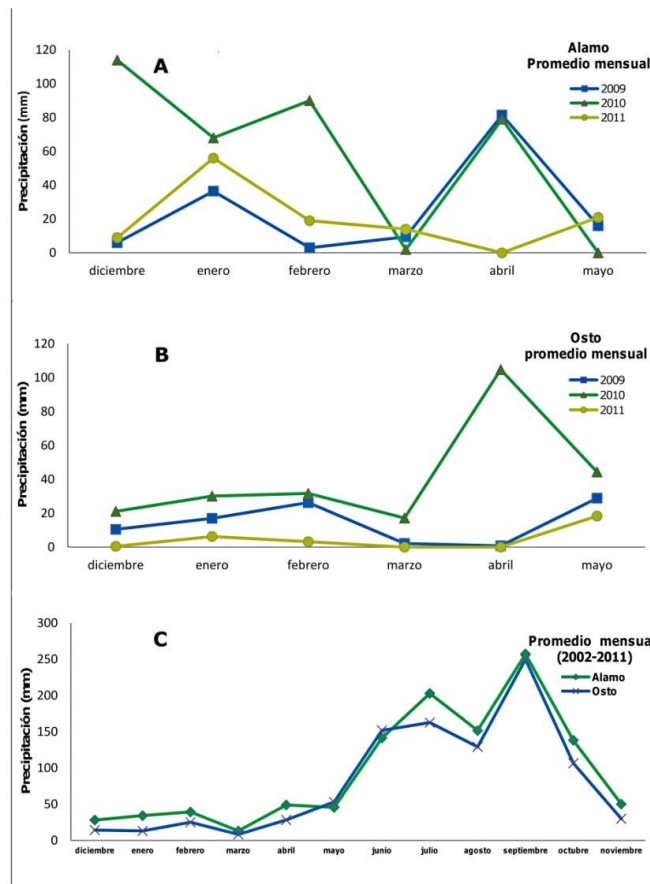


Figura 7. Precipitación promedio en Alamo (A) y Osto (B), Veracruz, México, registrada durante el estudio, de diciembre a mayo de 2009, 2010 y 2011, precipitación promedio mensual de 10 años de 2002 a 2011 en los sitios de estudio (C).

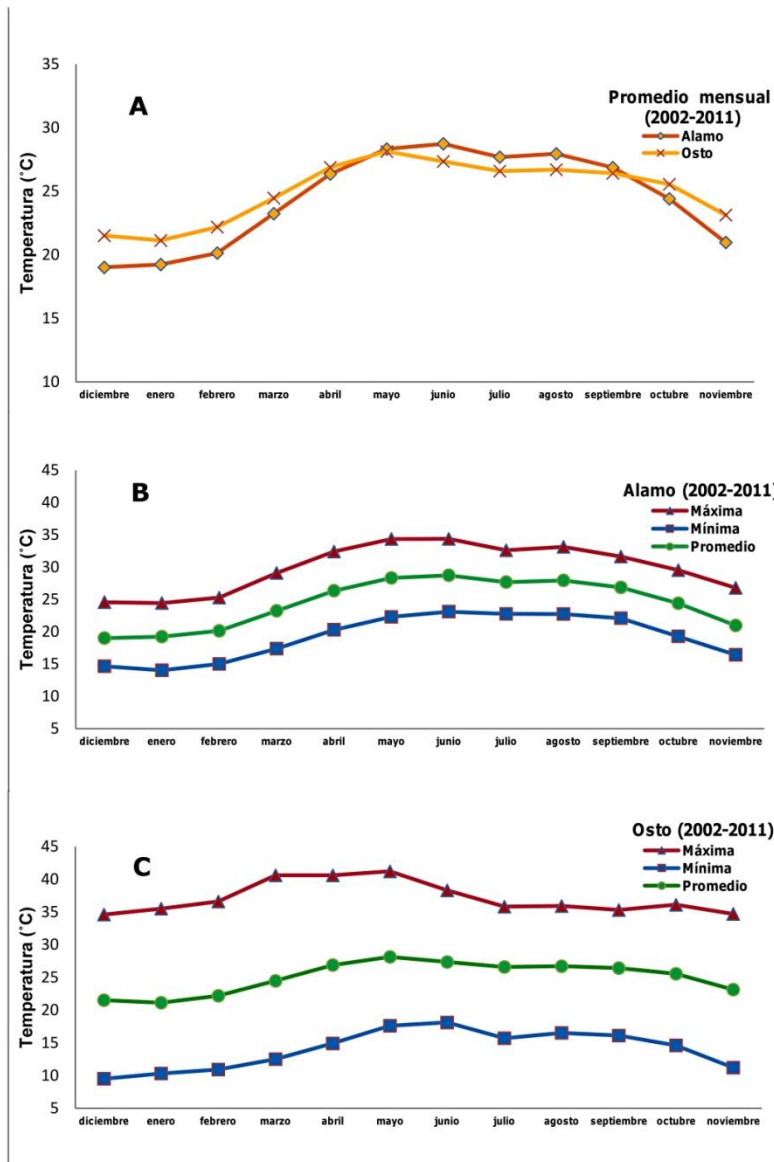


Figura 8. Temperatura promedio mensual de 10 años de 2009 a 2011 en los sitios de estudio (A). Temperatura promedio, mínima y máxima en Alamo (B) y en Osto (C) Veracruz, México.

El nivel de infestación total de los frutos por los insectos difirió entre los lugares de estudio y fechas de recolecta y fue significativa para la palomilla sp1. ($p \leq 0.008$), para *Coleotechnites* sp ($p \leq 0.002$) y para *A. spatulata* ($p \leq 0.04$). Existió una asociación positiva entre la disponibilidad de frutos en cada una de las fechas de recolecta (por mes) y el número de frutos utilizados por *A. spatulata* ($r = 0.6459$ $p = 0.0021$) (Figura 9) y el número de individuos utilizados por palomillas: sp1. ($r = 0.5812$ $p = 0.0072$) y por *Coleotechnites* sp. ($r = 0.7588$ $p = 0.0001$).

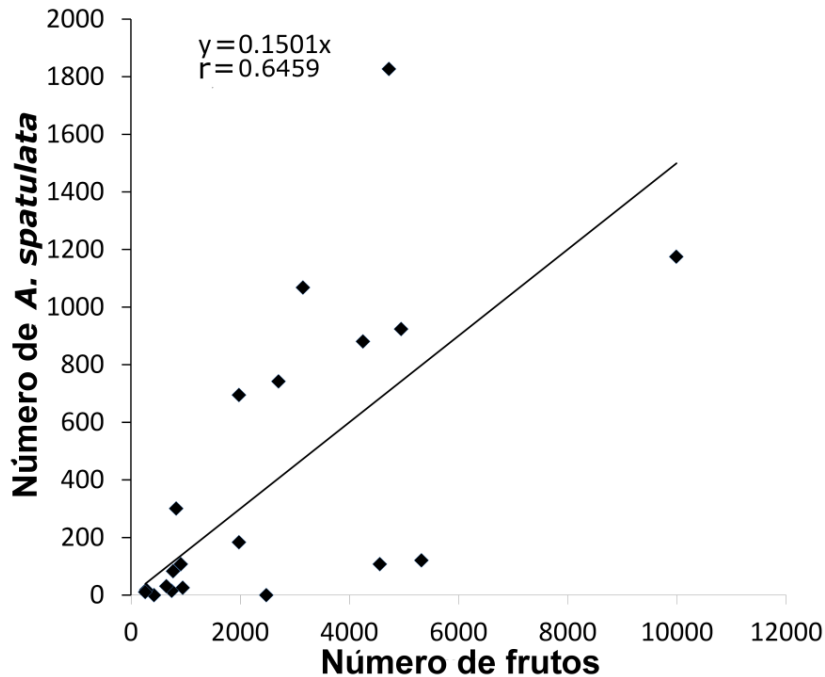


Figura 9. Relación entre el número de frutos recolectados por unidad de área y el número de *Anastrepha spatulata* que emergen de ellos ($P= 0.0020$, $y =$ número de *A. spatulata* $x=$ número de frutos).

En el número de frutos que formaron semillas no se encontraron diferencias significativas ($r= 0.0014$, $p = 0.9697$), del total de frutos examinados se obtuvo 2.44% de semillas en CM y 1.61% en OT. El número de individuos de *A. spatulata* obtenidos presentó una tendencia de picos máximos que coincidieron con las fechas de mayor abundancia de frutos; el mayor número de individuos de la palomilla sp1. ocurrió al inicio de las recolectas, mientras que el número de individuos de *Coleotechnites* sp. se distribuyó proporcionalmente hasta el final (Figuras 5B y 5D).

Fluctuaciones en la cantidad frutos y niveles de infestación por año

Se encontraron diferencias altamente significativas en el número de frutos, semillas y especies de insectos entre años en ambos sitios, con excepción del número de semillas y palomillas en CM (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados de los análisis de varianza para variables del número de frutos y semillas y el uso por las especies de insectos durante tres años de estudio (2009-2011).

Fuente De Variación	Frutos	Semillas	Palo- millas	A. <i>spatulata</i>	Parasito- ides de palomillas	Parasito- ides de A. <i>spatulata</i>
ALAMO						
Años (C.M.)	336359.52**	73.62 N.S.	56.60 N.S.	4275.35**	42.87**	117.62**
C.V. (%)	65.31	172.91	79.29	85.84	101.65	120.10
OSTO						
Años (C.M.)	1559794.65**	1101.05**	10144.12 **	19750.12**	137.45**	27.72**
C.V. (%)	63.55	161.53	94.26	93.09	118.27	234.76

** P≤ 0.05= Altamente significativo; N.S.= No significativo; C.M.= cuadrado medio; C.V. = porcentaje del coeficiente de variación.

Los resultados muestran que hubo mayor efecto en el aumento poblacional de *A. spatulata* entre los años en ambos lugares y que las palomillas no se incrementaron significativamente en CM (Cuadro 2, Figura 10A, 10B).

Los parasitoides de *A. spatulata* y palomillas fueron más abundantes en CM e incluso estos se incrementaron en el año 2011 (Cuadro 2, Figura 10A). En OT incrementaron las poblaciones de *A. spatulata* pero no el número de parasitoides; estos se mantuvieron en densidades bajas e incluso existió una perceptible disminución en el año 2011 a pesar de la abundancia de hospederos (Figura 10B).

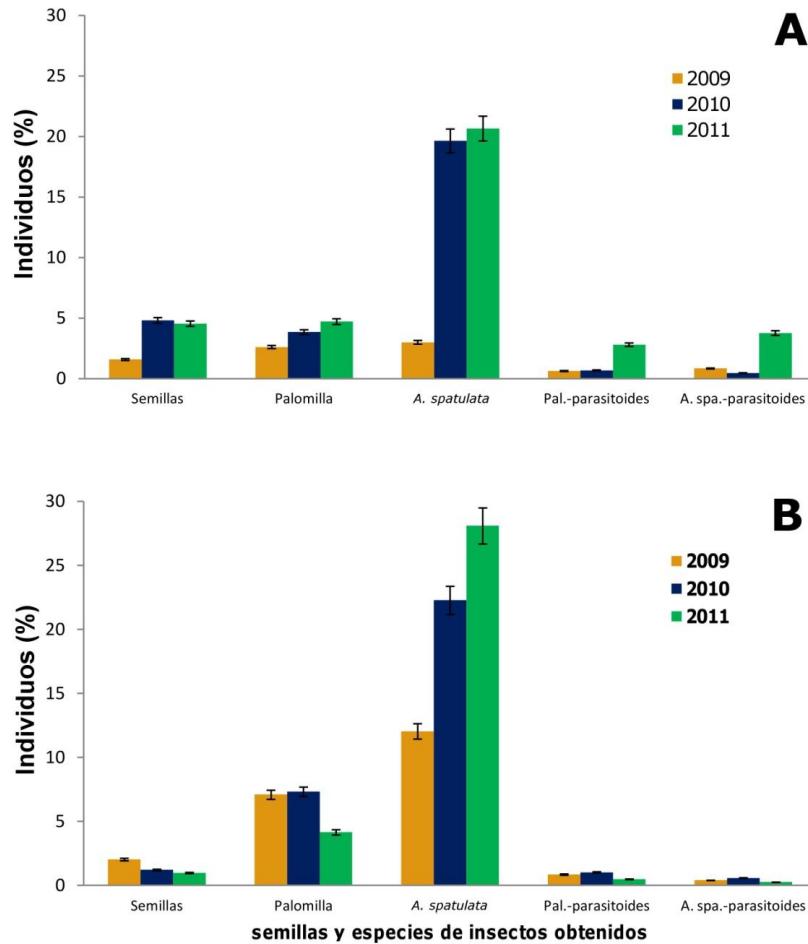


Figura 10. Fluctuaciones a través de los años del número de semillas producidas y de las poblaciones de insectos herbívoros y sus parasitoides asociados a frutos de *Schoepfia schreberi* en Alamo (A) y en Osto (B) Veracruz, México durante tres años de estudio (2009, 2010 y 2011).

Se encontró que la cantidad de recursos disponibles y el grado de infestación de *R. insignis* en el tiempo y el espacio tiene un efecto negativo en las poblaciones de *A. spatulata* y en las de parasitoides (Figura 11). Un ataque de los hemípteros provocó la abscisión de los frutos, que en algunos casos estaban infestados por estados inmaduros de *A. spatulata* que no lograron desarrollarse.

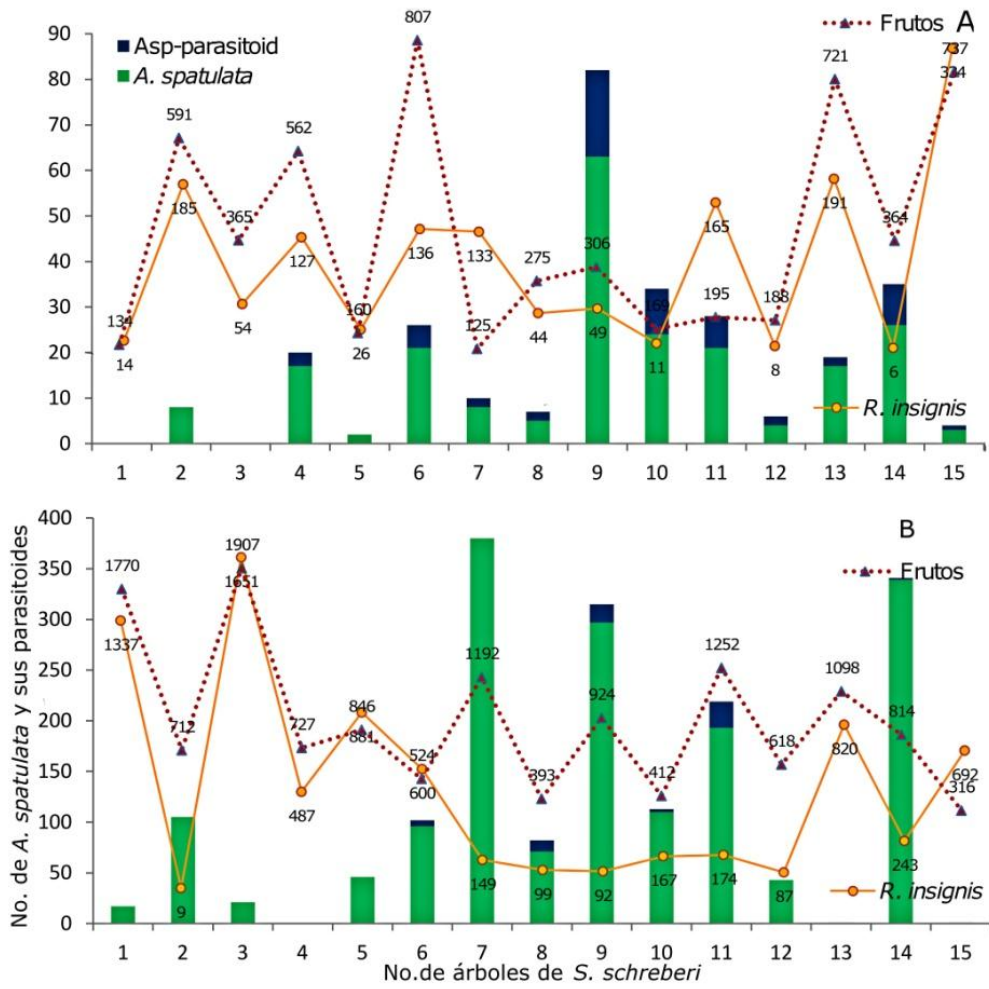


Figura 11. Número de *Anastrepha spatulata* (*A. spatulata*) y sus parasitoides (Asp-parasitoid) por árbol en relación con el grado de infestación de *Ramosionia insignis* (*R. insignis*) y la cantidad de frutos de *Schoepfia schreberi* (Frutos) en Alamo (A) y en Osto (B).

Existió una asociación altamente significativa entre la cantidad de frutos disponibles y la presencia de *R. insignis* en el año 2009 ($r= 0.6411862$ $t = 3.5449$, $gl = 18$, $p = 0.002314$). En 2010 y 2011, se observó la disminución de las poblaciones de hemípteros y de frutos también (Figura 12).

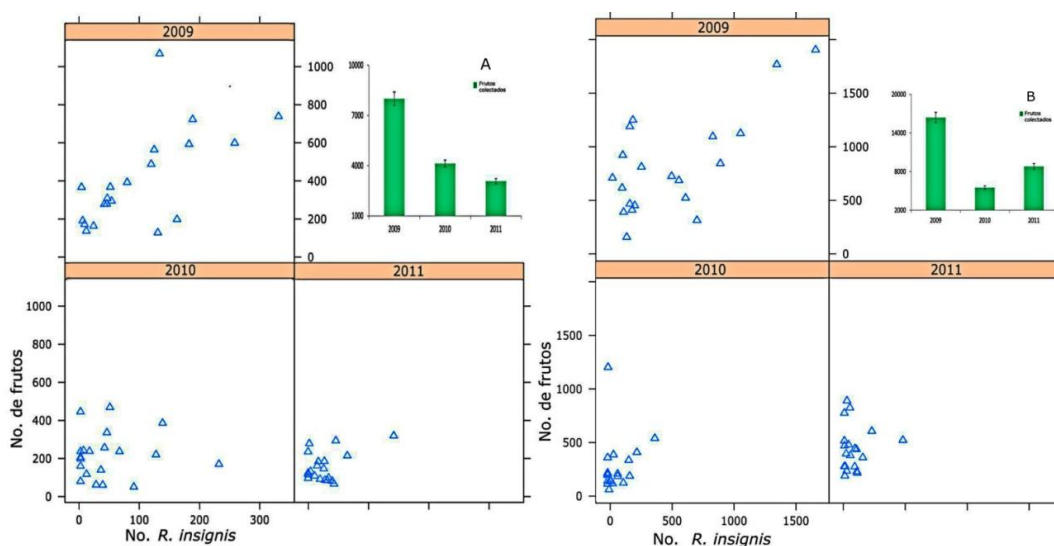


Figura 12. Análisis del número de *Ramosiana insignis* en relación al número de frutos por árbol de *Schoepfia schreberi* en Alamo (A) y en Osto (B) durante tres años de estudio (2009-2011).

Infestación y germinación de semillas

La producción de semillas se incrementó en CM en los años 2010 y 2011 y en OT disminuyó. Los resultados mostraron que ninguna semilla de los frutos utilizados por los insectos germinó y de los frutos maduros sin daño de 2009 germinó 68.4% de sus semillas ($n = 175$) y 64.6% ($n = 124$) de los del año 2010.

Discusión

Los insectos herbívoros se enfrentan a las fluctuaciones de disponibilidad de recursos (producción de frutos) y también a las restricciones impuestas por las interacciones con otros competidores, sus enemigos naturales y los factores abióticos.

La producción de frutos fue mayor en OT que en CM. Las variaciones observadas en el número de frutos entre sitios puede deberse a diferencia en la fenología de la planta, que es influenciada por el ambiente. Por lo que las

diferencias abióticas (temperatura y precipitación) observadas en OT y CM seguramente determinaron diferentemente los procesos de desarrollo. Otros autores señalan que también la ubicación geográfica y cobertura vegetal, pueden influir en la fenología de las plantas y realzar o afectar la producción de frutos (Hobbs y Yates, 2003; Agren *et al.*, 2008; Gunter *et al.*, 2008). La tendencia de un número mayor de frutos en OT también se reflejó en el número de individuos de *A. spatulata* pero no en sus parasitoides, en las dos especies de palomillas (sp1. y *Coleotechnites* sp.), pero tampoco para sus parasitoides, y en el número de *R. insignis*.

No hubo diferencia en el número de semillas obtenidas entre los dos sitios evaluados. Las semillas estuvieron presentes de febrero a mayo, por el hecho de que algunos frutos escapan de la depredación, lo que sugiere que la planta reacciona adecuadamente para adaptarse a la presión de los insectos (Figuras 5A y 5C), por ejemplo una mayor inversión en la producción de frutos puede compensar la depredación de semillas. Lo anterior, coincide con lo observado por Despres y Cherif (2004) en otras especies que coexisten si la disponibilidad del recurso del que se alimentan no es limitante; también hay coincidencia con lo señalado por Kolb *et al.* (2007) respecto a que la magnitud en la depredación de semillas y cambios en la producción de ellas pueden variar en espacio y tiempo.

En las interacciones interespecíficas, las especies de palomillas, mostraron diferencias espacio-temporal en la utilización del recurso (Figuras 5B y 5D), como lo observado en otras especies de insectos (*e.g.*, Vet y Van Alphen, 1985; Kaplan y Denno, 2007), para minimizar algún tipo de competencia con *A. spatulata* y *Coleotechnites* sp., la sp1. fue mayor al inicio de las recolectas, lo cual significa que utiliza los frutos tempranamente. Ya que *Coleotechnites* sp., utiliza los recursos en la misma etapa de desarrollo que *A. spatulata* parecen coexistir por la disponibilidad de frutos en la etapa inicial o porque existe una sucesión en la composición de las especies durante el desarrollo de la semilla (Hosaka *et al.*, 2009).

En conjunto los resultados permiten sugerir que *A. spatulata*, tiene ventaja sobre las palomillas por su número; sin embargo, faltaría analizar otros atributos biológicos de los insectos (fecundidad o capacidad de vuelo) para determinar las diferencias en las habilidades competitivas que hacen posible

que las poblaciones de lepidópteros y del díptero puedan coexistir y continuar persistiendo en otros sitios. Aunque la apreciación creciente es que las interacciones son inherentemente variables en el tiempo y el espacio (Strauss y Irwin, 2004, Behmer y Joern, 2008). Cuando competidores superiores invaden el hábitat de una especie inferior, ésta frecuentemente es desplazada, por lo menos localmente (Reitz y Trumble, 2002). Se considera que esto ocurre, cuando poblaciones de hemípteros, principalmente *R. insignis*, se incrementan y concentran en árboles específicos, en los que establecen interacciones directas e interfieren con dípteros y lepidópteros. Las larvas en los primeros estadios principalmente de *A. spatulata*, ven interrumpida su alimentación cuando un hemíptero al alimentarse de los frutos de *S. schreberi* provoca su abscisión y las larvas dentro de ellos frecuentemente no consiguen desarrollarse y no contribuyen a la descendencia de las poblaciones de *A. spatulata*.

El comportamiento reproductivo y el desarrollo de los insectos asociado al uso de los recursos es notablemente variable (Barat *et al.*, 2007; Van Klinken y Flack, 2008; Rossi *et al.*, 2011). En este estudio, por cada 100 frutos del total recolectado en los tres años obtuvimos 15 individuos de *A. spatulata*, del resto de los frutos una parte fue utilizada por las palomillas sp1. y *Coleotechnites* sp. y por las dos especies de hemípteros que utilizan los frutos independientemente de su etapa desarrollo, probablemente los individuos de *R. insignis* sean los mayores consumidores, pero debido que se concentran en ciertos arboles, redujeron la depredación de frutos. La intensidad de la depredación de frutos y semillas se sabe que varía considerablemente en el espacio y el tiempo (Kolb *et al.*, 2007; Rossi *et al.*, 2011). Por lo tanto, las especies pueden vivir en el mismo hábitat pero aprovechar los recursos en forma distinta, esta facilitación es dada por el patrón de separación temporal y se observa en los picos máximos de producción de frutos en OT y CM.

Existe la apreciación de que los factores abióticos jugaron un papel importante en la regulación de las poblaciones, porque aunque en el año 2009 existió una asociación directa entre la cantidad de frutos disponibles y la presencia de *R. insignis* ($p = 0.002$), en 2010 y 2011 no existió esa relación. Se sugiere que los factores que afectaron la dinámica de los hemípteros en el año 2010 fueron las condiciones climáticas, principalmente la precipitación pluvial, y

el número de frutos que disminuyó significativamente. Las ninfas de *R. insignis* fueron notablemente susceptibles a la lluvia al perecer muchas por el exceso de agua (observación personal). La disminución de hemípteros, más que la disminución en la cantidad de frutos en 2010 y 2011, tuvo un efecto positivo en la abundancia de *A. spatulata* debido a que disminuyó la competencia por interferencia. Esto, confirma que la competencia interespecífica ocurre en 76% de las interacciones, y en un número de ocasiones esta competencia es asimétrica (Denno *et al.*, 1995). Se observó que la regulación de poblaciones de *A. spatulata* o palomillas por los enemigos naturales es prevalente. Pero la regulación de alimento por las chinches es más común y esto puede tener efectos en los niveles tróficos superiores, que en este caso fueron parasitoides de *A. spatulata* y palomillas.

Al analizar los árboles individualmente y entre lugares se encontró que donde existió interacción significativa por interferencia con ninfas de hemípteros los parasitoides de *A. spatulata* disminuyeron o estuvieron ausentes, este efecto fue mayor en OT que en CM. Lo anterior permite sugerir que la heterogeneidad del hábitat en CM, contribuyó a la relaciones planta-herbívoros-niveles tróficos superiores, en este caso parasitoides y aunque el patrón de frutos recolectados en CM fue de 37.05%, la supresión de los herbívoros por parte de las poblaciones de enemigos naturales y las condiciones ambientales, tendieron a reducir o eliminar el agotamiento de los recursos, esto ocurrió en los años 2010 y 2011 ciclos en los que hubo producción mayor de semillas. Debe señalarse que las poblaciones de herbívoros y las densidades bajas de parasitoides en OT se debió a que los entornos agrícolas perturbados, han incrementado la exposición a la colonización de las plantas por los insectos potenciales, los que parecen localizarlas más fácilmente y por la eliminación de refugios de los enemigos naturales. Se ha señalado que la incidencia de un insecto aumenta con el tamaño de la población de las plantas hospederas y se reduce con el aislamiento (por ejemplo, Kruess y Tschardtke, 2000; Colling y Matthies, 2004; De Crop *et al.*, 2012), recientemente de Sassi y Tylianakis (2012) señalaron que temperaturas altas incrementan la herbivoría, pero en los niveles tróficos superiores no existe esta respuesta.

Las interacciones multitróficas son en gran parte responsables del origen y el mantenimiento de la diversidad de especies y las investigaciones de esas interacciones han contribuido a avances teóricos en ecología y biología evolutiva (Ohgushi *et al.*, 2007; van Dam y Heil, 2012). Un estudio de las interacciones interespecíficas por competencia e interferencia entre herbívoros y sus enemigos naturales, ampliarían el conocimiento del sistema. Al respecto, Tschamntke y Hawkins (2002) señalan que estudios multitróficos son de gran importancia para entender la organización de las comunidades y también identificar los mecanismos esenciales del mantenimiento de la biodiversidad.

En *S. schreberi* el número de semillas viables puede ser limitado. Puesto que ninguna semilla de los frutos utilizados por los insectos germinó. Los resultados resaltan la importancia del impacto que pueden tener los depredadores de semillas sobre la adecuación de la planta hospedera (Crawley y Akhteruzzaman, 1988) y en las interacciones insecto planta, demuestran que los efectos de abajo hacia arriba son importantes y que los depredadores de semillas pueden tener gran influencia sobre la dinámica poblacional de las especies y la selección de rasgos en sus plantas hospederas (Kolb *et al.*, 2007), porque afectan la diversidad y composición de especies de las comunidades vegetales (Lewis y Gripenberg, 2008). Aunque, el porcentaje de semillas germinadas puede considerarse alta, lo interesante será determinar el desarrollo y sobrevivencia de las plantas en un estudio a futuro.

Conclusiones

Un factor determinante de la abundancia de las especies de insectos, es la temporada de desarrollo y disponibilidad de los frutos. Lo que hace que las poblaciones fluctúen y sean reguladas o controladas por los procesos denso-dependientes y perturbadas por procesos denso-independientes. La adaptación de la planta de producir muchos frutos (asignación de recursos) permite maximizar su reproducción, su crecimiento y sus respuestas a la acción de la herbivoría. Esto tiene sentido biológico cuando no se observan otras defensas o los insectos son especialistas. La competencia interespecífica puede ocurrir cuando los procesos actúan en las comunidades de manera horizontal con otras especies en el mismo nivel trófico. Las ninfas de hemípteros al

alimentarse de los frutos infestados por larvas de *A. spatulata* o palomillas interfieren en su desarrollo y sobrevivencia. Las oscilaciones en la densidad de los parasitoides es resultado de la densidad del hospedero y de las condiciones ambientales prevalecientes en el sitio. El aumento del consumo de frutos y producción mínima de semillas en un árbol es dependiente de la densidad de la población de *R. insignis*, más que la infestación de frutos por *A. spatulata* o palomillas. Aunque el éxito reproductivo de la planta sea incierto, un componente para el decline de las poblaciones locales de la planta y niveles tróficos superiores, puede atribuirse en el caso de OT a la fragmentación del paisaje y otros factores no determinados en este estudio.

Literatura citada

- Agren, J., J. Ehrlén, and C. Solbreck. 2008. Spatio-temporal variation in fruit production and seed predation in a perennial herb influenced by habitat quality and population size. *Journal of Ecology* 96: 334–345.
- Aluja, M., E. Herrera, M. López, and J. Sivinski. 2000. First host plant and parasitoid record for *Anastrepha spatulata* Stone (Diptera: Tephritidae). *Proceedings Entomological Society Washington* 102: 1072–1073.
- Andreazzi, C.S., C.S. Pimenta, A.S. Pires, F.A.S. Fernandez, L.G. Oliveira-Santos, and J.F.S. Menezes. 2012. Increased productivity and reduced seed predation favor a large-seeded palm in small Atlantic forest fragments. *Biotropica* 44: 237–245.
- Barat, M., M. Tarayne, and A. Atlan. 2007. Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Britany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124: 167–176.
- Barber, N.A., L.S. Adler, N. Theis, R.V. Hazzard, and E.T. Kiers. 2012. Herbivory reduces plant interactions with above- and belowground antagonists and mutualists. *Ecology* 93: 1560–1570.

- Behmer, S.T., and A. Joern. 2008. Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proceedings National Academic Science USA* 105: 1977–1982.
- Berlow, E.L., A.M. Neutel, J.E. Cohen, P.C. de Ruiter, B. Ebenman, M. Emmerson, J.W. Fox, V.A.A. Jansen, J.I. Jones, G.D. Kokkoris, D.O. Logofet, A.J. McKane, J. M. Montoya, and O. Petchey. 2004. Interaction strengths in food webs: issues and opportunities. *Journal of Animal Ecology* 73: 585–598.
- Bernays, E.A., and R.F. Chapman. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York.
- Bourchier, R.S., and M.I. Crowe. 2011. Role of plant phenology in mediating interactions between two biological control agents for spotted knapweed. *Biological Control* 58: 367–373.
- Calderon de Rzedowski G. 1995. *Flora del Bajío y regiones adyacentes: fascículo 34. Familia Olacaceae. Pages 11p. - illus. Patzcuaro, Michoacan: Instituto de Ecología.*
- Colling, G. and D. Matthies. 2004. The effects of plant population size on the interactions between the endangered plant *Scorzonera humilis*, a special-ised herbivore, and a phytopathogenic fungus. *Oikos* 105: 71–78.
- Cox, D.R., and D.V. Hinkley. 1974. *Theoretical Statistics*, Chapman & Hall (Appendix 3) Hertfordshire, HRT, United Kingdom ISBN 0-412-12420-3.
- Crawley, M.J., and M. Akhteruzzaman. 1988. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects. *Functional Ecology* 2: 409–415.

- De Crop, E., R. Brys, and M. Hoffmann. 2012. The impact of habitat fragmentation on the interaction between *Centaureum erythraea* (Gentianaceae) and its specialized seed predator *Stenoptilia zophodactylus* (Pterophoridae, Lepidoptera). *Ecological Research* 27: 967–974.
- Denno, R.F., M.S. MacClure, and J.R. Ott. 1995. Interspecific interactions in phytophagous insects: Competition reexamined and resurrected. *Annual Review of Entomology* 40: 297–331.
- Despres, L., and M. Cherif. 2004. The role of competition in adaptive radiation: a field study on sequentially ovipositing hosts-specific seed predators. *Journal of Animal Ecology* 73: 109–116.
- Günter, S., B. Stimm, M. Cabrera, M.L. Diaz, M. Lojan, E. Ordoñez, M. Richter, and M. Weber. 2008. Tree phenology in montane forests of southern Ecuador can be explained by precipitation, radiation and photoperiodic control. *Journal of Tropical Ecology* 24: 247–258.
- Hobbs, R.J., and C.J. Yates. 2003. Impacts of ecosystem fragmentation on plant population: generalizing the idiosyncratic. *Australian Journal of Botany* 51: 471–488.
- Hosaka, T., T. Yumoto, H. Kojima, F. Komai, and N.S.M. Noor. 2009. Community structure of pre-dispersal seed predatory insects on eleven *Shorea* (Dipterocarpaceae) species. *Journal of Tropical Ecology* 25: 625–636.
- Juenger, T., T.C. Morton, R.E. Miller, and J. Bergelson. 2005. *Scarlet gilia* resistance to insect herbivory: the effects of early season browsing, plant apparency, and phytochemistry on patterns of seed fly attack. *Evolutionary Ecology* 19: 79–101.

- Kaplan, I., and R.F. Denno. 2007. Interspecific interactions in phytophagous insects revisited: a quantitative assessment of competition theory. *Ecology Letters* 10: 977–994.
- Kolb, A., J. Ehrlén, and O. Eriksson. 2007. Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9: 79–100.
- Korine, C., E.K.V. Kalko, and E.A. Herre. 2000. Fruit characteristics and factors affecting fruit removal in a Panamanian community of strangler figs. *Oecologia* 123: 560–568.
- Kruess, A., and T. Tschardt. 2000. Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia* 122: 129–137.
- Lázaro, A., A. Trasevet, and M. Mendez. 2006. Masting in *Buxus balearica* assessing fruiting patterns and processes at a large spatial scales. *Oikos* 115: 229–240.
- Lewis, O.T., and S. Gripenberg. 2008. Insect seed predators and environmental change. *Journal of Applied Ecology* 45:1593–159.
- López, M., and L. Cervantes. 2010. Life histories of *Ramosiana insignis* (Blanchard) and *Vulsirea violacea* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), with descriptions of immature stages. *Proceedings Entomological Society Washington* 112: 81–96.
- López-Ortega, M., and A.I. Khalaim. 2012. First record of *Calliephialtes sittenfeldae* associated with the tephritid fruit fly *Anastrepha spatulata* in Mexico. *Journal of Insect Science* 12:34 Available online: insectscience.org/12.34.

- Maron, J.L., and E. Crone. 2006. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 2575–2584.
- Ohgushi, T., T.P. Craig, and P.W. Price. 2007. *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Olf, H., D. Alonso, M.P. Berg, B.K. Eriksson, M. Loreau, T. Piersma, and N. Rooney. 2009. Parallel ecological networks in ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 364: 1755–1779.
- Ostergard, H., A.H. Peter, and J. Ehrlen. 2007. Pre-dispersal seed predation: The role of fruit abortion and selective oviposition. *Ecology* 88: 2959–2965.
- Pereira, R., G.J. Steck, E. Varona, and J. Sivinski. 2007. Biology and natural history of *Anastrepha interrupta* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 90: 389–391.
- Price, P.W. 2002. Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecological Research*, 17: 241–247.
- Price, P.W. 2003. *Macroevolutionary theory on macroecological patterns*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Reitz, S.R., and J.T. Thrumble. 2002. Competitive displacement among insects and arachnids. *Annual Review of Entomology* 47: 435–465.
- Rossi, M.N., L.M.S. Rodrigues, M.N. Ishino, and D. Kestring. 2011. Oviposition pattern and within-season spatial variation of pre-dispersal seed predation in a population of *Mimosa bimucronata* trees. *Arthropod-Plant Interactions* 5: 209-217.

- Sallabanks, R., and S.P. Courtney. 1992. Frugivory, seed predation, and insect–vertebrate interactions. *Annual Review of Entomology* 37: 377–400.
- Sanchez, S.M. 1996. Flora de Veracruz: fasciculo 93. Olacaceae. Xalapa: Instituto de Ecologia, 1996, vol. 15p. - illus.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1 User’s Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- de Sassi, C. and J.M. Tylianakis. 2012. Climate change disproportionately increases herbivore over plant or parasitoid biomass. *PLoS ONE* 7(7): e40557. doi:10.1371/journal.pone.0040557.
- Schoonhoven, L.M., J.J.A.van Loon, and M. Dicke. 2005. *Insect Plant-Biology*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review Ecology and Systematics* 12: 253–79.
- Strauss, S.Y. and Irwin, R.E. 2004. Ecological and evolutionary consequences of multispecies plant-animal interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 435-466.
- Track, A.J.M., S. Gripenberg, and T. Roslin. 2012. Cross-kingdom interactions matter: fungal-mediated interactions structure an insect community on oak. *Ecology Letters* 15: 177–185.
- Tscharntke, T. and B.A. Hawkins. 2002. *Multitrophic Level Interactions*. Cambridge University Press. 288 pp.
- Tylianakis, J.M., T. Tscharntke, and O.T. Lewis. 2007. Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. *Nature* 445: 202–205.

- Van Dam, N.M., and M. Heil. 2012. Multitrophic interactions below and above ground: en route to the next level. *Journal of Ecology* 2011 99: 77–88.
- Van Klinken, R.D., and L.K. Flack. 2008. What limits predation rates by specialist seed-feeder *Penthobruchus germaini* on an invasive shrub? *Journal of Applied Ecology* 45: 1600–1611.
- Vet, L., and J. Van Alphen. 1985. A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasps. 1. A quantitative study on Eucilidae and Alysiinae. *Oikos* 44: 478–486.
- Wenny, D.G. 2000. Seed dispersal, seed predation, and seedling recruitment of a neotropical montane tree. *Ecological Monographs* 70: 331–351.
- Werth, C.R., W.M. Vance Beird, and L.J. Musselman. 1979. Root parasitism in *schoepfia screeb.* (Olacaceae). *Biotropica* 11: 140–143.

Capítulo II. Interacciones en el uso y repartición de los frutos infestados por insectos en *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae)

Resumen

Las interacciones interespecíficas entre la mosca de la fruta *Anastrepha spatulata* (Diptera: Tephritidae) dos especies de palomillas *Coleotechnites* sp. (Lepidoptera: Gelechiidae) y una especie de tortricido no identificada, dos especies de hemípteros; *Ramosiana insignis* y *Vulcirea violácea* (Hemiptera-Heteroptera: Pentatomidae) se observaron durante dos años en dos sitios naturales. Se examinó el efecto de excluir a las especies de insectos en su probabilidad de infestación y alimentación de los frutos. Los resultados revelaron que *A. spatulata* posee superioridad competitiva ya que las hembras de esta especie infestaron una cantidad mayor de frutos (44.3%) y pueden duplicar la probabilidad de uso de los frutos con respecto a las palomillas, desplazándolas significativamente. La depredación mayor es por hemípteros, principalmente de *R. insignis*, al alimentarse de los frutos afectan la regulación de las poblaciones de *A. spatulata*. Observaciones *In situ*, en ambiente con recurso ilimitado, revelaron que las hembras de *A. spatulata* tienen la capacidad de localizar y seleccionar el uso del recurso. *R. insignis* al alimentarse no discrimina entre frutos infestados o no infestados por *A. spatulata*, dando lugar a una interacción antagonista. Se observó un nivel de coexistencia en el uso de los frutos por las especies de insectos estudiadas. Los frutos no dañados producen una semilla viable pero la interacción de todas las especies induce a una limitada formación de semillas.

Palabras clave: *Anastrepha spatulata*, depredadores de semillas *Coleotechnites* sp., competidor superior, coexistencia de especies, hemípteros.

Host use and resource sharing by fruit/seed-infesting insects on *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae)

Abstract

The interactions between the fruit fly *Anastrepha spatulata* Stone (Diptera: Tephritidae), two species of moths, the gelechiid *Coleotechnites* sp. and an unidentified tortricid species, and two hemipterous *Vulcirea violacea*

(Hemiptera-Heteroptera: Pentatomidae) were examined in terms of their exploitation within fruits of *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Santalales: Olacaceae) and their effects on seed production. The study was carried out in two natural sites during two years. Under conditions of abundant fruit, *A. spatulata* was the dominant exploiter at the population level, as shown by its ability to infest the largest number of fruits of the three herbivores and substantially displace its moth competitors. In a separate experiment, when resource-partitioning species were excluded, *A. spatulata* infested twice as many fruits as the two moth species (44.3%). The high predation Hemiptera, mainly *R. insignis*, by feeding on the fruits had an effect on the regulation of fly populations. Field observations showed the ability of *A. spatulata* to locate suitable fruits. *R. insignis* by feeding does not discriminate between infested or uninfested fruits *A. spatulata*, resulting in an antagonistic interaction.

A division of resources among the fruit-attacking insects allowed a level of coexistence among them. Uninfested fruits produce viable seed but the interaction of all species (exploiting for the fruits) led to limited seed formation.

Keywords: *Anastrepha spatulata*, depredadores de semillas *Coleotechnites* sp., competidor superior, coexistencia de especies, hemípteros.

Introducción

Las comunidades ecológicas son grupos de especies con estrategias espaciales y temporales diferentes. Una de las más comunes y potencialmente importante, es la coexistencia e intercambio entre especies, que incluye la utilización de recursos entre insectos herbívoros y sus enemigos naturales (Strong *et al.*, 1984; Price, 2003; Craig, 2007). Las interacciones entre una especie de insecto y su planta hospedera pueden ser afectadas por otras especies, con efecto directo e incluso en varios niveles tróficos con efecto indirecto (Ohgushi *et al.*, 2007).

Muchas especies de insectos se especializan en una o varias plantas hospederas relacionadas (Bernays y Chapman, 1994). Esto hace que las comunidades estén dominadas por las especies con mayor capacidad para la obtención de recursos; por lo tanto, una especie puede ser desplazada o eliminada por otras a través del principio de exclusión competitiva (Hardin,

1960). Cuando los recursos son abundantes y ricos en nutrientes es posible observar individuos de varias especies utilizando el recurso y formando gremios ecológicos, mismos que conforman modelos ideales para observar las interacciones complejas de competencia intra-e inter-específicas (Denno *et al.*, 1995; Munday *et al.*, 2001). Así, la repartición de recursos esenciales entre especies puede ocurrir (Behmer y Joern, 2008).

Los frutos de *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Santalales: Olacaceae), son utilizados por un gremio de insectos de diversos órdenes. Esta planta ha sido reportada como hospedera natural de la mosca de la fruta *A. spatulata* (Diptera: Tephritidae) de la que es especialista, así como de varias especies de parasitoides del orden Hymenoptera. Por lo anterior, la planta es relevante como reservorio de enemigos naturales, asociados a especies de las moscas de la fruta que son de importancia económica (Aluja *et al.*, 2000; López-Ortega y Khalaim 2012). Asimismo, la planta alberga a las especies de hemípteros: *Ramosiana insignis* (Blanchard) y *Vulcirea violacea* (F) y sus parasitoides (López y Cervantes, 2010). Los frutos también son usados por dos especies de micro-lepidópteros y su gremio de parasitoides de diferentes familias (datos no publicados). Observaciones preliminares de los frutos en este sistema sugieren la existencia de interacciones múltiples en varios niveles. Los objetivos de este estudio fueron, conocer el efecto de la interacción prevaleciente en el uso y la repartición de los frutos de *S. schreberi*, por *A. spatulata*, dos especies de palomillas *Coleotechnites* sp (Lepidoptera: Gelechiidae) y una no identificada (sp1.) de la familia Tortricidae, y *R. insignis* y *V. violacea*, así como el impacto de estas especies en la formación de semillas.

Experimentos de exclusión de especies de insectos fueron realizados para estimar la probabilidad del uso de los frutos y la habilidad de las especies para reducir la aptitud (fitness) de la planta al reducir la producción de semillas. Se empleó a *A. spatulata*, la especie más abundante, para saber si las características de los frutos influyen en la preferencia de uso como sitio de oviposición y a *R. insignis* en la preferencia de uso de los frutos como alimentación. En particular se consideraron las siguientes preguntas: ¿existe algún nivel de coexistencia de las poblaciones de especies dependiendo de la disponibilidad del recurso? y ¿qué particularidad puede conducir a que una especie sea más exitosa que otras en la utilización del recurso?.

Materiales y métodos

Sitios experimentales

El estudio se realizó en dos sitios en el Estado de Veracruz, en el área natural conservada, llamada "Osto" (OT; 19° 18' N, 96° 50' O, altitud 838 msnm), cerca del municipio de Tlaltetela. Se trata de una zona con fragmentos de bosque de encinos mezclados con bosque seco, praderas de pastos y plantaciones de caña de azúcar. El segundo sitio, fue en Tejeria (TJ; 19° 21' N, 96° 54' O, altitud 924 msnm), en el municipio de Teocelo, está representado por fragmentos de bosque de encino, mezclados con plantaciones de café y huertos de árboles frutales como naranja y guayaba.

Insectos

Los adultos de *A. spatulata* y las dos especies de palomillas, la sp1. y *Coleotechnites* sp., en la planta de *S. schreberi* ocurren entre diciembre y enero, y coinciden con la floración y el desarrollo inicial de los frutos. Por cada fruto, se desarrolla una larva de *A. spatulata* y en el caso de las palomillas una larva puede abandonar un fruto e invadir a otros para completar su desarrollo (datos no publicados), además los hemípteros, *R. insignis*, están presentes desde el inicio de la época reproductiva de *S. schreberi* y *V. violacea* se presenta más tarde, ya en la época de fructificación. La presencia de estos herbívoros puede afectar de manera significativa la reproducción de *S. schreberi*.

Exclusión de insectos

Para estimar nivel de infestación y el impacto de estos en la producción de semillas de *S. schreberi* se realizó un estudio para determinar el efecto de excluir a los insectos, en enero y febrero de 2009 y 2010, en TJ y OT. En cada sitio, se seleccionaron y marcaron cinco árboles adultos de *S. schreberi* con altura de 3 a 5 m, dispersos a través de los sitios de estudio.

Para evaluar el efecto de los insectos en los frutos, en cada árbol se seleccionaron aleatoriamente seis ramas, antes de la oviposición, con 60 a 80 frutos; y se cubrió cada una con una bolsa de tela organdí totalmente sellada (de 40x50 cm y con un soporte de alambre flexible para mantener las bolsas

rígidas en forma de cubo) para evitar la entrada de cualquier insecto (Figura 1A). Después de 10 o 15 días se dejaron solo 50 frutos por rama. Los tratamientos evaluados fueron seis: (1) Uso de los frutos por palomillas (T1); para esto, sustituimos la bolsa de organdí inicial, por una con orificios de 5.0 mm de diámetro (Figura 1B) que permitía la entrada de las palomillas adultas (tortricido= 1.5 de anchura por 4.0 mm de longitud y *Coleotechnites* sp.= 3.9 de anchura por 7.1 mm longitud) para ovipositar, y excluía a *A. spatulata*. (2) Uso de los frutos por palomillas y hemípteros (T2), como en T1 primero se permitió la entrada de las palomillas adultas para ovipositar y después de 10 a 12 días se sustituyó la tela de organdí de 5.0 mm por una totalmente sellada, y un par de ninfas de hemípteros de la especie *R. insignis* o *V. violacea*, fue introducido simultáneamente a cada bolsa, en este caso las ninfas no fueron removidas. (3) Oviposición por *A. spatulata* (T3), consistió en introducir a la rama embolsada un par de hembras grávidas de *A. spatulata*. Para obtener una tasa de oviposición similar a la que hubiera ocurrido en forma natural, las hembras fueron capturadas cuando ovipositaban en frutos no cubiertos del mismo árbol, y fueron removidas 10 días después. (4) Oviposición por *A. spatulata* mas hemípteros (T4), se realizó con la introducción, a la rama embolsada, de un par de hembras grávidas de *A. spatulata*, capturadas cuando ovipositaban en frutos no cubiertos del mismo árbol, removidas 10 días después y se introdujo a la bolsa de cada árbol un par de ninfas de hemípteros de una de las dos especies (*R. insignis* o *V. violacea*), en este caso las ninfas no fueron removidas. (5) Tratamiento sin insectos (T5), en él los frutos permanecieron protegidos todo el tiempo con la bolsa de organdí totalmente sellada. (6) Tratamiento sin exclusión de insectos (T6). En este caso a los frutos se les retiró la bolsa de organdí, y se colocó una trampa tipo embudo para recolectarlos.

Cuando los frutos habían alcanzado la madurez fisiológica y antes de que los insectos finalizaran su ciclo dentro del fruto, las ramas con los tratamientos fueron cortadas y transportadas al laboratorio para contabilizar los frutos utilizados y los no utilizados por las especies. Para esto, se obtuvo el número de larvas y pupas de *A. spatulata* y palomillas y el de semillas.



Figura 1. Bolsa de tela organdí totalmente sellada (40×50 cm) con soporte de alambre flexible, protegiendo una rama con frutos (A). Bolsa de tela organdí con orificios de 5.0 mm protegiendo una rama con frutos (B). Bolsa de tela organdí con rama con frutos para observación de oviposición-alimentación (C).

Uso de los frutos como sitios de oviposición o alimentación: Interacciones directas

Para evaluar los factores que determinan el uso de los frutos, como sitios de oviposición o alimentación se realizó un experimento observacional en 2010 y 2011 en TJ y OT, con frutos de cuatro árboles de *S. schreberi*. En cada árbol se eligieron cuatro ramas con 80 a 100 frutos, en postantesis, se protegieron con una bolsa de tela organdí fino de 50×50cm. Después de observar por una semana, la llegada de hembras a ovipositar a los frutos no protegidos de los árboles seleccionados (Figura 2A), Se realizaron observaciones regulares, en un horario de 9 de la mañana a 5 de la tarde. En un primer árbol, a una de las ramas, se le retiró la bolsa dejando al descubierto los frutos y por lo general de 1 a 3 hembras grávidas de *A. spatulata* eran atraídas a la rama con frutos (Figura 2B). Cada vez que una hembra se detenía e insertaba su ovipositor, se medía el tiempo hasta que lo sacaba (Figura 2C) y si empezaba a recorrer la superficie alrededor del fruto arrastrando su ovipositor y dejando la huella de su feromona de marcaje, se consideraba que la oviposición se había realizado con

éxito (Figura 2D). Se observó la oviposición en diez frutos por rama, los cuales fueron cortados e identificados, en ese momento también se tomaron 40 frutos al azar de la misma rama y se obtuvo el peso de estos en una balanza de precisión (The Ohaus Adventurer™ Pro, Parsippany, NJ) y la longitud y anchura con un vernier digital (Hangzhou United Bridge Tools Co., Ltd. Hangzhou, China).

Este procedimiento se repitió en cada una de las cuatro ramas embolsadas, de cada uno de los cuatro árboles; el número de frutos por árbol fue de 200, de ellos 40 fueron ovipositados y 160 no ovipositados, en total se evaluaron 800 frutos.



Figura 2. Elección de frutos de *Schoepfia schreberi* por *Anastrepha spatulata* Hembra ovipositando (A) hembra buscando (B) hembra ovipositando (C) Hembra marcando el fruto ovipositado (D).

Alimentación de *R. insignis* en frutos sanos y frutos ovipositados por *A. spatulata*

Se realizó este experimento para estimar la competencia directa interespecífica en dos especies, dípteros y hemípteros, después de observar el

comportamiento de oviposición de los dípteros y posteriormente el comportamiento de alimentación de los hemípteros. Se eligieron cuatro árboles, en cada uno se eligieron cuatro ramas y estas se embolsaron (Figura 1C). El número de frutos por árbol fue 120, de ellos 48 fueron ovipositados y 72 no lo fueron, se tuvo en total 480 frutos, en los que la oviposición por *A. spatulata* fue observada como se describió en el párrafo anterior. Los frutos ovipositados fueron marcándose con un punto de pintura acrílica no tóxica (Politec, Rodin S.A. de C.V. Mexico), hasta contabilizar doce por rama. Los frutos que permanecieron sanos se cubrían nuevamente con la bolsa de tela tul para protegerlos. Aproximadamente después de 20 días, cuando las larvas estaban en segundo estadio, se dejaron 10 frutos ovipositados por los dípteros y 10 frutos sanos, el resto fue cortado. Las ramas se cubrieron nuevamente con la bolsa y 1 día después, se observó la tendencia de alimentación del hemíptero en los primeros cinco y luego en 10 de ellos (Figura 3). Para lo anterior, se colocaron dos hemípteros de IV estadio, se observó los frutos que usaron para alimentarse, estos eran cortado y las chinches retiradas. Después se colocaron otras dos chinches nuevas. La secuencia se repitió hasta completar 10 frutos seleccionados por las chinches, los frutos se disectaron para determinar si estaban sanos o infestados.



Figura 3. Elección de *Ramosiana insignis* entre frutos infestados y no infestados.

Análisis estadísticos

Para los experimentos de exclusión se analizaron cada uno de los tratamientos, mediante un modelo jerárquico binario con tres niveles; nivel 3: lugar (k

=1,...,2), nivel 2: árbol ($j = 1, \dots, 10$) nivel 1: frutos ($i = 1, \dots, 50$), modelando la probabilidad de que un fruto fuera utilizado dados los tratamientos, la variable de respuesta en este caso fue una variable binaria es decir $y = 0$ (fruto no utilizado) y $y = 1$ (fruto utilizado). Así, que las probabilidades de usar un fruto pueden modelarse con:

$$\text{logit}p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1-p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_{ijk} + \beta_2 D2_{ijk} + \beta_3 D3_{ijk} + \beta_4 D4_{ijk} + \beta_5 D5_{ijk} + w_k + u_{ij} \quad (1)$$

$D1, D2, D3, D4$ y $D5$ son variables indicadoras, utilizadas para identificar el efecto del tratamiento y se codificaron de acuerdo al método de la celda de referencia, tomando como base el tratamiento 5, $w_k \sim N(0, \sigma_w^2)$ y $u_{ij} \sim N(0, \sigma_u^2)$ indican una estructura de correlación entre las observaciones.

Para saber si hay diferencias entre tratamientos se plantea la hipótesis:

$H_0 : \beta_0 = \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_4 = \beta_5 = \beta_6 = 0$ vs $H_1 : \text{existe al menos una } \beta \text{ distinta de } 0.$

Se rechaza la hipótesis nula sí $p\text{-value} < \alpha.$

Se identificaron cuales son las covariables que influyen en la preferencia de uso de los frutos como sitio de oviposición de *A. spatulata*. Este proceso se inició ajustando el modelo, con los 50 frutos de cada rama y de cada planta y las variables de los frutos (peso, longitud y anchura) y se plantearon tres juegos de hipótesis para determinar que variable fue determinante en la oviposición del hospedero.

El modelo usado para conocer las probabilidades de oviposición fue el modelo logístico mixto o también llamado modelo jerárquico binario con 3 niveles; nivel 3: árbol ($k=1, \dots, 4$), nivel 2: ramas ($j=1, \dots, 4$) y nivel 1: frutos ($i=1, \dots, 50$).

La variable respuesta se denota por y_{ijk} , es decir, es la variable para el fruto i -ésimo en la rama j -ésima y el árbol k -ésimo, y toma sólo dos valores 0 ó 1, $y = 0$ para el fruto no ovipositado y $y = 1$ fruto ovipositado. Las probabilidades del uso de los frutos en función de su longitud, anchura y peso pueden modelarse como sigue:

$$\text{logit}p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1-p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 \text{Peso}_{ijk} + \beta_2 \text{Longitud}_{ijk} + \beta_3 \text{Anchura}_{ijk} + w_k + u_{ij} \quad (2)$$

Donde $w_k \sim N(0, \sigma_w^2)$ y $u_{ij} \sim N(0, \sigma_u^2)$, consideran el hecho de que las observaciones están correlacionadas.

Las hipótesis fueron:

a) $H_0 : \beta_1 = 0$ vs $\beta_1 \neq 0$

b) $H_1 : \beta_2 = 0$ vs $\beta_2 \neq 0$

c) $H_1 : \beta_3 = 0$ vs $\beta_3 \neq 0$

En todos los casos, la regla de decisión fue rechazar la hipótesis nula si el p -value $< \alpha$.

En la elección de frutos infestados y no infestados, por los individuos de *R. insignis*, se tendrá Y_1, Y_2, \dots, Y_k . Para el problema de interés $K= 16= 4$ árboles x 4 bolsas. Es decir Y_1, Y_2, \dots, Y_{16} , se tiene $X_1, X_2, \dots, X_{10} \sim$ Bernoulli, $P=p(X=1)$ $P=$ probabilidad de que se seleccione un fruto infestado \sim binomial $(10, p)$. Los datos fueron analizados con el estadístico de prueba χ^2

Todos los análisis estadísticos se realizaron en SAS/STAT 9.1 para Windows utilizando las rutinas LOGISTIC y GLIMMIX.

Resultados

Exclusión de insectos y su impacto en la producción de semillas

Dada la probabilidad de que un fruto fuera utilizado, los resultados indicaron que existió al menos un tratamiento con efecto distinto al de los otros ($p \leq 0.001$). El mismo resultado se obtuvo para el lugar y el año ($p= 0.0469$); la abundancia de frutos fue la misma pero la respuesta de los insectos varió entre un año y otro. En los cinco tratamientos las especies de insectos utilizaron los frutos con diferentes magnitudes de infestación, en comparación con el tratamiento control sin insectos (T5) y en todos existió un efecto distinto (Figura 4A).

Para el tratamiento (T1), se encontró que fue 4.57 veces más probable que un fruto fuera utilizado por una de las larvas de las palomillas, según el exponencial del coeficiente estimado para el tratamiento, i.e $\exp(-1.52) = 4.57$ (Cuadro, 1) (Hosmer y Lemeshow, 2000). En el (T2) la probabilidad aumenta a 21.11 veces. En el (T3) la probabilidad de que un fruto fuera utilizado por *A. spatulata* fue 7.8 veces mayor en comparación con el control, y para el (T4) fue

30.57. Mientras que la interacción de las especies de los tres órdenes en (T6), más otros factores no controlados, la probabilidad se incrementó a 79.04 veces.

Cuadro 1. Coeficientes estimados para el modelo (1) exclusión de insectos. La comparación de los tratamientos se hizo con el control sin insectos (T5). Las tasas de ataque son más altas en el tratamiento sin proteger (T6), y en los tratamientos con hemípteros (T2y T4).

Tratamiento		Estimados	E.e.	t	P
Intercepto		-0.01603	0.1295	-0.12	0.9216
Palomillas		1.5223	0.1159	13.13	0.0001
(dos especies)	1				
Palomillas + hemípteros	2	3.0512	0.1456	20.96	0.0001
<i>A. spatulata</i>	3	2.0450	0.1204	16.98	0.0001
<i>A. spatulata</i> + hemípteros	4	3.4281	0.1601	21.42	0.0001
Sin proteger	6	4.3713	0.2232	19.58	0.0001
Sin insectos		0	.	.	.
(Control)	5				

Los porcentajes de palomillas y *A. spatulata* entre los tratamiento fueron; para palomillas en (T1) 11.4%, en (T2) 8.07% y (T6) 2.53%, mientras que para *A. spatulata* (T3) 44.29%, en (T4) 16.44% y (T6) 5.07%.

Las frecuencias de la producción de semillas en el tratamiento control sin insectos fue de 62.7%, mientras que un escenario con palomillas únicamente fue de 28.9% con palomillas + hemípteros de 9.0% solo *A. spatulata* de 20.6% *A. spatulata* + hemípteros 6.5% y sin proteger de solo 2.6% (Figura 4B).

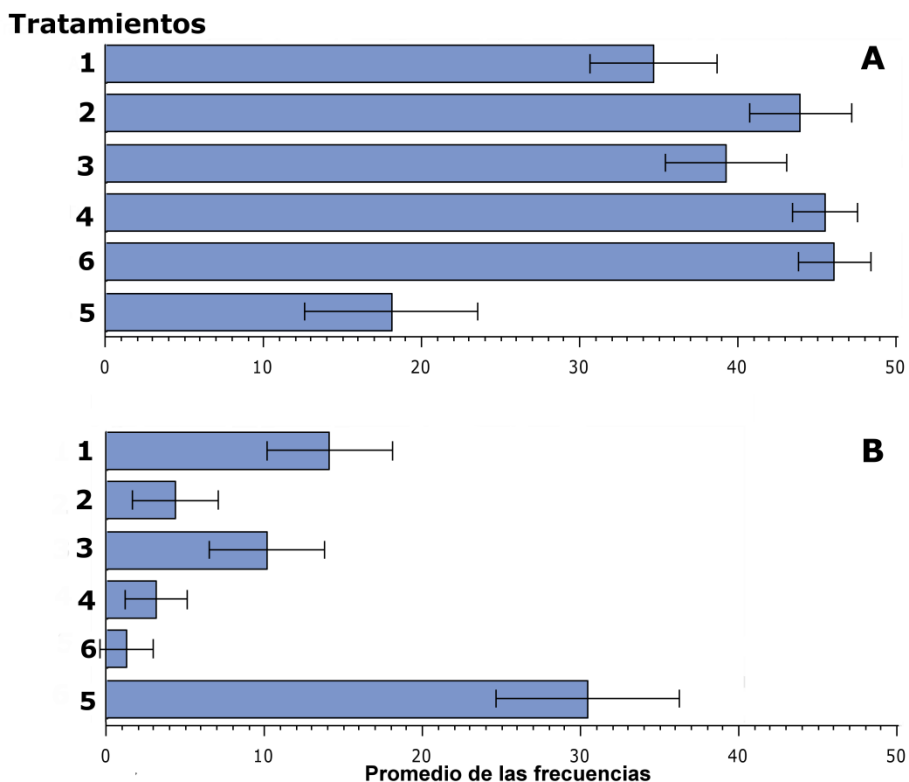


Figura 4. Promedio de las frecuencias de los frutos utilizados por los insectos en cada tratamiento **(A)**, porcentaje de frutos con semillas viables producidas por tratamiento **(B)**. Los tratamientos fueron: 1= palomillas (dos especies), 2= palomillas + hemípteros 3= *Anastrepha spatulata* (acceso solo *A. spatulata*) 4= *Anastrepha spatulata* + hemípteros 5= control (protegido), 6= sin exclusión (no protegido).

Efecto de las interacciones directas entre insectos

El efecto de *R. insignis* en la producción de semillas fue 3.02% en su interacción con palomillas y 2.95% en su interacción con *A. spatulata*, mientras que con *V. violacea* fue 16.25% con palomillas y 9.38% con *A. spatulata*. Lo anterior indica que *V. violacea* tuvo un efecto menor al alimentarse de los frutos, comparados con *R. insignis* (Figura 5). En el caso específico de *A. spatulata* el porcentaje de individuos obtenidos, difirieron cuando están sin competencia en comparación con sus interacciones con las demás especies, se observa que una disminución mayor en el porcentaje de los individuos ocurre principalmente con *R. insignis* y en su interacción con todas (Figura 6).

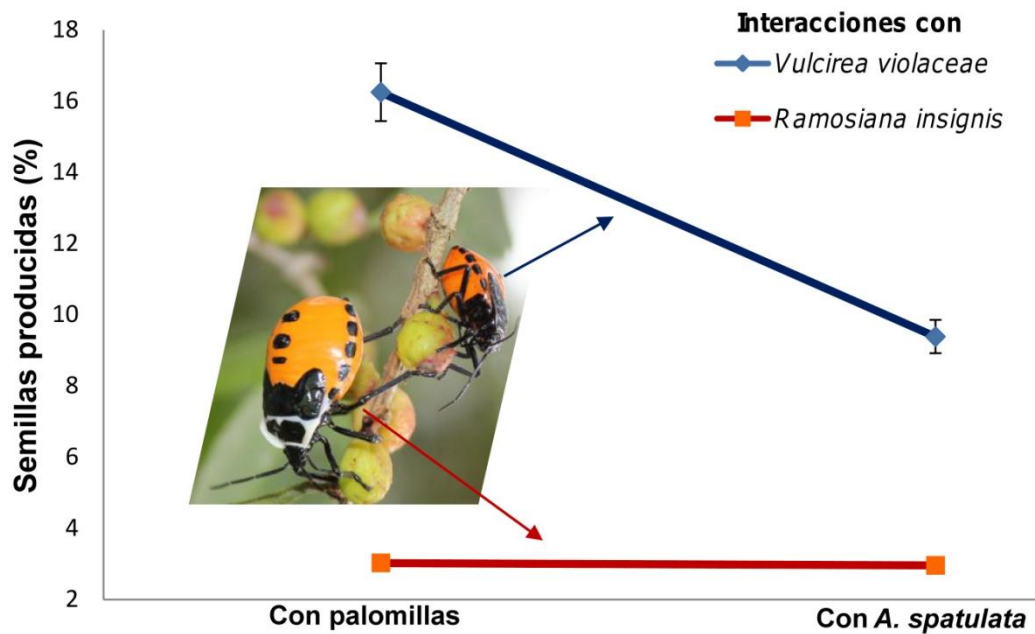


Figura 5. Semillas producidas por la interacción de palomillas y *A. spatulata* con *Ramosiana insignis* o *Vulcirea violaceae*.

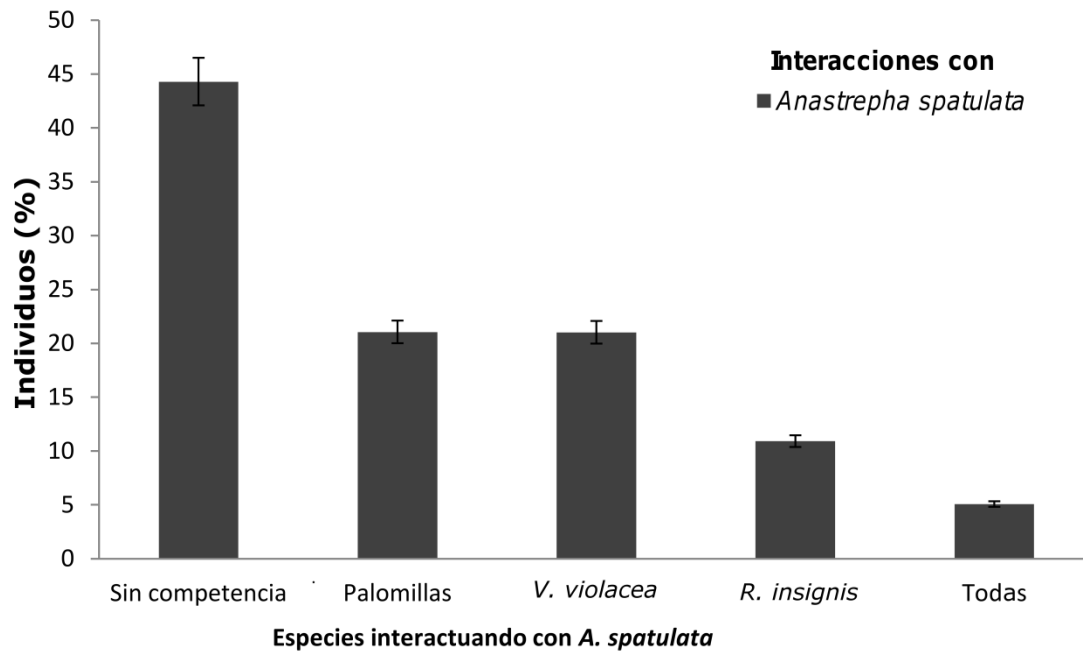


Figura 6. Porcentaje de individuos de *Anastrepha spatulata* obtenidos sin competencia y con interacción entre cada una y todas las especies.

Factores que influyen el uso de los frutos para oviposición

Los resultados muestran que en particular en *A. spatulata*, el peso ($p= 0.003$) y anchura ($p= 0.0001$) (Cuadro 2) de los frutos influyeron en la tasa de oviposición.

Cuadro 2. Coeficientes estimados de las variables que afectan la selección de frutos de *Schoepfia schreberi* por *Anastrepha spatulata*.

Variable	Estimados	E.e.	t	P
Anchura	-0.7930	0.1585	-5.00	0.0001
Peso	31.0245	10.4426	2.97	0.0031

La tasa de oviposición se modificó en función de la anchura y peso (Figura 7). Los coeficientes del modelo se interpretan como sigue: la anchura del fruto $\exp(1 \times -0.7930) = 0.4524$ indica que por cada mm que incremente esta característica del fruto, la probabilidad de oviposición se reduce aproximadamente a la mitad cuando las otras variables permanecen constantes. En el caso del peso del fruto $\exp(0.023 \times 31.0245) = 2.04$, por cada 0.023 mg de aumento, la probabilidad de oviposición se duplica. La variabilidad mínima y máxima en el total de frutos evaluados ($n=800$) estuvo entre 0.0150 mg y 2.610 mm de anchura (los pequeños) y 0.0900 mg con 5.840 mm de anchura en los frutos grandes. Aunque en las palomillas se ha determinado el periodo de oviposición en los frutos, se desconoce si existe algún tamaño de ellos que sean mayormente ovipositados. En este estudio, se observó que *A. spatulata* incrementaron la oviposición en frutos con tamaño (promedio \pm el error estándar) de 0.0618 ± 0.0005 mg y 4.1261 ± 0.0272 mm de anchura ($n = 160$)

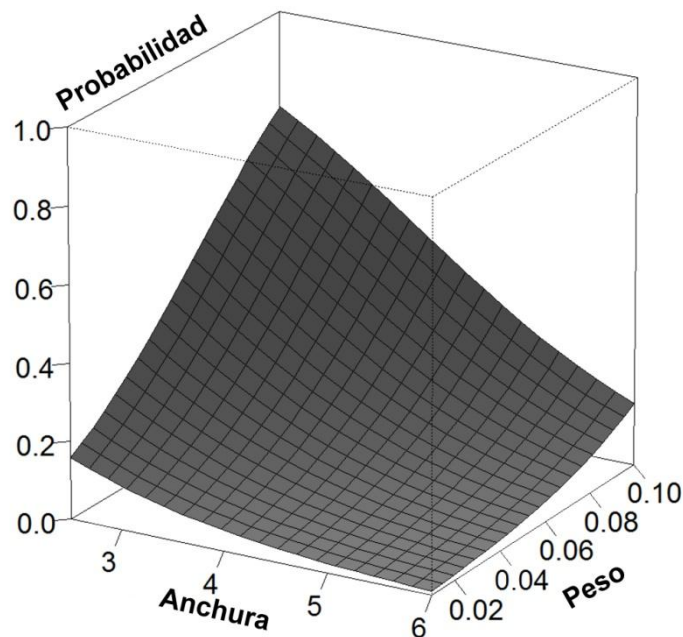


Figura 7. Probabilidad de oviposición por *Anastrepha spatulata* en dependencia del peso y anchura de los frutos de *Schoepfia schreberi* modelado como $p = \frac{\exp(-0.7930Anchura + 31.0245Peso)}{1 + \exp(-0.7930Anchura + 31.0245Peso)}$, con los coeficientes estimados del modelo jerárquico binario.

La selección de frutos por *R. insignis* no mostro una tendencia identificable ($X^2 = 24.99$ gl = 397 $P = 0.9950$); ya que, los individuos se alimentaron tanto de frutos infestados por *A. spatulata* como de frutos no infestados.

Discusión

Selección y uso del recurso

El hecho de que *A. spatulata* haya tenido los niveles mayores de infestación y correlación positiva con la disponibilidad de frutos se considera que es altamente capaz de localizar frutos viables. Interesante es la comparación que existe con más del 35% de frutos abortados, entre el promedio de las frecuencias del tratamiento T2 (insectos obtenidos 44.29% + semillas 20.63% = 64.92% fruto no abortados) y el control T3 (semillas 62.74% = 62.74% fruto no abortados). Este resultado sugiere que las hembras de *A. spatulata* parecen elegir ovipositar en los frutos que la planta no abortará. La habilidad de elegir

frutos fue acentuada en un ambiente donde los recursos no son limitados (Figura 1) aunque los frutos difieran en peso y tamaño; ambas características parecen condicionar en gran medida su uso. En algunos estudios se ha examinado directamente la selección del recurso como sitio de oviposición y sus restricciones. Por ejemplo, Ostergard *et al.* (2007) observaron que las hembras de *Bruchus atomarius* son capaces de detectar frutos con probabilidad de ser retenidos, principalmente por su posición y fenología. *A. spatulata* usa particularmente frutos con cierto intervalo de peso que al aumentar duplica las probabilidades de oviposición hasta el límite en que un incremento en la anchura de los frutos, disminuye esa probabilidad. En todo caso las larvas de *A. spatulata* requieren de un tamaño de fruto que les permita desarrollarse y alcanzar el estadio adecuado para abandonar el fruto, antes de la abscisión o de que madure. Probablemente la planta reacciona al detectar a los herbívoros con señales mecánicas y químicas (Erb *et al.*, 2012) y promueve un desarrollo acelerado de los frutos, mientras que la estrategia de los insectos es el uso de los frutos de mayor calidad con un cierto intervalo de tamaño. Frutos más grandes pueden tener restricciones fisiológicas o fitoquímicas haciéndolos menos deseables (Janzen, 1975; Juenger *et al.*, 2005).

Estudios con otras especies confirman la selección en función de las características de los frutos. Marchand y McNeil (2006) señalaron que las hembras de *Acrobasis vaccinii* (Riley) (Lepidoptera: Pyralidae) prefieren ovipositar en frutos grandes, con lo que aseguran los recursos suficientes para las larvas. Por otro lado, hembras de *Curculio elephas* Gyll (Coleoptera: Curculionidae) al parecer explota solo hospederos de la mejor calidad en recursos, sin importar que estos ya estén ocupados (Desouhant, 1998).

Efecto de la depredación de frutos en la producción de semillas viables

En este sistema, la historia de vida de los insectos influye en la producción de semillas, ya que los resultados del estudio de exclusión, indican que tanto las palomillas como *A. spatulata*, en estado único, sin competencia interespecífica carecerían de importancia en la reducción de la adecuación de *S. schreberi*. Takahashi y Huntly (2010) demostraron que la remoción de los herbívoros incrementa la producción de semillas en *Artemisia tridentata* L. (Asteraceae). Sin embargo, las dos especies de hemípteros y específicamente *R. insignis*,

que utilizan los frutos para su desarrollo tienen un impacto mayor al alimentarse en botones florales y flores cuando aun no hay frutos disponibles; los inmaduros emigran una vez que terminan el recurso, la etapa adulta la alcanzan al alimentarse del contenido seminal de *S. schreberi*. En el caso de *V. violacea* la oviposición sucede en condiciones que aseguran que cuando la progenie eclosione se alimenten de los frutos disponibles, la saciación no ocurre en estos insectos debido a que como adultos pueden seguir alimentándose. Los resultados de la interacción de todas las especies utilizando los frutos, mostraron una formación limitada de semillas. Por lo tanto, se sugiere que la abundancia y dinámica de las poblaciones de los insectos como depredadores de los frutos y semillas tiene un impacto sobre la adecuación de la planta hospedera (Crawley y Akhteruzzaman, 1988; Maron y Crone, 2006; Lewis y Gripenberg, 2008).

Efecto de las interacciones directas entre insectos

Los resultados indicaron que en la interacción de *R. insignis* con *A. spatulata*, ocurre un efecto antagonista que conduce a la competencia por interferencia cuando los individuos de *R. insignis*, que no discrimina entre frutos ya ocupados, interfieren con la alimentación y reproducción de las larvas, y afectan su sobrevivencia; además, el fruto cae y la larva muere cuando está en los estadios iniciales, dando como resultado la exclusión competitiva de *A. spatulata*. Esto es sobresaliente, puesto que diversos estudios de depredación y control de larvas de insectos herbívoros son enfocados con parasitoides y depredadores, a través de interacciones indirectas mediadas por las señales de la planta hospedera y las del huésped (Dicke y Baldwin, 2010; Segura *et al.*, 2012). Sin embargo, las interacciones a través de la competencia intra e interespecifica por los recursos, juega un papel importante en la dinámica de las poblaciones de insectos (Fréchette *et al.*, 2007). Es probable que también las palomillas y los niveles tróficos superiores parasitoides principalmente se vean afectados, entonces *R. insignis* estaría afectando indirectamente a la diversidad de los niveles tróficos superiores y controlando la abundancia de los consumidores de nivel intermedio. La capacidad o necesidad de *R. insignis* de utilizar el recurso, rebasa obstáculos, ya que también utiliza frutos infestados por pulgones y a la vez son cuidados por hormigas (M. López observación

personal). Mientras que la presencia e interacción de *V. violacea* con palomillas o *A. spatulata*, tienen un efecto menor en la adecuación de la planta, en comparación con *R. insignis* (3.02% y 2.95 respectivamente); por lo que, esta especie tiene un impacto menor tanto en la producción de semillas, como en la capacidad de compartir los recursos con individuos de palomillas o *A. spatulata*. Una posible explicación, es dada en el número de individuos y el tamaño de estos, un adulto hembra de *V. violácea* mide 15.71 ± 0.63 mm y un adulto de *R. insignis* 23.93 ± 0.98 mm (López y Cervantes, 2010).

Conclusiones

Anastrepha spatulata fue más abundante y competitiva, su éxito se debe a la sincronización con el hospedero, a la capacidad para localizar frutos viables y se atribuye la particularidad de selección en el uso del recurso. La probabilidad de éxito reproductivo de *A. spatulata* es mayor cuando no existe interacción con hemípteros o la presencia de todas las especies.

El uso de los frutos de *S. schreberi*, por *R. insignis* puede tener un efecto en la regulación de las poblaciones de *A. spatulata* y palomillas. La depredación alta de frutos por hemípteros y la acción en gremio de las especies de insectos y otros factores tienen un impacto en la formación de las semillas, lo que conduce al hecho de que el éxito reproductivo de *S. schreberi* sea incierto.

Literatura citada

Aluja M., E. Herrera, M. López, and J. Sivinski. 2000. First host plant and parasitoid record for *Anastrepha spatulata* Stone (Diptera: Tephritidae). *Proceedings Entomological Society Washington* 102: 1072–1073.

Behmer, S.T., and A. Joern. 2008. Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proceedings National Academic Science USA* 105: 1977–1982.

Bernays, E.A., and R.F. Chapman. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York.

- Craig, T.P. 2007. Evolution of plant-mediated interactions among natural enemies, pp 331–353. In T. Ohgushi, T. P. Craig, and P. W. Price (eds.), *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Crawley, M.J., and M. Akhteruzzaman. 1988. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects. *Functional Ecology* 2: 409–415.
- Denno, R.F., M.S. MacClure, and J.R. Ott. 1995. Interspecific interactions in phytophagous insects: Competition reexamined and resurrected. *Annual Review of Entomology* 40: 297–331.
- Desouhant, E. 1998. Selection of fruits for oviposition by the chestnut weevil, *Curculio elephas*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 71–78.
- Dicke, M. and I.T. Baldwin. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help' *Trends in Plant Science* 15: 167–175.
- Erb, M., S. Meldau, and G.A. Howe. 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends in Plant Science* 17: 250–259.
- Fréchette, B., S. Rojo, O. Alomar, and E. Lucas. 2007. Intraguild Predation between Syrphids and Mirids: Who is the Prey? Who is the Predator? *BioControl* 52: 175–191.
- Hardin, G. 1960. The competitive exclusion principle. *Science* 131: 1292–1297.
- Hosmer, D.W., and S. Lemeshow. 2000. *Applied logistic regression* second edition. Wiley, New York.
- Janzen, D.H. 1975. Behaviour of *Hymenaea courbaril* when its predispersal seed predator is absent. *Science* 189: 145–147.

- Juenger, T., T.C. Morton, R.E. Miller, and J. Bergelson. 2005. *Scarlet gilia* resistance to insect herbivory: the effects of early season browsing, plant apparency, and phytochemistry on patterns of seed fly attack. *Evolutionary Ecology* 19: 79–101.
- Lewis, O.T., and S. Gripenberg. 2008. Insect seed predators and environmental change. *Journal of Applied Ecology* 45: 1593–159.
- López, M., and L. Cervantes. 2010. Life histories of *Ramosiana insignis* (Blanchard) and *Vulsirea violacea* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), with descriptions of immature stages. *Proceedings Entomological Society Washington* 112: 81–96.
- López-Ortega, M., and A.I. Khalaim. 2012. First record of *Calliephialtes sittenfeldae* associated with the tephritid fruit fly *Anastrepha spatulata* in Mexico. *Journal of Insect Science* 12:34 Available online: insectscience.org/12.34.
- Marchand, D., and J.N. McNeil. 2006. Is fruit size important in the selection of oviposition sites by cranberry fruitworm, *Acrobasis vaccinæ*? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119: 213–219.
- Munday, P. L., G. P. Jones, and M. J. Caley. 2001. Interspecific competition and coexistence in a guild of coral-dwelling fishes. *Ecology* 82: 2177–2189.
- Maron, J.L., and E. Crone. 2006. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 2575–2584.
- Ohgushi, T., T.P. Craig, and P.W. Price. 2007. *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Ostergard, H., A. H. Peter, and J. Ehrlen. 2007. Pre-dispersal seed predation: The role of fruit abortion and selective oviposition. *Ecology* 88: 2959–2965.
- Price, P.W. 2003. *Macroevolutionary theory on macroecological patterns*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- SAS Institute Inc. 2004. *SAS/STAT® 9.1 User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Segura, D.F., M.M. Viscarret, S.M. Ovrusky, and J.L. Cladera. 2012. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* to host and host-habitat volatile cues *Entomologia Experimentalis et Applicata* 143: 164–176.
- Strong, D.R., J.H. Lawton, and T.R.E. Southwood. 1984. *Insects on plants, community patterns and mechanisms*. Cambridge, MA, Harvard University Press.
- Takahashi, M., and N. Huntly. 2010. Herbivorous insects reduce growth and reproduction of big sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Arthropod Plant Interactions* 4: 257–266.

Capítulo III. Hembras de *Ramosiana insignis* (Hemiptera: Pentatomidae) ponen sus huevos lejos de la planta hospedera, pero son atraídas por los volátiles de ésta

Resumen

En este estudio, se investigó en experimentos en campo en condiciones de no manipulación y manipulación, si la oviposición de las hembras de *Ramosiana insignis* (Hemiptera: Pentatomidae) es influenciada por la planta hospedera *Schoepfia schreberi* (Santalales: Olacaceae) y una planta no hospedera *Coffea arabica* (Rubiaceae). El promedio del número de huevos puestos por las hembras en condiciones de no manipulación fue mayor en la planta no hospedera que en la planta hospedera. Hembras en condiciones de manipulación ovipositaron en su planta hospedera, mientras que en la planta no hospedera también lo hicieron pero, las hembras retardaron la oviposición de sus huevos. El mecanismo de retención de los huevos es atribuido a la falta de señales y del contacto con la planta hospedera. Adicionalmente, se investigó la respuesta de hembras y machos de *R. insignis* a los volátiles provenientes de hojas y corteza de su planta hospedera usando un olfatometro tipo Y. Las hembras pero no los machos fueron atraídos a los volátiles de hojas y corteza así como a extractos hexánicos de estos materiales.

Palabras clave: Búsqueda de hospedero, hospedero adecuado, atracción olfativa, preferencia de oviposición, Hemiptera, experimento de campo, retención de huevos, bioensayos.

Abstract

In this study, was investigated the influence of two plant species, a host plant (*Schoepfia schreberi*) and a non-host plant (*Coffea arabica*) on the oviposition of the stink bug *Ramosiana insignis*, using both field surveys and no-choice bagged studies. Under non-manipulated field conditions, egg masses found on coffee bushes contained more eggs than egg masses on the normal host plant (*S. schreberi*). When confined in organolytic bags over either *S. schreberi* or coffee branches, female bugs deposited similar numbers of eggs but on the non-host plant (coffee), oviposition was significantly delayed, which seemed to be related to the lack of stimulus provided by normal host plant. Volatiles from *S. schreberi*

were found to attractive to adult bugs in a Y-tube olfactometer. Females were attracted to fresh foliage, as well as extracts of leaves or bark. Males were attracted to fresh leaves or extracts of fresh leaves.

Key words: Host-finding, suitable host, olfactory attraction, oviposition preference, Hemiptera, field experiment, egg retention, bioassays.

Introducción

Los insectos perciben una serie de estímulos provenientes de plantas, que incluyen las características visuales, mecánicas, gustativas y olfativas, que los guían en la ubicación y aceptación de sus hospederas e identificación de sitios de oviposición (Visser, 1986; Schoonhoven *et al.*, 2005). Adicionalmente, los procesos fisiológicos y estímulos ambientales influyen en la búsqueda del hospedero (Harris y Foster, 1995). Los compuestos volátiles de las plantas se detectan por el sistema olfativo altamente sensible de los insectos (Bruce y Pickett, 2011), por lo que la percepción de los olores de hospederos y de no hospederos en los insectos se rige por un conjunto de reglas de procesamiento (Cunningham, 2011).

La orientación de artrópodos herbívoros y carnívoros en ambientes naturales está fuertemente determinada por la relación entre la complejidad y diversidad química de los volátiles y las especies de plantas, lo cual puede afectar significativamente su dirección (Sabelis *et al.*, 2007; Randlkofer *et al.*, 2010, Anderson y Hamback, 2011). Los componentes químicos de la planta, tales como los nutrientes y los metabolitos secundarios son uno de los factores más importantes en la decisión de la hembra para ovipositar (Renwick, 2001; Awmack y Leather 2002). El proceso de búsqueda de un hospedero inicia con la percepción de los estímulos provenientes del hábitat de la planta hospedera y de la planta misma, posteriormente el insecto contacta la planta hospedera y procede a su evaluación y finalmente puede aceptarla o rechazarla (Bernays y Chapman, 1994; Calatayud *et al.*, 2008). La hipótesis de “preference-performance” (Jaenike, 1978) asume que la prioridad de oviposición por parte de los adultos, está determinada por la calidad del sitio de oviposición que maximice el desarrollo y supervivencia de la progenie (Scheirs *et al.*, 2000; Gripenberg *et al.*, 2010; Clark *et al.*, 2011). *R. insignis* es un insecto semélparo

univoltino, realiza su ciclo completo y se alimenta principalmente de los frutos de su planta hospedera *S. schreberi* (López y Cervantes, 2010). Después de aparearse en forma agregada en árboles específicos de *S. schreberi* y de *Erythrina americana* Miller (Fabaceae), las hembras se dispersan para buscar las plantas adecuadas para ovipositar. Las hembras de *R. insignis* arriban y establecen contacto con el follaje de *S. schreberi*, al finalizar el verano y parte del otoño, una acción altamente correlacionada con el comportamiento de oviposición. Las hembras de *R. insignis* contactan los botones florales iniciales que empiezan a formarse en los nudos. Finalmente la hembra se queda estática en el envés de la hoja seleccionada y entre el segundo y quinto día realiza una sola oviposición. Sin embargo, hay hembras que una vez que han establecido el contacto con la planta hospedera la abandonan, colocándose en el envés de una hoja de una planta no hospedera en la vegetación que rodea a una planta hospedera donde finalmente ovipositan. Observaciones preliminares indican que este insecto oviposita en la planta hospedera y en plantas no hospederas (39 especies de planta) por ejemplo en cafetos *Coffea arabica* L. (Rubiaceae), una de las seis especies de la familia Rubiaceae seleccionadas como sitio de oviposición en condiciones naturales (M. López y T. Williams, datos no publicados). Se ha observado que se agregan para poner sus huevos solamente en plantas con una avanzada señal de botones florales, flores o pequeños frutos o cerca de estas que sirvan a su progenie de recursos alimenticios, hasta el inicio del periodo normal de fructificación de la planta hospedera, durante los meses de enero a marzo.

Este estudio se centra en observar la interacción entre el insecto herbívoro *R. insignis* y su planta hospedera, *S. schreberi*. La hipótesis que se plantea es que la atracción de los adultos es el resultado de la percepción de los compuestos volátiles provenientes de la planta hospedera, y que el comportamiento selectivo del sitio de oviposición de las hembras de *R. insignis*, se ha desarrollado para maximizar la adecuación y desempeño de las hembras. En experimentos en campo con manipulación y sin manipulación se analizó el desempeño de las hembras en la selección del sitio y la oviposición en la planta hospedera y en una planta no hospedera (*C. arabica*). Asimismo mediante experimentos de laboratorio con ensayos de elección dual, se investigó la percepción de hembras y machos de *R. insignis* a los olores de su

hospedero al dirigirse hacia material vegetativo fresco y extractos de la planta *S. Schreberi*.

El objetivo fue determinar la respuesta de oviposición de las hembras, en la planta hospedera y en una no hospedera, y evaluar la respuesta comportamental de los insectos a los olores/volátiles de su planta hospedera.

Materiales y métodos

Sitios experimentales

Los sitios experimentales se ubican en Tejería, 19 ° 21 'N, 96 ° 54' O, altitud 924 msnm, y Monte blanco 19° 22' N, 96° 55' O, altitud 977 msnm en el municipio de Teocelo. El área comprende bosques fragmentados de encinos, mezclados con plantaciones de café y árboles frutales como naranjos y guayabos.

Planta

Schoepfia schreberi es una especie que crece desde el bosque tropical caducifolio hasta el bosque seco de *Quercus sp.*, y con una amplia distribución. Después de la fructificación, las plantas tienen rebrotes vegetativos entre marzo y mayo. Durante el verano se mantiene siempre verde y al inicio del otoño algunos árboles inician su periodo de floración que es cuando puede observarse el arribo de los hemípteros para la oviposición.

Insectos

Adultos de *R. insignis* se recolectaron en la localidad de Osto ubicado a una altitud de 838 msnm (19° 18' N 96° 50' O), y en la Camelia municipio de Alamo con una altitud 245 msnm (20° 85' N 97° 83' O) en el estado de Veracruz, México. Los periodos de recolecta fueron entre julio y agosto de los años 2009 y 2010. Se realizaron siete recolectas en total, cuatro en Alamo y tres en Osto. Los insectos se separaron por sexos y fueron colocados en jaulas de plexiglás de 40 cm x 40 cm ramas con hojas frescas de su planta hospedera. Se mantuvieron en un laboratorio a una temperatura de 24 °C y a una humedad relativa del 60%, por un periodo de 10 días, para realizar los bioensayos.

Aceptación y preferencia del sitio de oviposición (condiciones de campo)
Oviposición en condiciones de no manipulación: Se localizaron hembras cuidando sus huevos ovipositados tanto en plantas de *S. schreberi* (hospedera) (Figura 1A) y en plantas de *C. arabica* (no hospedera) (Figura 1B). Para fines comparativos con el experimento de manipulación, se seleccionaron 22 hembras de *R. insignis* en árboles de *S. schreberi* y 22 ejemplares en plantas de *C. arabica*. Se contabilizó en cada sitio de oviposición, el número total de huevos por hembra.

Oviposición en condiciones de manipulación. Un total de 120 parejas de *R. insignis* recolectadas en agosto del 2009 y del 2010 en los lugares ya descritos, se mantuvieron en la localidad de tejerías en ramas de árboles de *S. schreberi* en bolsas de organdí de 50 cm × 50 cm. Los apareamientos ocurrieron y las parejas que se iban formando para su identificación, se marcaban en el dorso del tórax con pintura acrílica no tóxica (Politec, Rodin S.A. de C.V. Mexico). Posterior a la cópula, conforme las parejas se iban separando de manera sincronizada, una pareja se colocó en la planta hospedera y la otra en la planta no hospedera, por lo tanto los insectos no tuvieron opción de buscar y elegir un sitio de oviposición. Cada individuo se pesó, utilizando una balanza de precisión Ohaus Adventurer™Pro, Ohaus Inc. (Parsippany, NJ.).

Experimento en la planta hospedera (1). El diseño del sitio de oviposición, consistió en elegir cinco ramas de un árbol de *S. schreberi*. Cada rama se cubrió con una bolsa de tela de organdí de 40 cm × 50 cm con un soporte de alambre flexible para mantener las bolsas rígidas en forma de cilindro, a la cual se le introdujo una hembra de *R. insignis*. Experimento en la planta no hospedera (2). El diseño consistió en distribuir cinco macetas, cada una con una planta de *C. arabica* alrededor de un árbol de *S. schreberi* a una distancia de 1 m del límite del follaje. Las macetas fueron introducidas y enterradas entre la vegetación. La altura de la planta de *C. arabica* era de 80 a 90 cm con abundante follaje y se cubrió con una bolsa de tela organdí, a la cual se le introducía una hembra *R. insignis*; En total fueron cinco 5 hembras en ramas de la planta hospedera y cinco hembras en los cafetos y esto se repitió en 10 árboles, en los años 2009 y 2010.

Los datos registrados fueron: fecha de colocación del insecto en la bolsa, fecha de la oviposición, el número total de huevos de cada hembra, en

ambos tratamientos en condiciones de manipulación y no manipulación, la revisión de las oviposiciones fueron tomados cada tercer día.



Figura1. Hembra *Ramosiana insignis* cuidando sus huevos en su planta hospedera *Schoepfia schreberi* (A) Hembra *Ramosiana insignis* con progenie emergida en la planta no hospedera *Coffea arabica* (B).

Preparación de los bioensayos

Recolecta de follaje y corteza de *S. schreberi*. El material vegetativo se obtuvo de diversos árboles de *S. schreberi* de 5 m de altura y un diámetro del tronco de 15 cm, en promedio, en el área natural de Osto y la Camelia. Se prepararon seis bioensayos con los siguientes diferentes fuentes de olor: **T1**: 4 a 5 hojas frescas y **T2**: 3 a 4 g corteza fresca. El testigo utilizado fue papel filtro. **T3**: extracto de hojas, **T4**: extracto de corteza. Para la preparación de los extractos se utilizó materiales secos, los cuales inicialmente se maceraron con hexano que cubrió al tejido, se dejó reposar a temperatura ambiente por 48 h y al final de este tiempo, se decantó el extracto, el método es descrito por Rosas (2005). De los extractos crudos obtenidos, se tomó una muestra de 10 µg por repetición, la cual se colocó sobre papel filtro. El testigo consistió en colocar 10 µl de hexano puro sobre el papel filtro. Los tratamientos **T5** y **T6** consistieron de hojas y de corteza fresca respectivamente, los cuales fueron extraídos con hexano en una dilución de 1:1, es decir 15 g de hojas y/o corteza en fresco sumergidos por 1 min en 20 ml de hexano, finalmente el extracto fue

concentrado a 15 ml. Para los bioensayos se emplearon 5 a 6 μl del extracto por repetición, el cual se aplicó sobre papel filtro. El testigo consistió de 5 a 6 μl de hexano puro colocado sobre papel filtro.

Respuesta comportamental de los insectos

Respuesta comportamental de *R. insignis* hacia los olores/volátiles de su planta hospedera *S. schreberi*. Este experimento se realizó en julio y agosto en los años 2009 y 2010. La respuesta de hembras y machos de *R. insignis* a las seis diferentes fuentes de olor fueron evaluadas utilizando un olfatómetro de vidrio en forma de "Y" (Rojas *et al.* 2002). El olor de las muestras es enviado al olfatómetro, por aire previamente purificado a través de un filtro con carbón activado con un flujo de 0.2 Lmin^{-1} . El flujo del aire era regulado por un par de fluxómetros (Gilmont Instruments, Barnant Co., Barrington, IL, EUA), y humidificado mediante burbujeo en un recipiente de agua antes de pasar al olfatómetro. En una de las cámaras de vidrio se colocó la muestra del tratamiento a evaluar y en la otra el testigo (Figura 2B). Cada hembra o macho se introdujo individualmente, utilizando un vaso con capacidad de 28 ml (Solo cup CO) a través de uno de los brazos del tubo en forma de "Y". Las observaciones se registraron en lapsos de 5 minutos, si existía una respuesta, se daba por terminado cuando el hemíptero llegaba al final de la cámara con el tratamiento o control elegido. Después de cada repetición, la posición de las cámaras era cambiada para evitar sesgo experimental. Al final, de cada cinco observaciones, el olfatómetro se lavó con agua y jabón neutro, se enjuagó con acetona y se secó a $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en un horno durante dos horas. Los bioensayos se realizaron en el laboratorio con una temperatura de $26 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 65 a 75%. La iluminación fue ambientada por seis lámparas fluorescentes (39 W, General Electric, México) la intensidad fue de 1.676 lux, proyectándola a 120 cm sobre el olfatómetro.

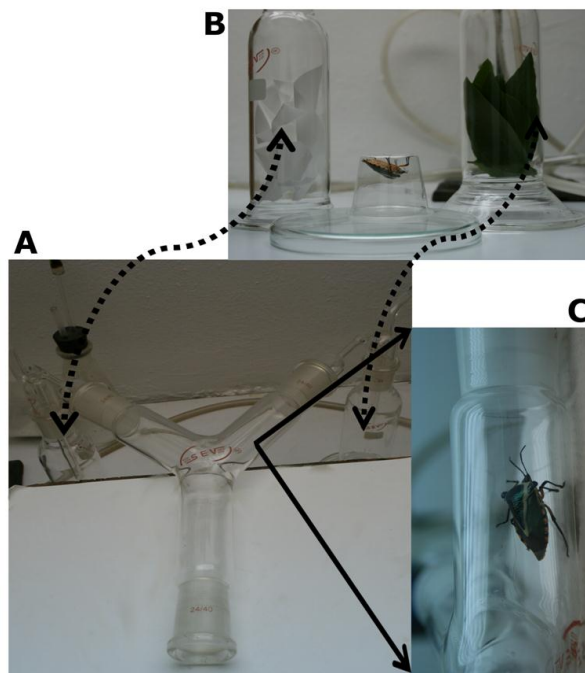


Figura 2. Representación gráfica de los ensayos de comportamiento de respuesta de atracción de *Ramosiana insignis* a los diferentes tratamientos utilizando un olfatómetro en forma de Y.

Análisis estadístico

El número de huevos ovipositados por las hembras en plantas hospederas y no hospederas, se analizó usando pruebas t de comparación de medias. Para determinar si el peso de las hembras estaba correlacionado con el número de huevos ovipositados, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (Cox y Hinkley, 1974).

Se parte de la hipótesis de que los insectos no muestran preferencia por alguno de los tratamientos evaluados. Los datos fueron analizados utilizando la prueba de Ji-cuadrada. Los insectos que no eligieron ninguno de los tratamientos, fueron excluidos de los análisis. En la selección de tratamientos como función de tiempo y sexo, se utilizó un modelo de regresión logística (Nelder y Wedderburn, 1972; Dobson, 2002) para estimar la probabilidad de que los insectos de *R. insignis*, seleccionaran el testigo o alguno de los extractos incluyendo además el sexo de los insectos y el tiempo de respuesta a los estímulos.

En el modelo, se incluyó el tratamiento como una variable categórica, usando el método de la celda de referencia (Hosmer y Lemeshow, 2000), tomando como base el tratamiento 3. La variable sexo fue incluida de manera

similar, en este caso se tomó como referencia a los machos. El modelo se ajustó usando la rutina LOGISTIC del paquete SAS/STAT 9.1 para Windows.

Resultados

Número de huevos puestos en la planta hospedera y en la no hospedera

Se encontraron diferencias significativas en el número de huevos ovipositados en plantas hospederas y plantas no hospederas manipuladas con respecto a las no manipuladas ($F_{1,118} = 5.36$, $P = 0.023$) el promedio de huevos ovipositados en las plantas no manipuladas fue numéricamente mayor que aquel encontrado en la condición de manipuladas (Figura 3).

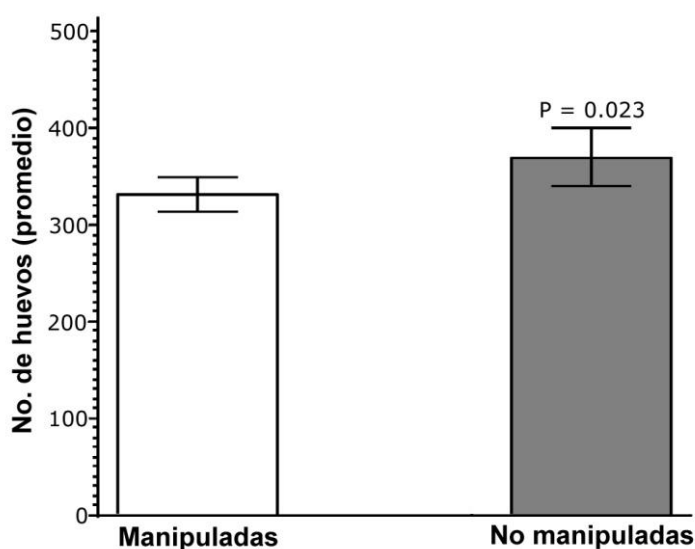


Figura 3. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de *Ramosiana insignis* en plantas manipuladas (control del sitio de oviposición) y no manipuladas (elección natural del sitio de oviposición) en condiciones de campo.

Al considerar por separado las oviposiciones en condiciones de no manipulación y manipulación se encontraron diferencias significativas ($F_{1,42} = 8.19$, $P = 0.007$ y $F_{1,74} = 7.30$, $P = 0.009$ respectivamente). En condiciones de no manipulación, la cantidad de huevos ovipositados en la planta no hospedera fue significativamente mayor (Figura 4) y en condiciones de manipulación el número de huevos fue mayor en la planta hospedera (Figura 5).

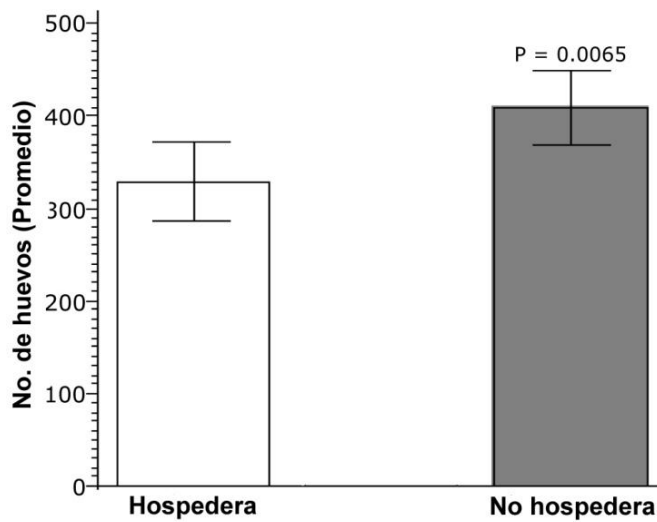


Figura 4. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de *Ramosiana insignis* en la planta hospedera y en la no hospedera (no manipuladas).

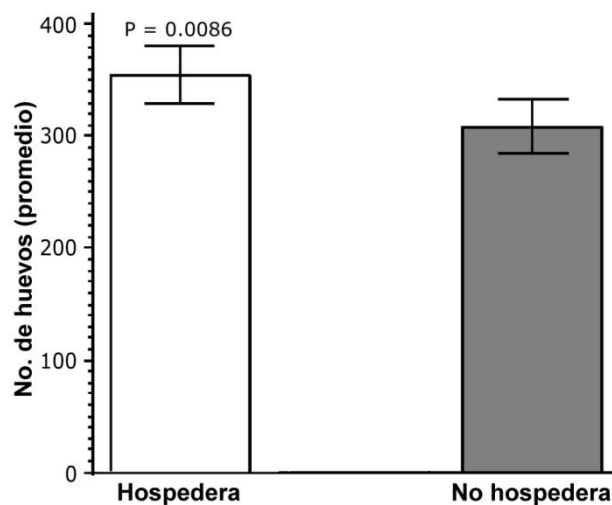


Figura 5. Número promedio de huevos (media \pm desviación estándar) puesto por hembras de *Ramosiana insignis* en la planta hospedera y en la no hospedera (manipuladas).

Respecto a los análisis de los tiempos de oviposición en condiciones de no manipulación, los resultados indican que no hay relación entre el número de huevos y el número de días que las hembras tardan en ovipositar ($r = 0.085$, $F_{1,74} = 0.55$ $P = 0.460$) en este caso una hembra puede poner su carga de huevos a los cinco días y otra hembra, con la misma cantidad de huevos lo hace después de 3 ó 4 semanas. En contraste, en la condición de manipulación se encontraron diferencias significativas entre plantas hospederas y no

hospederas y el tiempo que tardaron en ovipositar ($F_{1,74} = 9.09$, $P = 0.004$). El retraso en la oviposición ocurrió en las plantas no hospederas, donde las hembras no tuvieron contacto con su planta hospedera (Figura 6).

La relación entre el peso de las hembras y el número de huevos ovipositados en el hospedero y no hospedero no fue significativa ($r = 0.079$, $F_{1,74} = 0.46$, $P = 0.499$). Aunque se encontró que fue altamente significativa para el número de huevos puestos y el peso de la hembra ($F_{1,74} = 24.49$, $P = 0.0001$), indicando que hembras más grandes ponen un mayor número de huevos independientemente si la planta es hospedera o no.

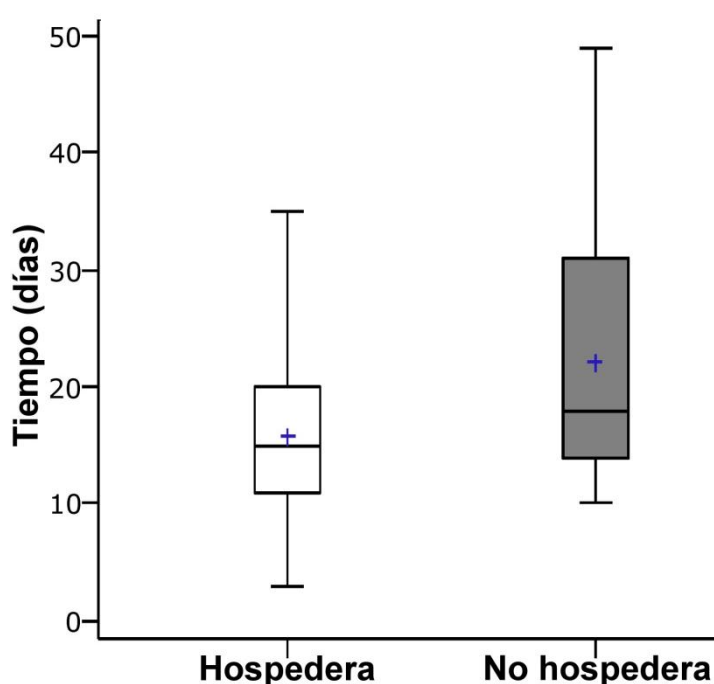


Figura 6. Efecto del periodo en días en que ocurrió la oviposición de hembras de *Ramosiana insignis* en plantas hospederas vs no hospederas (manipuladas).

Respuesta comportamental de *R. insignis* hacia los olores/volátiles de la planta hospedera

Los machos no mostraron una preferencia en la elección de los tratamientos con respecto al control, a excepción del tratamiento de hojas frescas ($\chi^2 = 9.93$ g.l. = 1; $P = 0.0016$) y volátiles de hojas ($\chi^2 = 4.24$ g.l. = 1; $P = 0.04$). Por el contrario en el caso de las hembras, las diferencias en la preferencia de elección fueron de significativas ($\chi^2 = 4.17$ g.l. = 1; $P = 0.04$) a altamente

significativas ($\chi^2 = 30.10$ g.l. = 1; $P = 0.00003$), ya que mostraron una respuesta relevante a cuatro tratamientos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Respuesta de atracción de *Ramosiana insignis* machos y hembras a diferentes tratamientos con material de su planta hospedera *Schoepfia schreberi*.

Prueba G con corrección de Williams									
Tratamiento		Machos				Hembras			
		V. Obs.	V. Exp.	P	χ^2	V. Obs.	V. Esp.	P	χ^2
Hoja fresco	Positivo	41	29			55	33.5		
	Negativo	17	29	0.0016**	9.9310	12	33.5	1.5E-07***	27.5970
Corteza fresco	Positivo	34	30.5			31	39.5		
	Negativo	27	30.5	0.3701	0.8033	48	39.5	0.0558	3.6582
Extracto hoja	Positivo	14	14.5			18	13.5		
	Negativo	15	14.5	0.8527	0.0345	9	13.5	0.0833	3
Extracto corteza	Positivo	18	14.5			20	14.5		
	Negativo	11	14.5	0.1936	1.6897	9	14.5	0.0411*	4.1724
Volátiles de hoja f.	Positivo	34	26.5			58	35		
	Negativo	19	26.5	0.0394*	4.2453	12	35	3.8E-08***	30.1016
Volátiles de corteza f.	Positivo	40	32.5			57	39.5		
	Negativo	25	32.5	0.0628	3.4615	22	39.5	8.2E-05***	15.5063

Los tratamientos de volátiles de hoja y el tratamiento de hoja fresca dispararon la mayor respuesta de los insectos (Figura 7).

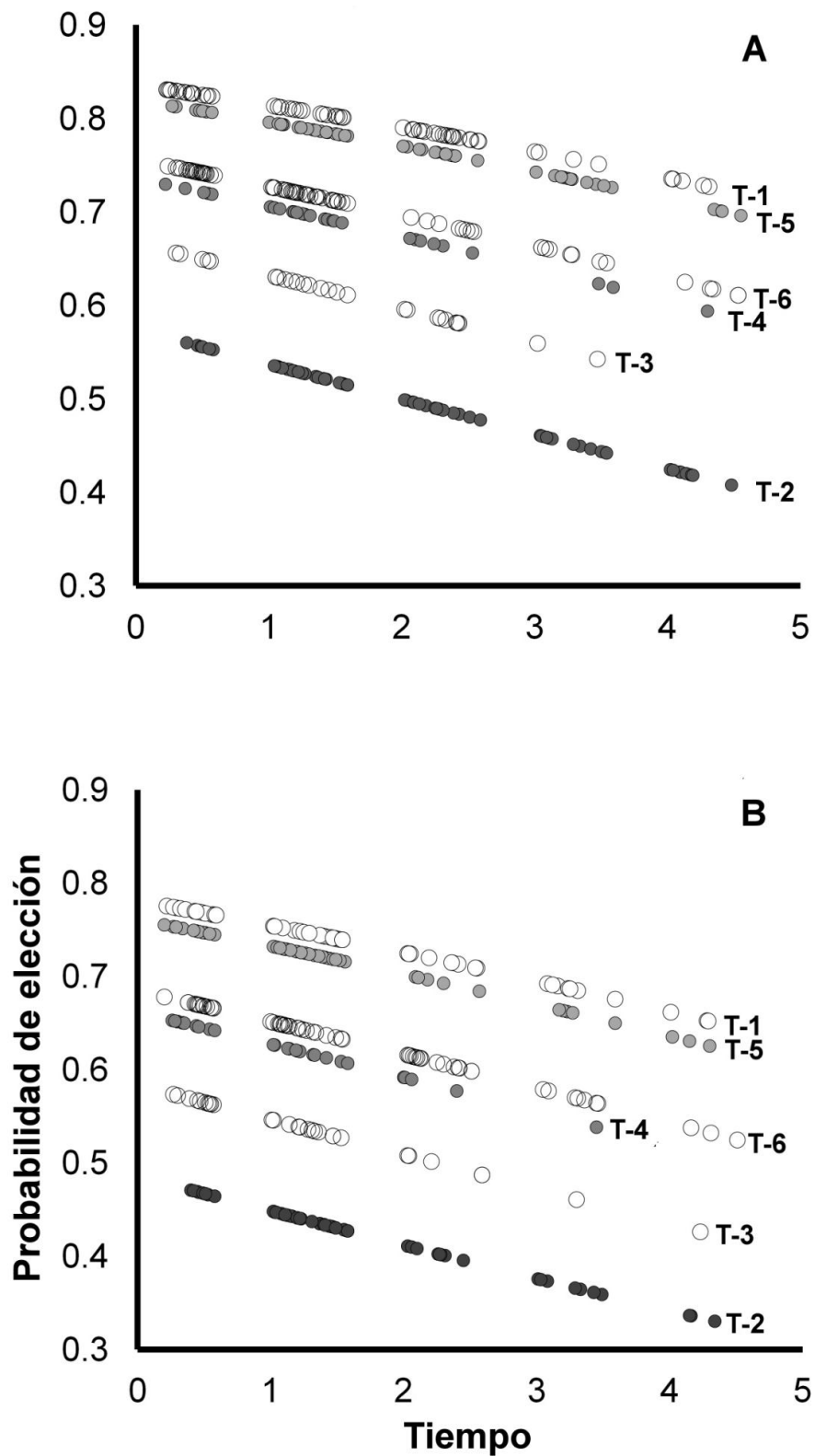


Figura 7. Probabilidades estimadas de selección de tratamientos vs testigo para *Ramosiana insignis* (A) hembras (B) (machos) como función del tiempo.

T-1 hojas frescas ○ T-2 corteza fresca ● T-3 extracto de Hojas ○
 T-4 extracto corteza ● T-5 volátiles hojas frescas ● T-6 volátiles corteza ●

Probabilidades y tiempo de elección

Comparando cada uno de los tratamientos, tomando como base el T3, los resultados del ajuste del modelo de regresión logística indican que existen diferencias entre tratamientos ($\chi^2 = 33.4$; g.l. = 5; P = 0.0001) y entre sexos ($\chi^2 = 4.2$; g.l. = 1; P = 0.0398), los tratamientos; T1 (P = 0.0068) y T5 (P = 0.0169) presentan la mayor probabilidad de ser elegidos tanto para hembras como los machos de *R. insignis* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Coeficientes estimados para la respuesta de hembras y machos de *Ramosiana insignis* en las probabilidad de elegir los diferentes tratamientos, en respuesta al tiempo, tomando como base el tratamiento 3.

Tratamiento	G.l.	Estimados	E. e.	χ^2	P
Intercepto	1	0.3363	0.3023	1.2374	0.2660
Tiempo	1	-0.1499	0.0797	3.5375	0.0600
T- 4	1	0.3343	0.3882	0.7414	0.3892
T- 1	1	0.9354	0.3459	7.3146	0.0068
T- 5	1	0.8206	0.3435	5.7052	0.0169
T- 2	1	-0.3930	0.3228	1.4826	0.2234
T- 6	1	0.4382	0.3255	1.8129	0.1782
Sexo 2	1	0.3548	0.1726	4.2244	0.0398

Con respecto al tiempo no existieron diferencias significativas ($\chi^2 = 3.54$; g.l. = 1; P = 0.0600) y se observó que en el T4 (corteza extracto en hexano) los tiempos de respuesta fueron más cortos iban de 0.35 mins a 1.27 mins (Figura 7). En el T1 (hojas frescas) se observó un tiempo promedio de respuesta rápido y aunque el insecto se tardó alrededor de 4 a 5 minutos, la probabilidad de que seleccione el que tiene el T1 fue mucho mayor que los que tienen tiempos de respuesta menores. Respecto a T3 (extracto de hojas en hexano), en 3.5 minutos se dirigieron al tratamiento siendo que en los demás, tienen tiempos de respuesta que oscilaban entre 4 a 5 minutos (Figura 7).

Discusión

La preferencia de oviposición, determinada en el campo para *R. insignis*, donde las hembras fueron atraídas a su planta hospedera *S. schreberi*, pero una parte de la población utilizó como sitio de oviposición plantas no hospederas y los resultados de los bioensayos, mostraron una asociación positiva, entre la respuesta de atracción de las hembras a las diferentes fuentes de olor percibidos de la planta hospedera.

Una parte de la población de las madres pone sus huevos en la planta hospedera y otra en la vegetación no hospedera. Lo interesante de este comportamiento es que el número de huevos fue mayor en las plantas no hospederas (cafetos) en condiciones de no manipulación. Tales resultados aumentan nuestro conocimiento en las complejas interacciones insecto-planta, ya que la capacidad de elegir sitios de oviposición entre diferentes plantas, resalta la importancia de la variación en la capacidad de los individuos para sobrevivir o desempeñarse en diferentes tipos de recursos (Ng, 1988). De hecho la calidad del hospedero, la respuesta denso dependiente y los enemigos naturales, pueden influir en las decisiones de elección de los adultos (Mayhew, 1997). En este estudio la aptitud de oviposición de *R. insignis*, conlleva a grandes diferencias entre las que ovipositan en la planta hospedera indicado la posibilidad de que puede ser influenciada por el efecto de los enemigos naturales, mientras que en la planta no hospedera la progenie, al emerger debe tener la capacidad limitada para trasladarse a las plantas hospederas, tales factores pueden ser determinantes, en el éxito reproductivo y la supervivencia de la progenie. Por ejemplo en *Acanthocoris sordidus* (Thunberg) (Hemiptera: Coreidae) presiones de selección afectan el comportamiento de elección del hospedero y la inversión en la producción de huevos (Nakajima *et al.*, 2012; Nakajima y Fujisaki, 2012). Asimismo *Manduca sexta* (Sphingidae) ha adoptado una nueva planta hospedera *Proboscidea louisianica* (Martyniaceae) para evitar enemigos naturales, una hipótesis conocida como espacio libre de enemigos. En estos casos, la preferencia por plantas intrínsecamente inferiores como alimentos se favorece porque los insectos herbívoros son menos susceptibles al parasitismo (Diamond y Kingsolver, 2010). En el caso de *Oleria onega* Hewitson (Lepidoptera: Nymphalidae), las hembras ponen la mayoría de sus huevos fuera de la planta

hospedera (hojarasca y plantas no hospederas), el alto riesgo de depredación fue un factor desencadenante que hizo que *O. onega* evolucionara tal comportamiento (De-Silva *et al.*, 2011). Los patrones de preferencia de la planta hospedera no sólo forman la optimización del rendimiento de la progenie, sino también la optimización del éxito reproductivo del adulto (Scheirs *et al.*, 2000; Desurmont *et al.*, 2012). En *R. insignis* el poner en un solo grupo sus huevos y además cuidarlos, los diferencia de estudios con otras especies de insectos, donde las hembras distribuyen sus huevos entre las especies de plantas de acuerdo a probabilidades específicas de oviposición, como una estrategia de reparto de riesgos (Janz *et al.*, 2005). Futuros estudios con *R. insignis*, son necesarios para determinar si las plantas no hospederas ofrecen un ambiente más benigno para sus huevos que las plantas de *S. schreberi*.

Los resultados muestran que la cantidad de huevos puestos por hembras de *R. insignis* en *S. schreberi* fue similar en el estudio en las condiciones de manipulación y no manipulación. Lo anterior, podría sugerir que la selección natural favorece el patrón de comportamiento que causa que las hembras busquen inicialmente en la planta hospedera, y una parte de la población realiza una mayor inversión en ovipositar en las plantas no hospederas. Sin embargo, en la condición de manipulación resalta el hecho del retraso en la oviposición en días observado en la planta no hospedera comparada con la planta hospedera. Por esto, la selección de la planta hospedera, debe ser visto en términos de la aceptación del hospedero y no solo de encuentro. Existe un porcentaje de información que una hembra debe recibir y procesar mientras busca el sitio adecuado (Bernays, 1996) y en este caso a las hembras no se les permitió buscar ni seleccionar el sitio de oviposición además de que en los cafetos se les privó de estar en contacto con su planta hospedera.

Sin embargo, es interesante el hecho que las hembras retienen los huevos y pueden poner la misma cantidad que las que no los retienen. Existen ventajas y desventajas en las decisiones de las madres al ovipositar. Por ejemplo, Benda *et al.* (2011) reportan que la oviposición en el menor tiempo puede ser para reducir la depredación. Sin embargo, Monserrat *et al.* (2007) señalan que el retraso de la oviposición puede ocurrir para evitar la depredación. En este sentido es posible que una parte de la población de *R.*

insignis su disposición fisiológica, sea buscar las plantas hospederas adecuadas y la oviposición es seguida por un período obligatorio de retención de los huevos. Muchos insectos ajustan su encuentro del hospedero y la oviposición en respuesta a la carga de huevos. Por ejemplo, Minkenberg *et al.* (1992) señalan que en hembras con cargas de huevos mayores, su búsqueda es más intensiva y gastan un tiempo menor en el manipuleo del hospedero. En *R. insignis* no hubo diferencias entre el número de huevos que las hembras ponen en los primeros días, comparadas con la cantidad de huevos puestos semanas después debido al retraso de oviposición o a otros mecanismos como la re-adsorción de huevos en *Leptinotarsa undecimlineata* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae) cuando no se les ofrece el hospedero adecuado (López-Carretero *et al.*, 2005). Tampoco se encontró que el peso de las hembras influyera en el número de huevos ovipositados en los dos tipos de hospederos, lo cual se atribuye al hecho de distribuir de manera sincronizada una hembra en la planta hospedera y otra hembra en el cafeto al inicio del experimento.

Las fuentes de olor de la planta hospedera influyeron principalmente en las hembras *R. insignis*, puesto que preferentemente se dirigieron hacia las hojas del material fresco y de tres tratamientos más con material de su planta hospedera *S. schreberi*. Los machos respondieron significativamente a las hojas frescas y a sus volátiles, pero no se compara con la respuesta obtenida por las hembras que pueden relacionarlas con la necesidad de encontrar los sitios adecuados de oviposición lo cual es consistente con los resultados obtenidos en campo. En otras especies, la diferencia en la respuesta de atracción entre hembras y machos, a los olores del hospedero, ha sido previamente reportado en otros insectos (Blackmer y Cañas, 2005). La evidencia de los resultados en laboratorio apoya la hipótesis de que las hembras de *R. insignis* responden a los estímulos volátiles asociados con los tejidos de su planta hospedera *S. schreberi*, actualmente desconocidos, pero es probable que los usen en su búsqueda de hospedera en campo, por ejemplo en *Lygus rugulipennis* (Poppius) (Hemiptera: Miridae), la modificación en la emisión de semioquímicos de los tejidos dañados del hospedero hacen más adecuada la oviposición que en hospederos sanos (Conti *et al.*, 2012). Existe evidencia de que neuronas olfativas pareadas o agrupadas del receptor, podrían permitir la resolución a escala fina espacio-temporal de las señales

complejas encontradas cuando se utilizan compuestos ubicuos (Bruce *et al.*, 2005).

Algunas especies de insectos deben invertir grandes cantidades de tiempo en la selección de sitios de oviposición (Doak *et al.*, 2006). Los resultados sugieren que las probabilidades de elección de las hembras hacia los tratamientos de hojas frescas y a sus volátiles son mayores con respecto a los machos, como se indica en la figura 1. Esta relación planta insecto es atribuible a la eficacia con la que las hembras pueden localizar la planta hospedera en campo, que por lo general se encuentran entre una gran variedad de otras plantas y solo ovipositan en o cerca de plantas hospederas con una avanzada señal de botones florales. En estudios con otras especies de insectos, las madres pueden precisar y en corto tiempo descubrir los tejidos más adecuados de la planta (Damman y Feeny, 1988), o los sitios de oviposición (Lancaster *et al.*, 2010) donde los inmaduros se desempeñaran mejor

Los volátiles de la planta pueden estar involucrados en el comportamiento de búsqueda de hospedero de los insectos herbívoros y sus enemigos naturales (Reed *et al.*, 1988; Clavijo *et al.*, 2012) Por ejemplo señales olfativas emitidas por el follaje de las plantas hospederas puede influir en hembras adultas de *Neoceratitis cyanescens* (Bezzi), en la respuesta visual como un indicador de un hábitat adecuado y en la selección del sitio de oviposición (Brevault y Quilici, 2007).

Conclusiones

La percepción y respuestas a las señales químicas de *S. schreberi* por parte de *R. insignis* es clave para que las hembras encuentren los sitios adecuados de oviposición, lo cual es innato bajo condiciones naturales. La falta de tales señales influye en la respuesta fisiológica del insecto, retrasando la oviposición. Algunas hembras de *R. insignis*, en la misma población, no son tan especializadas ya que no muestran preferencia alguna de oviposición entre la planta hospedera y la no hospedera. Tales diferencias se dan entre individuos que realizan una inversión mayor en ovipositar en las plantas no hospederas como ocurrió en el experimento en condiciones naturales en la misma población.

Literatura citada

- Anderson, P., and P.A. Hamback. 2011. Immigration of olfactory searching insects into host plant patches: testing scaling rules for olfactory information. *Arthropod Plant Interactions* 5: 269–277.
- Awmack, C.S., and S.R. Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817–844.
- Benda, N.D., C. Brownie, C. Schal, and F. Gould. 2011. Field observations of oviposition by a specialist herbivore on plant parts and plant species unsuitable as larval food. *Environmental Entomology* 40: 1478–1486.
- Bernays, E.A., and R.F. Chapman. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall, New York.
- Bernays, E.A. 1996. Selective attention and host-plant specialization. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 125–131.
- Blackmer, L., and L.A. Cañas. 2005. Visual cues enhance the response of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae) to volatiles from host plants. *Environmental Entomology* 34: 1524–1533.
- Brevault, T., and S. Quilici. 2007. Influence of habitat pattern on orientation during host fruit location in the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*. *Bulletin of Entomological Research* 97: 637–642.
- Bruce, T.J., L.J. Wadhams, and C.M. Woodcock. 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*. 10: 269–74.
- Bruce, T.J., and J.A. Pickett. 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—Finding the right mix. *Phytochemistry*. 72: 1605–1611.

- Calatayud, P.A., P.O. Ahuya, A. Wanjoya, B.L. Ru, J.F. Silvain, and B. Frerot. 2008. Importance of plant physical cues in host acceptance for oviposition by *Busseola fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126: 233–243.
- Clark, K.E., S.E. Hartley, and S.N. Johnson. 2011. Does mother know best? The preference–performance hypothesis and parent–offspring conflict in aboveground–belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36: 117–124.
- Clavijo McCormick, A., S.B. Unsicker, and J. Gershenzon. 2012. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science* 17: 303–310.
- Conti, E., F. Frati, and G. Salerno. 2012. Oviposition behaviour of *Lygus rugulipennis* and its preferences for plant wounds. *Journal of Insect Behavior* 25: 339–351.
- Cox, D.R., and D.V. Hinkley. 1974. *Theoretical Statistics*, Chapman and Hall (Appendix 3) Hertfordshire, HRT, United Kingdom ISBN 0-412-12420-3.
- Cunningham, J.P. 2012. Can mechanism help explain insect host choice? *Journal of Evolutionary Biology* 25: 244–251.
- Damman, H., and H. Feeny. 1988. Mechanisms and consequences of selective oviposition by the zebra swallowtail butterfly. *Animal Behaviour* 36: 563–573.
- Desurmont, G.A., F. Herard, and A.A. Agrawal. 2012. Oviposition strategy as a means of local adaptation to plant defence in native and invasive populations of the viburnum leaf beetle. *Proceedings of the Royal Society of London B* 279: 952–958.

- Diamond, S.E., and J.G. Kingsolver. 2010. Fitness consequences of host plant choice: a field experiment. *Oikos* 119: 542–550.
- Doak, P., P. Kareiva, and J. Kingsolver. 2006. Fitness consequences of choosy oviposition for a time-limited butterfly. *Ecology* 87: 395–408.
- Dobson, A. 2002. *An Introduction to Generalized Linear Models*. Second Edition, Chapman and Hall/CRC. London. 240 p.
- Gripenberg, S., P.J. Mayhew, M. Parnell, and T. Roslin. 2010. A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13: 383–393.
- Harris, M.O., and S.P. Foster. 1995. Behaviour and integration. pp: 3-46 in: R. T. (Cardé and W. J. Bell, eds.) *Chemical ecology of insects 2*. Chapman and Hall, New York, NY.
- Hosmer, D.W., and S. Lemeshow. 2000. *Applied logistic regression*, Second Edition. Wiley, New York.
- Jaenike, J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14: 350–356.
- Janz, N., A. Bergstrom, and J. Johansson. 2005. Frequency dependence of host plant choice within and between patches: a large cage experiment. *Evolutionary Ecology* 19: 289–302.
- Lancaster, J., B.J. Downes, and A. Arnold. 2010. Oviposition site selectivity of some stream-dwelling caddisflies, *Hydrobiologia* 652: 165–178.
- López-Carretero, A., M. Cruz, and A. Eben. 2005. Phenotypic plasticity of the reproductive system of female *Leptinotarsa undecimlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 27-31.

- López, M., and L. Cervantes. 2010. Life histories of *Ramosiana insignis* (Blanchard) and *Vulsirea violacea* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), with descriptions of immature stages. *Proceedings Entomological Society Washington* 112: 81–96.
- Mayhew, P.J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79: 417–428.
- Minkenberg, O.P., M.M. Tartar, and J.A. Rosenheim. 1992. Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. *Oikos* 65: 134–142.
- Montserrat, M., C. Bas, S. Magalhaes, M.N. Sabelis, A.M. de Roos, and A. Janssen. 2007. Predators induce egg retention in prey. *Oecologia*. 150: 699–705.
- Nakajima, Y., and K. Fujisaki. 2012. Interpopulation variation in egg size in the winter cherry bug relative to oviposition site selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144: 317–325.
- Nakajima, Y., R. Nakagawa, and K. Fujisaki. 2012. Interactions between the winter cherry bug *Acanthocoris sordidus* (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitic wasps. *Applied Entomology and Zoology* 47: 35–44.
- Nelder, J.A., and R.W.N. Wedderburn. 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society, Series A* 135: 370–384.
- Ng, D. (1988) A novel level of interactions in plant- insect systems. *Nature* 334: 611–613.
- Randlkofer, B., E. Obermaier, M. Hilker, and T. Meiners. 2010. Vegetation complexity-The influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic and Applied Ecology* 11: 383–395.

- Reed, D.K., K.L. Mikolajczak, and C.R. Krause. 1988. Ovipositional behavior of lesser peach tree borer in presence of host-plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 14: 237–252.
- Renwick, J.A.A. 2001. Variable diets and changing taste in plant-insect relationships. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1063–1076.
- Rojas, J., E. Ríos-Candelaria, L. Cruz-López, A. Santiesteban, J. Bond-Compean, Y. Brindis, and E. Malo. 2002. A reinvestigation of Brindley's gland exocrine compounds of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology* 39: 256–265.
- Rosas, A.H. 2005. Estudio químico y biológico de la corteza de *Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlecht. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados pp. 34–39.
- Sabelis, M.W., J. Takabayashi, A. Janssen, M.R. Kant, M. van Wijk, B. Sznajder, N.S. Aratchige, I. Lesna, B. Belliure, and R.C. Schuurink. 2007. Ecology meets plant physiology: Herbivore-induced plant responses and their indirect effects on arthropod communities. pp. 188–217 in: (T. Ohgushi, T. P. Craig, and P. W. Price eds.) *Ecological communities: Plant mediation in indirect interaction webs*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. Cary, N.C., U.S.A.
- Scheirs, J., L. Bruyn, and R. Verhagen. 2000. Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London B* 267: 2065–2069.
- Schoonhoven, L.M., J.J.A. van Loon, and M. Dicke. 2005. *Insect-plant biology*. Oxford University Press Inc., New York, NY.

De-Silva, D.L., A.S. Vasquez, and J. Mallet. 2011. Selection for enemy-free space: eggs placed away from the host plant increase survival of a neotropical ithomiine butterfly. *Ecological Entomology* 36: 667–672.

Visser, J.H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 31: 121–144.

Capítulo IV. Análisis de extractos crudos de *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Olacaceae)

Resumen

Se evaluaron extractos crudos de madera, corteza, hojas y frutos secos de *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Santalales: Olacaceae). Los extractos se obtuvieron con hexano, diclorometano y metanol. Se realizó un fraccionamiento de los extractos de hojas y frutos y se analizaron las fracciones que mostraron mayor cantidad y calidad de compuestos preliminarmente identificados, tales como flavonoides y terpenoides con el fin de comparar su contenido en hojas y frutos, con lo que se podría inferir su posible actividad antiherbivoría en insectos.

Abstract

Crude extracts were evaluated from wood, bark, leaves and fruits of *Schoepfia schreberi* J.F. Gmel (Santalales: Olacaceae). Extracts were obtained with hexane, dichloromethane and methanol. Fractionation was performed of extracts of leaves and fruits and analyzed the fractions that showed great quantity and quality of preliminarily identified compounds, such as flavonoids and terpenoids in order to compare their content in leaves and fruit, this information could to explain anti-herbivory possible activity in insects.

Introducción

La investigación sobre los compuestos derivados de las plantas y las interacciones planta-insecto tiene como objetivo incrementar el entendimiento del cómo estos compuestos influyen en las diferentes etapas del comportamiento de selección de hospedero de los insectos para alimentación y oviposición principalmente (Hopkins *et al.*, 2009; Ahuja *et al.*, 2011). La mayoría de los insectos tienen una estrecha gama de hospederos y utilizan estímulos químicos para seleccionar entre las especies de plantas (Becerra, 2007). En la actualidad, las explicaciones adaptativas en la existencia y diversidad de metabolitos secundarios son importantes ya que su producción influye en la adecuación de las plantas y representan rasgos adaptativos que se han

diversificado durante la evolución por selección natural (Wink, 2003). La función atribuida es de protección contra virus, bacterias, hongos, alelopatía y principalmente contra herbívoros (Howe y Jander 2008; Arimura *et al.*, 2010).

Las plantas liberan un gran número de compuestos volátiles, el análisis de estas emisiones, ha revelado una gran variedad de moléculas orgánicas como: alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, fenoles, lactonas y terpenoides (Chapman, 2003). Estas sustancias pueden actuar para que insectos parasitoides y depredadores obtengan información detallada en su búsqueda de presas u hospederos (Clavijo McCormick *et al.*, 2012).

Los compuestos volátiles derivados de las plantas pueden afectar el comportamiento de un insecto, al actuar como un atrayente, estimulante, repelente, o disuasivo (Bernays y Chapman, 1994). Se sabe que los insectos pueden discriminar entre la diversidad de flavonoides que pueden modular la alimentación y el comportamiento de oviposición, pero es necesario entender los mecanismos neurales asociados con estas respuestas conductuales, así como determinar su papel en la evolución de la gama de hospederos en las interacciones insecto-planta (Simmonds, 2003).

En la fitoquímica de la familia Olacaceae han sido reportadas proantocianidinas de *Heisteria pallida*, *Anacolosia* species, *Olax* cf. *Andronensis* y *Ximenia caffra* var. *natalensis* (Dirsch *et al.*, 1993) y flavonoides de hojas para interpretar las relaciones filogenéticas con familias relacionadas (Haro y Ping, 1997). Estudios preliminares en *Schoepfia schreberi*, J.F. Gmel, demuestran que los frutos son altamente utilizados por un gremio de insectos herbívoros y sus parasitoides. Sin embargo, el follaje de esta especie permanece intacto, incluso por la especie generalista *Atta mexicana*, donde individuos de esta especie pueden recolectar todos los frutos, pero no cortar las hojas (datos no publicados). La planta es un arbusto que crece desde bosques deciduos bajos hasta bosques de encinos. Está distribuida desde Venezuela, Centro América y México hasta Florida y en algunas islas del Caribe (Berazain). En la medicina tradicional local se le conoce como “palo de hamaca” ó “guayabillo”, la corteza y madera se utiliza para curar dolores estomacales, migrañas y fiebre, sin que exista un registro que certifique los compuestos que le dan esas propiedades curativas (Calderon de Rzedowski, 1995). Este estudio tuvo como objetivo analizar la presencia de compuestos orgánicos en frutos contrastándolos con los de las

hojas de la planta *S. schreberi* para determinar aquellos compuestos químicos más abundantes y observar si influyen en la ecología de los insectos (e.g. en la localización de su planta hospedera).

Materiales y métodos

Sitios de recolecta del material biológico

Se recolectaron aleatoriamente partes aéreas de la planta *S. schreberi* en los meses de diciembre 2009 y enero 2010 en tres sitios diferentes del estado de Veracruz. El primer sitio fue en una área de conservación llamada “Osto” (OT), localizada a 19° 18´ N y 96° 50´ O a 838 msnm cerca del municipio de Tlaltetela. El segundo sitio fue la Camelia (CM), localizado a 20° 84´ N y 101° 83´ O a 237 msnm, perteneciente al municipio de Alamo. El tercer sitio está en Tejería (TJ), localizado a 19° 21´ N y 96° 54´ O a 924 msnm, perteneciente al municipio Teocelo. Especímenes de la planta están depositados en el Herbario del Instituto de Ecología, A.C. (IEXA).

Secado y molido del material

Las partes aéreas recolectadas de la planta fueron separadas en cuatro categorías: hojas, frutos, corteza y madera. Cada una de las cuatro partes de la planta se pesó en fresco y posteriormente se secaron en una estufa de aire forzado Binder FED 541 (Keison.Co.UK) a una temperatura de 40 °C durante 96 h. Una vez seco el material se volvió a pesar y se procedió a molerlo a un tamaño de 1-2 mm utilizando un molino, hasta obtener un polvo, que finalmente se pesó (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cantidad obtenida del material de cuatro partes vegetativas de la planta *Schoepfia schreberi*.

Material	Peso fresco(g)	Peso seco(g)	Peso molido(g)
<i>S. schreberi</i>			
Hojas	1,233.88	687.953	658.327
Corteza	1,162.45	708.431	660.564
Madera	1,025.07	578.728	562.314
Frutos verdes	852,648	266.835	257.750

Extracción con solvente orgánico

Para cada una de las cuatro partes de la planta, se prepararon los extractos en tres diferentes polaridades, utilizando primero hexano, después diclorometano y al final metanol. Inicialmente el material se maceró con el disolvente que cubrió al tejido, se dejó reposar a temperatura ambiente por 48 h y al final de este tiempo, se decantó el extracto y se guardó en un frasco vial. El residuo se extrajo dos veces más en la misma forma, hasta la desaparición de color. De esta forma se obtuvieron los extractos crudos (Figura 1). Se pesó el extracto libre de disolvente para obtener el rendimiento (peso absoluto).



Figura 1. Procedimiento para la obtención de extractos de cuatro partes vegetativas de la planta *Schoepfia schreberi*.

Análisis de los extractos mediante cromatografía en capa fina (CCF)

Con el fin de realizar una comparación entre los extractos de cada una de las partes de la planta, se llevó a cabo un análisis de cromatografía en capa fina utilizando reveladores específicos para flavonoides y terpenos.

Se emplearon placas de sílica-gel (Merck) de 2 × 5 cm, y posteriormente se analizaron los compuestos mayoritarios en placas de 10 × 10 cm y 20 × 20 cm. La finalidad fue detectar compuestos relacionados con el grupo de flavonoides y con el de terpenoides. Se utilizó como eluyente una mezcla de hexano:diclorometano en una proporción 9:1 a 7:3 dependiendo de la polaridad de los compuestos, luego se observaron las placas en una lámpara de luz UV Cole-Parmer® 9818-series Darkrooms (254 nm onda corta y 365 nm onda larga), revelándolas después para el caso de flavonoides con el reactivo NP al 1% + PolietilénGlicol al 5%, y para terpenoides con Vainillina al 2% en etanol + H₂ SO₄ al 10% en etanol (Figura 2).

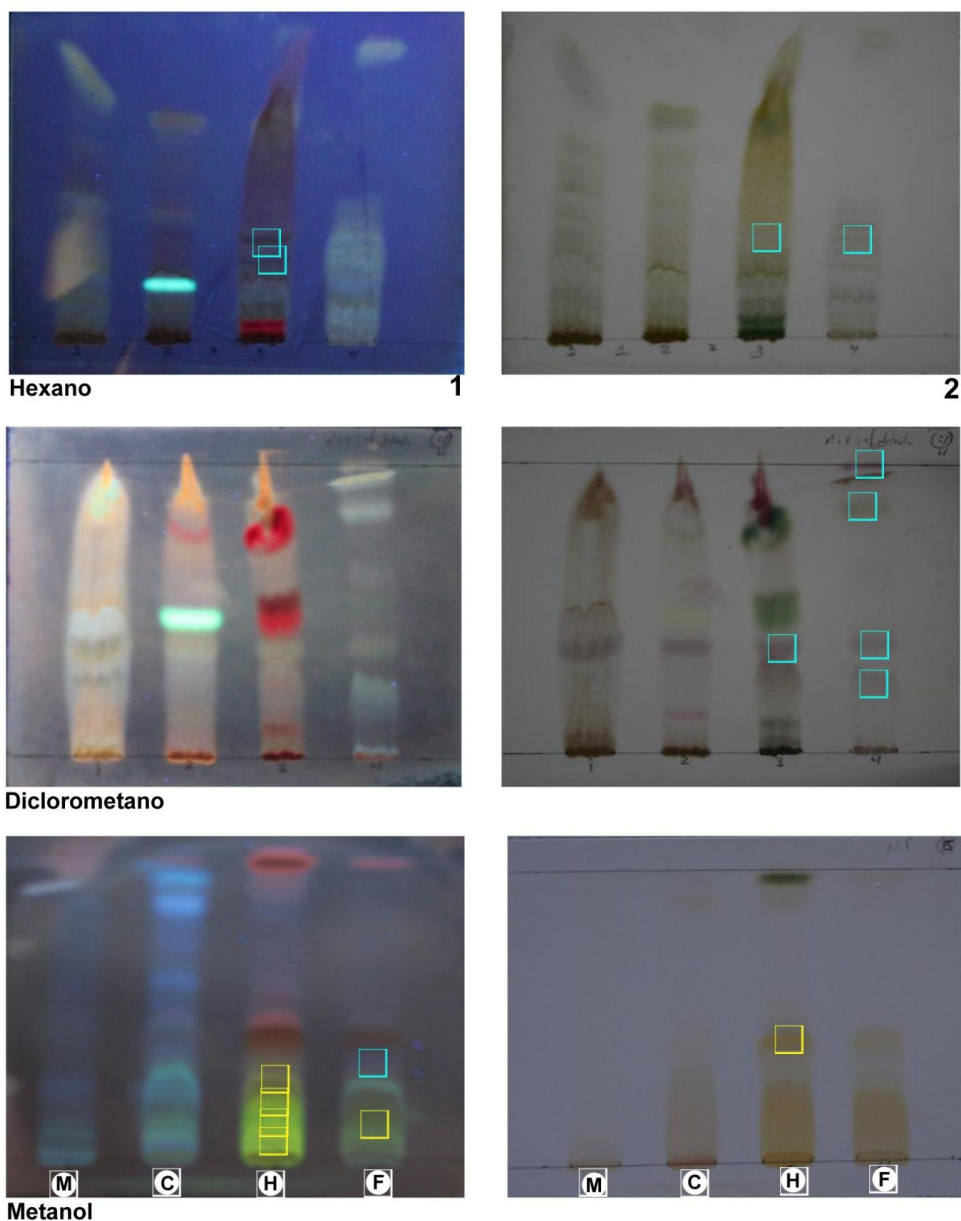


Figura 2. Placas cromatográficas de los extractos, de arriba hacia abajo: hexano, diclorometano y metanol y de izquierda a derecha: M: Madera, C: Corteza, H: Hoja: F: Frutos de *Schoepfia schreberi*. Placas vistas bajo luz ultravioleta de onda larga (1) y revelada con Vainillina (2).

Fraccionamiento de los extractos por cromatografía en columna (CC)

Por los resultados preliminares de la figura 2 y con fines comparativos, se realizó el fraccionamiento de los extractos por CC para hojas y frutos de *S. schreberi* con los extractos obtenidos de los tres solventes orgánicos: hexano, diclorometano y metanol. Se utilizaron 4 g de extracto crudo hexánico de hoja, el cual se colocó en la columna cromatográfica empacada con gel de sílice G 60 Merck (empacado en húmedo); como eluyente se utilizó un litro de una

mezcla de hexano:diclorometano utilizando polaridades crecientes, desde 100:0 hasta 50:50. Para los extractos en diclorometano la mezcla eluyente fue diclorometano:metanol utilizando polaridades crecientes, desde 100:0 hasta 70:30 y para los extractos metanólicos fue de 100:0 hasta 30:70 . Se aislaron fracciones crudas de 200 ml cada una en un matraz, las cuales se llevaron al rotaevaporador y el concentrado de la muestra se colocó en tubos. Cada muestra recolectada se dejó evaporar a temperatura ambiente y se monitoreó por CCF tal y como se describe en el párrafo anterior (Figura 3). El mismo procedimiento se realizó para los extractos de diclorometano y metanol.

Identificación de compuestos presentes en los extractos.

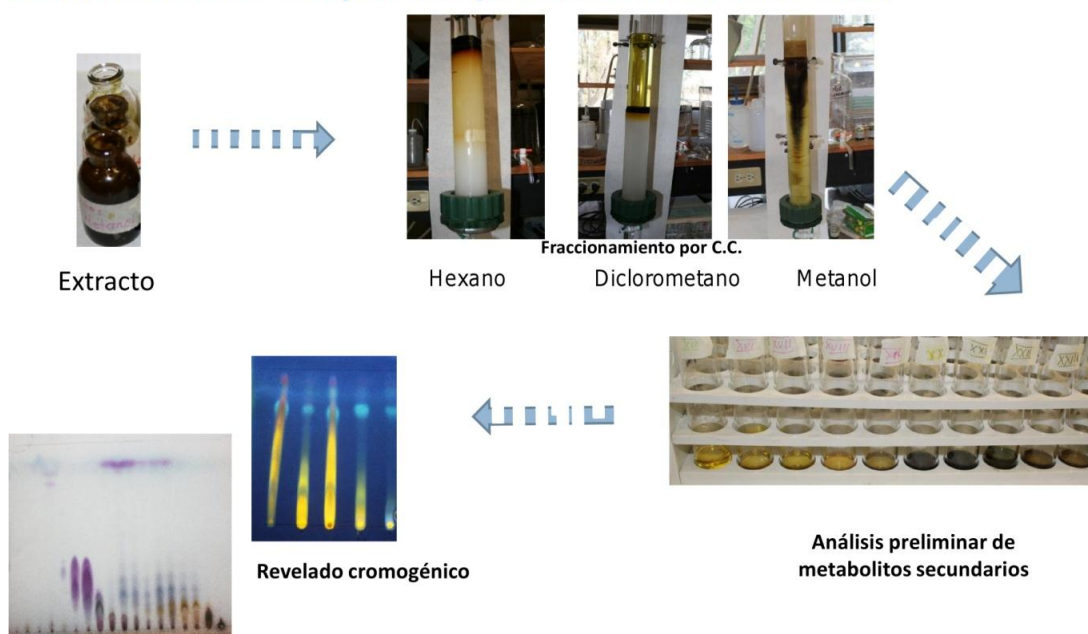


Figura 3. Procedimiento para la separación de los compuestos presentes en los extractos de hojas y frutos de la planta *Schoepfia schreberi*.

Con la técnica de HPTLC (Cromatografía de Capa Fina de Alta Resolución), se realizó el procesamiento y análisis de los compuestos químicos principales más abundantes con muestras de 13 fracciones de hojas y frutos de la planta obtenidos por separación CC. Cada una de las muestras se agrupó de acuerdo al solvente con el que se extrajeron. Se programó un automuestreador Automatic TLC sampler 4 (CAMAG Inc.) para aplicar 12.2 μL en placas de sílica gel (E. MERCK KGaA) por duplicado para poder revelar una para buscar

flavonoides y otra para terpenoides con los recativos correspondientes. Los cromatogramas obtenidos fueron analizados mediante un software de densitometría planar video escáner (Wincats), y se observaron en una cámara de luz ultravioleta, tanto en onda larga (365 nm) como en onda corta (254 nm). Se realizó un análisis cuantitativo para evaluar densitométricamente los compuestos separados en la adsorción o fluorescencia.

Resultados y discusión

Los mayores rendimientos (peso absoluto) de los extractos de las cuatro partes de la planta fueron obtenidos con el metanol (Cuadro 2). Tomando en cuenta su característica de fluorescencia, se observa en los extractos metanólicos de hoja la presencia mayor de flavonoides y en los extractos con frutos se observó la presencia de terpenoides.

Del fraccionamiento de los extractos por CC para hojas del extracto con hexano se obtuvieron 75 fracciones, con diclorometano 34 y metanol 54 (Cuadro A-1) y para frutos: 41, 40 y 50 fracciones, respectivamente (Cuadro A-2).

Los resultados acerca del rendimiento de los extractos se presentan en el Cuadro 2, en el cual es posible observar que el mayor rendimiento se presentó en los extractos metanólicos, seguidos de los extractos de diclorometano, excepto en las hojas. Los menores rendimientos los presentaron los extractos hexánicos de hojas y frutos.

Cuadro 2. Rendimiento de los extractos de las cuatro partes vegetativas de la planta *Schoepfia schreberi*.

Material	Hexano	Diclorometano	Metanol
<i>S. schreberi</i>	Peso absoluto (g)	Peso absoluto (g)	Peso absoluto (g)
Hojas	4.8	8.4	35.2
Corteza	1.75	2.1	10.0
Madera	1.4	2.0	3.6
Frutos verdes	12.9	3.9	16.5

De las fracciones que se iban monitoreando se juntaron aquellas que sus resultados eran cromatográficamente similares. En la placa de cromatografía en capa fina de 10 fracciones de compuestos de extractos metanólicos en hojas, revelada tanto para flavonoides como terpenoides se evidenció similitudes en la zona de alta polaridad, fue posible observar ciertas diferencias en las coloraciones entre flavonoides remarcados por los cuadros en amarillo y los terpenoides remarcados por los cuadros en azul (Figura 4 A y B). En la placa de cromatografía en capa fina de 18 fracciones de compuestos de extractos metanólicos en frutos, se resaltan coloraciones para flavonoides remarcados por los cuadros en amarillo y para los terpenoides remarcados por los cuadros en azul (Figura 4 C y D). Por lo tanto, la presencia compuestos entre las fracciones de los extractos en las hojas es mayor en comparación con la de los frutos de *S. schreberi* (Figura 4).

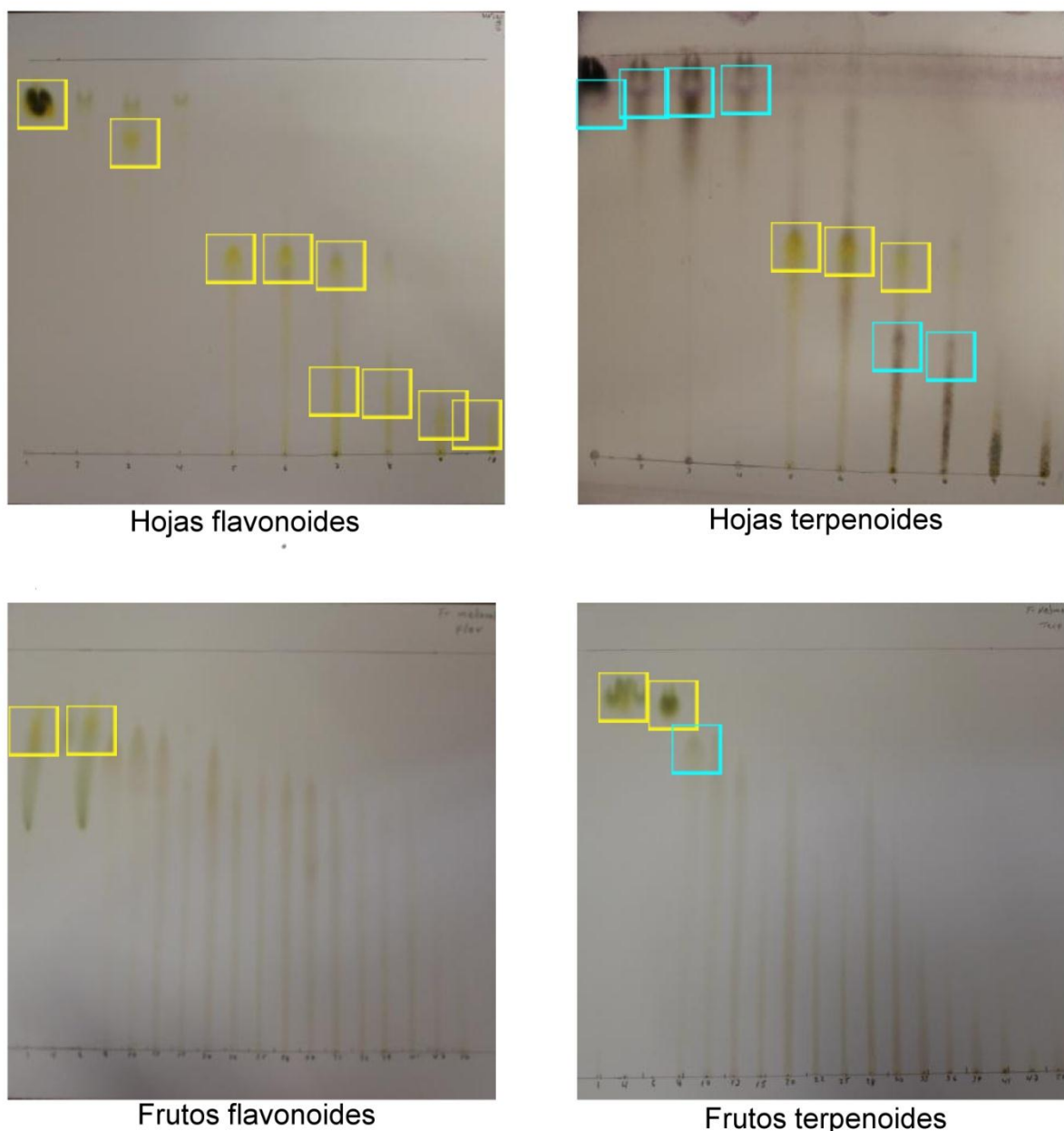


Figura 4. La placa de compuestos de hojas (arriba) y frutos (abajo) revelada para flavonoides y terpenoides evidenció similitudes en la zona de alta polaridad, separación de los compuestos presentes en los extractos de hojas y frutos de la planta *Schoepfia schreberi*.

En la Figura 5 se presentan los resultados de los perfiles de los extractos metanólicos de hoja extraídos en los intervalos de solvente diclorometano: metanol (8:2, 7:3, 6:4 y 5:5) se observa que en el intervalo 6:4 es donde puede obtenerse el compuesto más abundante y también el más purificado, aunque las otras fracciones también muestran una importante presencia de flavonoides en hojas, este resultado evidencia la presencia de estos compuestos. Se ha

reportado a los flavonoides como importantes inhibidores de acetilcolinesterasa (Khan *et al.*, 2009). Los efectos de los flavonoides en la transhidrogenación, oxidasa NADH, y reacciones succinato deshidrogenasa sugieren que los compuestos de esta naturaleza pueden ser de utilidad en el control de poblaciones de insectos (Vandock *et al.*, 2012).

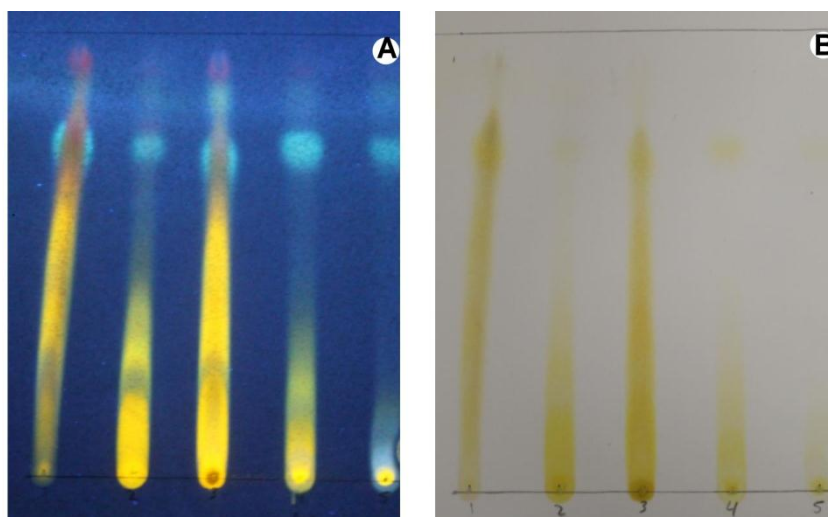


Figura 5. Cromatografía en capa fina, de fracciones (18, 32,35, 40 y 45) de compuestos metanólicos de hojas revelada para flavonoides; Luz UV (254nm) (A); Vapores de NP al 1% + PolietilenGlicol al 5% (B).

Del total de fracciones de hojas y frutos obtenidas, una vez que se juntaron las cromatográficamente similares se seleccionaron 13 muestras; 7 de hojas y 6 de frutos (Cuadro 3) que presentaron los compuestos químicos más abundantes. De estos se presentan los resultados de los extractos metanólicos donde a diferentes longitudes de onda se puede observar la presencia de compuestos, y con luz ultravioleta de onda larga fluorescen como se observa en el carril uno y dos y que corresponden a hojas visualizado a longitudes de onda larga donde se observaron manchas amarillas, estos resultados revelan una presencia mayor de flavonoides en hojas, mientras que la presencia de terpenoides se da en frutos en el carril 3 visualizado a longitudes de onda larga, los colores purpura revelan una presencia mayor de terpenoides.

Cuadro 3. Número de fracciones de hojas y frutos de *Schoepfia schreberi* extraídos con tres diferentes compuestos por columna, su clave y el peso de la muestra analizadas.

No. de fracción	Material <i>S. schreberi</i>		Compuesto químico	Peso de la muestra (g)
	Hojas(H)	Frutos (F)	Hexano(H) Diclorometano (D) Metanol (M)	
XX	Hojas(H)		Hexano(H)	.0464
XXX	Hojas(H)		Hexano(H)	.0170
LV	Hojas(H)		Hexano(H)	.0368
IV	Hojas(H)		Diclorometano (D)	.0163
X	Hojas(H)		Diclorometano (D)	.0607
III	Hojas(H)		Metanol (M)	.0330
4	Hojas(H)		Metanol (M)	.1405
1		Frutos (F)	Hexano(H)	.2804
3		Frutos (F)	Hexano(H)	.2540
1		Frutos (F)	Diclorometano (D)	.0319
9		Frutos (F)	Diclorometano (D)	.0077
3		Frutos (F)	Metanol (M)	.0771
7		Frutos (F)	Metanol (M)	.2275

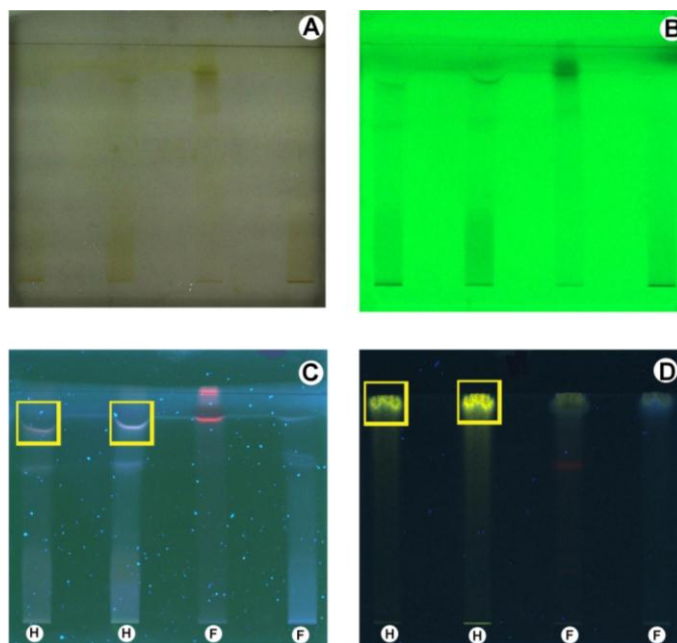


Figura 6. Placa de cromatografía de capa fina con fase móvil para flavonoides: sin revelar luz blanca (A), con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) (B), de onda larga (366 nm) sin revelar (C) y de onda larga (366 nm) revelada (D), los carriles 1 y 2 de cada figura corresponden a hojas (H) y los carriles 3 y 4 a frutos.

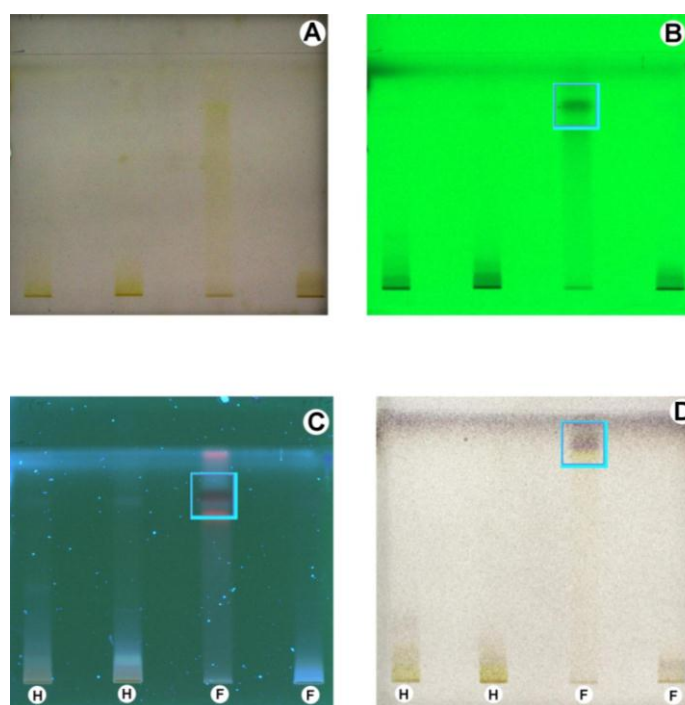


Figura 7. Placa de cromatografía de capa fina con fase móvil para terpenoides: sin revelar luz blanca (A), con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) (B), de onda larga (366 nm) sin revelar (C) y de onda larga (366 nm) revelada (D), los carriles 1 y 2 de cada figura corresponden a hojas (H) y los carriles 3 y 4 a frutos.

Cuando se realizó el análisis por densitometría los resultados indican que se tratan de al menos 18 compuestos diferentes en una misma banda como lo indican los espectros de absorción de la Figura 10. El análisis de densitometría a futuro de las figuras 8 a la 11 por video escáner permitirá determinar las similitudes y diferencias que presentan las placas cromatográficas de acuerdo a los Rf que se detecten.

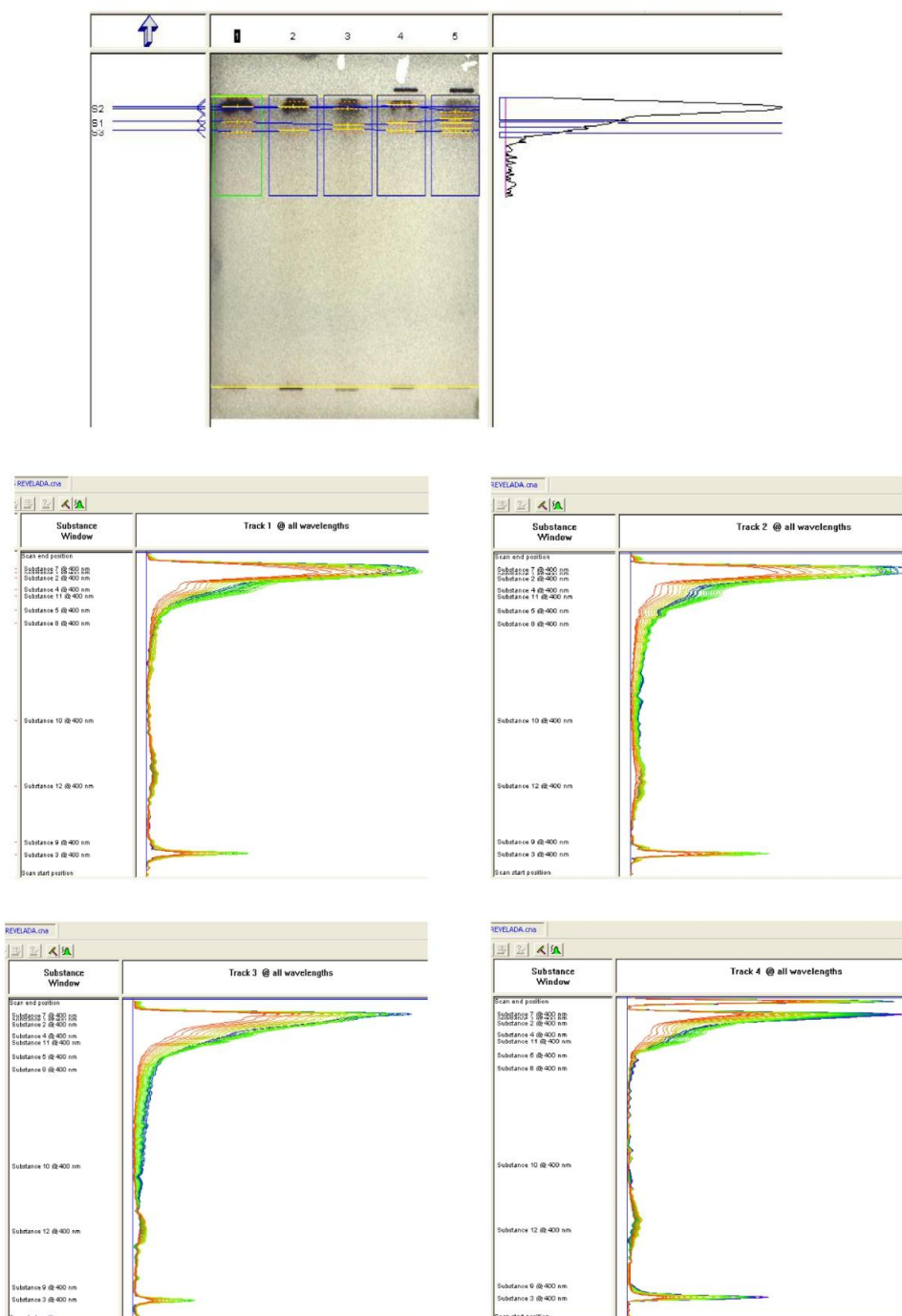


Figura 8. Análisis de los extractos hexánicos para terpenoides por video escáner.

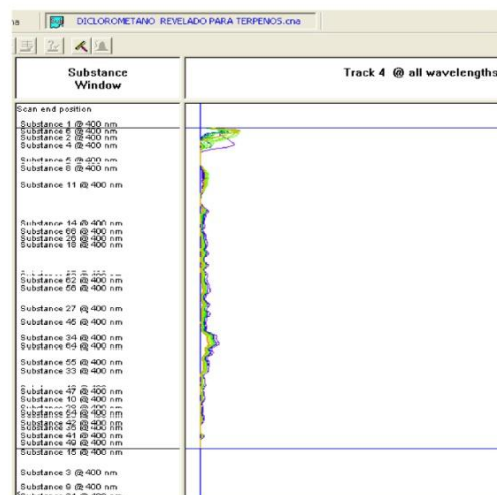
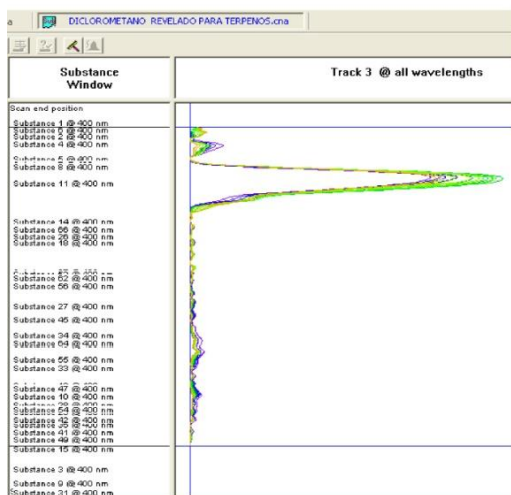
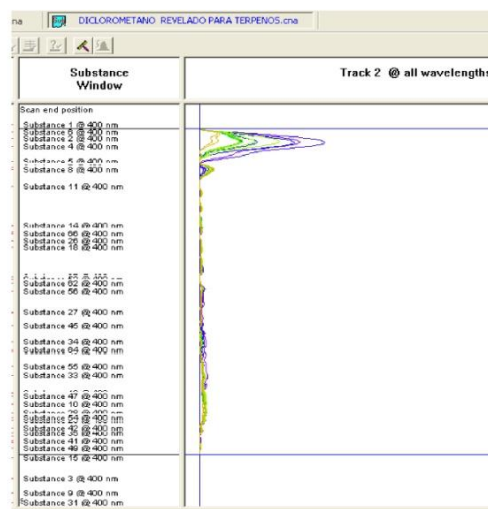
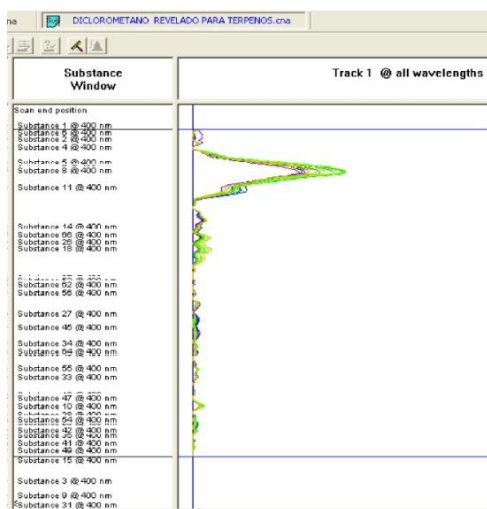
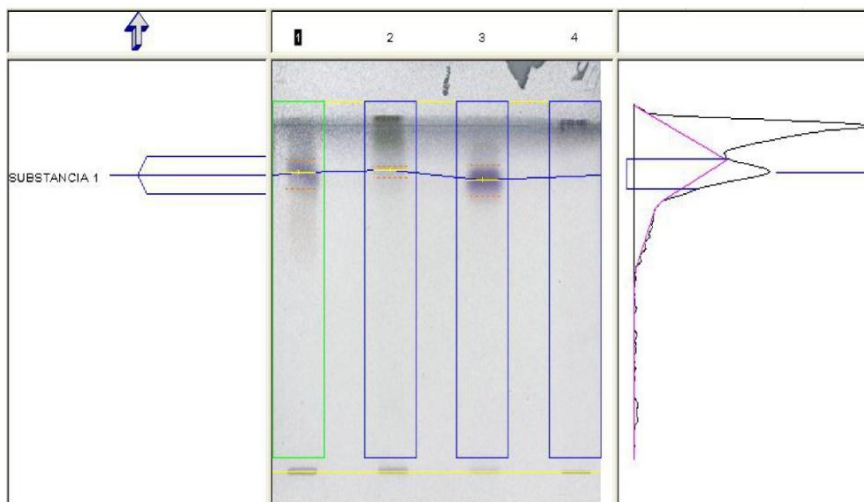


Figura 9. Análisis de los extractos de diclorometano para terpenoides por video escáner.

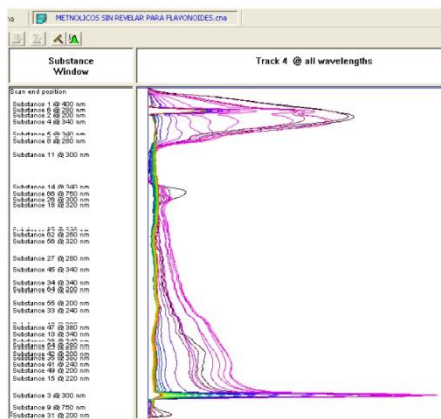
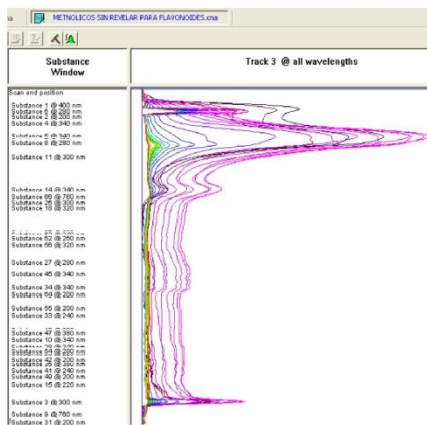
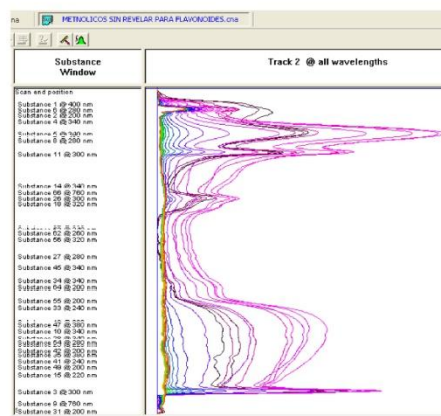
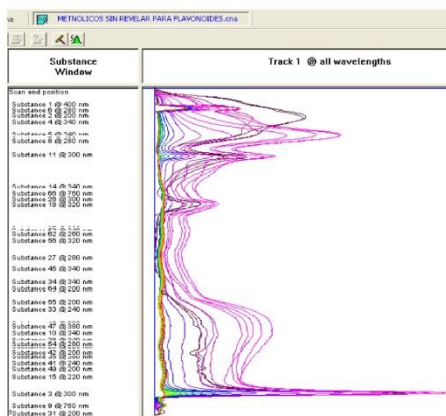
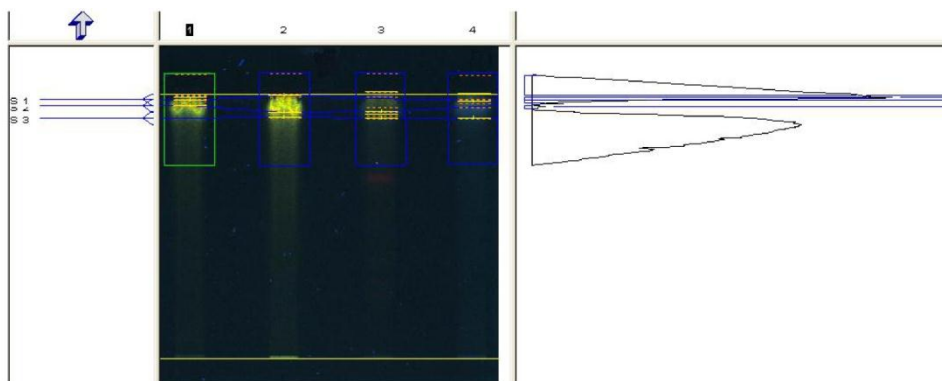


Figura 10. Análisis de los extractos metanólicos revelado para flavonoides por video escáner

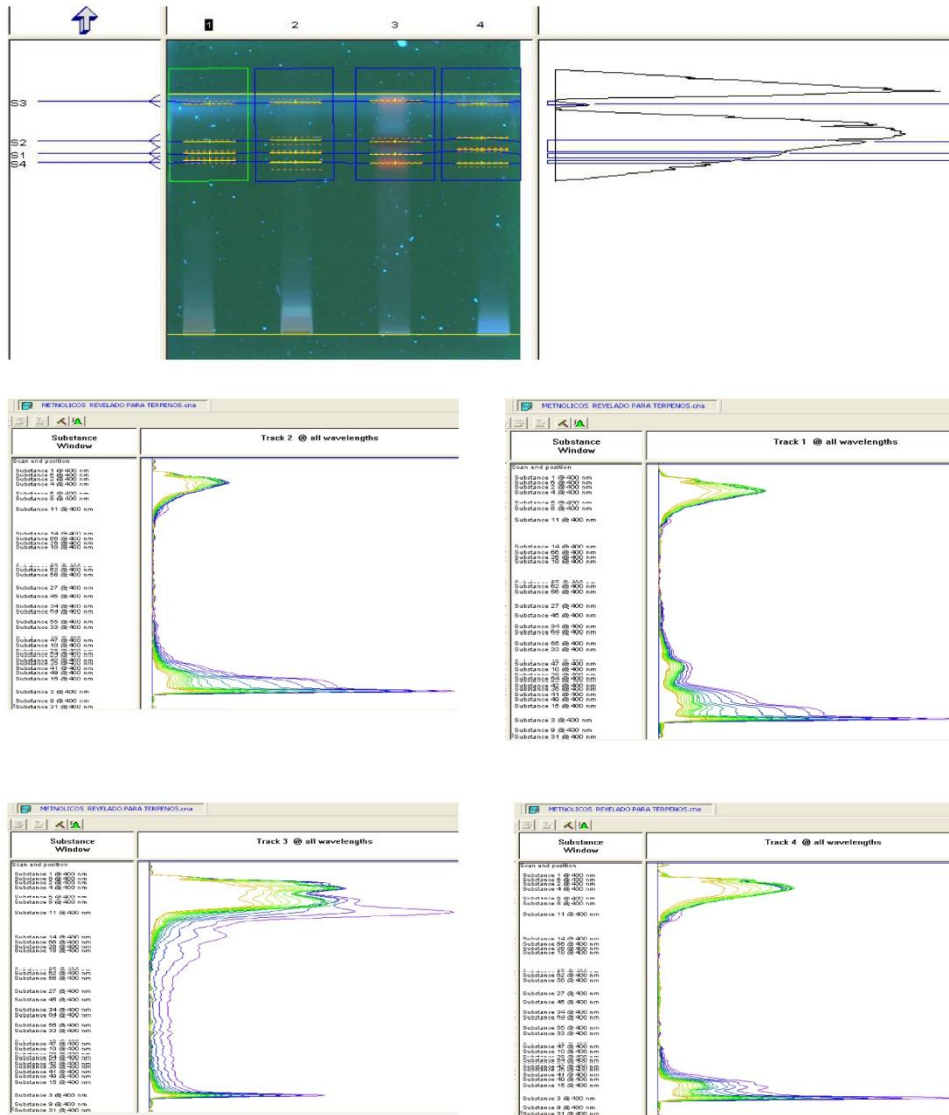


Figura 11. Análisis de los extractos metanólicos revelado para terpenoides por video escáner.

El análisis de los compuestos presentes en las especies de esta familia, es aun preliminar. Los resultados evidencian la presencia de flavonoides, en hojas principalmente, que se sabe actúan contra la herbivoría, y terpenoides en frutos, se ha demostrado que los terpenoides juegan un papel importante en la defensa indirecta de las plantas (Mumm *et al.*, 2008), faltaría analizar si en los frutos de *S. schreberi* son los responsables de atraer a la diversidad de parasitoides de *A. spatulata* y palomillas. Por otro lado, es probable que la estrategia de la planta sea proteger a las hojas que concentran la energía fotosintética, además, de que la producción de compuestos fenólicos se ve

reforzada por elevados niveles de CO₂, y de los niveles de luz UV que parecen aumentar principalmente las concentraciones de flavonoides (Bidart y Imeh, 2008). Por lo tanto la producción de un exceso de flores y frutos permite un subsecuente aborto de los frutos y adaptación a la herbivoría. Por ejemplo, Las hojas de esta especie son resistentes al ataque por insectos, ocasionalmente son atacadas por una especie de lepidóptero *Calydna sturnula* (Geyer) (Lepidoptera: Riodinidae) al parecer especialista al obtener y almacenar sustancias para defenderse de los depredadores (Hall *et al.*, 2004). Un análisis por GC-MS de los aceites volátiles de hojas de *Ximenia americana* (Olacaceae) resultó en la identificación de 33 componentes que representan el 98% del total de aceites, los principales componentes identificados fueron benzaldehído (63.5%), cianuro hidroxibencil (13%) e isoforona (3.5%) (Mevy *et al.*, 2006).

La información obtenida de este proyecto se puede utilizar para hacer frente a determinadas preguntas relacionadas a la interacción planta-insecto. Por ejemplo, el papel desempeñado por los terpenos en la susceptibilidad de los frutos como hospederos de especies de insectos especialistas en la selección de hospedero, o los compuestos fenólicos que influyen en el comportamiento y atracción de insectos parasitoides y también polinizadores. Se debe profundizar en el estudio de los diferentes compuestos obtenidos en este estudio ya que, en este caso, sólo sirvieron de apoyo para el conocimiento de la especie y su posible uso como defensa, se ha contemplado a futuro aportar conocimiento sobre el tipo de compuestos presentes en la especie en estudio y de esta manera ver su uso potencial como compuestos activos. El estudio de los flavonoides y terpenoides es escaso en el género *Schoepfia*, por lo tanto, muchos pueden ser nuevos compuestos (Huang *et al.*, 2008), o como los encontrados en especies relacionadas por ejemplo *X. americana* (Araujo *et al.*, 2009). Este tipo de estudios ayuda a incrementar el conocimiento sobre la diversa y vasta flora mexicana. Importante es también, obtener diferentes utilidades sobre la especie, desde la creación y obtención de compuestos activos, hasta la creación de nuevos productos de aplicación agrícola, tales como bioinsecticidas.

Futuras investigaciones aparte de identificar los compuestos presentes en hojas y frutos, deben incluir el aislamiento y purificación por cromatografía de sus principales componentes y luego bioensayos insecticidas. Los

resultados podrían contribuir al desarrollo de productos botánicos con uso y aplicación en el manejo de plagas como en el caso de *X. americana*. Al respecto, Fatope *et al.* (2000) observaron que el extracto CHCl₃ de la raíz y ramas de esta especie son ricos en ácidos grasos acetilénicos que inhibe la eclosión de los huevos de *Clavigralla tomentosicollis* Stal (Hemiptera: Coreidae). Los metabolitos secundarios biosintetizados por especies vegetales, son biodegradables, con actividad selectiva sobre insectos, por estar constituidos por combinaciones de ellos actuando simultáneamente sin generación de resistencia (Simmonds, 2003; Eisner *et al.*, 2004).

A la vez, un estudio de los compuestos del extracto de las partes *S. schreberi* es necesario para proporcionar una base científica en el uso tradicional de esta planta, con el objetivo de verificar si el uso de *S. schreberi* podría tener propiedades farmacológicas como por ejemplo analgésico; Como es el caso *Ximenia americana* Linneo (Olacaceae) donde en un estudio farmacológico del extracto acuoso de la corteza del tallo, se evaluó la actividad analgésica en animales (Soro *et al.*, 2009).

También al saber que la especie en estudio presenta una amplia distribución y que está expuesta a diversos ambientes, un estudio interesante será determinar si existen diferencias en composición debido a los diferentes factores ambientales.

Conclusiones

En los extractos de las hojas y frutos se detectó la presencia de terpenoides y flavonoides. El análisis preliminar en frutos y hojas, indica que las hojas están mejor protegidas químicamente contra la herbivoría.

Literatura citada

- Ahuja, I., J. Rohloff, and A.M. Bones. 2011. Defense mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. *Sustainable Agriculture* 2: 623 – 670.
- Araujo M.R.S., F.J.Q. Monte, and R. Braz-Filho. 2009. A New Sesquiterpene from *Ximenia americana* Linn. *Helvetica Chimica Acta* 92: 127–132.
- Arimura G.-I., K. Shiojiri, and R. Karban. 2010. Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. *Phytochemistry* 71: 1642–1649.
- Becerra, J.X. 2007. The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 7483–88.
- Bidart, M.G., and A.N. Imeh. 2008. Global Change Effects on Plant Chemical Defenses against Insect Herbivores. *Journal of Integrative Plant Biology* 50: 1339–1354.
- Calderon de Rzedowski, G. 1995. Flora del Bajío y regiones adyacentes: fascículo 34. Familia Olacaceae. Pages 11p.-illus. Instituto de Ecología, Patzcuaro, Michoacan.
- Chapman, R.F. 2003. Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 48: 455–484.
- Clavijo McCormick, A., S.B. Unsicker, and J. Gershenzon. 2012. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science* 17: 303–310.
- Dirsch, V., A. Neszmelyi, and H. Wagner. 1993. A trimeric propelargonidin from stem bark of *Heisteria pallida*, *Phytochemistry* 34: 291–293.

- Eisner T, Meinwald J, Hildebrand J. 2004. Bugs, behavior, and biomolecules: The naturalist's guide to the future. *Bulletin of the American Academy* 58: 26–31.
- Fatope, M.O., O.A. Adoum, and Y. Takeda. 2000. C18 Acetylenic fatty acids of *Ximenia americana* with potential pesticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1872–1874.
- Hall, J.P.W., D.J. Harvey, and D.H. Janzen. 2004. Life history of *Calydna sturnula* with a review of larval and pupal balloon setae in the Riodinidae (Lepidoptera). *Annals of the Entomological Society of America* 97: 310–321.
- Haro, N.W., and S.T. Ping. 1997. Distribution and taxonomic significance of flavonoids in the Olacaceae and Icacinaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 25: 263–265.
- Hopkins, R.J., N.M. van Dam, and J.J.A. van Loon. 2009. Role of Glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology* 54: 57–83.
- Howe, G., and G. Jander. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology* 59: 41–66.
- Huang, C.F., X.W. Gan, H.Y. Bai, L. Ma, and L.H. Hu. 2008. *Schoepfin* A, B, C: three new chalcone C-glycosides from *Schoepfia chinensis*, *Natural Products Research* 22: 623–627.
- Khan, M.T., I. Orhan, F.S. Senol, M. Kartal, B. Sener, M. Dvorska, K. Smejkal, and T. Slapetova. 2009. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-Biological Interactions* 1813: 383–389.
- Mevy J.-P., J.-M. Bessiere, S. Greff, G. Zombre, and J. Viano. 2006. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 549–553.

- Mumm, R., M.A. Posthumus, and M. Dicke. 2008. Significance of terpenoids in induced indirect plant defence against herbivorous arthropods. *Plant Cell and Environment* 31: 575–585
- Simmonds, M.S. 2003. Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge. *Phytochemistry* 64: 21–30.
- Soro, T.Y., F. Traore, and J. Sakande. 2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies* 332: 371–377.
- Vandock, K.P., M.J. Mitchell, and C.F. Fioravanti. 2012. Effects of plant flavonoids on *Manduca sexta* (tobacco hornworm) fifth larval instar midgut and fat body mitochondrial transhydrogenase. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 80: 15–25.
- Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolism from ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64: 3–19.

Capítulo V. Discusión general

En este estudio se presenta evidencia de las relaciones directas e indirectas que establecen diferentes especies de insectos con los frutos de la planta *Shoepfia schreberi*, J. F. Gmel. (Olacaceae). Las especies interrelacionadas que aprovechan los frutos de *S. schreberi* pertenecen a 4 órdenes: La mosca de la fruta *Anastrepha spatulata* Stone (Díptera: Tephritidae), dos especies de micro-lepidópteros *Coleotechnites sp* (Lepidoptera: Gelechiidae) y una no identificada (sp1.) de la familia Tortricidae y dos especies de hemípteros *Ramosiana insignis* (Blanchard) y *Vulsirea violacea* (Fabricius) (Hemíptera-Heteróptera: Pentatomidae). El nivel tritrófico lo representan insectos parasitoides (Hymenoptera); tres especies asociados a *A. spatulata* y 12 especies a las palomillas. Se discute que las especies de insectos herbívoros no solo se enfrentan a las fluctuaciones en la disponibilidad de recursos, sino también a las restricciones impuestas por las interacciones interespecíficas, sus enemigos naturales y los factores abióticos. El uso de los frutos por las especies de herbívoros en conjunto, afectan directamente la producción y germinación de semillas de *S. schreberi*. Por lo que estos resultados contribuyen al conocimiento e importancia de estas relaciones, al establecer los flujos de energía dentro de las redes tróficas y por tanto coadyuvar a la estructuración del ecosistema.

La hipótesis general de esta investigación plantea que las interacciones interespecíficas de diversos herbívoros, utilizando los frutos de *S. schreberi*, están influenciadas por las características fisiológicas y morfológicas de los frutos, los factores ambientales, los niveles poblacionales de cada miembro del gremio y sus enemigos naturales. Lo cual permite observar la coexistencia entre especies en el uso de los frutos. Al respecto se obtuvieron 15 individuos de *A. spatulata* por cada 100 frutos del total recolectado en los tres años (Figura 9, capítulo I) el resto de los frutos es utilizado por las palomillas y por las dos especies de hemípteros. El uso de los recursos entre las especies es un importante proceso de estructuración de las comunidades ecológicas, ya sea, por el número de especies que coexisten o la distribución estacional (Strong *et al.*, 1984). En este caso, una densidad mayor de *A. spatulata* indica que es manejada por la productividad primaria, mientras que las dos especies de palomillas, utilizan los recursos de forma distinta en tiempo y espacio

(Figura 5 B y 5 D, capítulo I). A la vez que su densidad poblacional fue baja y se infiere que no entran en competencia directa con *A. spatulata*, sí el recurso no es limitante, como lo señalado para otras especies (Kaplan y Denno, 2007). Sin embargo, con los experimentos de exclusión y la observación directa en campo, se demuestra que la alimentación antagonista de *R. insignis*, afecta los procesos de desarrollo de la población de *A. spatulata* (Figura 6, capítulo II). El resultado es una interacción directa que interfiere con la alimentación y desarrollo de las larvas de *A. spatulata*, esto conduce a la exclusión competitiva que puede ser temporal y espacial. Los resultados de las recolectas en campo permiten constatar la ausencia total de *A. spatulata* en algunos árboles, donde la presencia de *R. insignis* fue mayor (Figura 11, capítulo I). Los resultados confirman que las interacciones son muy variables en diferentes condiciones del medio ambiente (Herrera *et al.*, 2002; Lewis y Gripenberg, 2008) y según el comportamiento reproductivo de los insectos (Barat *et al.*, 2007; Van Klinken y Flack 2008).

Se considera que *R. insignis* es una especie dominante y como individuo, son los mayores consumidores de frutos (Figura 4 A, capítulo II y Figura 5, capítulo II). Su comportamiento de agregarse en ciertos árboles reduce la depredación de frutos en otros, aunque es temporal porque una vez que agotan los recursos en un determinado sitio se desplazan en grupo hacia otros (Figura A-1). Una de las ventajas de esta especie, es el acceso al recurso antes, durante y después de que las otras especies asociadas hacen uso de los frutos. Por lo tanto, una observación importante es que la saciación no ocurre en *R. insignis*, esto coincide con da Silva *et al.* (2012) quienes no encontraron evidencia de saciación en tres especies de insectos de la familia Curculionidae, depredadores de semilla de *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae). Aunque otros estudios indican, que una producción o tamaño mayor de los recursos a pesar de experimentar mayores niveles de depredación por insectos, pueden ser capaces de sobrevivir mejor a los daños (Bonal *et al.*, 2007; Espelta *et al.*, 2009).

Los resultados de la presente investigación respaldan la hipótesis de que las características físicas y químicas de la planta hospedera, influyen en la preferencia como sitio de oviposición o alimentación de las especies de insectos herbívoros que interaccionan. Se considera que *A. spatulata* al tener

los niveles mayores de infestación durante los tres años y una correlación positiva con la disponibilidad de frutos, es por su capacidad de elegir frutos viables o adecuados para su progenie (Figura 2, capítulo II). Al respecto, algunos estudios han examinado directamente la selección del recurso como sitio de oviposición y sus restricciones (Janzen, 1975; Juenger *et al.*, 2005; Ostergan *et al.*, 2007). La especificidad de *A. spatulata* con la planta es crucial, tal dependencia es considerada por las observaciones de su actividad diaria, de búsqueda alimentación y oviposición en los frutos (Figura A-2). Lo interesante es que oviposita en frutos comprendidos en un intervalo de peso (Figura 7, capítulo II), ya que, las larvas de *A. spatulata* requieren de un tamaño de fruto que les permita desarrollarse y alcanzar el estadio adecuado para abandonar el fruto, antes de la abscisión (Figura A-3).

En *R. insignis* también se demostró la influencia del hospedero en la preferencia como sitio de oviposición, ya que las hembras, preferentemente se dirigieron hacia las hojas del material fresco (Cuadro 1, capítulo III). En condiciones naturales se observó la agregación para ovipositar solamente en plantas con una avanzada producción de botones florales, flores o pequeños frutos. Además se estudiaron los efectos de la influencia del hospedero, como la de una mayor inversión de huevos o el retraso en la oviposición, al no tener contacto con la planta hospedera (Figura 4, capítulo III y Figura 6, capítulo III). Estos resultados coinciden en que la oviposición por parte de los adultos, está determinada por la calidad del hospedero, el cual maximice el desarrollo y supervivencia de la progenie, tal y como lo señala Gripenberg *et al.* (2010) para diversas especies de insectos estudiadas.

Por otro lado, la planta podría estar siendo atractiva para los enemigos naturales. Lo anterior, por la cantidad de parasitoides de *A. spatulata* (Figura A-4) y la diversidad de parasitoides de palomillas (Figura A-5). y que se sabe pueden ser atraídos por las señales de la planta en sinergia con sus hospederos (Dicke y Baldwin, 2010; Poelman *et al.*, 2011; Ero y Clarke, 2012). Es sobresaliente, la aptitud de oviposición de hembras de *R. insignis* conlleva a grandes diferencias, entre las que ovipositan en la planta hospedera, facilitando a los parasitoides, la búsqueda de sus hospederos, ejemplo Girling *et al.* (2011). Mientras que en la no hospedera, puede ser un hábitat con menos

riesgos para sus huevos, posiblemente, por el efecto de refugio infoquímico (Randlkofer *et al.*, 2007).

Contrariamente a nuestra predicción, de que los efectos directos e indirectos en los frutos de *S. schreberi* no serían perceptibles, no fue así, el ataque a los frutos explica la nula supervivencia de semillas debido al uso de los frutos entre las especies de insectos. A pesar de la cantidad de frutos producidos por la planta, no se reduce la depredación de semillas por insectos (Figura 5 A y 5C, capítulo I). De acuerdo a Kolb *et al.* (2007) las tasas de depredación pre-dispersión de semillas son generalmente bajas, pero a veces alta, y muestran una considerable variación en espacio y tiempo. En este estudio, en árboles con menor presencia de al menos de una de las especies, por ejemplo *R. insignis* existió una cantidad mayor de semillas. De manera similar, las exclusiones de insectos disminuyeron las probabilidades de uso de los frutos aumentando la supervivencia de semillas, lo contrario ocurrió en la interacción de todas las especies de herbívoros (Figura 4 B, capítulo II). Sin embargo, aunque el número de semillas que alcanzan la madurez es un porcentaje muy bajo, una viabilidad de más del 60% puede considerarse como una tendencia positiva para la repoblación natural. En un ambiente como CM, la dispersión puede ser favorecida por las aves que seleccionan por tamaño y color (observación personal), ya que en particular el tamaño de los frutos de esta especie es un punto a su favor (Beckman y Muller-Landau, 2007). En contraste en OT, además de la acción en gremio de las especies de insectos más otros factores como la fragmentación del hábitat, hacen que el éxito reproductivo de *S. schreberi* sea incierto.

Las condiciones ambientales en los sitios de estudio si afectan las interacciones planta–insectos. Cabe destacar, que los factores abióticos, principalmente la precipitación pluvial (Figura 7, capítulo I), limitaron las poblaciones de *R. insignis* en el 2010 (Figura 12, capítulo I) de tal manera que se encontró un efecto negativo para esta especie por la mortalidad de ninfas en ambos sitios. A la vez, fue positivo para las larvas de *A. spatulata* al reducirse las probabilidades de interferencia con *R. insignis*. Aunque para la planta el aumento en la producción de semillas fue apenas perceptible (Figura 5 A, C y Figura 10, capítulo I). Es sobresaliente, que la superioridad competitiva de *R. insignis* sobre *A. spatulata* disminuyera por los efectos de factores ambientales,

que actuaron selectivamente. Aunque una característica general de los organismos, es que están ecológicamente especializados con respecto a las condiciones abióticas y recursos bióticos, y dependiendo del conjunto de factores son los resultados de las interacciones (Thompson, 2005; Garrido, *et al.*, 2012).

Es importante notar que la mayor amenaza que enfrenta la planta y la diversidad de especies asociadas en la actualidad, es la destrucción del hábitat. Los ecosistemas naturales son los principales reservorios de diversidad y están siendo alterados y destruidos (Schweiger *et al.*, 2010; Kim y Holt 2012). Las causas que estarían influyendo en la fenología y la abundancia de frutos en OT con respecto a CM, son principalmente, una mayor exposición a la radiación solar, el descenso de la temperatura durante la noche y el periodo de sequía más asentado (Figura 6 B, Figura 7 B y 8 C). Las diferencias en la fenología de las plantas entre CM y OT están asociadas con la estacionalidad climática y variables geográficas como en otras especies (Wright y Vanschaik, 1994; Brearley *et al.*, 2007; Pineda-Herrera *et al.*, 2012). La tendencia de un mayor número de frutos en OT se reflejó en el porcentaje de infestación de *A. spatulata*, hasta un 28.09% pero no en sus parasitoides con 0.58%, mientras que en CM el número de frutos es menor, el porcentaje de infestación de *A. spatulata* representó hasta un 20.66% y sus parasitoides con 3.77%. La misma tendencia se encontró entre las interacciones para las dos especies de palomillas, sp1. y *Coleotechnites* sp. y sus parasitoides (Figura 10, capítulo I). La gran diversidad y abundancia de los insectos herbívoros, constituyen el eslabón más importante entre las plantas y niveles tróficos superiores (Price 2002). Por lo que se acepta que la abundancia de insectos parasitoides y depredadores es una consecuencia directa de la abundancia de insectos herbívoros (Kersch-Becker y Lewinsohn, 2012), cabe destacar, que no es el caso de Osto, cuando otras interacciones relacionadas a la pérdida de vegetación y la fragmentación del hábitat, afectan a las especies (Kruess y Tschardt, 2000; De Crop *et al.*, 2012), además, variables como temperaturas altas incrementan la herbivoría, pero en los niveles tróficos superiores no existe tal respuesta (Sassi y Tylianakis, 2012). No hay duda que los ecosistemas naturales son los reservorios principales de diversidad y en literatura reciente se muestra una amplia gama de puntos de vista sobre la vulnerabilidad y

efectos por el hecho de que están siendo alterados y destruidos (Schweiger *et al.*, 2010; Kim y Holt, 2012).

Esta investigación también abarcó el interés por el estudio de la presencia de compuestos orgánicos químicos principales más abundantes en hojas y frutos, los resultados evidencian la presencia de flavonoides en hojas y terpenoides en frutos (Figura 4, capítulo IV). La acumulación de compuestos secundarios en las plantas puede limitar la aceptabilidad de muchas especies de plantas por los insectos (Bernays y Chapman, 1994). Observaciones en campo, describen que las hojas permanecen intactas, esto sugiere que la concentración de flavonoides las protegen de la herbivoría, en contraste los terpenoides en frutos se infiere a los niveles de especialización observadas en la dieta y adaptación de las especies de insectos en el uso de los frutos (Cornell y Hawkins, 2003).

El estudio de los flavonoides y terpenoides es escaso en el género *Schoepfia* por lo tanto, muchos pueden ser nuevos compuestos (Huang *et al.*, 2008). Además, de ayudar a incrementar el conocimiento sobre la diversa y vasta flora y fauna mexicana. También es importante, obtener diferentes utilidades sobre la especie, desde la creación y obtención de compuestos farmacológicos, hasta la creación de nuevos productos de aplicación agrícola, tales como bioinsecticidas (Isman, 2006). Cabe resaltar, que en ambos sitios de estudio coincide otra especie de la familia Olacaceae *Ximenia americana* Linn, interesante por las características de sus compuestos (Mevy *et al.*, 2006; Araújo *et al.*, 2009) pero además, estudiada por su potencial como uso medicinal y bioinsecticida (Fatope *et al.*, 2000; Soro *et al.*, 2009; Bayer *et al.*, 2012). En contraste, *X. americana* produce frutos de abril a junio las especies de insectos que utilizan sus frutos es otra mosca de la fruta *Anastrepha alveata* (Aluja *et al.*, 2000) y palomillas de la familia Tortricidae. Además coleópteros (no identificados) y hemípteros de la familia Coreidae, lo que sugiere que las especies de herbívoras difieren de las de *S. schreberi*. Lo anterior indica la existencia de especialización en *A. spatulata* y *A. alveata* en los frutos de sus respectivas plantas, aunque comparten al menos una misma especie de parasitoide *D. areolatus* (Lopez *et al.*, 1999).

Los resultados proporcionan información importante sobre el valor de llevar a cabo estudios en áreas naturales, ya que nos permiten especular y

dilucidar sobre los procesos ecológicos y evolutivos de los insectos. *R. insignis* tiene una mayor capacidad de ataque quizás a través de la especialización química hacia la planta y a estrategias de vida que le permiten sobrevivir hasta la estación de fructificación de su hospedero. Otra de las características observadas de adaptación, se refiere a que los estadios inmaduros de *A. spatulata* y de la palomilla *Coleotechnites* sp. se alimentan de los frutos sin provocar su caída hasta que lo abandonan. Las larvas de *A. spatulata* lo hacen cuando alcanzan el tercer estadio (Figura A-3). La palomilla manipula aún más al fruto, porque la larva hace un agujero antes de pupar y lo sella con una fina capa de moco cementante que facilita la salida del adulto al emerger (Figura A-6). Cuando los hemípteros utilizan los frutos en su totalidad, una estrategia de la planta es volver a tener una nueva floración conocida como “fenología divergente”. Futuras investigaciones podrían determinar si es una respuesta al estrés causado por el insecto. Las interacciones coevolutivas en situaciones como antagonismo, parasitismo y mutualismo, muestran cómo estas relaciones pueden modelar patrones de diversidad, comportamiento y características morfológicas de las especies (Thompson, 1999; Craig, 2007). Este enfoque sobre las interacciones debe ser tomado como punto de partida para investigaciones futuras en este sistema.

.

Literatura citada

Aluja, M., J. Piñero, M. López. C. Ruíz, A. Zúñiga, E. Piedra, F. Díaz-Fleischer, and J. Sivinski. 2000. New host plant and distribution records in Mexico for *Anastrepha* spp., *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker, *Rhagoletis zoqui* Bush, *Rhagoletis* sp. and *Hexacheta* sp. (Diptera: Tephritidae). *Proceedings Entomological Society Washington* 102: 802–815.

Araújo M.R.S., F.J.Q. Monte, and R. Braz-Filho. 2009. A New Sesquiterpene from *Ximenia americana* Linn. *Helvetica Chimica Acta* 92: 127–132

- Barat M., M. Tarayne, and A. Atlan. 2007. Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Britany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124: 167–176.
- Bayer, H., N. Ey, A. Wattenberg, C. Voss, and M.R. Berger. 2012. Purification and characterization of riproximin from *Ximenia americana* fruit kernels. *Protein Expression and Purification* 82: 97–105.
- Beckman, N.G., and H.C. Muller-Landau. 2007. Differential effects of hunting on pre-dispersal seed predation and primary and secondary seed removal of two neotropical tree species. *Biotropica* 39: 328–339.
- Bonal, R., A. Munoz, and M. Diaz. 2007. Satiation of predispersal seed predators: the importance of considering both plant and seed levels. *Evolutionary Ecology* 21: 367–380
- Brearley, F.Q., J. Proctor, N.L. Suriantana, G. Dalrymple, and B.C. Voysey. 2007. Reproductive phenology over a 10-year period in a lowland evergreen rain forest of central Borneo. *Journal of Ecology* 95: 828–839.
- Cornell, H.V., and B.A. Hawkins. 2003. Herbivore responses to plant secondary compounds: a test of phytochemical coevolution theory. *American Naturalist* 161: 507–522.
- Craig, T.P. 2007. Evolution of plant-mediated interactions among natural enemies, pp 331–353. In T. Ohgushi, T. P. Craig, and P. W. Price (eds.), *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge.
- De Crop, E., R. Brys, and M. Hoffmann. 2012. The impact of habitat fragmentation on the interaction between *Centaureum erythraea* (Gentianaceae) and its specialized seed predator *Stenoptilia zophodactylus* (Pterophoridae, Lepidoptera). *Ecological Research* 27: 967–974.

- Desouhant, E. 1998. Selection of fruits for oviposition by the chestnut weevil, *Curculio elephas*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 71–78.
- Despres, L., and M. Cherif. 2004. The role of competition in adaptive radiation: a field study on sequentially ovipositing hosts-specific seed predators. *Journal of Animal Ecology* 73: 109–116.
- Dicke, M., and I.T. Baldwin. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help' *Trends in Plant Science* 15: 167–175.
- Ero, M.M., Clarke, A.R. 2012. Host location by the fruit fly parasitoid. *Diachasmimorpha krausii*: role of fruit fly species, life stage and host plant. *Agricultural and Forest Entomology* 14: 101–110.
- Espelta, J.M., R. Bonal, and B. Sanchez-Humanes. 2009. Predispersal acorn predation in mixed oak forests: interspecific differences are driven by the interplay among seed phenology, seed size and predator size. *Journal of Ecology* 97: 1416–1423.
- Fatope, M.O., O.A. Adoum, and Y. Takeda. 2000. C18 Acetylenic fatty acids of *Ximenia americana* with potential pesticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1872–1874.
- Garrido, E., G. Andraca-Gómez, and J. Fornoni, 2012. Local adaptation: simultaneously considering herbivores and their host plants. *New Phytologist* 193: 445–453.
- Girling, R.D., A. Stewar-Jones, J. Dherbecourt, J.T. Staley, D.J. Wright, and G.M. Poppy. 2011. Parasitoids select plants more heavily infested with their caterpillar hosts: a new approach to aid interpretation of plant headspace volatiles. *Proceedings of the Royal Society of London B* 278: 2646–2653.

- Gripenberg, S., P.J. Mayhew, M. Parnell, and T. Roslin. 2010. A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13: 383–393.
- Herrera, C.M., Medrano, M., Rey, P.J., Sánchez-Lafuente, A.M., García, M.B., Guitián, J. and Manzaneda, A.J. 2002. Interaction of pollinators and herbivores on plant fitness suggests a pathway for correlated evolution of mutualism- and antagonism-related traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 99: 16823–16828
- Huang, C.F., X.W. Gan, H.Y. Bai, L. Ma, and L.H. Hu. 2008. *Schoepfia* A, B, C: three new chalcone C-glycosides from *Schoepfia chinensis*, *Natural Products Research* 22: 623 –627.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45–66.
- Janzen, D.H.1975. Behaviour of *Hymenaea courbaril* when its predispersal seed predator is absent. *Science* 189: 145–147.
- Juenger, T., T.C. Morton, R.E. Miller, and J. Bergelson. 2005. *Scarlet gilia* resistance to insect herbivory: the effects of early season browsing, plant apparency, and phytochemistry on patterns of seed fly attack. *Evolutionary Ecology* 19: 79–101.
- Kaplan, I., and R.F. Denno. 2007. Interspecific interactions in phytophagous insects revisited: a quantitative assessment of competition theory. *Ecology Letters* 10: 977–994.
- Kersch-Becker, M.F., and T.M. Lewinsohn. 2012. Bottom-up multitrophic effects in resprouting plants. *Ecology* 93: 9–16.

- Kim, T N., and R.D. Holt. 2012. The direct and indirect effects of fire on the assembly of insect herbivore communities: examples from the Florida scrub habitat. *Oecologia* 168: 997–1012.
- Kolb, A., J. Ehrlén, and O. Eriksson. 2007. Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9: 79–100.
- Kruess, A., and T. Tschardt. 2000. Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia* 122: 129-137.
- Lewis, O.T., and S. Gripenberg. 2008. Insect seed predators and environmental change. *Journal of Applied Ecology* 45: 1593–159.
- López, M., M. Aluja, and J. Sivinski. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Biological Control* 15: 119–129.
- Mayhew, P.J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79: 417–428.
- Mevy J.-P., J.-M. Bessiere, S. Greff, G. Zombre, and J. Viano. 2006. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 549–553.
- Ostergard, H., A.H. Peter, and J. Ehrlén. 2007. Pre-dispersal seed predation: The role of fruit abortion and selective oviposition. *Ecology* 88: 2959–2965.
- Pineda-Herrera, E., J.I. Valdez-Hernandez, and M.A. Lopez-Lopez. 2012. Phenology of *Schizolobium parahyba* and *Vochysia guatemalensis* in a tropical rain forest of Oaxaca, Mexico. *Botanical Sciences* 90: 185–193.

- Poelman, E.H., S.J. Zheng, Z. Zhang, N.M. Heemskerk, A.M. Cortesero, and M. Dicke. 2011. Parasitoid-specific induction of plant responses to parasitized herbivores affects colonization by subsequent herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 19647– 19652.
- Price, P.W. 2002. Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecological Research*, 17: 241–247.
- Randlkofer, B., E. Obermaier, and T. Meiners. 2007 Mother's choice of the oviposition site: balancing risk of egg parasitism and need of food supply for the progeny with an infochemical shelter? *Chemoecology* 17: 177–186.
- De Sassi, C., and J.M. Tylianakis. 2012. Climate Change Disproportionately Increases Herbivore over Plant or Parasitoid Biomass. *Plos One* 7: e40557.doi:10.1371/journal.pone.0040557.
- Schweiger, O., J.C. Biesmeijer, R. Bommarco, T. Hickler, P.E. Hulme, S. Klotz, I. Kuhn, M. Moora, A. Nielsen, R. Ohlemuller, T. Petanidou, S.G. Potts, P. Pysek, J.C. Stout, M.T. Sykes, T. Tscheulin, M. Vila, G.R. Walther, C. Westphal, M. Winter, M. Zobel, and J. Settele. 2010. Multiple stressors on biotic interactions: how climate change and alien species interact to affect pollination. *Biological Reviews* 85: 777–795.
- Schoonhoven, L.M., J.J. A.van Loon, and M. Dicke. 2005. *Insect Plant-Biology*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford.
- Da Silva, F.R., R.M. Begnini, B.C. Lopes, and T.T. Castellani 2012.Temporal variation in seed predation by insects in a population of *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) in Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Neotropical Entomology* 41: 17–21.

- Soro, T.Y., F. Traore, and J. Sakande. 2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). Comptes Rendus Biologies 332: 371–377.
- Strong, D.R., J.H. Lawton, and T.R.E. Southwood. 1984. Insects on plants, community patterns and mechanisms. Cambridge, MA, Harvard University Press.
- Thompson, J.N. 1999. The evolution of species interactions. Science 284: 2116–2118.
- Thompson, J.N. 2005. The geographic mosaic of coevolution. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Van Klinken, R. D., and L. K. Flack. 2008. What limits predation rates by specialist seed-feeder *Penthobruchus germani* on an invasive shrub? Journal of Applied Ecology 45: 1600–1611.
- Wright, S.J., and C.P. Vanschaik. 1994. Light and the phenology of tropical trees. American Naturalist 143: 192–199.

Conclusiones generales

Las especies pueden coexistir en el mismo hábitat aprovechando los recursos de manera distinta, esta coexistencia es dada por el patrón de separación espacial y temporal, la fructificación y la influencia de los factores abióticos.

Anastrepha spatulata tuvo los mayores niveles de infestación al estar libre de interferencia por parte de otras especies, ya que puede usar un mayor rango de condiciones y recursos al cual está adaptada.

Ramosiana insignis como individuo es el mayor consumidor-depredador de frutos y semillas de *S. schreberi*, los cuales utiliza indistintamente de su etapa de desarrollo.

Las interacciones antagonistas son producidas por *R. insignis* a la vez que invade el hábitat o nicho ocupados por otras especies.

La especialización en el uso de los frutos permite dilucidar los procesos ecológicos y evolutivos de la palomilla *Coleotechnites sp.*, su adaptación es tal al hospedero que lo manipula para completar totalmente su ciclo de vida en él, esto se respalda a la vez, por la cantidad de niveles tróficos superiores (parasitoides) asociados a estas especies.

En las interacciones con los hemípteros, los efectos en el uso de los frutos-semillas y la interferencia con *A. spatulata*, fueron mayores en la presencia de *R. insignis*, que en la presencia de *V. violacea*

Los niveles tróficos formados por parasitoides en este sistema, no pueden ser tratados como unidades homogéneas porque la respuesta a cambios debido a factores ambientales y disponibilidad de recursos, es muy variable. La variabilidad fue observada a través de las fluctuaciones de las especies en tiempo y espacio.

En estas interacciones entre herbívoros y parasitoides en el uso de un fruto, cualquiera que prevalezca, los resultados evidencian un impacto negativo al potencial reproductivo de la planta.

El análisis preliminar fitoquímico entre frutos y hojas de la planta en laboratorio, indica que las hojas están mejor protegidas, químicamente, contra la herbivoría.

Literatura citada general

Agren, J., J. Ehrlén, and C. Solbreck. 2008. Spatio-temporal variation in fruit production and seed predation in a perennial herb influenced by habitat quality and population size. *Journal of Ecology* 96: 334–345.

Ahuja, I., J. Rohloff, and A.M. Bones. 2011. Defense mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. *Sustainable Agriculture* 2: 623 – 670.

Aluja, M., J. Piñero, M. López. C. Ruíz, A. Zúñiga, E. Piedra, F. Díaz-Fleischer, and J. Sivinski. 2000a. New host plant and distribution records in Mexico for *Anastrepha* spp., *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker, *Rhagoletis*

- zoqui Bush, *Rhagoletis* sp. and *Hexacheta* sp. (Diptera: Tephritidae). Proceedings Entomological Society Washington 102: 802–815.
- Aluja, M., E. Herrera, M. López, and J. Sivinski. 2000b. First host plant and parasitoid record for *Anastrepha spatulata* Stone (Diptera: Tephritidae). Proceedings Entomological Society Washington 102: 1072–1073.
- Anderson, P., and P.A. Hamback. 2011. Immigration of olfactory searching insects into host plant patches: testing scaling rules for olfactory information. *Arthropod Plant Interactions* 5: 269–277.
- Andreazzi, C.S., C.S. Pimenta, A.S. Pires, F.A.S. Fernandez, L.G. Oliveira-Santos, and J.F.S. Menezes. 2012. Increased productivity and reduced seed predation favor a large-seeded palm in small Atlantic forest fragments. *Biotropica* 44: 237–245.
- Araújo M.R.S., F.J.Q. Monte, and R. Braz-Filho. 2009. A New Sesquiterpene from *Ximenia americana* Linn. *Helvetica Chimica Acta* 92: 127–132.
- Arimura G.-I., K. Shiojiri, and R. Karban. 2010. Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. *Phytochemistry* 71: 1642–1649.
- Awmack, C.S., and S.R. Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817–844.
- Barat M., M. Tarayne, and A. Atlan. 2007. Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Britany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124: 167–176.
- Barber, N.A., L.S. Adler, N. Theis, R.V. Hazzard, and E.T. Kiers. 2012. Herbivory reduces plant interactions with above- and belowground antagonists and mutualists. *Ecology* 93: 1560–1570.

- Bayer, H., N. Ey, A. Wattenberg, C. Voss, and M.R. Berger. 2012. Purification and characterization of riproximin from *Ximenia americana* fruit kernels. *Protein Expression and Purification* 82: 97–105.
- Becerra, J.X. 2007. The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:7483–88.
- Beckman, N.G., and H.C. Muller-Landau. 2007. Differential effects of hunting on pre-dispersal seed predation and primary and secondary seed removal of two neotropical tree species. *Biotropica* 39: 328–339.
- Behmer, S.T., and A. Joern. 2008. Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proceedings National Academic Science USA* 105: 1977–1982.
- Benda, N.D., C. Brownie, C. Schal, and F. Gould. 2011. Field observations of oviposition by a specialist herbivore on plant parts and plant species unsuitable as larval food. *Environmental Entomology* 40: 1478–1486.
- Berlow, E.L., A.M. Neutel, J.E. Cohen, P.C. de Ruiter, B. Ebenman, M. Emmerson, J.W. Fox, V.A.A. Jansen, J.I. Jones, G.D. Kokkoris, D.O. Logofet, A.J. McKane, J. M. Montoya, and O. Petchey. 2004. Interaction strengths in food webs: issues and opportunities. *Journal of Animal Ecology* 73: 585–598.
- Bernays, E.A., and R.F. Chapman. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York
- Bernays, E.A. 1996. Selective attention and host-plant specialization. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 125–131.

- Blackmer, L., and L.A. Cañas. 2005. Visual cues enhance the response of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae) to volatiles from host plants. *Environmental Entomology* 34: 1524–1533.
- Bidart, M.G., and A.N. Imeh. 2008. Global Change Effects on Plant Chemical Defenses against Insect Herbivores. *Journal of Integrative Plant Biology* 50:1339–1354
- Bonal, R., A. Munoz, and M. Diaz. 2007. Satiation of predispersal seed predators: the importance of considering both plant and seed levels. *Evolutionary Ecology* 21: 367–380.
- Bourchier, R.S., and M.I. Crowe. 2011. Role of plant phenology in mediating interactions between two biological control agents for spotted knapweed. *Biological Control* 58: 367–373.
- Brearley, F.Q., J. Proctor, N.L. Suriantana, G. Dalrymple, and B.C. Voysey. 2007. Reproductive phenology over a 10-year period in a lowland evergreen rain forest of central Borneo. *Journal of Ecology* 95: 828–839.
- Brevault, T., and S. Quilici. 2007. Influence of habitat pattern on orientation during host fruit location in the tomato fruit fly, *Neoceratitis cyanescens*. *Bulletin of Entomological Research* 97: 637–642.
- Bruce, T.J., L.J. Wadhams, and C.M. Woodcock. 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*. 10: 269–74.
- Bruce, T.J., and J.A. Pickett. 2011. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—Finding the right mix. *Phytochemistry*. 72: 1605–1611.
- Calatayud, P.A., P.O. Ahuya, A. Wanjoya, B.L. Ru, J.F. Silvain, and B. Frerot. 2008. Importance of plant physical cues in host acceptance for

oviposition by *Busseola fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126: 233–243.

Calderon de Rzedowski G. 1995. Flora del Bajío y regiones adyacentes: fascículo 34. Familia Olacaceae. Pages 11p. - illus. Patzcuaro, Michoacan: Instituto de Ecología.

Chapman, R.F. 2003. Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 48: 455–484.

Clark, K.E., S.E. Hartley, and S.N. Johnson. 2011. Does mother know best? The preference–performance hypothesis and parent–offspring conflict in aboveground–belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36: 117–124.

Clavijo McCormick, A., S.B. Unsicker, and J. Gershenson. 2012. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science* 17: 303–310.

Colling, G. and D. Matthies. 2004. The effects of plant population size on the interactions between the endangered plant *Scorzonera humilis*, a special-ised herbivore, and a phytopathogenic fungus. *Oikos* 105: 71–78.

Conti, E., F. Frati, and G. Salerno. 2012. Oviposition behaviour of *Lygus rugulipennis* and its preferences for plant wounds. *Journal of Insect Behavior* 25: 339–351.

Cornell, H.V., and B.A. Hawkins. 2003. Herbivore responses to plant secondary compounds: a test of phytochemical coevolution theory. *American Naturalist* 161: 507–522.

Cox, D.R., and D.V. Hinkley. 1974. *Theoretical Statistics*, Chapman & Hall (Appendix 3) Hertfordshire, HRT, United Kingdom ISBN 0-412-12420-3.

- Craig, T.P. 2007. Evolution of plant-mediated interactions among natural enemies, pp 331–353. In T. Ohgushi, T. P. Craig, and P. W. Price (eds.), *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Crawley, M.J., and M. Akhteruzzaman. 1988. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects. *Functional Ecology* 2: 409–415.
- De Crop, E., R. Brys, and M. Hoffmann. 2012. The impact of habitat fragmentation on the interaction between *Centaureum erythraea* (Gentianaceae) and its specialized seed predator *Stenoptilia zophodactylus* (Pterophoridae, Lepidoptera). *Ecological Research* 27: 967–974.
- Cunningham, J.P. 2012. Can mechanism help explain insect host choice? *Journal of Evolutionary Biology* 25: 244–251.
- Damman, H., and H. Feeny. 1988. Mechanisms and consequences of selective oviposition by the zebra swallowtail butterfly. *Animal Behaviour* 36: 563–573.
- Denno, R.F., M.S. MacClure, and J.R. Ott. 1995. Interspecific interactions in phytophagous insects: Competition reexamined and resurrected. *Annual Review of Entomology* 40: 297–331.
- Desouhant, E. 1998. Selection of fruits for oviposition by the chestnut weevil, *Curculio elephas*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 71–78.
- Despres, L., and M. Cherif. 2004. The role of competition in adaptive radiation: a field study on sequentially ovipositing host-specific seed predators. *Journal of Animal Ecology* 73: 109–116.

- Desurmont, G.A., F. Herard, and A.A. Agrawal. 2012. Oviposition strategy as a means of local adaptation to plant defence in native and invasive populations of the viburnum leaf beetle. *Proceedings of the Royal Society of London B* 279: 952–958.
- Diamond, S.E., and J.G. Kingsolver. 2010. Fitness consequences of host plant choice: a field experiment. *Oikos* 119: 542–550.
- Dicke, M., and I.T. Baldwin. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help' *Trends in Plant Science* 15: 167–175.
- Dirsch, V., A. Neszmelyi, and H. Wagner. 1993. A trimeric propylargininidin from stem bark of *Heisteria pallid*. *Phytochemistry* 34: 291–1993.
- Doak, P., P. Kareiva, and J. Kingsolver. 2006. Fitness consequences of choosy oviposition for a time-limited butterfly. *Ecology* 87: 395–408.
- Dobson, A. 2002. *An Introduction to Generalized Linear Models*. Second Edition, Chapman and Hall/CRC. London. 240 p.
- Eisner T, Meinwald J, Hildebrand J. 2004. Bugs, behavior, and biomolecules: The naturalist's guide to the future. *Bulletin of the American Academy* 58: 26–31.
- Erb, M., S. Meldau, and G.A. Howe. 2012. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends in Plant Science* 17: 250–259.
- Ero, M.M., Clarke, A.R. 2012. Host location by the fruit fly parasitoid. *Diachasmimorpha krausii*: role of fruit fly species, life stage and host plant. *Agricultural and Forest Entomology* 14: 101–110.

- Espelta, J.M., R. Bonal, and B. Sanchez-Humanes. 2009. Predispersal acorn predation in mixed oak forests: interspecific differences are driven by the interplay among seed phenology, seed size and predator size. *Journal of Ecology* 97: 1416–1423.
- Fatope, M.O., O.A. Adoum, and Y. Takeda. 2000. C18 Acetylenic fatty acids of *Ximenia americana* with potential pesticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1872–1874.
- Fréchette, B., S. Rojo, O. Alomar, and E. Lucas. 2007. Intraguild Predation between Syrphids and Mirids: Who is the Prey? Who is the Predator? *BioControl* 52: 175–191.
- Garrido, E., G. Andraca-Gómez, and J. Fornoni, 2012. Local adaptation: simultaneously considering herbivores and their host plants. *New Phytologist* 193: 445–453.
- Girling, R.D., A. Stewar-Jones, J. Dherbecourt, J.T. Staley, D.J. Wright, and G.M. Poppy. 2011. Parasitoids select plants more heavily infested with their caterpillar hosts: a new approach to aid interpretation of plant headspace volatiles. *Proceedings of the Royal Society of London B* 278: 2646–2653.
- Grimm, C. 1999. Evaluation of damage to physic nut *Jatropha curcas* by true bugs. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92: 127–136.
- Gripenberg, S., P.J. Mayhew, M. Parnell, and T. Roslin. 2010. A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13: 383–393.
- Günter, S., B. Stimm, M. Cabrera, M.L. Diaz, M. Lojan, E. Ordoñez, M. Richter, and M. Weber. 2008. Tree phenology in montane forests of southern Ecuador can be explained by precipitation, radiation and photoperiodic control. *Journal of Tropical Ecology* 24: 247–258.

- Hall, J.P.W., D.J. Harvey, and D.H. Janzen. 2004. Life history of *Calydna sturnula* with a review of larval and pupal balloon setae in the Riodinidae (Lepidoptera). *Annals of the Entomological Society of America* 97: 310–321.
- Hardin, G. 1960. The competitive exclusion principle. *Science* 131: 1292–1297.
- Harris, M.O., and S.P. Foster. 1995. Behaviour and integration. pp: 3-46 in: R. T. (Cardé and W. J. Bell, eds.) *Chemical ecology of insects 2*. Chapman and Hall, New York, NY.
- Haro, N.W., and S.T. Ping. 1997. Distribution and taxonomic significance of flavonoids in the Olacaceae and Icacinaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* 25: 263–265.
- Herrera, C.M. 1989. Vertebrate frugivores and their interaction with invertebrate fruit predators supporting evidence from a Costa Rican dry forest. *Oikos* 54: 185–188.
- Herrera, C.M., Medrano, M., Rey, P.J., Sánchez-Lafuente, A.M., García, M.B., Guitián, J. and Manzaneda, A.J. 2002. Interaction of pollinators and herbivores on plant fitness suggests a pathway for correlated evolution of mutualism- and antagonism-related traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 16823–16828.
- Hobbs, R.J., and C.J. Yates. 2003. Impacts of ecosystem fragmentation on plant population: generalizing the idiosyncratic. *Australian Journal of Botany* 51: 471–488.
- Hopkins, R.J., N.M. van Dam, and J.J.A. van Loon. 2009. Role of Glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology* 54: 57–83.

- Hosaka, T., T. Yumoto, H. Kojima, F. Komai, and N.S.M. Noor. 2009. Community structure of pre-dispersal seed predatory insects on eleven *Shorea* (Dipterocarpaceae) species. *Journal of Tropical Ecology* 25: 625–636.
- Hosmer, D.W., and S. Lemeshow. 2000. *Applied logistic regression* second edition. Wiley, New York.
- Howe, G., and G. Jander. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology* 59: 41–66.
- Huang, C.F., X.W. Gan, H.Y. Bai, L. Ma, and L.H. Hu. 2008. *Schoepfin* A, B, C: three new chalcone C-glycosides from *Schoepfia chinensis*. *Natural Products Research* 22: 623–627.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45–66.
- Jaenike, J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14: 350–356.
- Janz, N., A. Bergstrom, and J. Johansson. 2005. Frequency dependence of host plant choice within and between patches: a large cage experiment. *Evolutionary Ecology* 19: 289–302.
- Janzen, D.H. 1975. Behaviour of *Hymenaea courbaril* when its predispersal seed predator is absent. *Science* 189: 145–147.
- Juenger, T., T.C. Morton, R.E. Miller, and J. Bergelson. 2005. *Scarlet gilia* resistance to insect herbivory: the effects of early season browsing, plant apparency, and phytochemistry on patterns of seed fly attack. *Evolutionary Ecology* 19: 79–101.

- Kaplan, I., and R.F. Denno. 2007. Interspecific interactions in phytophagous insects revisited: a quantitative assessment of competition theory. *Ecology Letters* 10: 977–994.
- Kersch-Becker, M.F., and T.M. Lewinsohn. 2012. Bottom-up multitrophic effects in resprouting plants. *Ecology* 93: 9–16.
- Khan, M.T., I. Orhan, F.S. Senol, M. Kartal, B. Sener, M. Dvorska, K. Smejkal, and T. Slapetova. 2009. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-Biological Interactions* 1813: 383–389.
- Kim, T N., and R.D. Holt. 2012. The direct and indirect effects of fire on the assembly of insect herbivore communities: examples from the Florida scrub habitat. *Oecologia* 168: 997–1012.
- Kolb, A., J. Ehrlen, and O. Eriksson. 2007. Ecological and evolutionary consequences of spatial and temporal variation in pre-dispersal seed predation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9: 79–100.
- Korine, C., E.K.V. Kalko, and E.A. Herre. 2000. Fruit characteristics and factors affecting fruit removal in a Panamanian community of strangler figs. *Oecologia* 123: 560–568.
- Kruess, A., and T. Tschardt. 2000. Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia* 122: 129-137.
- Lancaster, J., B.J. Downes, and A. Arnold. 2010. Oviposition site selectivity of some stream-dwelling caddisflies, *Hydrobiologia* 652: 165–178.

- Lázaro, A., A. Trasevet, and M. Mendez. 2006. Masting in *Buxus balearica* assessing fruiting patterns and processes at a large spatial scales. *Oikos* 115: 229–240.
- Lewis, O.T., and S. Gripenberg. 2008. Insect seed predators and environmental change. *Journal of Applied Ecology* 45: 1593–159.
- López-Carretero, A., M. Cruz, and A. Eben. 2005. Phenotypic plasticity of the reproductive system of female *Leptinotarsa undecimlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 27-31.
- López, M., M. Aluja, and J. Sivinski. 1999. Hymenopterous larval-pupal and pupal parasitoids of *Anastrepha* flies (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Biological Control* 15: 119–129.
- López, M., and L. Cervantes. 2010. Life histories of *Ramosiana insignis* (Blanchard) and *Vulsirea violacea* (F.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae), with descriptions of immature stages. *Proceedings Entomological Society Washington* 112: 81–96.
- López-Ortega, M., and A.I. Khalaim. 2012. First record of *Calliephialtes sittenfeldae* associated with the tephritid fruit fly *Anastrepha spatulata* in Mexico. *Journal of Insect Science* 12:34 Available online: insectscience.org/12.34.
- Marchand, D., and J.N. McNeil. 2006. Is fruit size important in the selection of oviposition sites by cranberry fruitworm, *Acrobasis vaccinæ*? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 119: 213–219.
- Maron, J.L., and E. Crone. 2006. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 2575–2584.

- Mayhew, P.J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79: 417–428.
- Mevy J.-P., J.-M. Bessiere, S. Greff, G. Zombre, and J. Viano. 2006. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 549–553.
- Minkenbergh, O.P., M.M. Tartar, and J.A. Rosenheim. 1992. Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. *Oikos* 65: 134–142.
- Montserrat, M., C. Bas, S. Magalhaes, M.N. Sabelis, A.M. de Roos, and A. Janssen. 2007. Predators induce egg retention in prey. *Oecologia*. 150: 699–705.
- Mumm, R., M.A. Posthumus, and M. Dicke. 2008. Significance of terpenoids in induced indirect plant defence against herbivorous arthropods. *Plant Cell and Environment* 31: 575–585
- Munday, P.L., G.P. Jones, and M.J. Caley. 2001. Interspecific competition and coexistence in a guild of coral-dwelling fishes. *Ecology* 82: 2177–2189.
- Nakajima, Y., and K. Fujisaki. 2012. Interpopulation variation in egg size in the winter cherry bug relative to oviposition site selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144: 317–325.
- Nakajima, Y., R. Nakagawa, and K. Fujisaki. 2012. Interactions between the winter cherry bug *Acanthocoris sordidus* (Hemiptera: Coreidae) and its egg parasitic wasps. *Applied Entomology and Zoology* 47: 35–44.
- Nelder, J.A., and R.W.N. Wedderburn. 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society, Series A* 135: 370–384.

- Ng, D. (1988) A novel level of interactions in plant- insect systems. *Nature* 334: 611–613.
- Ohgushi, T., T.P. Craig, and P.W. Price. 2007. *Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Olf, H., D. Alonso, M.P. Berg, B.K. Eriksson, M. Loreau, T. Piersma, and N. Rooney. 2009. Parallel ecological networks in ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 364: 1755–1779.
- Ostergard, H., A.H. Peter, and J. Ehrlen. 2007. Pre-dispersal seed predation: The role of fruit abortion and selective oviposition. *Ecology* 88: 2959–2965.
- Pereira, R., G.J. Steck, E. Varona, and J. Sivinski. 2007. Biology and natural history of *Anastrepha interrupta* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 90: 389–391.
- Pineda-Herrera, E., J.I. Valdez-Hernandez, and M.A. Lopez-Lopez. 2012. Phenology of *Schizolobium parahyba* and *Vochysia guatemalensis* in a tropical rain forest of Oaxaca, Mexico. *Botanical Sciences* 90: 185–193.
- Poelman, E.H., S.J. Zheng, Z. Zhang, N.M. Heemskerk, A.M. Cortesero, and M. Dicke. 2011. Parasitoid-specific induction of plant responses to parasitized herbivores affects colonization by subsequent herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108: 19647– 19652.
- Price, P.W. 2002. Resource-driven terrestrial interaction webs. *Ecological Research*, 17: 241–247.

- Price, P.W. 2003. *Macroevolutionary theory on macroecological patterns*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Randlkofer, B., E. Obermaier, and T. Meiners. 2007. Mother's choice of the oviposition site: balancing risk of egg parasitism and need of food supply for the progeny with an infochemical shelter? *Chemoecology* 17: 177–186.
- Reed, D.K., K.L. Mikolajczak, and C.R. Krause. 1988. Ovipositional behavior of lesser peach tree borer in presence of host-plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 14: 237–252.
- Reitz, S.R., and J.T. Thrumble. 2002. Competitive displacement among insects and arachnids. *Annual Review of Entomology* 47: 435–465.
- Renwick, J.A.A. 2001. Variable diets and changing taste in plant-insect relationships. *Journal of Chemical Ecology* 27: 1063–1076.
- Rodríguez-Pérez, J., K. Wiegand, and D. Ward. 2011. Interaction between ungulates and bruchid beetles and its effect on Acacia trees: modeling the cost and benefits of seed dispersal to plant demography. *Oecologia* 167: 97–105.
- Rojas, J., E. Ríos-Candelaria, L. Cruz-López, A. Santiesteban, J. Bond-Compean, Y. Brindis, and E. Malo. 2002. A reinvestigation of Brindley's gland exocrine compounds of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology* 39: 256–265.
- Romani, R., G. Salerno, F. Frati, E. Conti, N. Isidoro, and F. Bin. 2005. Oviposition behaviour in *Lygus rugulipennis*: a morpho-functional study. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 17–25.

- Rosas, A.H. 2005. Estudio químico y biológico de la corteza de *Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlecht. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados pp. 34–39.
- Rossi, M.N., L.M.S. Rodrigues, M.N. Ishino, and D. Kestring. 2011. Oviposition pattern and within-season spatial variation of pre-dispersal seed predation in a population of *Mimosa bimucronata* trees. *Arthropod-Plant Interactions* 5: 209-217.
- Sabelis, M.W., J. Takabayashi, A. Janssen, M.R. Kant, M. van Wijk, B. Sznajder, N.S. Aratchige, I. Lesna, B. Belliure, and R.C. Schuurink. 2007. Ecology meets plant physiology: Herbivore-induced plant responses and their indirect effects on arthropod communities. pp. 188–217 in: (T. Ohgushi, T. P. Craig, and P. W. Price eds.) *Ecological communities: Plant mediation in indirect interaction webs*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom
- Sallabanks, R., and S.P. Courtney. 1992. Frugivory, seed predation, and insect–vertebrate interactions. *Annual Review of Entomology* 37: 377–400.
- Sanchez, S.M. 1996. Flora de Veracruz: fasciculo 93. Olacaceae. Xalapa: Instituto de Ecología, 1996, vol. 15p. - illus.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- De Sassi, C., and J.M. Tylianakis. 2012. Climate Change Disproportionately Increases Herbivore over Plant or Parasitoid Biomass. *Plos One* 7: e40557. doi:10.1371/journal.pone.0040557.
- Scheirs, J., L. Bruyn, and R. Verhagen. 2000. Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London B* 267: 2065–2069.

- Schoonhoven, L.M., J.J.A.van Loon, and M. Dicke. 2005. *Insect Plant-Biology*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford
- Schweiger, O., J.C. Biesmeijer, R. Bommarco, T. Hickler, P.E. Hulme, S. Klotz, I. Kuhn, M. Moora, A. Nielsen, R. Ohlemuller, T. Petanidou, S.G. Potts, P. Pysek, J.C. Stout, M.T. Sykes, T. Tscheulin, M. Vila, G.R. Walther, C. Westphal, M. Winter, M. Zobel, and J. Settele. 2010. Multiple stressors on biotic interactions: how climate change and alien species interact to affect pollination. *Biological Reviews* 85: 777–795.
- Segura, D.F., M.M. Viscarret, S.M. Ovrusky, and J.L. Cladera. 2012. Response of the fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* to host and host-habitat volatile cues *Entomologia Experimentalis et Applicata* 143: 164–176.
- Da Silva, F.R., R.M. Beghini, B.C. Lopes, and T.T. Castellani 2012. Temporal variation in seed predation by insects in a population of *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) in Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Neotropical Entomology* 41: 17–21.
- De-Silva, D.L., A.S. Vasquez, and J. Mallet. 2011. Selection for enemy-free space: eggs placed away from the host plant increase survival of a neotropical ithomiine butterfly. *Ecological Entomology* 36: 667–672.
- Silvius, K.M., and J.M.V. Fragoso. 2002. Pulp handling by vertebrate seed dispersers increases palm seed predation by bruchid beetles in the northern Amazon. *Journal of Ecology* 90: 1024–1032.
- Simmonds, M.S. 2003. Flavonoid-insect interactions: recent advances in our knowledge. *Phytochemistry* 64: 21–30.

- Soro, T.Y., F. Traore, and J. Sakande. 2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Comptes Rendus Biologies* 332: 371–377.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review Ecology and Systematics* 12: 253–79.
- Strauss, S.Y. and Irwin, R.E. 2004. Ecological and evolutionary consequences of multispecies plant-animal interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 435-466.
- Strong, D.R., J.H. Lawton, and T.R.E. Southwood. 1984. *Insects on plants, community patterns and mechanisms*. Cambridge, MA, Harvard University Press.
- Takahashi, M., and N. Huntly. 2010. Herbivorous insects reduce growth and reproduction of big sagebrush (*Artemisia tridentata*). *Arthropod Plant Interactions* 4: 257–266.
- Thompson, J.N. 1999. The evolution of species interactions. *Science* 284: 2116–2118.
- Thompson, J.N. 2005. *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Track, A.J.M., S. Gripenberg, and T. Roslin. 2012. Cross-kingdom interactions matter: fungal-mediated interactions structure an insect community on oak. *Ecology Letters* 15: 177–185.
- Trasevet, A., M.F. Willson, and J.C. Gaither. 1995. Avoidance by birds of insect-infested fruits of *Vaccinium ovalifolium*. *Oikos* 73: 381–386.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden.
<http://www.tropicos.org/Name/22900108>. Accessed 26 January 2012.

- Tscharntke, T. and B.A. Hawkins. 2002. *Multitrophic Level Interactions*. Cambridge University Press. 288 pp.
- Tylianakis, J.M., T. Tscharntke, and O.T. Lewis. 2007. Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. *Nature* 445: 202–205.
- Van Dam, N.M., and M. Heil. 2012. Multitrophic interactions below and above ground: en route to the next level. *Journal of Ecology* 2011 99: 77–88.
- Vandock, K.P., M.J. Mitchell, and C.F. Fioravanti. 2012. Effects of plant flavonoids on *Manduca sexta* (tobacco hornworm) fifth larval instar midgut and fat body mitochondrial transhydrogenase. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 80: 15–25.
- Van Klinken, R. D., and L. K. Flack. 2008. What limits predation rates by specialist seed-feeder *Penthobruchus germani* on an invasive shrub? *Journal of Applied Ecology* 45: 1600–1611.
- Vet, L., and J. Van Alphen. 1985. A comparative functional approach to the host detection behavior of parasitic wasps. 1. A quantitative study on Eucilidae and Alysiinae. *Oikos* 44: 478–486.
- Visser, J.H. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology* 31: 121–144.
- Wenny, D.G. 2000. Seed dispersal, seed predation, and seedling recruitment of a neotropical montane tree. *Ecological Monographs* 70: 331–351.
- Werth, C.R., W.M. Vance Beird, and L.J. Musselman. 1979. Root parasitism in *schoepfia screeb*. (Olacaceae). *Biotropica* 11: 140–143.

Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolism from ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64: 3–19.

Wright, S.J., and C.P. Vanschaik. 1994. Light and the phenology of tropical trees. *American Naturalist* 143: 192–199.

ANEXO 1 (cuadros)

Cuadro A-1. Resultados del número de fracciones por columna; peso y rendimiento final de los compuestos de hojas de *Schoepfia schreberi* extraídos con hexano, diclorometano y metanol.

No. de fracción Hojas/hexano	Peso final (g)	No. de fracción Hojas/diclorometano	Peso final (g)	No. de fracción Hojas/metanol	Peso final (g)
III	.1276	I-II	.2734	III-XI	.2467
IV	.0246	III-IV	.2179	XII-XXI	1.4121
X	.0083	V-VIII	.1458	XXII-XXIX	1.1904
XV	.0306	IX	.0877	XXX-XXXIV	.4154
XIX	.1078	X	.2949	XXXV-XXXIX	.2623
XX	.2029	XI-XIII	.1392	XL-XLVII	.5802
XXX	.0948	XIV	.0278	XLVIII-XVIV	.7626
XXXV	.0318	XV-XIX	.0202		
XXXIX	.0113	XX-XXII	.0228		
XLIII	.0096	XXIII-XXV	.0106		
XLIV	.0558	XXVI-XXX	.0104		
LV	.1284	XXXI-XXXIV	.0072		
LVII	.0157				
LX	.4153				
LXV	.6276				

Cuadro A-2. Resultados del número de fracciones por columna; peso y rendimiento final de los compuestos de frutos de *Schoepfia schreberi* extraídos con hexano, diclorometano y metanol.

No. de fracción Frutos/hexano	Peso final (g)	No. de fracción Frutos/diclorometano	Peso final (g)	No. de fracción Frutos/metanol	Peso final (g)
XIV-XVII	6.6982	I-II	.1164	I-IV	.3814
XVII-XXII	1.1519	III-VII	1.5061	V-VII	.2146
XXIII-XXXI	2.2330	VIII-XII	1.0229	VIII-XI	.6816
XXXII-XXXVI	.2189	XIII-XIV	4.4801	XII-XIV	1.0115
XXXVII	.1337	XV-XX	.2118	XV-XIX	1.9111
XXXVIII-XLI	1.608	XXI-XXV	.0560	XX-XXVIII	2.8642
		XXVI-XXVII	.0422	XXIX-XXXIX	.9124
		XXIX	.0530	XL-L	.8447
		XXX-XL	.0211		

ANEXO 2 (figuras)



Figura A-1. Ninfas de *Ramosiana insignis* alimentándose de frutos (A), las ninfas de *Ramosiana insignis* han agotado los frutos en un árbol *Schoepfia schreberi* (B).

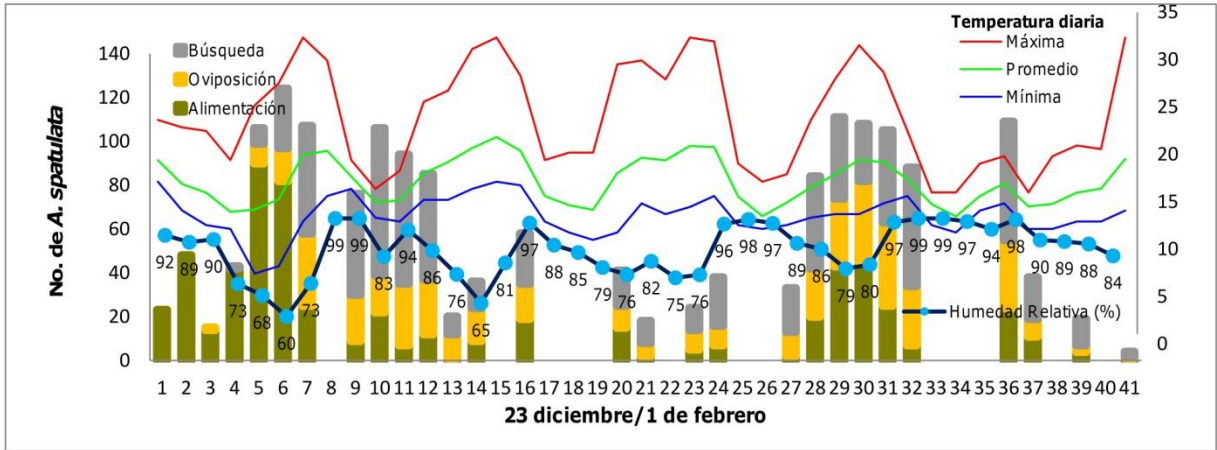


Figura A-2. Comportamiento de hembras de *Anastrepha spatulata* en frutos de *Schoepfia schreberi* con temperaturas y porcentaje de humedad relativa diaria.



Figura A-3. Larva de *Anastrepha spatulata* totalmente desarrollada abandonando el fruto.

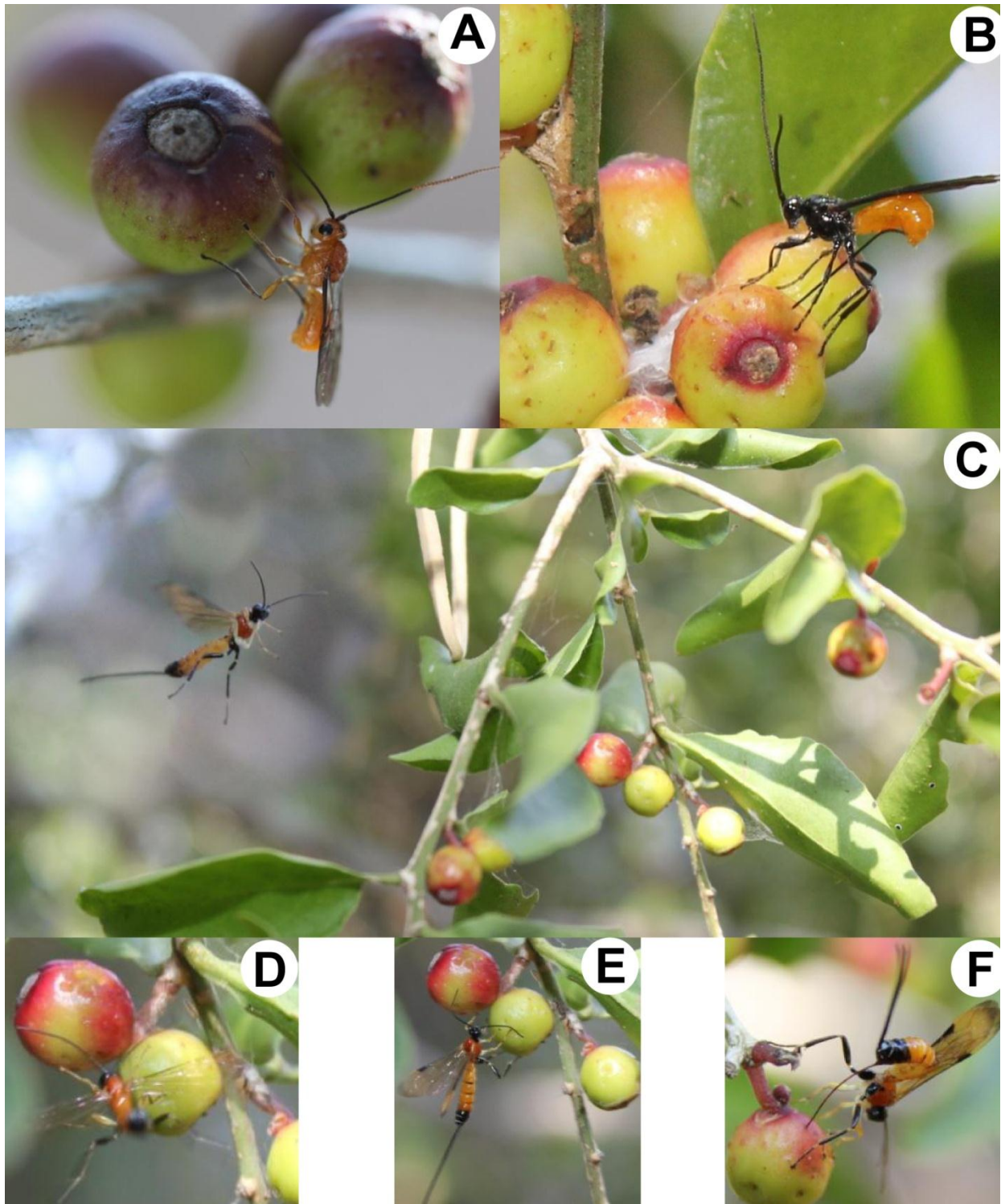


Figura A-4. Parasitoides de *Anastrepha spatulata*; hembra de *Doryctobracon areolatus* (Szepligeti) ovipositando (Braconidae) (A), Hembra de *Doryctobracon toxotripanae* (Muesebeck) (Braconidae) ovipositando (B) y hembra de *Calliephialtes sittenfeldae* Gauld Ugalde-Gómez et Hanson (Ichneumonidae) atraída por las señales de la planta en sinergia con su hospedero (C a la F).



Figura A-5. Diversidad de parasitoides utilizando como hospederos a palomillas en frutos de *Schoepfia schreberi*.

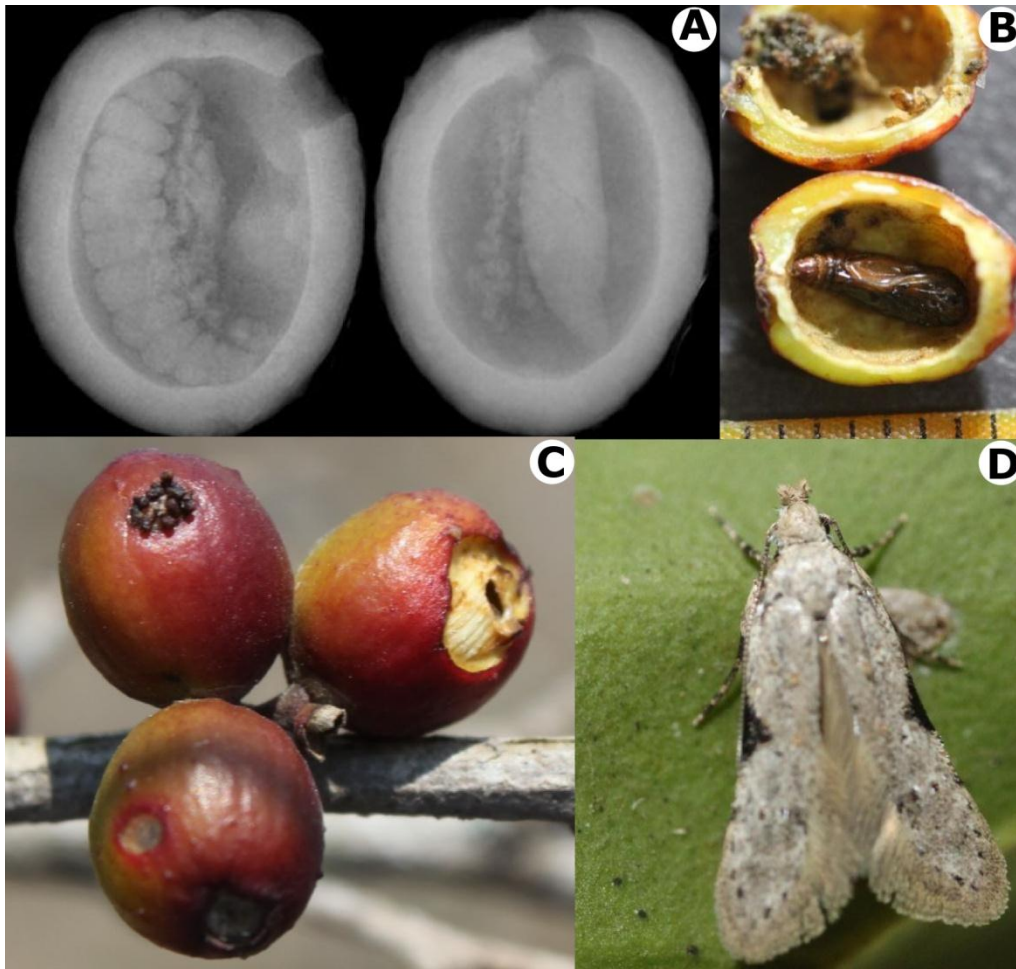


Figura A-6. *Coleotechnites* n. sp: larva y pupa visualizados a través de una máquina de rayos X (A), pupa en fruto (B) características externas de los frutos utilizados por esta especie (C) y adulto recién emergido(D).