



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

El papel de las agallas formadas por *Amphibolips* sp. (Hymenoptera:
Cynipidae) en el encino *Quercus crassipes* Humb. & Bonpl. (Fagaceae)
en la protección térmica del insecto

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:
KAREN BALTAZAR MENESES**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. IGNACIO ESTEBAN CASTELLANOS STUREMARK**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
COORDINACIÓN DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR, UAEH

PRESENTE

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Biología **Karen Baltazar Meneses** quien presenta el trabajo recepcional de tesis titulado "El papel de las agallas formadas por *Amphibolips* sp. (Hymenoptera: Cynipidae) en el encino *Quercus crassipes* Humb. & Bonpl. (Fagaceae) en la protección térmica del insecto", después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:

Dra. Claudia Elizabeth Moreno Ortega

PRIMER
VOCAL:

Dr. Juan Márquez Luna

SEGUNDO
VOCAL:

Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark

TERCER
VOCAL:

Dra. Maritza López Herrera

SECRETARIO: **Dr. Numa Pompilio Pavón Hernández**

PRIMER
SUPLENTE:

Dra. Iriana Leticia Zuria Jordan

SEGUNDO
SUPLENTE:

Dr. Arturo Sánchez González

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 20 de octubre de 2008

Biol. Ulises Iturbe Acosta
Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Biología



Este logro se lo dedico a mis padres:

Ma de la luz Meneses Cerón

y

Fermin Baltazar Uribe

por su apoyo incondicional y por todo su amor

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento:

A mi Director de Tesis, el Dr. Ignacio E. Castellanos Sturemark por su confianza al brindarme la oportunidad de trabajar con el en la realización de esta tesis, por siempre estar dispuesto a ayudarme, y por su gran esfuerzo para llevarme al campo. Sin su ayuda esta tesis no se hubiera concluido, muchísimas gracias.

A mis sinodales la Dra. Claudia Elizabeth Moreno Ortega, Dr. Juan Márquez Luna, Dra. Maritza López Herrera, Dr. Numa P. Pavón Hernández, Dra. Iriana Leticia Zuria Jordan y al Dr. Arturo Sánchez González, por sus atinadas observaciones realizadas al escrito.

Quisiera también expresar mi gratitud a mis compañeros de laboratorio; a Marianna y Sam por ser unas grandes amigas y por su gran ayuda en la redacción de mis ideas, a Roberto por su grata compañía en las salidas de campo y a todos los demás que de manera indirecta me apoyaron, gracias por su amistad.

Agradezco el apoyo económico brindado por el FOMIX-CONACyT 2006, clave 43761, intitulado “Diversidad Biológica del Estado de Hidalgo” y el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), Secretaría de Educación Pública, México a través del proyecto PROMEP/103.5/06/0774 intitulado “Implicaciones de la alteración de hábitats sobre interacciones entre carábidos y sus presas: análisis comparativo entre hábitats no manejados y sistemas agrícolas en el estado de Hidalgo”. También agradezco a la Presidencia Municipal de Singuilucan, Hidalgo por su apoyo para la realización de esta tesis.

ÍNDICE

RESUMEN	Pag.
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- ANTECEDENTES.....	3
2.1 Organismos formadores de agallas.....	3
2.2 Agallas formadas por cinípidos.....	4
2.3 Hipótesis del significado adaptativo de las agallas.....	8
2.3.1 Hipótesis contra enemigos naturales.....	8
2.3.2 Hipótesis nutritiva.....	10
2.3.3 Hipótesis microambiental.....	11
2.4 Control de la temperatura corporal en insectos.....	13
III.- OBJETIVOS.....	15
IV.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
4.1 Área de estudio.....	16
4.2 Determinación de la temperatura que experimentan las larvas de <i>Amphibolips</i> sp. dentro de la agalla en el campo a lo largo del día.....	18
4.3 Límites críticos máximos de temperatura de <i>Amphibolips</i> sp.....	20
4.4 Función de los tejidos de la agalla en la protección de <i>Amphibolips</i> sp. de temperaturas elevadas.....	21
4.5 Contribución del tamaño de las agallas en la protección al insecto contra temperaturas elevadas.....	23

4.6 Estabilidad térmica.....	24
4.7 Contribución del tamaño de las agallas a la estabilidad térmica de <i>Amphibolips</i> sp.....	24
4.8 Análisis estadísticos.....	25
V.- RESULTADOS.....	26
5.1 Temperatura del insecto en el campo.....	26
5.2 Límites críticos máximos de temperatura del insecto.....	29
5.3 Tejidos de la agalla que proveen protección al insecto en contra de temperaturas elevadas.....	29
5.4 Importancia del tamaño de las agallas en la protección de temperaturas elevadas.....	30
5.5 Estabilidad térmica del insecto.....	31
5.6. Importancia del tamaño de las agallas en la estabilidad térmica del insecto....	34
VI.- DISCUSIÓN.....	35
VII.- CONCLUSIONES.....	40
VIII.- LITERATURA CITADA.....	41

RESUMEN

Se ha planteado que la formación de agallas por insectos herbívoros puede proveerlos de una nutrición especializada, defensa en contra de enemigos naturales y protección de los factores abióticos. De estas tres hipótesis, existe apoyo para las primeras dos, pero no para la tercera. En este trabajo se determinó si las agallas formadas por *Amphibolips* sp. (Cynipidae) en *Quercus crassipes* (Fagaceae) proveen al insecto de protección térmica y si el tamaño de las agallas contribuye a esta protección. Se encontró que las agallas protegen a los individuos de temperaturas elevadas y les proporcionan estabilidad térmica y que esta estabilidad térmica parece proporcionarla el tejido esponjoso de las agallas. También se encontró que el tamaño de las agallas contribuye en darle protección al insecto contra temperaturas elevadas y en proveer de estabilidad térmica, ya que a medida que aumenta el tamaño de las agallas, la protección y la estabilidad térmica también incrementan. Los resultados de este trabajo apoyan la hipótesis que plantea que las agallas protegen a los insectos de los factores abióticos específicamente contra temperaturas elevadas.

I. INTRODUCCIÓN

Las agallas son estructuras vegetales que se forman en los tejidos u órganos de las plantas por la reacción específica a la presencia o actividad de un organismo inductor (Nieves-Aldrey 1998, Townsend y Eliason 1998, Silmi 2002, Vardal 2004). En la naturaleza existe una amplia diversidad de agallas diferenciadas enormemente en cuanto a su estructura, complejidad y el tipo de organismo que la induce. Se conocen más de 15,000 especies capaces de inducir la formación de agallas y de éstas, aproximadamente 13,000 son especies de insectos (Stone y Schönrogge 2003), y recientemente se estima que podrían ser hasta 211,000 especies (Espirito-Santo y Fernandes 2007).

La formación de agallas por insectos herbívoros es el resultado de una interacción compleja entre el insecto y su planta hospedera, en la cual, el insecto, durante su crecimiento, modifica el desarrollo normal de la planta (Stone et al. 2002). Se ha planteado que la inducción de agallas le provee al insecto de defensa en contra de enemigos naturales, aumento de nutrientes y protección ante los factores abióticos (Price et al. 1987, Stone et al. 2002). La mayoría de trabajos han estudiado la importancia que tienen las agallas en la protección del ataque de los enemigos naturales y en proveer al insecto de una mejor calidad nutricional que otros tipos de alimentación. Sin embargo, aún se encuentra en discusión contra qué factores abióticos protegen las agallas a los insectos (Danks 2002, Karban y Agrawal 2002, Stone et al. 2002).

Algunos autores (Felt 1940) han propuesto que las agallas podrían aislar a los insectos de la temperatura ambiental y protegerlos de temperaturas dañinas. Algunos

autores han documentado que la temperatura en el interior de las agallas es similar a la temperatura del ambiente (Uhler 1951, Baust et al. 1979, Layne 1991, 1993). Estos resultados han sido interpretados por Price et al. (1987) y Danks (2002), como evidencia de que las agallas no aíslan a los insectos de la temperatura ambiental y por lo tanto no los protegen de temperaturas dañinas. Sin embargo, en estos trabajos no se comparó la temperatura corporal de insectos dentro y fuera de una agalla y la temperatura ambiental que reportan fue registrada a la sombra o en estaciones meteorológicas alejadas de los sitios de muestreo. Debido a estas razones, los autores no determinaron si los tejidos de las agallas pueden aislar y proteger a los insectos de temperatura dañinas. Por lo tanto, en este trabajo se planteó determinar si las agallas formadas por *Amphibolips* sp. en el encino *Quercus crassipes* pueden proporcionar al insecto protección térmica, específicamente contra temperaturas elevadas. No se estudiaron las temperaturas mínimas porque en este sitio durante los meses en que se desarrollan las agallas no alcanzan temperaturas bajo cero (datos climáticos reportados por la Red Hidroclimática Estatal de Hidalgo para las estaciones meteorológicas de Huasca y Tulancingo) (SEMARNAT-CNA 2003).

II. ANTECEDENTES

2.1 Organismos formadores de agallas

Las agallas son estructuras vegetales que se forman de células no diferenciadas en los tejidos u órganos de las plantas por la reacción específica a la presencia o actividad de un organismo inductor (Nieves-Aldrey 1998, Townsend y Eliason 1998, Silmi 2002, Vardal 2004). La reacción de la planta ante el ataque del organismo extraño incluye sin excepción fenómenos de hipertrofia (crecimiento anormal de las células) e hiperplaxia (multiplicación anormal de las células) asociados al proceso de crecimiento de la agalla (Ananthakishan 1984, Nieves-Aldrey 1998).

En la naturaleza existe una amplia diversidad de agallas diferenciadas enormemente en cuanto a su estructura, complejidad y el tipo de organismo que la induce. Se conocen más de 15,000 especies de organismos capaces de inducir la formación de agallas entre los que se encuentran, virus, bacterias, algas, hongos, protozoos, rotíferos, nematodos, ácaros e insectos (Nieves-Aldrey 1998). La formación de agallas por insectos, es una de las interacciones que más se ha estudiado, debido a la alta diversidad de formas que abundan entre los distintos grupos de insectos. Esta diversidad incluye diferentes mecanismos de inducción, efectos sobre los distintos órganos de la planta hospedera, métodos de alimentación y ciclos de vida (Roskam 1985).

Existe una gran diversidad de insectos que forman agallas en las plantas, cerca de 13,000 especies (Stone y Schönrogge 2003), sin embargo, estudios recientes estiman que la riqueza global de insectos formadores de agallas podría ser hasta de 211,000 especies

(Espirito-Santo y Fernandes 2007). La diversidad de especies de insectos se encuentra distribuida en los órdenes Thysanoptera, Hemiptera, Homoptera, Diptera, Lepidoptera, Coleoptera e Hymenoptera (Ananthkrishnan 1984, Nieves-Aldrey 1998, Maia y Fernandes 2004, Price 2005).

2.2 Agallas formadas por cinípidos

La familia Cynipidae (Hymenoptera) cuenta con 1000 especies descritas en 41 géneros a nivel mundial, de los cuales la mayor riqueza se encuentra en México con 700 especies en 29 géneros (Stone et al. 2002). Los cinípidos forman agallas en un grupo relativamente reducido de plantas hospederas, destacando el género *Quercus* de la familia Fagaceae en el que se encuentran aproximadamente el 80 % de todas las especies de cinípidos (Harper et al. 2004).

Las especies de esta familia de insectos forman las agallas más diferenciadas y morfológicamente complejas (Kinsey 1920), debido a que la morfología de la agalla está determinada por el insecto y no por la planta hospedera (Nyman et al. 2000, Cook y Gullan 2008) y porque llegan a presentar hasta cinco capas distintas de tejidos diferenciados que no tienen semejanza con los tejidos de la planta en la cual se desarrollan (Cornell 1983, Stone y Schonroögge 2003, Harper et al. 2004).

En la parte interna se encuentra la cámara larval que es el espacio destinado a la permanencia del herbívoro durante su desarrollo de huevo a adulto. La cámara larval se encuentra rodeada por un sistema vascular que se conecta con la planta hospedera del cual recibe nutrientes, está cubierta por un tejido nutritivo que le provee alimento y protección al

herbívoro. El tejido nutritivo se encuentra rodeado por el tejido parenquimatoso vacuolado, destinado a convertirse en tejido nutritivo estimulado por la alimentación de la larva. Posteriormente, están presentes los tejidos de protección (parenquimáticos y esclerenquimáticos) que son los responsables de la diversidad estructural de las agallas y usualmente presentan haces vasculares que conectan los tejidos de la agalla con el sistema vascular de la planta y una capa externa o epidermis (Fig.1).

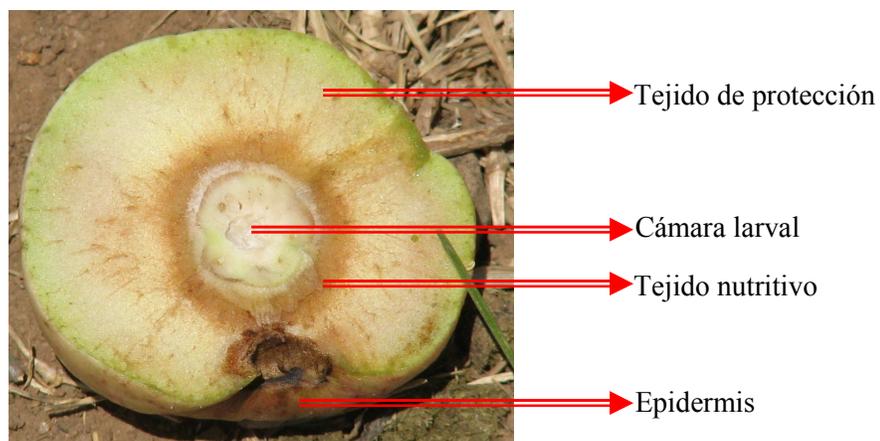


Figura 1. Tejidos especializados de la agalla formada por *Amphibolips* sp. en *Quercus crassipes*

Las agallas de los cinípidos presentan tres atributos biológicos. El primero es que cada especie induce una agalla única y estructuralmente compleja, presentando así una alta diversidad morfológica. El segundo atributo es que los insectos presentan ciclos de vida partenogenéticos (heterogónicos) ya que incluyen alternancia entre generaciones que se reproducen sexual y asexualmente (las hembras originan descendencia sin fecundación por los machos) y en algunos casos esto implica una alternancia de especies de su planta hospedera, esto es que las hembras de la generación asexual ovipositan en un hospedero, y la generación sexual en otro. El tercer atributo es que las agallas formadas en árboles del

género *Quercus* albergan una comunidad compleja y característica compuesta por el insecto inductor, insectos inquilinos que pertenecen a dos grupos: el primero son insectos incapaces de inducir sus propias agallas y únicamente forman una cámara en el tejido periférico de la agalla (no son letales) o se desarrollan dentro de la cámara del insecto inductor (son letales), y el segundo grupo incluye diversas polillas cuyas larvas se alimentan principalmente del tejido de la agalla y parasitoides himenópteros (Stone et al. 2002).

Dentro de esta familia se encuentra el género *Amphibolips*, el cual está compuesto por 30 especies (Stone et al. 2002), confinadas a Norteamérica y asociadas al género *Quercus*, subgéneros *Quercus* y *Lobatae*. Las especies de este género forman agallas muy grandes especializadas en una sola parte de la planta hospedera, poseen una sola cámara larval en el centro que se conecta con el resto de la agalla por medio de fibras y además poseen capas de tejidos bien definidas (Cook 1904, Kinsey 1920, Stone et al. 2002) (Fig.1).

La formación de agallas por *Amphibolips* sp., al igual que otras especies de cinípidos que forman agallas, es el resultado de una interacción compleja entre el insecto y su planta hospedera y el desarrollo de la agalla se puede dividir en cuatro fases principales: inicio, crecimiento, maduración y dehiscencia (Silmi 2002, Stone et al. 2002).

El proceso de formación de la agalla inicia cuando la hembra ovíparita sobre el tejido meristemático de la planta o cuando la larva emerge del huevo. La hembra o la larva secretan compuestos químicos que pueden ser sustancias análogas a las hormonas de las plantas, que inducen un fenómeno de lisis en las células vegetales produciendo la

proliferación, diferenciación e hipertrofia en las células cercanas al huevo, provocado la formación de una pequeña cámara larval, posteriormente la larva entra en esta cámara.

La fase de crecimiento de la agalla tiene lugar cuando la larva comienza a alimentarse, la biomasa de la agalla aumenta y la cámara larval termina de formarse y ampliarse. Se desarrolla una red de haces vasculares que se conectan linealmente con la cámara larval y una capa de parénquima vacuolado y una pared delgada de esclerénquima (Stone, et al., 2002).

La fase de maduración tiene lugar cuando el insecto está en su última fase larval (Fig. 2a) y se caracteriza por un periodo en el que consume la mayor cantidad de alimento.. Esta es la fase trófica principal del insecto, en la que se alimenta activamente de las células formadas a su alrededor y que circundan a la cámara larval como tejido nutritivo, debido a que a medida que crece la larva, crece la agalla (Stone et al. 2002). En estas agallas el tejido que rodea la cámara comienza a lignificarse y en algunos casos la muerte del tejido produce la formación de espacios aéreos internos.

Por último la dehiscencia de la agalla tiene lugar al final de la fase de maduración y es el periodo de mayores cambios fisiológicos y químicos de la agalla teniendo como consecuencia la desecación de esta (Harper, et al. 2004). Las larvas pupan dentro de la agalla cuando ésta todavía esta en la planta hospedera (Silmi 2002). La maduración del tejido de la agalla permite la salida de los insectos, emergiendo a través de canales de salida que forman mordiendo los tejidos de la agalla (Fig. 2b). Para el caso de las especies de

Amphibolips, se desconoce cuál es el comportamiento que tiene la avispa una vez que emerge de la agalla.



Figura 2. a) Larva de *Amphibolips* sp. dentro de agallas grandes (> 50 mm de diámetro) antes de madurar y b) Adulto emergiendo del orificio de salida.

2.3 Hipótesis del significado adaptativo de las agallas

Existe una gran cantidad de trabajos que han intentado explicar las causas que llevan a los insectos y las plantas a formar esta asociación característica. Actualmente existen tres hipótesis para explicar el valor adaptativo de la formación de agallas para el insecto: la hipótesis en contra de enemigos naturales, la hipótesis nutritiva y la hipótesis microambiental, las cuales están basadas en las ventajas que tiene este tipo de interacción sobre otros tipos de herbivoría (Price et al. 1987, Stone y Schönrogge 2003).

2.3.1 Hipótesis en contra de enemigos naturales

La hipótesis en contra de enemigos naturales plantea que las agallas totalmente cerradas dan protección al insecto contra ataques de enemigos naturales (principalmente parasitoides y aves insectívoras) (Lawton 1986, De Bruyn 1993, Schönrogge et al. 2000,

Stone et al. 2002, Chust et al. 2007). Existen algunos trabajos que han apoyado esta hipótesis. Por ejemplo, las especies de avispas formadoras de agallas de la familia Tenthredinidae son menos atacadas por parasitoides y experimentan menor mortalidad que las especies de vida libre de la misma familia (Price y Pschorn-Walcher 1988). Lo mismo se ha visto en algunas especies de áfidos de los géneros *Pemiphigus* y *Adelges*, en las que las especies de vida libre son atacadas por parasitoides, mientras que las especies formadoras de agallas no son atacadas por estos insectos (Price et al. 1987). Algunos estudios también han mostrado que la selección natural favorece modificaciones en la morfología de la agalla (principalmente dureza y tamaño) y que éstas aumentan la sobrevivencia del insecto (Silmi 2002). El aumento de la dureza se consigue por medio de capas tisulares o tejidos esponjosos (parenquimáticos) muy desarrollados que ocupan la porción central de la agalla.

También existen estudios que muestran que conforme incrementa el tamaño de las agallas, el ataque por parte de los parasitoides disminuye, aumentando la supervivencia de los insectos en agallas de tallas mayores, aparentemente debido a que existe una ventana de vulnerabilidad en las etapas tempranas de desarrollo, cuando la agalla es más blanda y más pequeña (Cornell 1983, Nieves-Aldrey 1998, Tschardtke 1992, Danks 2002, Bailey y Whitham 2003, Van Hezewijk y Roland 2003, Marchosky y Craig 2004). Por ejemplo, Fernandes et al. (1999) encontraron que a medida que las agallas formadas por *Atrusca caprone* (Cynipidae) en *Quercus turbinella* aumentan en tamaño durante su desarrollo, el éxito de oviposición por parasitoides disminuye. Este resultado se debió a que los oviposidores de los parasitoides tienen una longitud limitada por lo que no pueden alcanzar

a las larvas que se encuentran en agallas cuyo radio es mayor que la longitud de su ovipositor. También hay algunos estudios en los que se ha encontrado que la depredación por aves aumenta conforme las agallas crecen durante el desarrollo del insecto, reduciendo la sobrevivencia de éste en agallas de mayor tamaño (Sapow y Quiring 2001, Craig et al. 2007). Los pocos estudios que han considerado la relación entre el tamaño de las agallas y el ataque por parasitoides y depredadores (principalmente aves insectívoras) han encontrado que la selección natural favorece tamaños intermedios de agallas, ya que las agallas pequeñas son atacadas por parasitoides, mientras que las grandes son atacadas por aves insectívoras (Abrahamson y Weis 1997).

2.3.2 Hipótesis nutritiva

La hipótesis nutritiva plantea que la inducción de agallas provee a los insectos fitófagos de una mejor calidad nutricional que otros tipos de alimentación. El apoyo a esta hipótesis viene de algunos trabajos que muestran que las agallas poseen tejidos altamente diferenciados y más nutritivos (e.g., mayor contenido de nitrógeno soluble, carbono, azúcares, lípidos, aminoácidos y proteínas) que los tejidos vegetales que no presentan agallas (Stinner y Abrahamson 1979, Tschardtke 1993, Cuevas-Reyes 2004, Harper et al. 2004, , Marchosky y Craig 2004). Incluso se ha demostrado que el tejido nutricional, del cual se alimentan los insectos, es particularmente más nutritivo que los demás tejidos de la agalla (Nyman y Julkunen-Tiitto 2000). El aumento en la concentración de nutrientes en las agallas aparentemente se debe a que éstas funcionan como sumideros de nutrientes en las plantas (Larson y Whitham 1991, Dorchin et al. 2006). Otros estudios también han demostrado que existe una relación positiva entre el tamaño de las agallas y el tamaño y la

fecundidad de los insectos que emergen de éstas, debido al parecer a que las agallas más grandes logran extraer más nutrientes de las plantas (Sopow y Quiring 1998, 2001, Marchosky y Craig 2004), lo cual sugiere que la selección natural podría estar favoreciendo tamaños mayores de agallas (Stone y Schönrogge 2003).

2.3.3 Hipótesis microambiental

La hipótesis microambiental plantea que los tejidos especializados de las agallas actúan como protección para el insecto ante condiciones abióticas desfavorables (Price et al. 1987, Stone y Schonroögge 2003). Sin embargo, no ha sido posible precisar cuáles factores abióticos son importantes en este aspecto. Por ejemplo, algunos autores han propuesto que las agallas proveen de protección en contra de la desecación (Stone y Schonroögge 2003). El apoyo viene de un número de estudios que muestran un deterioro en el desempeño de los insectos fitófagos, cuando éstos se alimentan de dietas con un bajo contenido de agua y de que muchos estudios reportan que las agallas pueden suministrar un ambiente potencialmente más húmedo comparado con el de su entorno, o al menos representan una fuente de agua (Danks 2002). La hipótesis microambiental también ha sido apoyada por algunos estudios que muestran que la abundancia y riqueza de especies de insectos formadores de agallas disminuye con la altitud a lo largo de gradientes altitudinales, lo cual ha correspondido con un aumento en el porcentaje de humedad relativa en el ambiente (Fernandes y Price 1988, 1991, 1992, Price et al. 1998). Sin embargo, en otros estudios en los que se han considerado otras variables explicativas además del porcentaje de humedad relativa en el ambiente a lo largo de gradientes altitudinales, se ha visto que la abundancia y riqueza de especies de insectos formadores de agallas también

están correlacionadas positivamente con el número de especies de plantas (Blanche 2000, Blanche y Ludwig 2001).

Algunos autores como Felt (1940) han propuesto que las agallas podrían aislar a los insectos de la temperatura ambiental y protegerlos de temperaturas dañinas. Esta hipótesis no ha sido probada explícitamente y se conoce muy poco sobre los regímenes térmicos de las agallas. Los pocos trabajos que han documentado la temperatura en el interior de las agallas muestran que ésta es similar a la temperatura del ambiente (Uhler 1951, Baust et al. 1979, Layne 1991, Layne 1993). Estos resultados han sido interpretados por Price et al. (1987) y Danks (2002) como evidencia de que las agallas no aíslan a los insectos formadores de agallas de la temperatura ambiental y por lo tanto no los protegen de temperaturas dañinas. Sin embargo, la intención de Uhler (1951), Baust et al. (1979), Layne (1991, 1993) no fue la de probar si la inducción de agallas le provee al insecto de protección ante los factores abióticos, debido a que solamente midieron la temperatura ambiental a la sombra y la compararon con la temperatura de la agalla. Además, en los trabajos de estos autores no se comparó la temperatura corporal de insectos dentro y fuera de una agalla, y la temperatura ambiental fue registrada a la sombra o en estaciones meteorológicas alejadas de los sitios de muestreo. Debido a estas razones, los autores no determinaron si los tejidos de las agallas aíslan y protegen a los insectos de temperatura dañinas.

2.4 Control de la temperatura corporal en insectos

La tasa a la que muchos procesos biológicos ocurren en los insectos depende de su temperatura corporal. Estos procesos incluyen el crecimiento, la formación de huevos, los periodos de actividad, la alimentación y la sobrevivencia (Huey y Kingsolver 1989, Chown y Nicolson 2004). Los insectos, al igual que muchos animales ectotérmicos, poseen diferentes mecanismos que les permiten mantener su temperatura corporal dentro de ciertos límites funcionales. Estos mecanismos incluyen una diversidad de comportamientos, morfologías y procesos fisiológicos (Chown y Nicolson 2004). Por ejemplo, algunas especies de orugas como *Malacosoma americanum* (Lasiocampidae) se desplazan a lo largo del día entre sitios con y sin sombra para mantener su temperatura corporal entre 26 y 33 °C y de esta manera maximizar su tasa metabólica (Casey y Knapp 1987). Otros insectos como las orugas de la especie *Lymantria dispar* (Lymantriidae) poseen sedas distribuidas a lo largo de su cuerpo que actúan como aislantes, reduciendo la pérdida de calor por convección y minimizando el calentamiento debido a la radiación solar (Casey y Hegel 1981). Por último, algunas moscas, mariposas, escarabajos y avispas producen cierto tipo de proteínas cuando son sometidas a temperaturas por arriba de los 35 °C, las cuales les permiten evitar la desnaturalización de su material genético y proteínas y tolerar así la exposición a temperaturas elevadas (Chown y Nicolson 2004).

Algunas especies de insectos también pueden modificar su entorno para controlar su temperatura corporal (Danks 2002). Por ejemplo, la oruga *Eriogaster lanestris* (Lasiocampidae) construye telas de seda para generar en su interior un microambiente que le provee de un rango de temperaturas de las cuales puede seleccionar para mantener su

temperatura corporal entre 30 y 35 °C y de esta manera maximizar su tasa metabólica (Ruf y Fiedler 2002). Recientemente Pincebourde y Casas (2006) reportaron que una especie de oruga forma minas en las hojas para generar en su interior un microambiente con un rango de temperaturas de las cuales puede seleccionar para mantener su temperatura corporal dentro de ciertos límites. Pincebourde y Casas (2006) señalan que se sabe muy poco sobre la alteración del microclima que ocurre en los tejidos vegetales cuando un insecto herbívoro se está alimentando. La inducción de agallas por insectos pudiera ser un tipo de modificación del entorno para obtener protección térmica ya que los insectos formadores de agallas son sésiles, por lo cual están sujetos a las condiciones ambientales del sitio que seleccionan sus madres. En cambio, los insectos móviles no están restringidos a los sitios que eligen sus madres y en condiciones de temperaturas adversas, éstos pueden modificar su temperatura corporal a través de su comportamiento.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el papel de las agallas formadas por *Amphibolips* sp. (Hymenoptera: Cynipidae) en *Quercus crassipes* (Fagaceae) en la protección térmica del insecto.

Objetivos particulares

- Registrar la temperatura que experimentan las larvas de *Amphibolips* sp. dentro de la agalla en el campo a lo largo del día.
- Establecer los límites críticos máximos de temperatura de *Amphibolips* sp.
- Determinar cuáles son los tejidos de la agalla que protegen a *Amphibolips* sp. de temperaturas elevadas.
- Analizar si el tamaño de las agallas contribuye a proveer protección de temperaturas elevadas a *Amphibolips* sp
- Determinar si las agallas le proveen de estabilidad térmica a *Amphibolips* sp. y analizar si el tamaño de las agallas contribuye a ésta.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Área de estudio

El estudio se realizó en las localidades de El Susto y La Lagunilla en el municipio de Singuilucan, Hidalgo, México. Los sitios de estudio se localizan entre los paralelos 20° 03' 52" y 20° 01' 54" norte y los meridianos 98° 28' 4" y 98° 30' 53" oeste; con una altitud de 2500 msnm (Fig. 3). El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano. La vegetación en los sitios de estudio está compuesta por campos agrícolas, pastizales y fragmentos de bosque de pino-encino. En los campos agrícolas se siembra principalmente maíz (*Zea mays*), cebada (*Hordeum vulgare*) y avena (*Avena* sp.), mientras que los fragmentos de bosque están formados principalmente por *Pinus teocote* y cuatro especies de encinos: *Quercus crassifolia*, *Q. rugosa*, *Q. mexicana* y la especie de interés *Q. crassipes* (INEGI, 2005).

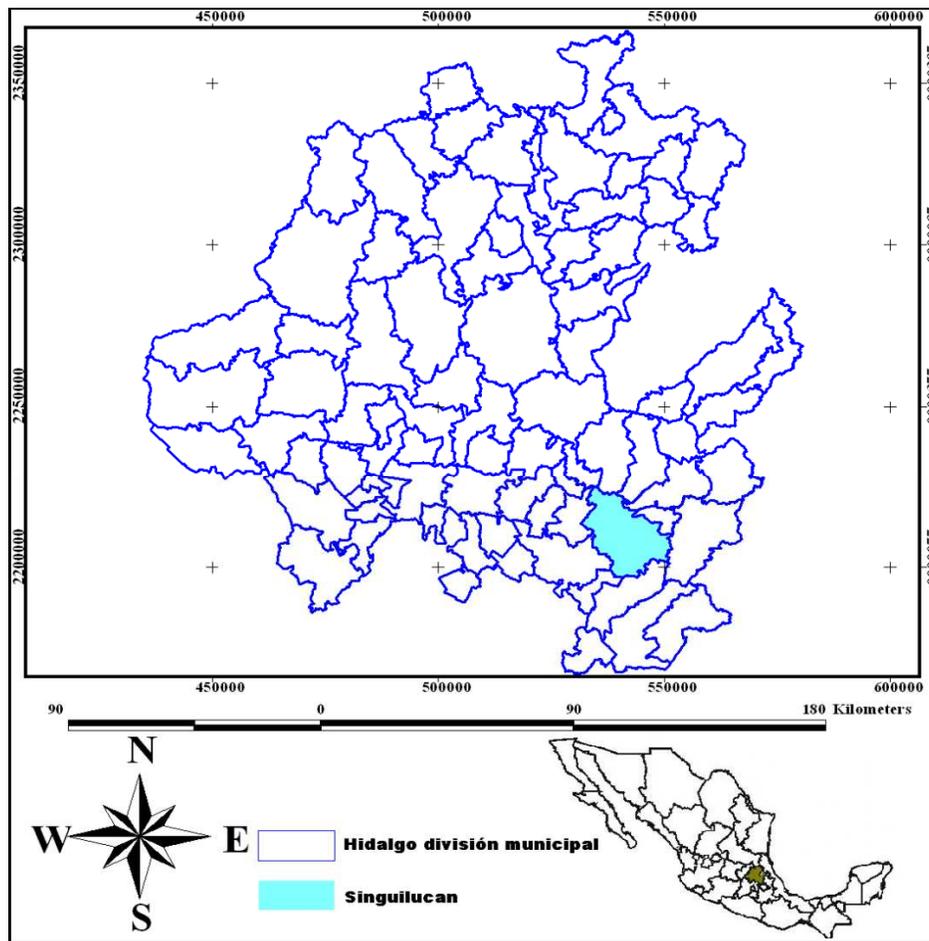


Figura. 3 Ubicación geográfica del municipio de Singuilucan, Hidalgo.

La especie de encino *Quercus crassipes* fue identificada por el Dr. Arturo Sánchez González (Centro de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Sistemática Vegetal, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo) y la Dra. María del Carmen Sánchez Hernández (Centro de Investigaciones Biológicas, Laboratorio de Genética, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo). *Quercus crassipes*, es la especie de encino más abundante en los sitios de estudio y es también el árbol hospedero en donde el insecto de la especie *Amphibolips* sp. forma las agallas, el cual fue identificado por el Dr. Zhiwei Liu

(Departamento de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Sistemática, Eastern Illinois University, E.U.A.). Las agallas se encuentran situadas en las ramas terminales de los árboles y éstas son más abundantes en la parte superior del dosel (datos no publicados). La formación de estas agallas se produce en el mes de marzo que corresponde con la puesta de la hembra y el desarrollo de la larva. Durante los meses de abril y mayo se desarrolla el insecto y en el mes de junio emerge el adulto de la agalla. El presente trabajo se realizó durante los meses de marzo a junio en los años 2007 y 2008.

4.2 Determinación de la temperatura que experimentan las larvas de *Amphibolips* sp. dentro de la agalla en el campo a lo largo del día

La temperatura que experimentan los individuos de *Amphibolips* sp. se midió en el campo en el interior de agallas (n= 9) de aproximadamente 5 cm de diámetro localizadas en la parte superior del dosel de los árboles, ya que en estos sitios es en donde las agallas son más abundantes y están expuestas a la radiación solar durante la mayor parte del día (Fig. 4a). La temperatura se registró dentro de la cámara larval utilizando termopares con agujas hipodérmicas Physitemp (modelo MT-29/5). Como controles, se utilizaron modelos de temperatura operativa (T_e). La T_e es un índice que integra el efecto de la temperatura ambiental, el viento y la radiación solar y representa la temperatura de equilibrio en un microclima particular de un insecto metabólicamente inactivo (Bakken et al. 1985, Frears et al. 1997, 1999). Los modelos de T_e consistieron de larvas de *Amphibolips* sp. que previamente habían sido deshidratadas mientras estaban congeladas a -20 °C para conservar su forma y tamaño (Frears et al. 1997, 1999). Los modelos se colocaron en el haz y en el envés de hojas de *Q. crassipes* en sitios expuestos y no expuestos a la radiación solar con el

propósito de medir las T_e en distintos sitios que pudieran ser utilizados por una larva de vida libre para evitar exponerse a temperaturas elevadas (Fig. 4b). La temperatura de los modelos se registró en el interior de las larvas utilizando termopares Physitemp (modelo MT-29/1). La temperatura de las agallas y la T_e de los modelos se registró cada 30 segundos a lo largo del día utilizando dataloggers Omega (modelo precision fine 5TC-TT-T-20-72) (Fig.4c). Las larvas que se utilizaron como modelos de temperatura operativa tenían un tamaño promedio \pm error estándar (ancho de la cabeza) de 0.844 ± 0.0147 mm y fueron obtenidas de agallas de aproximadamente 5 cm de diámetro.

También se midió la temperatura ambiental (T_a) utilizando sensores Hobo (modelo H21-002) colocados en la sombra a la misma altura que en los casos anteriores. Por último, se midió la radiación solar tanto en sombra como en sol utilizando sensores Hobo para medir radiación solar (piranómetros) (modelo H21-002). Los datos de T_a y radiación solar también se registraron cada 30 segundos a lo largo del día utilizando dataloggers Hobo (modelo micro station).

Todos los tratamientos (temperatura de las agallas, T_e de los modelos, T_a y radiación solar) estuvieron incluidos cada día a lo largo de 7 días. Es decir, no hubo un día en que se excluyera uno de los tratamientos.

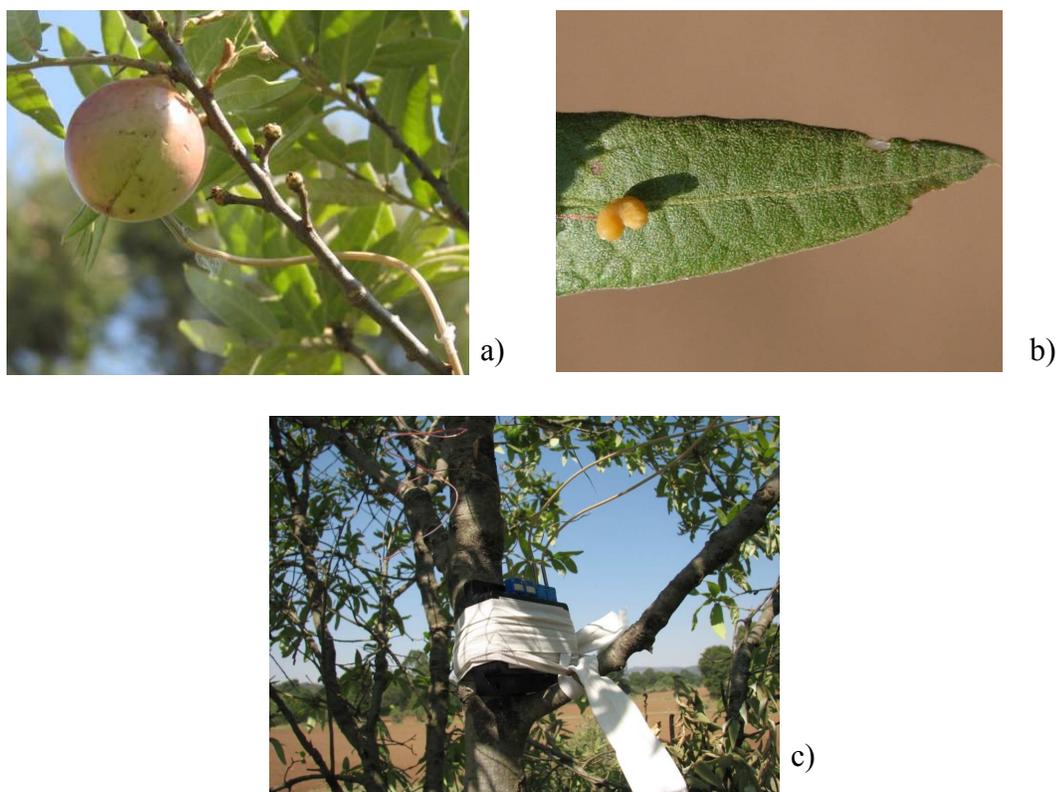


Figura 4. Temperaturas tomadas en el campo a) termopar insertado en el centro de la agalla expuesta al sol, b) modelo de temperatura operativa (larva congelada y deshidratada) en el haz de la hoja) y c) datalogger sujetado en el árbol.

4.3 Límites críticos máximos de temperatura de *Amphibolips* sp.

Para determinar los límites críticos de temperatura se sometieron larvas de *Amphibolips* sp. a diferentes temperaturas (21, 26, 31 y 36 °C) durante diferentes tiempos de exposición siguiendo los métodos de Layne (1991) y Patiño et al. (1994). Se extrajeron larvas vivas de agallas recién colectadas (se seleccionaron únicamente larvas libres de parasitoides para evitar que influyeran en su supervivencia). Se introdujeron larvas solas en tubos eppendorf de 0.5 ml con papel filtro humedecido para conservar la humedad, y los tubos eppendorf

fueron colocados en Baños María Precision (modelo 2827) a diferentes tratamientos de temperatura (21 °C (n = 49), 26 °C (n = 56), 31 °C (n = 51) y 36 °C (n = 63)) durante diferentes tiempos de exposición (1.45, 3.5 y 7 hrs.) simulando las temperaturas a las que las larvas están expuestas en el campo. Al terminar cada tratamiento se registró la supervivencia de cada larva. Se registró como sobrevivientes a aquellos individuos que presentaban movimiento de su cuerpo (contracción de abdomen) y/o de sus mandíbulas. Las larvas que no presentaban movimiento se revisaron después de 4 horas para verificar si presentaban movimiento, y si no, se consideraron como muertas.

Las larvas que se utilizaron para este experimento tenían un tamaño promedio \pm error estándar (ancho de la cabeza) de 0.844 ± 0.0147 mm y fueron obtenidas de agallas de aproximadamente 5 cm de diámetro. Las mediciones de las larvas se realizaron en un microscopio estereoscópico y el diámetro de las agallas con un vernier.

4.4 Función de los tejidos de la agalla en la protección de *Amphibolips* sp. de temperaturas elevadas

Para determinar cuál de los diferentes tejidos de las agallas contribuye en la protección del insecto contra la temperatura ambiental elevada, se midió la temperatura de la epidermis, del tejido esponjoso (1 y 5 mm por debajo de la epidermis), del tejido nutritivo y la temperatura del insecto en agallas expuestas al sol (n = 30) (Fig. 5). En esta comparación también se incluyó la temperatura operativa de modelos colocados en el haz de hojas de *Q. crassipes* en sitios expuestos a la radiación solar. Las larvas que se utilizaron como modelos de temperatura operativa tenían un tamaño promedio \pm error estándar (ancho

de la cabeza) de 0.844 ± 0.0147 mm y fueron obtenidas de agallas de aproximadamente 5 cm de diámetro. Las temperaturas se midieron con un termopar Physitemp con una aguja hipodérmica de 5 cm de longitud (modelo MT-29/5), mientras que la temperatura de la epidermis se midió con un termopar para medir superficies Omega (modelo HPS-FSP-T-14E-12). Las temperaturas registradas con ambos termopares se midieron con un termómetro Physitemp (modelo BAT-12).

Las mediciones anteriores se realizaron en un mismo día a una temperatura ambiental en la sombra de 23.78 ± 0.033 °C (promedio \pm 1 error estándar) medida con dataloggers Omega (modelo precision fine 5TC-TT-T-20-72) y una radiación solar de 576.82 ± 6.633 watts/m² (promedio \pm 1 error estándar) medida con sensores Hobo para medir radiación solar (piranómetros) (modelo H21-002) conectados a dataloggers Hobo (modelo micro station).

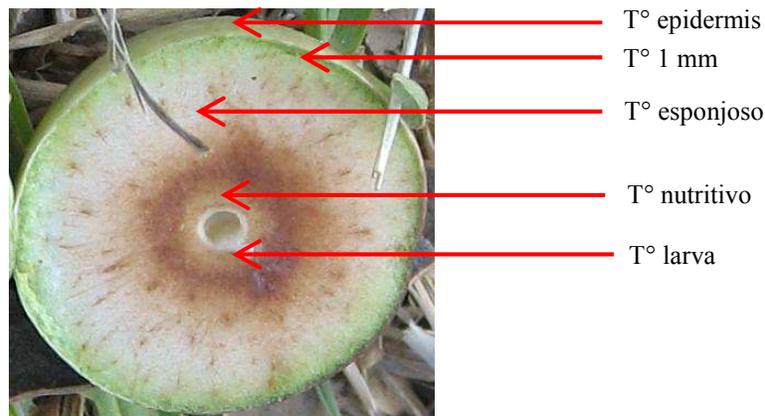


Figura 5. Corte transversal de una agalla formada por *Amphibolips* sp. en el cual se muestran los tejidos en los que se registraron las temperaturas (T°). Epidermis= epidermis de la agalla, 1mm= tejido esponjoso a 1 mm debajo de la epidermis, esponjoso= tejido esponjoso 5 mm debajo de la epidermis, nutritivo= tejido nutritivo y larva= larva de *Amphibolips* sp.

4.5 Contribución del tamaño de las agallas en la protección al insecto contra temperaturas elevadas.

Para determinar si el tamaño de las agallas contribuye a proveer protección contra las temperaturas elevadas al insecto, se midió la temperatura de la cámara larval en el interior de agallas de diferentes tamaños en el campo. Se colectaron agallas expuestas a la radiación solar y se registró la temperatura dentro de la cámara larval utilizando termopares con agujas hipodérmicas Physitemp (modelo MT-29/5). Para este análisis se agruparon las agallas en diferentes clases de tamaños de diámetro (agallas chicas (< 25 mm) con un tamaño promedio \pm error estándar de 11.4 ± 0.5978 mm (n = 50), medianas (de 25 a < 50 mm) con un tamaño promedio de 44 ± 0.9539 mm (n = 52), y grandes (> de 50 mm) con un tamaño promedio de 64.4 ± 0.99 mm (n = 54). Al mismo tiempo se midió la temperatura ambiental (T_a) utilizando sensores Hobo (modelo H21-002) colocados en la sombra y la radiación solar en el sol utilizando un sensor Hobo (modelo H21-002) además se midió la temperatura de modelos de temperatura operativa expuestos al sol, para determinar si las temperaturas de los insectos dentro de la cámara larval en los tres tamaños de agallas diferían de la temperatura ambiental y del modelo. Las larvas que se utilizaron como modelos de temperatura operativa tenían un tamaño promedio \pm error estándar (ancho de la cabeza) de 0.844 ± 0.0147 mm y fueron obtenidas de agallas de aproximadamente 5 cm de diámetro.

4.6 Estabilidad térmica.

Una vez que se estableció si las agallas proveen de protección contra temperaturas ambientales elevadas, se determinó si éstas también le proveen de estabilidad térmica al insecto. La estabilidad térmica se definió como la capacidad que tiene la agalla de mantener su temperatura independientemente de los cambios externos de temperatura. La estabilidad térmica se midió promediando las diferencias de temperatura entre cada lectura tomada (cada 30 segundos) durante una hora; de esta manera, se promediaron 120 diferencias de temperatura por hora. Esto se repitió a lo largo del día (ocho horas) durante los siete días, para cada uno de los seis tratamientos que se incluyeron cuando se midió la temperatura que experimentan las larvas de *Amphibolips* sp. en el campo (método 4.2).

4.7 Contribución del tamaño de las agallas a la estabilidad térmica de *Amphibolips* sp.

Se colectaron agallas de diferentes tamaños ($n = 30$) y se llevaron al laboratorio. A las agallas se les midió su diámetro y posteriormente fueron sumergidas en agua durante 20 minutos para alcanzar una temperatura inicial de 20 °C utilizando un baño maría Precision (modelo 2827). Posteriormente fueron sumergidas en otro baño maría a 30 °C para determinar el tiempo en que las agallas alcanzaban 30 °C. Este mismo procedimiento se realizó utilizando modelos de T_e (larvas de *Amphibolips* sp. que previamente había sido deshidratadas mientras estaban congeladas a -20 °C para conservar su forma y tamaño) ($n = 5$). Las larvas que se utilizaron como modelos de temperatura operativa tenían un tamaño promedio \pm error estándar (ancho de la cabeza) de 0.844 ± 0.0147 mm y fueron obtenidas de agallas de aproximadamente 5 cm de diámetro. Durante el proceso de calentamiento de

las agallas y los modelos de T_e se registró la temperatura de las larvas cada 5 segundos utilizando termopares conectados a un datalogger Omega (modelo precision fine 5TC-TT-T-20-72). Las agallas y los modelos de T_e fueron envueltos con papel parafilm para evitar la entrada de agua.

4.8 Análisis estadísticos

Para comparar las temperaturas de los diferentes tejidos de la agalla, la temperatura de la larva en el interior de la agalla y la temperatura operativa de los modelos colocados en el haz de la hojas en sitios expuestos a la radiación solar, se utilizó un análisis de varianza de un factor y se aplicó la prueba de Tukey para la comparación de los promedios.

Para determinar si el tamaño de la agallas contribuye a la protección térmica, se compararon las temperaturas de las agallas en los tres tamaños, la temperatura ambiental y la temperatura del modelo utilizando un análisis de varianza de una vía.

Para determinar si las agallas le proveen de estabilidad térmica a *Amphibolips* sp. se comparó la variación térmica de los seis tratamientos (modelos de temperatura operativa en el haz y en el envés de hojas de *Q. crassipes* en sitios expuestos y no expuestos a la radiación solar, temperatura de la agalla y temperatura ambiental) utilizando un análisis de varianza de una vía para cada hora de las ocho que se realizaron las mediciones.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (versión 6.0, SAS Institute Inc, 1999). Se reportan medias, ± 1 error estándar a lo largo del manuscrito.

V. RESULTADOS

5.1 Temperatura del insecto en el campo

La temperatura dentro de la cámara larval, la temperatura de los modelos de temperatura operativa (T_e) y la temperatura ambiental variaron a lo largo del día (Fig. 6a). La temperatura promedio en el interior de las agallas a lo largo del día fue de 22.60 °C (\pm 0.075), la de las larvas expuestas al sol en el haz de las hojas fue de 25.53 °C (\pm 0.102), la de las larvas expuestas al sol en el envés de la hoja fue de 25.34° C (\pm 0.094), la de las larvas en el haz a la sombra fue de 22.88 °C (\pm 0.079) y la temperatura promedio de las larvas en el envés a la sombra fue de 22.70 °C (\pm 0.080). La diferencia de temperatura entre los distintos tratamientos con respecto a la temperatura de la agalla fue en promedio de 2.92 °C (\pm 0.032) para los modelos expuestos al sol en el haz de la hoja, 2.73 °C (\pm 0.023) para los modelos expuestos al sol en el envés de la hoja, 0.28 °C (\pm 0.013) para los modelos en el haz de la hoja a la sombra y 0.09 °C (\pm 0.013) para los modelos en el envés de la hoja a la sombra.

Las temperaturas de las larvas expuestas al sol, tanto en el haz como en el envés de las hojas, fueron las más elevadas a lo largo del día, llegando alcanzar promedios cerca de 30 °C en las horas más calientes, correspondiendo a los cambios en la radiación solar (Fig. 5,6a y b). La temperatura promedio de los modelos de T_e expuestos al sol permanecieron por arriba de 26 °C durante más de cinco horas a lo largo del día y la temperatura de algunos de estos modelos se mantuvo por arriba de 31 °C durante más de cuatro horas a lo largo de un día (Fig. 6a). La temperatura más alta que se registró para los modelos de T_e expuestos al sol fue de 36 °C durante las horas más calientes del día. Las temperaturas

promedio de los modelos de T_e expuestos a la sombra tanto en el haz como en el envés de las hojas fueron generalmente menores que 26 °C, aunque superiores a la temperatura promedio que se registró dentro de la cámara larval de las agallas, la cual fue inferior a 25 °C (Fig. 6a). La temperatura promedio tanto de los modelos de T_e expuestos a la sombra como la temperatura promedio en el interior de la cámara larval de las agallas fue similar a la temperatura promedio del aire en la sombra (Fig. 6a).

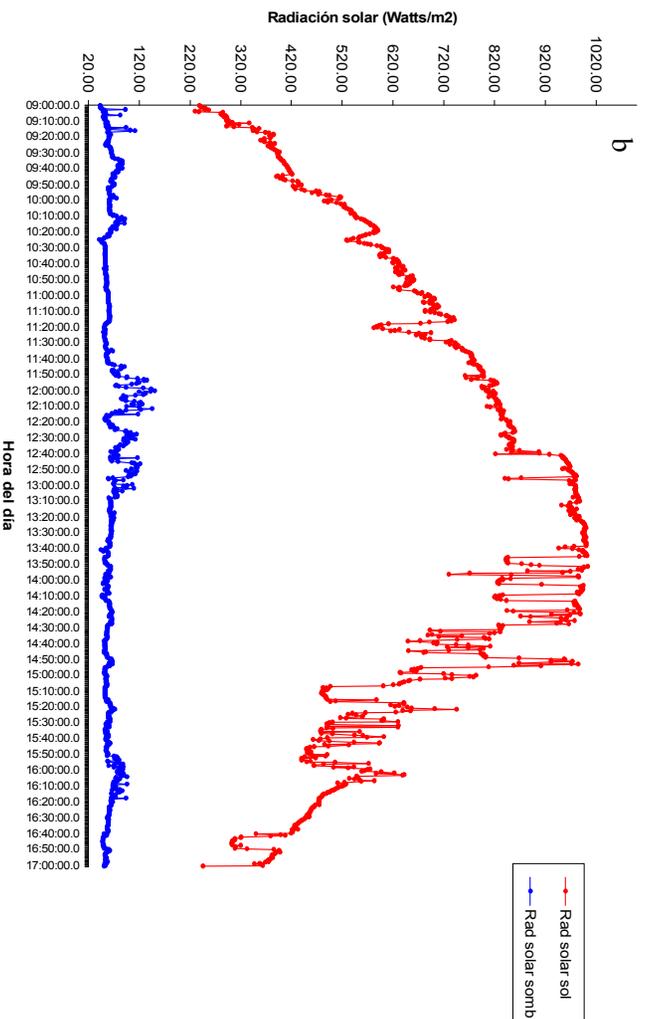
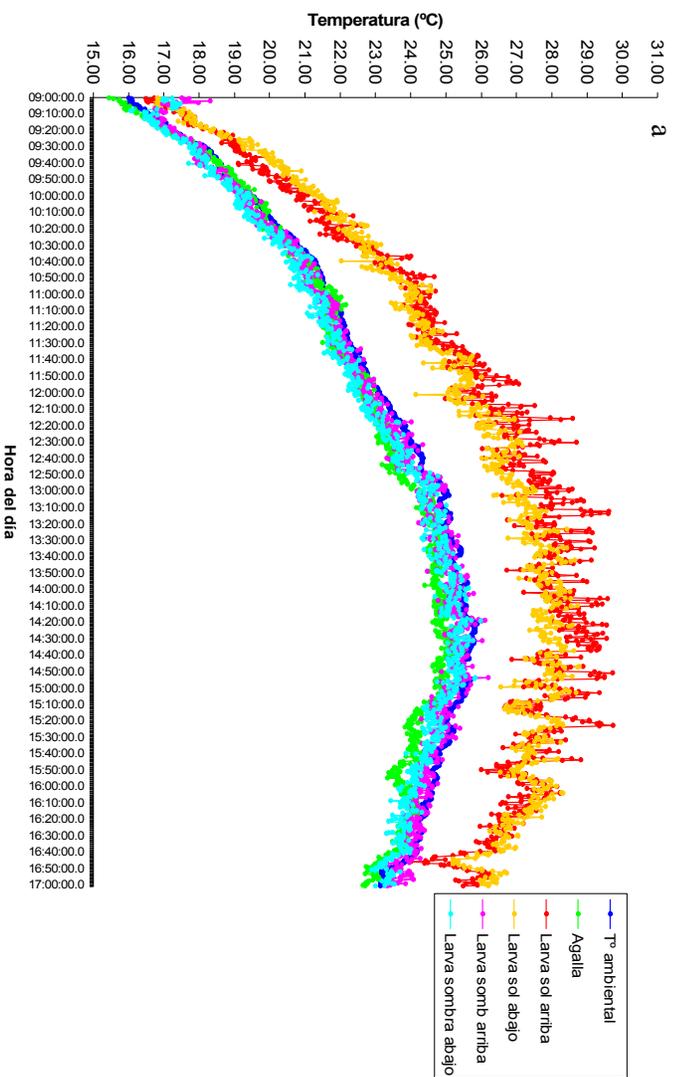


Figura 6. a) Temperaturas promedio de la cámara larval (agalla), modelos de temperatura operativa expuestos al sol en el haz (larva sol arriba) y en el envés (larva sol abajo) de hojas de *Quercus crassipes*, modelos en la sombra en el haz (larva somb arriba) y en el envés (larva somb abajo) y el ambiente en la sombra a lo largo del día b) promedio de la radiación en el sol (rad solar sol) y en la sombra (rad solar somb) a lo largo del día.

5.2 Límites críticos máximos de temperatura del insecto

Se registró mortalidad de las larvas de *Amphibolips* sp. en los tratamientos de 26, 31 y 36 grados y ésta aumentó con el tiempo de exposición (Fig. 7).

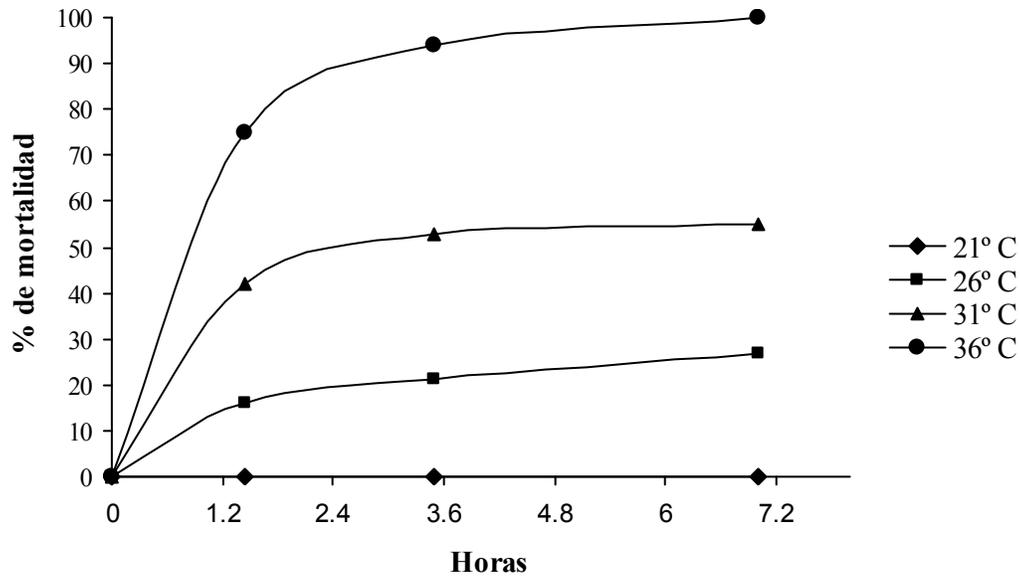
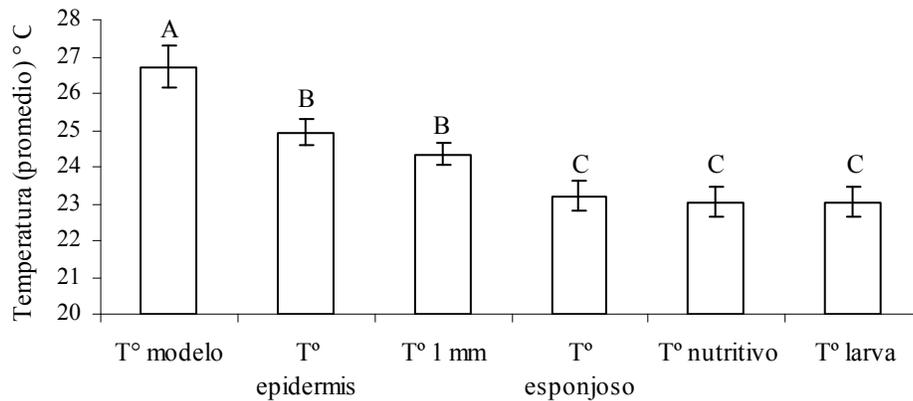


Figura 7. Límites críticos de temperatura de larvas de *Amphibolips* sp. a cuatro diferentes temperaturas (n = 49 para 21 °C, n 56 = para 26 °C, n = 51 para 31 °C y n = 63 para 36 °C).

5.3 Tejidos de la agalla que proveen protección al insecto en contra de temperaturas elevadas

Se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas de los diferentes tejidos, la larva en el interior de las agallas y el modelo de temperatura operativa expuesto a la radiación solar en el haz de las hojas ($F_{5, 165} = 9.80$, $p < 0.001$) (Fig. 8). La temperatura del tejido esponjoso a 5 mm por debajo de la epidermis, la del tejido nutritivo y la de la larva no difirieron significativamente entre si y las tres fueron significativamente menores

que las temperaturas de la epidermis, del tejido esponjoso a un milímetro por debajo de la epidermis y del modelo de temperatura operativa ($p < 0.05$, prueba de Tukey) (Fig. 8). Estos resultados muestran que el tejido esponjoso a 5 mm por debajo de la epidermis es el que le provee de protección térmica al insecto.



Figura,8. Temperaturas promedio (T°) del modelo de temperatura operativa en el haz de hojas expuestas a la radiación solar y en los diferentes tejidos especializados de agallas formadas por *Amphibolips* sp. Epidermis = epidermis de la agalla, 1 mm = tejido esponjoso 1 mm por debajo de la epidermis, esponjoso = tejido esponjoso 5 mm por debajo de la epidermis, nutritivo = tejido nutritivo y larva = larva en el interior de la cámara larval de la agalla. Las líneas verticales representan el error estándar del promedio. Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) ($n = 30$).

5.4 Importancia del tamaño de las agallas en la protección de temperaturas elevadas

Se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas de los tres tamaños de la agalla y el modelo expuesto a la radiación solar ($F_{4, 247} = 22.44$, $p < 0.001$) (Fig. 9). Las temperaturas de las agallas chicas y medianas no difirieron significativamente entre sí, pero la temperatura del modelo y de los tres tamaños sí, ($p < 0.05$, prueba de Tukey) (Fig. 9). Estos resultados muestran que el tamaño de las agallas ayuda a dar protección de

temperaturas elevadas a los individuos de *Amphibolips* sp. y que entre más grande sea la agalla, mayor es la protección.

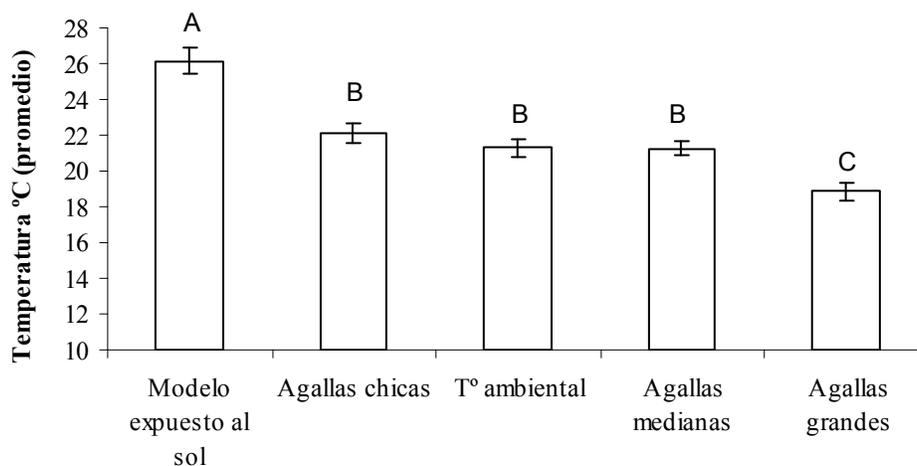


Figura 9. Temperaturas promedio del modelo de temperatura operativa en el haz de hojas expuestas a la radiación solar (modelo expuesto al sol), temperatura ambiental a la sombra (T°) y larvas de *Amphibolips* sp. en agallas de diferentes tamaños (agallas chicas (< 2.5 cm de diámetro), agallas medianas (≥ 2.5 y < 5.0 cm de diámetro) y agallas grandes (≥ 5.0 cm de diámetro)). Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

5.5 Estabilidad térmica del insecto

La variación de temperatura dentro de la cámara larval, la temperatura de los modelos de temperatura operativa (T_e) y la temperatura ambiental fue mayor a medio día y la mayor variación se registró en los modelos expuestos al sol (Fig. 10). De manera similar, conforme aumentó la temperatura durante el día, los tratamientos difirieron más entre sí (Fig. 10). En general, los resultados muestran que existe mayor variabilidad en cuanto a las temperaturas que experimentan los modelos de temperatura operativa (T_e) y que las agallas

fueron las que presentaron menor variabilidad en todas las horas del día, lo que indica que las agallas proveen de estabilidad térmica al insecto.

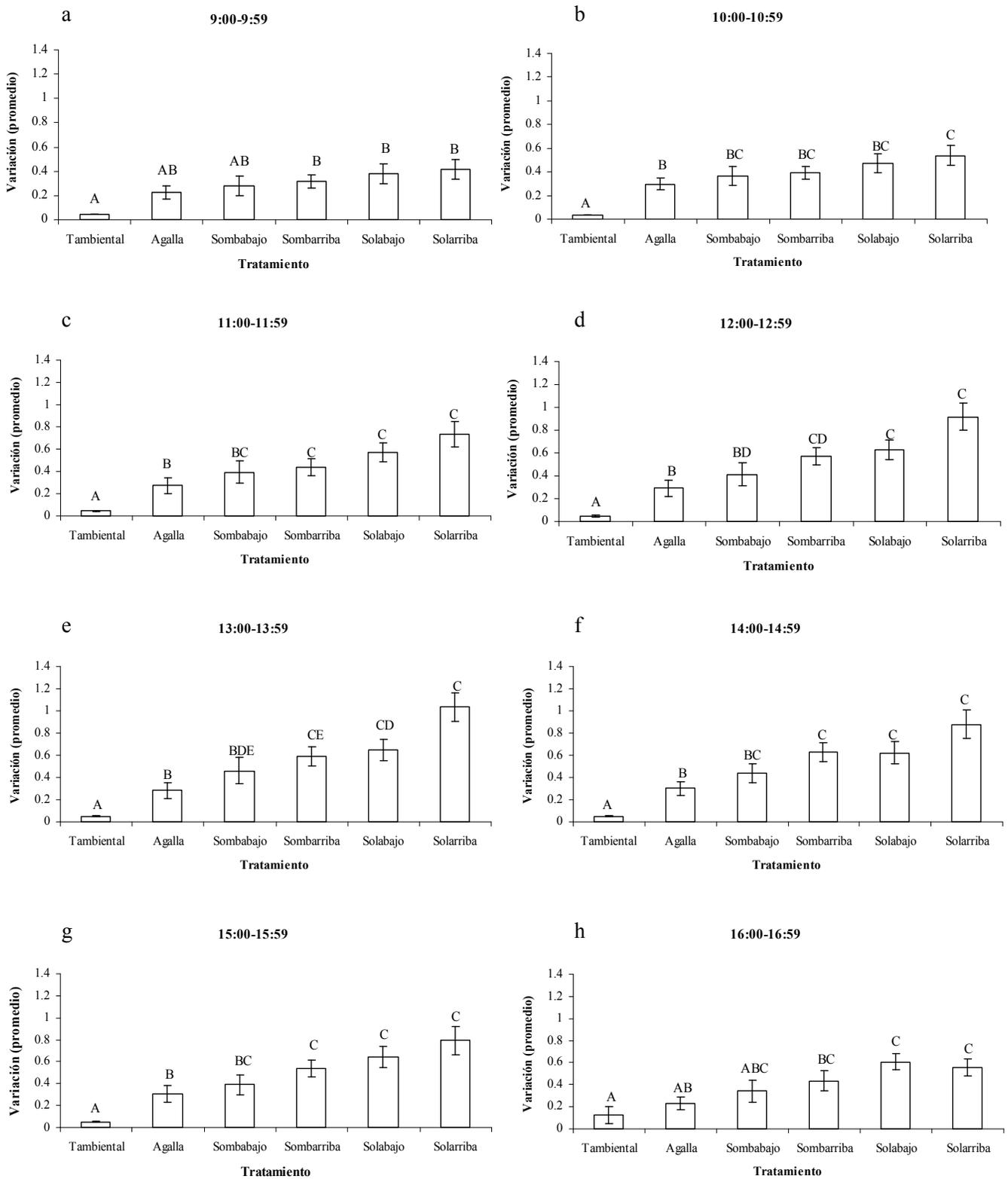


Figura 10. Variabilidad térmica a lo largo del día (8 hrs. en un periodo de 7 días). Cada una de las gráficas a-h representa una hora a lo largo del día. Las líneas verticales representan el error estándar del promedio. Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) ($n=9$).

5.6. Importancia del tamaño de las agallas en la estabilidad térmica del insecto

Se encontró una relación positiva significativa, entre el tamaño (diámetro) de las agallas y el tiempo en que éstas incrementan su temperatura de 20 a 30° C ($R^2 = 88 \%$, $m = 0.287$, $p < 0.001$) (Fig. 11). Estos resultados muestran que conforme aumenta el tamaño de la agalla, la temperatura en su interior cambia a una menor velocidad, proporcionándole al insecto un aumento en estabilidad térmica.

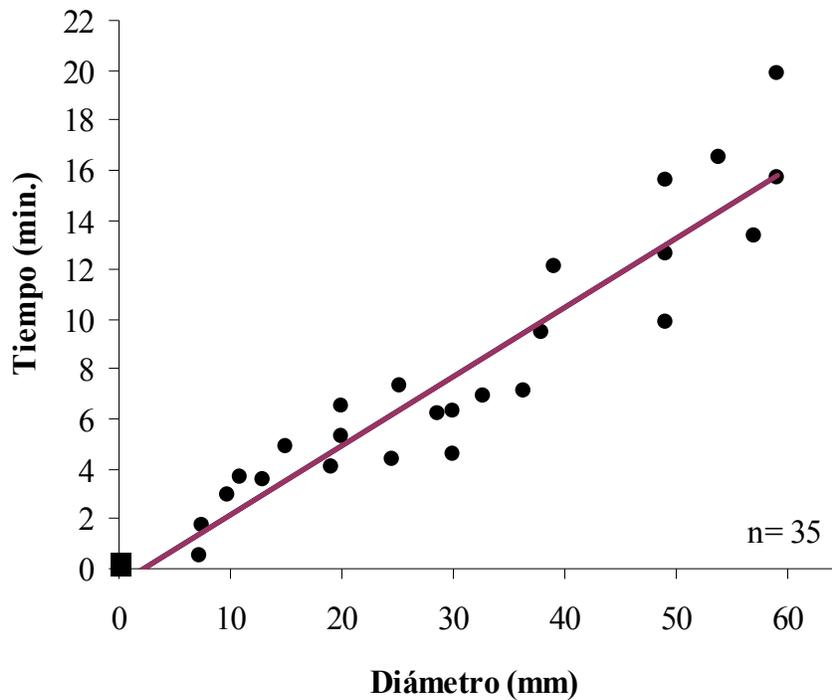


Figura 11. Tiempo de calentamiento de 20 a 30° C de agallas de diferentes tamaños. El cuadrado (■) representa el modelo de temperatura operativa el cual tardó menos de diez segundos en calentarse. La línea representa la curva ajustada de los datos.

VI. DISCUSIÓN

La hipótesis microambiental plantea que las agallas protegen al insecto ante condiciones abióticas desfavorables (Price et al. 1987, Stone et al. 2002), sin embargo, no ha sido posible precisar cuáles factores abióticos son importantes en este aspecto. Los resultados de este trabajo muestran que la temperatura es un factor abiótico importante ya que se encontró que las agallas formadas por *Amphibolips* sp. en *Quercus crassipes* proveen al insecto de protección térmica.

Las temperaturas promedio que se registraron para los modelos expuestos al sol permanecieron por arriba de 26 °C durante más de cinco horas a lo largo del día, lo cual de acuerdo a los resultado de los límites críticos, resultaría en una mortalidad superior al 20%, y en algunos modelos la temperatura se mantuvo por arriba de 31 °C durante más de cuatro horas, lo cual de acuerdo al resultado de los límites críticos, resultaría en una mortalidad superior al 50%. En cambio, la temperatura promedio dentro de la cámara larval de las agallas fue inferior a 25 °C. La temperatura en el interior de las agallas fue similar a la temperatura ambiental en la sombra, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por varios autores (Uhler 1951, Baust et al. 1979, Layne 1991, 1993). Estos resultados fueron interpretados por Price et al. (1987) y Danks (2002) como evidencia de que las agallas no aíslan a los insectos formadores de agallas de la temperatura ambiental y por lo tanto no los protegen de temperaturas dañinas. Sin embargo, en los trabajos de Uhler (1951), Baust et al. (1979), Layne (1991, 1993) no se utilizaron controles (i.e., no comparó la temperatura

corporal de insectos dentro y fuera de las agallas), lo cual sí se realizó en el presente trabajo.

Si las larvas expuestas al sol no se hubieran encontrado dentro de las agallas, las temperaturas que experimentarían serían muy elevadas, por lo que los insectos se desplazarían a sitios con sombra para evitar el sobrecalentamiento, lo cual ocurre en muchos insectos de vida libre (Bardoloi y Hazarika 1994). Sin embargo, se ha visto que este desplazamiento es costoso en términos energéticos y durante su desplazamiento, los insectos se exponen a sus enemigos naturales (Lima y Dill 1990, Lima 1998).

La protección térmica que proveen las agallas formadas por *Amphibolips* sp. se debe en gran medida al tejido esponjoso, ya que éste fue el tejido en el cual se observó una disminución significativa de la temperatura en comparación con la temperatura de la epidermis y 1 milímetro por debajo de la epidermis. Una posible explicación de este resultado es que el tejido esponjoso está formado por células parenquimáticas y esclerenquimáticas, las cuales tienen muchos espacios de aire (Cook 1917, Silmi 2002, Stone y Schönrogge 2003, Harper et al. 2004) que pueden funcionar como aislantes de temperatura. Además, el tejido esponjoso de algunas agallas, como las que forma *Amphibolips* sp. en *Q. crassipes* contiene una gran cantidad de agua, cerca del 80% del peso total de la agalla (datos no publicados), y se ha visto que el agua dentro de las agallas les permite mantener temperaturas relativamente bajas a lo largo del día (Layne 1993, datos no publicados). Además, los resultados que muestran que la temperatura a 1 milímetro por debajo de la epidermis fue significativamente menor que la temperatura operativa del modelo expuesto a la radiación solar colocado en el haz de las hojas sugieren que la

epidermis de las agallas funciona como un aislante del exterior. Los resultados que muestran que la cámara larval y el tejido nutritivo tienen temperaturas menores, probablemente se deben a que estos tejidos están conectados a la rama del árbol a través de haces vasculares. Para verificar esto último, habría que medir la temperatura dentro de la rama y dentro de los haces vasculares que conectan la rama con la cámara larval y al tejido nutritivo de la agalla.

El tamaño de las agallas también contribuyó a proveer protección al insecto contra temperaturas elevadas, debido a que la temperatura promedio de la cámara larval (insecto) en agallas grandes fue significativamente más baja que en agallas chicas y medianas, lo cual probablemente se deba a que entre más grande es la agalla, presenta mayor cantidad de tejido esponjoso (protección) que es el tejido que provee de protección térmica. Las temperaturas del insecto en los tres tamaños de agallas fueron significativamente menores que la temperatura del modelo expuesto al sol, lo que significa que las agallas aún siendo de tamaños pequeños protegen al insecto de exponerse a temperaturas elevadas.

Los resultados muestran que la temperatura varió a través del tiempo en todos los tratamientos y que esta variación fue menor en las primeras horas del día, aumentó a medio día y disminuyó en la tarde. La mayor variación de temperatura se registró en los modelos de temperatura operativa expuestos al sol, seguida por los modelos colocados en la sombra y la menor variación de temperatura se registró en las agallas. Estos resultados muestran que la agalla además de proveer protección contra temperaturas elevadas, también tiene la capacidad de mantener su temperatura independientemente de los cambios externos de

temperatura, evitando que los insectos experimenten una alta variabilidad de ambientes térmicos durante el día.

La mayor variación de temperatura que se encontró para los modelos expuestos al sol y a la sombra probablemente se debió a que las hojas de los árboles están sujetas a periodos de sol y sombra debido a un fenómeno conocido como "sunflecks" (manchas de luz solar) (Pearcy 1990). Además, los periodos de luz son de mayor duración en el extremo superior del dosel y disminuyen en duración hacia el interior del dosel (Pearcy 1990), lo cual concuerda con la mayor variación encontrada para los modelos expuestos a la luz y una menor variación para los modelos que se encontraban en la sombra. El resultado que muestra que la temperatura de los modelos colocados en la sombra fue similar a la temperatura del ambiente probablemente se debió a que las hojas de los árboles que se encuentran en la sombra tienden a tener temperaturas similares a la temperatura ambiental, aunque frecuentemente la temperatura de las hojas aumenta debido a las manchas de luz solar (Pearcy 1990).

En este trabajo se encontró que el tamaño de la agalla es un factor determinante en la estabilidad térmica, ya que las agallas más grandes tardaron más tiempo en calentarse, proporcionando un microambiente más estable al insecto. Una posible explicación a este resultado es que la cantidad de tejido esponjoso aumenta conforme aumenta el tamaño de la agalla, y el tejido esponjoso puede actuar como un aislante contra las temperaturas elevadas debido a su alto contenido de espacios de aire. Previo a este trabajo, el tejido esponjoso de las agallas había recibido el nombre de tejido de protección contra enemigos naturales (Stone y Schonroögge 2003). Los resultados del presente trabajo muestran que el tejido esponjoso en las agallas formadas por *Amphibolips* sp. en *Quercus crassipes* funcionan

como un aislante contra altas temperaturas y le provee al insecto de estabilidad térmica, esto sugiere que este tejido tiene una función de protección térmica.

Se ha planteado que la inducción de agallas le provee al insecto de defensa en contra de enemigos naturales, disponibilidad de nutrientes y protección ante los factores abióticos (Price et al. 1987, Stone et al. 2002) y se ha demostrado que las agallas le proveen al insecto de defensa en contra de enemigos naturales y le proporcionan de una mejor calidad nutricional, sin embargo, aún se encuentra en discusión contra qué factores abióticos protegen las agallas. Los resultados de este trabajo muestran que la temperatura es un factor abiótico importante ya que las agallas formadas por *Amphibolips* sp. en *Quercus crassipes* le proveen al insecto de protección y estabilidad térmica.

VII. CONCLUSIONES

- Los resultados de este trabajo apoyan la hipótesis que plantea que las agallas protegen a los insectos de los factores abióticos, específicamente contra temperaturas elevadas.
- Las agallas formadas por *Amphibolips* sp. en *Quercus crassipes* protegen a los individuos de temperaturas elevadas letales y les proveen de estabilidad térmica.
- De los tejidos que componen la agalla, el esponjoso (protección) es el que protege al insecto de temperaturas elevadas y le provee de estabilidad térmica.
- El tamaño de las agallas ayuda a darle protección al insecto contra temperaturas elevadas y también contribuye en proveerle estabilidad térmica.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abrahamson, G.W. y Weis, A. E. 1997. Evolutionary ecology across three trophic levels: goldenrods, gallmakers and natural enemies. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 3-13 p.
- Ananthakrishan, T.N. 1984. Adaptative strategies in cecidogenous insects. Oxford y IBH, New Delhi 223-269 pp.
- Bailey, K.J. y Whitham, G.T. 2003. Interactions among elk, aspen, galling sawflies and insectivorous birds. *Oikos* 101: 127-134.
- Bakken, G. S., Santee, W. R. y Erskine, D. J. 1985. Operative and standard operative temperature: tools for thermal energetic studies. *American Zoologist* 25: 933-943.
- Baust, J.G., Grandee, R., Condon G. y Morrissey, R. E. 1979. The diversity of overwintering strategies utilized by separate populations of gall insects. *Physiological Zoology* 52: 572-580.
- Bardoloi, S. y Hazarika. L. K. 1994. Body temperature and thermoregulation of *Amheraea assama* larvae. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 72: 207-217.
- Blanche, K. R. 2000. Diversity of insect-induced galls along a temperature-rainfall gradient in the tropical savannah region of the Northern Territory, Australia. *Austral Ecology* 25: 311-318.

- Blanche, K. R., y Ludwig, J. A. 2001. Species richness of gall-inducing insects and host plants along an altitudinal gradient in Big Bend National Park, Texas. *American Midland Naturalist* 145: 219-232.
- Casey, T. M. y Hegel, J. R. 1981. Caterpillar setae: insulation for an ectotherm. *Science* 214: 1131-1133.
- Casey, T. M. y Knapp, R. 1987. Caterpillar thermal adaptation: behavioral differences reflect metabolic thermal sensitivities. *Comparative Biochemistry and Physiology* 86: 679-682.
- Chown S. L. y Nicolson, S. W. 2004. *Insect Physiological Ecology: Mechanisms and Patterns*. Oxford University Press, Oxford, Nueva York. 243 pp.
- Chust, G., Garbin, L. y Pujade-Villar, J. 2007. Gall wasps and their parasitoids in cork oak fragmented forests. *Ecological Entomology* 32: 82-91.
- Cook, M. T. 1904. Galls and insects producing them. *The Ohio Naturalist* 2: 263-278.
- Cook, M.T. 1917. Cecidiology. *Botanical Gazette* 63: 156-158.
- Cook, G. L. y Gullan J. P. 2008. Insect, not plant, determines gall morphology in the *Apiomorpha pharetrata* species-group (Hemiptera: Coccoidea). *Australian Journal of Entomology* 47: 51-57.
- Cornell, H.V. 1983. The secondary chemistry and complex morphology of galls formed by the cynipinae (Hymenoptera): Why and how?. *American Midland Naturalist* 110: 225-234.

- Craig, P. T., Itami, K. J. y Horner, D. J. 2007. Geographic variation in the evolution and coevolution of a tritrophic interaction. *Evolution* 61: 1137-1152.
- Cuevas-Reyes, P. 2004. Patrones de riqueza de especies de insectos formadores de agallas en una selva baja caducifolia. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones en Ecosistemas. UNAM.
- Danks, H. V. 2002. Modification of adverse conditions by insects. *Oikos* 99: 10–24.
- De Bruyn, L. 1993. Life history strategies of three gall-forming flies tied to natural variation in growth of *Phragmites australis*. Páginas 56-72 en P. W. Price. et al. Editores. The ecology and evolution of gall-forming insects. United States Department of Agriculture. Krasnoyarsk, Siberia.
- Dorchin, N. J., Cramer, M. D. y Hoffmann, J. H. 2006. Photosynthesis and sink activity of wasp-induced galls in *Acacia pycnantha*. *Ecology* 87: 1781-1791.
- Espirito-Santo, M.M. y Fernandes, G.W. 2007. How many species of gall-inducing insects are there on earth, and where are they?. *Annals of the Entomological Society of America* 100: 95-99.
- Felt, E. P. 1940. Plant galls and gall makers. Comstock, Ithaca, N. Y. 364 pp.
- Fernandes, G.W. y Price P.W. 1988. Biogeographical gradients in galling species richness : Tests of hypotheses. *Oecologia* 76: 161-167.
- Fernandes, G.W. y Price P.W. 1991. Comparison of tropical and temperate galling species richness : The roles of environmental harshness and plant nutrient status. *Plant*

animal interactions : evolutionary ecology in tropical and temperate regions.
Páginas 91-115 en P.W. Price, T.M. Lewinsohn, G.W. Fernandes y W.W. Benson.
Wiley, New York.

Fernandes, G.W. y Price P.W. 1992. The adaptive significance of insect gall distribution:
Survivorship of species in xeric and mesic habitats. *Oecologia* 90: 14-20.

Fernandes, G. W., Espirito-Santo, M.M. y Faria, L.M. 1999. Cynipid gall growth dynamics
and enema attack: effects of size, toughness and thickness. *Ecology, Behavior and
Bionomics. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil* 28: 211-218.

Frears, S. L., Chown, S. L. y Webb, P. I. 1997. Behavioural Thermoregulation in the
mopane worm (Lepidoptera). *Journal of Thermal Biology* 22: 325-330.

Frears, S. L., Chown, S. L. y Webb, P. I. 1999. Temperature dependence of feeding
behaviour in the mopane worm (Lepidoptera). *Journal of Thermal Biology* 24: 241-
244.

Harper, L.J., Schönrogge, K., Lim, K.Y., Francis, P. y Lichtsenstein, C.P. 2004. Cynipid
galls: insect-induced modifications of plant development create novel plant organs.
Plant, Cell and Environment 27: 327-335.

Huey, R. B. y Kingsolver, J.G. 1989. Evolution of thermal sensitivity of ectotherm
performance. *Trends in Ecology and Evolution* 4: 131-135.

INEGI. 2005. Cuaderno estadístico municipal edición 2005. Singuilucan Hidalgo. INEGI.
139 pp.

- Karban, R. y Agrawal, A. A. 2002. Herbivore offense. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 641-664.
- Kinsey, C. A. 1920. Phylogeny of cinipid genera and biological characteristics. *Bulletin American Museum of Natural History* 42: 357-402.
- Larson, K. C. y Whitham T. G. 1991. Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. *Oecologia* 88: 15–21.
- Lawton, J. H. 1986. The effect of parasitoids on phytophagous insects communities. En J. Waage y D. Greathead. Editores, *Insect parasitoids*. London: Academic press.
- Layne, J.R., Jr. 1991. Microclimate variability and the eurythermic nature of goldenrod gall fly (*Eurosta solidaginis*) larvae (Diptera: Tephritidae). *Canadian Journal of Zoology* 69: 614-617.
- Layne, J. R. 1993. Winter microclimate of goldenrod spherical galls and its effects on the gall inhabitant *Eurosta solidaginis* (Diptera, Tephritidae). *Journal of Thermal Biology* 18: 125-130.
- Lima, S. L. y Dill, L. M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospects. *Canadian Journal of Zoology* 68: 619 – 640.
- Lima, S. L. 1998. Stress and decision making under the risk of predation: recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. *Advances in the Study of behavior* 27: 215 – 290.

- Maia, V. C. y Fernandes, G. W. 2004. Insect galls from serra de São José (Tiradentes, MG, Brazil). *Brazilian Journal of Biology* 64: 423-445.
- Marchosky, J.R. y Craig, P.T. 2004. Gall size-dependent survival for *Asphondylia atriplicis* (Diptera: Cecidomyiidae) on *Atriplex canescens*. *Environmental Entomology* 33: 709-719.
- Nieves-Aldrey, J. L. 1998. Insectos que inducen la formación de agallas en las plantas una fascinante interacción ecológica y evolutiva. Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid, España. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 23: 3-12.
- Nyman, T. y Julkunen-Titto, R. 2000. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies 97: 13184-13187.
- Nyman, T., Widmer, A. y Roininen, H. 2000. Evolution of gall morphology and host-plant relationships in willow feeding sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Evolution* 54: 526-533.
- Patiño, S., Herre, E.A. y Tyree, M.T. 1994. Physiological determinants of *Ficus* fruit temperature and implications for survival of pollinator wasp species : comparative physiology through an energy budget approach. *Oecologia* 100: 13-20.
- Pearcy, R. W. 1990. Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41: 421 – 453.

- Pincebourde, S. y Casas, J. 2006. Leaf miner-induced changes in leaf transmittance cause variations in insect respiration rates. *Journal of Insect Physiology* 52: 194-201.
- Price, P. W. y Clancy, K.C. 1986. Interactions among three trophic levels: gall size and parasitoid attack. *Ecology*. 67: 1593-1600.
- Price, P. W, Fernandes, G.W. y Waring, G. L. 1987. Adaptive nature of insect galls. *Environment Entomology*. 16: 15-24.
- Price, P. W. y Pschorn-Walcher, H. 1988. Are galling insects better protected against parasitoids than exposed feeders?: a test using tenthredinid sawflies. *Ecological Entomology* 13: 195-205.
- Price, P.W., Fernandes, G.W., Lara, A.C.F, Brawn, J., Barrios, H., Wright, M.G., Ribeiro, S.P. y Rothcliff, N. 1998. Global patterns in local number of insect gallina species. *Journal of Biogeography* 25: 581-591.
- Price, P. W. 2005. Adaptive radiation of gall-inducing insects. *Basic and Applied Ecology* 6: 413-421.
- Roskam, J. C. 1985. Evolutionary patterns in gall midge–host plant associations (Diptera: Cecidomyiida). *Tijdschrift voor Entomologie* 128: 193–213.
- Ruf, C. y Fiedler, K. 2002. Tent-based thermoregulation in social caterpillars *Eriogaster lanestris* (Lepidoptera: Lasiocambidae): behavioral mechanisms and physical features of the tent. *Journal of Thermal Biology* 27: 493-501.

- SAS. 1999. SAS Procedures Guide, version 6.0, 3rd. Edición. SAS Institute, Cary, Carolina del Norte, E.U.A.
- SEMARNAT-CNA. 2003. Oficina de Cálculo Climatológico. Red Hidroclimatológica Estatal en Hidalgo.
- Schonroögge, K., Stone, N.G. y Crawley, J.M. 1996. Abundance patterns and species richness of the parasitoids and inquilines of the alien gall-former *Andricus quercuscalicis* (Hymenoptera :Cynipadea). *Oikos* 77: 507-518.
- Schonroögge, K., Harper, J.L. y Lichtenstein, P.C. 2000. The protein content of tissues in cynipid galls (Hymenoptera: Cynipidae): Similarities between cynipid galls and seeds. *Plant, Cell and Environment* 23: 215-222.
- Silmi, P, S. N. 2002. Anatomía y morfología de agallas entomógenas en *Acnistus arborescens* (L) Schlecht. Tesis de Pregrado ULA. Venezuela. 58 pp.
- Sopow, S. L. & Quiring, D. T. 1998. Body size of spruce-galling adelgids is positively related to realized fecundity in nature. *Ecological Entomology* 23: 476–479.
- Sopow, S.L. y Quiring, D.T. 2001. Is gall size a good indicator of adelgid fitness?. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99: 267-271.
- Stinner, R.B. y Abrahamson, G.W. 1979. Energetics of the solidago canadensis-stem gall insect-parasitoid guild interaction. *Ecology* 60: 918-926.

- Stone, G. N. y Cook, M. J. 1998. The structure of cynipid oak galls: patterns in the evolution of an extended phenotype. *Proceedings of the Royal Society of London. Serie B* 265: 979–988.
- Stone, G. N., Schönrogge, K., Atkinson, R.J., Bellido, D. y Pujade-Villar, J. 2002. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera : Cynipidae). *Annual Reviews of Entomology* 47: 633-668.
- Stone, N.G. y Schönrogge, K. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 512-521.
- Townsend, L. y Eliason, E. 1998. Common oak galls. University of Kentucky College of Agriculture. www.ca.uky.edu/entomology/entfacts/ef408.asp. Revisado el 20 de Mayo de 2008.
- Tscharntke, T. 1992. Cascade effects among four trophic levels: bird predation on galls affects density-dependent parasitism. *Ecology* 73: 1689-1698.
- Tscharntke, T. 1993. Tritrophic interactions in gallmaker communities on *Phragmites australis* : testing ecological hypotheses. Páginas 73-92 en P. W. Price, W. J. Mattson y Y. N. Baranchikov, editores. *The ecology and evolution of gall-forming insects*. Krasnoyars, Siberia.
- Uhler, L. D. 1951. Biology and ecology of the goldenrod gall fly, *Eurosta solidaginis* (Fitch). Cornell University Agricultural Experiment Station Mem. 300 pp.

Van Hezewijk, H.B. y Roland, J. 2003. Gall size determines the structure of the *Rabdophaga strobiloides* hots-parasitoid community. *Ecological Entomology* 28: 593-603.

Vardal, H. 2004. From parasitoids to gall inducers and inquilines. Morphological evolution in Cynipoid wasp. *Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Tecnology* 932. 41 pp.