

Université de Montréal

**Phylogéographie comparée d'un système multitrophique
: les parasitoïdes du genre *Horismenus* spp. ont-ils
échappé au processus de domestication du haricot au
Mexique?**

par

Simon Laurin-Lemay

Département de Sciences Biologiques

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de M.Sc.
en sciences biologiques

Août, 2010

© Simon Laurin-Lemay, 2010

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Phylogéographie comparée d'un système multitrophique : les parasitoïdes du genre
Horismenus spp. ont-ils échappé au processus de domestication du haricot au Mexique?

Présenté par :
Simon Laurin-Lemay

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Mohamed Hijri, président-rapporteur
Jacques Brodeur, directeur de recherche
Bernard Angers, co-directeur
Betty Benrey, co-directrice
Guy Boivin, examinateur externe

Résumé

Cette étude vise à comparer l'histoire évolutive des parasitoïdes du genre *Horismenus* (Hymenoptera: Eulophidae) à celle de leurs hôtes bruches (Coleoptera: Bruchidae) et plante hôte (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivée dans le contexte d'agriculture traditionnelle, au sein de son centre de domestication Mésoaméricain. Nous avons analysé la structure génétique de 23 populations de quatre espèces de parasitoïdes au Mexique, en utilisant un fragment du gène mitochondrial COI afin de les comparer aux structures précédemment publiées des hôtes bruches et du haricot commun. Nous avons prédit que les structures génétiques des populations d'hôtes (bruches et plante) et de parasitoïdes seraient similaires puisque également influencées par la migration entremise par l'humain (HMM) étant donnée que les parasitoïdes se développent telles que les bruches à l'intérieur des haricots. Compte tenu des stratégies de manipulation reproductive utilisées par l'alpha-protéobactérie endosymbionte *Wolbachia* spp. pour assurer sa transmission, la structure génétique des populations de parasitoïdes inférée à partir du génome mitochondrial devrait être altérée conséquemment à la transmission conjointe des mitochondries et des bactéries lors de la propagation de l'infection dans les populations de parasitoïdes. Les populations du parasitoïde *H. missouriensis* sont infectées par *Wolbachia* spp. Tel que prédit, ces populations ne sont pas différenciées ($F_{ST} = 0,06$), ce qui nous empêche d'inférer sur une histoire évolutive parallèle. Contrairement aux bruches, *Acanthoscelides obtectus* et *A. ovelatus*, la HMM n'est pas un processus contemporain qui influence la structure génétique des populations du parasitoïde *H. depressus*, étant donné la forte différenciation ($F_{ST} = 0,34$) qui existe entre ses populations. La structure génétique observée chez *H. depressus* est similaire à celle de sa plante hôte (i.e. dispersion aléatoire historique à partir d'un pool génique ancestral très diversifié) et est probablement le résultat d'un flux génique important en provenance des populations de parasitoïdes associées aux haricots spontanées à proximité des champs cultivés. L'étude de l'histoire évolutive intégrant plusieurs niveaux trophiques s'est avérée fructueuse dans la détection des différentes réponses évolutives entre les membres du module trophique face aux interactions humaines et parasitaires, et montre la pertinence d'analyser les systèmes écologiques dans leur ensemble.

Mots-clés : *Horismenus* spp., endosymbiontes *Wolbachia* spp., processus de domestication, interactions multitrophiques, phylogéographie, génétique des populations de parasitoïdes

Abstract

This study aims to compare the evolutionary history of *Horismenus* parasitoids (Hymenoptera: Eulophidae) to that of their bruchid beetle hosts (Coleoptera: Bruchidae) and their domesticated host plant (*Phaseolus vulgaris* L.) in the context of traditional agriculture within their Mesoamerican center of domestication. We analyzed the genetic structure of 23 populations of four *Horismenus* species in Mexico using COI mitochondrial gene fragments and compared the structures to previously published data on bean plant and beetle hosts. We predicted that because parasitoids complete their development within their beetle hosts, within the bean, the genetic structure of both the host and the parasitoid would be similar and equally influenced by human-mediated migration (HMM). Furthermore, because of reproductive manipulation strategies often used by the alpha-proteobacteria endosymbionte *Wolbachia* spp. to ensure its transmission, the genetic structure of parasitoid populations inferred from mitochondrial genome would be biased consequently to the conjoint transmission of mitochondria and the bacteria according to propagation of the infection within parasitoids populations. The populations of *H. missouriensis* parasitoids are infected by *Wolbachia* spp. As predicted, these populations are not differentiated ($F_{ST} = 0.06$) which prevents us to infer on a parallel evolutionary history. Unlike their bruchid hosts, *Acanthoscelides obtectus* and *A. ovelatus*, the HMM is not a contemporary process influencing *H. depressus* population genetic structure according to the strong populations differentiation ($F_{ST} = 0.34$). The genetic structure observed within *H. depressus* populations is similar to that of its host plant (i.e. historical random dispersal from a highly diversified ancestral gene pool) and is probably the result of extensive gene flow from parasitoids associated with wild beans populations adjacent to crop fields. The study of evolutionary history integrating multitrophic levels has proved to be fruitful in detecting different evolutionary responses among members of the trophic module face to human and parasite interactions, but also points out the pertinence of analyzing ecological systems as a whole.

Keywords : *Horismenus* spp., *Wolbachia* spp. endosymbionts, domestication process, multitrophic interactions, phylogeography, parasitoid population genetics

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des abréviations.....	xi
Remerciements.....	xiv
Avant propos.....	1
1. Chapitre 1 : La revue de la littérature.....	2
1.1. Introduction générale.....	2
1.2. Section I : Le monde des parasitoïdes.....	4
1.2.1. Les parasitoïdes.....	4
1.2.2. Les hyménoptères.....	5
1.2.3. Les réseaux d'interactions écologiques.....	6
1.2.4. Les interactions multitrophiques.....	7
1.2.5. La dynamique spatio-temporelle des populations.....	9
1.2.6. Le processus de domestication.....	11
1.3. Section II : Quantifier l'évolution.....	13
1.3.1. La génétique des populations.....	14
1.3.2. L'analyse phylogénétique des données moléculaires.....	17
1.3.3. La phylogéographie.....	18
1.3.4. La mitochondrie comme marqueur moléculaire.....	19
1.4. Section III : Le système à l'étude.....	20
1.4.1. Histoire ancienne.....	21
1.4.2. Histoire récente.....	23
1.5. Hypothèses.....	23
1.6. Objectifs.....	24

2. Chapitre 2: Inconsistent genetic structure among members of a multitrophic system: did bruchid parasitoids (<i>Horismenus</i> spp.) escape from the effects of bean domestication?	25
Résumé.....	26
Abstract	27
2.1. Introduction.....	28
2.2. The multitrophic system.....	29
2.3. Objectives	30
2.4. Material and Methods	31
2.4.1. Parasitoid collection.....	31
2.4.2. Parasitoid identification and community structure	32
2.4.3. DNA extraction and genotyping	32
2.4.4. <i>Wolbachia</i> spp. endosymbionts screening.....	33
2.4.5. DNA sequencing.....	33
2.4.6. Phylogenetic relationships and molecular identification	34
2.4.7. Genetic diversity, structure and differentiation.....	34
2.5. Results.....	35
2.5.1. Community structure.....	35
2.5.2. Species diversity	36
2.5.3. Population diversity	36
2.5.4. Genetic structure	37
2.6. Discussion	38
2.6.1. A blurred evolutionary history.....	39
2.6.2 Inconsistent genetic structure among trophic levels	39
2.6.3 Explanatory hypotheses	40
2.7. Conclusion	42
3. Conclusion générale.....	54
3.1. Perspectives.....	55
Références.....	59
Annexe	i

Liste des tableaux

Chapitre 1. La revue de la littérature

Annexe 1.1: Sites d'échantillonnage avec coordonnées GPS..... i

Chapitre 2. Inconsistent genetic structure among members of a multitrophic system: do bruchid parasitoids (*Horismenus* spp.) escape from the effects of bean domestication?

Table 2.1: Sample sizes of *Horismenus* parasitoid and bruchid populations, proportion of parasitoids infected with *Wolbachia* spp., and abundance of other parasitoid species and bruchids (*Acanthoscelides* and *Zabrotes*). Environmental variables from sampled sites include altitude, sampling method and bean species..... 44

Table 2.2: Primers list used in this study to amplify a fragment of the COI gene from *Horismenus* spp. and *Wolbachia* spp..... 45

Table 2.3: Genetic diversity of mtDNA: population names are listed along the top of the table and the number of haplotypes (n), number of sequenced haplotype (s), haplotype diversity (hd), nucleotide diversity (π) and the number of substitutions (ns) are indicated for each species..... 46

Table 2.4: Partition of the genetic diversity as estimated by hierarchical AMOVAS based on SSCP surveys and sequences of mtDNA for *H. depressus* and *H. missouriensis*..... 47

Annex 2.1: Matrix of pairwise differences among 42 sequenced haplotypes from the 10 *Horismenus depressus* populations at study..... 53

Liste des figures

Chapitre 1. La revue de la littérature

Figure 1.1: Identification géographique des centres indépendants de domestication connus jusqu'à ce jour..... 11

Figure 1.2: La phylogéographie à l'interface de la macroévolution et de la microévolution des organismes..... 18

Chapitre 2. Inconsistent genetic structure among members of a multitrophic system: do bruchid parasitoids (*Horismenus* spp.) escape from the effects of bean domestication?

Figure 2.1: Sampling sites in the central Mexican Altiplano..... 48

Figure 2.2: Biplot from principal component analysis of the *Horismenus* complex..... 49

Figure 2.3: Monophyletic group differentiation by Bayesian and Maximum Likelihood analysis of the observed COI sequences of SSCP survey..... 50

Figure 2.4: Minimum spanning network of mtDNA of the 10 populations of *H. depressus* and 6 populations of *H. missouriensis*..... 51

Figure 2.5: Correlogram of COI variation for *H. depressus* populations without B10 and B11 and *H. missouriensis* populations without B4..... 52

Liste des abréviations

~ : environ

°C : degré Celsius

ADN : acide désoxyribonucléique

AMOVA : analysis of molecular variance (analyse de variance moléculaire)

ATP : adénosine triphosphate

BE: bayesian analysis (analyse bayésienne)

bp : base pairs (paires de bases)

COI : cytochrome oxydase- 1

DNA : deoxyribonucleic acid (acide désoxyribonucléique)

dNTP : deoxyribonucleotide triphosphate (désoxyribonucléotide tri-phosphate)

e.g.: *exempli gratia* (par exemple)

F : foward (sens)

F_{ST} : indice de différenciation inter-population

GPS: global positioning system (système de positionnement mondial)

h: nombre d'haplotype

ha: hectare

hd : diversité haplotypique

HMM: human-mediated migration (migration par l'entremise de l'humain)

i.e. : *id est* (c'est à dire)

IBD: isolation-by-distance (isolation par la distance)

ITS: internal transcribed spacer

Km: kilomètre

M : molaire

MgCl₂ : chlorure de magnésium

ML : Maximum Likelihood analysis (analyse de Maximum de Vraisemblance)

mM : millimolaire

mtDNA: mitochondrial DNA (ADN mitochondrial)

MTI : multitrophic interactions (interactions multitrophiques)

Ne : taille efficace des populations

Numt : nuclear mitochondrial DNA (ADN mitochondrial transféré au génome nucléaire)

PCA: principal components analysis (analyse en composante principale)

PCR : polymerase chain reaction (réaction en chaine de la polymérase)

R : reverse (anti-sens)

RDA : redundancy analysis (analyse de redondance)

s : nombre d'haplotype séquencé

SSCP : single-strand conformation polymorphism (polymorphisme de conformation des simples brins)

Taq : *Thermus aquaticus*

U : unité

μl : microlitre

μmol : micromole

π : diversité nucléotidique

Φ_{ST} : indice de différenciation inter-population

Remerciements

J'ai eu la chance d'être entouré de gens extrêmement compétents et humains. Sans la participation de ces personnes que j'estime énormément, cette grande aventure n'aurait jamais eu lieu. Je désire remercier Jacques Brodeur d'avoir cru en moi, pour ses conseils et pour m'avoir donné la chance de m'initier au monde de la recherche dans un cadre très stimulant. Mille merci à Bernard Anger de m'avoir transmis sa passion pour les systèmes écologiques complexes et atypiques et de m'avoir accueilli dans son laboratoire. Merci également à Betty Benrey qui a cru en moi et m'a permis de travailler sur un système biologique exceptionnel. Un autre remerciement revient à Sarah Kenyon qui m'a été d'une aide précieuse tout au long du projet. Finalement un merci spécial à Omar Arellano-Aguilar pour m'avoir guidé dans son pays qu'est le Mexique lors du travail d'échantillonnage; Muchas gracias Omar! Un autre remerciement revient aux étudiants des laboratoires Brodeur et Angers qui m'ont aidé par leurs précieux conseils.

*À ma conjointe, mes parents et amis qui ont
cru en moi!*

Si on ne comprend pas l'histoire, on ne comprend pas l'actualité. Si on ne fait que décrire les faits on raconte des mensonges, on raconte ce qu'on voit au microscope alors qu'on a besoin d'une longue-vue.

De Tiziano Terzani dans *La fin est mon commencement*, Folco Terzani 2006.

Avant propos

Le présent mémoire comporte deux sections. Le chapitre 1 présente la revue de la littérature qui se veut intégratrice, à l'image de la phylogéographie. Le chapitre 2 a été rédigé sous la forme d'un article scientifique dans le but de le publier dans un journal scientifique. Les résultats présentés dans ce chapitre sont le fruit d'un travail de terrain de trois mois au Mexique et d'un travail de laboratoire de plusieurs mois ainsi que d'une recherche bibliographique constante. L'élaboration du projet, le travail de terrain au Mexique et de caractérisation moléculaire au laboratoire, la compilation et l'analyse des résultats, et la rédaction de ce mémoire ont été réalisés en totalité par moi-même. Mon directeur Jacques Brodeur et mon codirecteur Bernard Angers, ainsi que ma co-directrice Betty Benrey ont su me guider tout au long de ce processus par leurs corrections et leurs commentaires pertinents.

1. Chapitre 1 : La revue de la littérature

1.1. Introduction générale

L'expansion démographique récente de l'espèce humaine s'est faite en grande partie par le passage du mode de vie chasseur-cueilleur à la production alimentaire. La population mondiale n'a pas encore atteint sa taille maximale, en 2050 elle aura doublée (UN, 2004). Bien que l'agriculture ait fait des avancées importantes au niveau de sa productivité dans le dernier siècle (révolution verte), les crises alimentaires mondiales des années passées montrent qu'un nombre important de populations humaines éprouvent de la difficulté à se nourrir. Non seulement la demande ne cesse de grandir, mais les perturbations engendrées par les pratiques agricoles actuelles ont des conséquences importantes sur les écosystèmes.

Les services écologiques issus des interactions entre les espèces sont très importants dans les agro-écosystèmes : on a qu'à penser à l'importance de la pollinisation, de la régulation des populations de ravageurs par les ennemis naturels, du recyclage des nutriments par les décomposeurs et du rôle prépondérant des champignons mycorhizes dans la nutrition des plantes. Il est de plus en plus évident que dans de nombreux cas, la domestication des plantes en affectant la qualité nutritive et structurale de celles-ci, a eu pour conséquence d'altérer les interactions entre les espèces (revue par Macfadyen & Bohan 2010). Au niveau du paysage, le maintien des interactions entre les espèces dépend aussi de la structure des communautés et des processus populationnels ayant cours à différentes échelles spatiales et temporelles. La structure des communautés a été grandement affectée par la réduction de l'hétérogénéité dans l'agro-écosystème : le développement de l'agriculture moderne s'est fait en réduisant le nombre d'espèces ou de variétés cultivées sur de grande superficie, en synchronisant les activités liées à la mise en champ, au contrôle des ravageurs ainsi qu'à la récolte (revue par Macfadyen & Bohan 2010).

Les centres de domestication possèdent par définition une grande diversité génétique composée de cultivars modernes, de variétés locales, d'ancêtres spontanés et de populations

hybrides qui sont le reflet des interactions écologiques passées et présentes. La domestication est un processus continu qui affecte la diversité des variétés locales et des cultivars modernes: la grande diversité des variétés locales est maintenue grâce à l'agriculture traditionnelle et l'environnement hétérogène dans laquelle elle se pratique (Oldfield & Alcorn 1987; Pressoir & Berthaud, 2004, Barnaud *et al.* 2007).

La Mésoamérique, dont fait partie le Mexique, constitue l'un des centres de domestication des plus importants (Smith 1995; Hancock 2004). Parmi les cultures importantes qui ont été domestiquées au Mexique on compte le maïs (*Zea mays* L.), le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) et les courges (*Cucurbita* spp.). Ces trois plantes sont traditionnellement cultivées ensemble non seulement au Mexique mais à plusieurs endroits de la planète car elles forment un système agronomique et nutritionnel complémentaire (Cardoso *et al.* 2007; Bressani 1983 : respectivement).

Le projet de recherche présenté dans ce mémoire a pour but de comparer l'histoire évolutive des parasitoïdes du genre *Horismenus* (Hymenoptera: Eulophidae) à celle de leurs hôtes bruches des genres *Acanthoscelides* et *Zabrotes* (Coleoptera: Bruchidae) ainsi qu'à leur plantes hôtes du genre *Phaseolus* (Leguminosae) cultivées dans leur centre de domestication de Mésoamérique dans le contexte d'agriculture traditionnelle. De plus, les insectes sont fréquemment infectés par l'alpha-protéobactérie endosymbionte du genre *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) (Hilgenboecker *et al.* 2008).

Ainsi *Wolbachia* spp. forme potentiellement un quatrième niveau trophique par sa présence chez les parasitoïdes. Le système à l'étude a pour troisième niveau trophique quatre espèces de parasitoïdes (*H. depressus* Gahan, *H. missouriensis* Ashmead, *H. butcheri* Hansson, Aebi et Benrey et *Horismenus* sp. une espèce non identifiée), pour deuxième niveau trophique quatre espèces de bruche du haricot (*A. obvelatus* Bridwell, *A. obtectus* Say, *Z. sylverstris* et *Z. subfasciatus* Boheman) et pour premier niveau trophique deux espèces de haricot domestiqué (*Phaseolus vulgaris* L. et *P. coccineus* L.).

1.2. Section I : Le monde des parasitoïdes

La très grande diversité biologique des parasitoïdes en font des organismes modèles pour l'étude de l'écologie et de l'évolution (Godfray 1994, Gauthier et *al.* 2000). La recherche sur les parasitoïdes a permis de faire des avancées importantes dans les domaines de l'écologie des communautés, de l'écologie et de la dynamique des populations, dont les interactions multitrophiques et leurs mécanismes sous-jacents qui sont les processus spatiales de distribution des espèces, et l'écologie comportementale (Godfray & Shimada 1999). De plus, l'intérêt qu'on leur porte dans le développement de programmes de lutte biologique contribue au développement des connaissances de plusieurs groupes ou espèces.

1.2.1. Les parasitoïdes

Il existe deux grands groupes de parasitoïdes : les koinobiontes permettent à leur hôte de continuer son développement alors que les parasitoïdes idiobiontes exploitent la ressource définie par leur hôte au moment de l'oviposition. Fréquemment, les parasitoïdes idiobiontes utilisent un venin paralysant pour arrêter le développement de leur hôte (Godfray 1994). Les parasitoïdes peuvent se développer seul ou en groupe (solitaire vs grégaire), à l'intérieur ou à l'extérieur de l'hôte (endoparasitoïde vs ectoparasitoïde). L'hypothèse de la course aux armements entre les endoparasitoïdes et leurs hôtes a été proposée comme mécanisme explicatif de la grande diversité des adaptations structurales, comportementales, moléculaires, physiologiques et symbiotiques retrouvées chez le parasitoïde et son hôte; ce serait le résultat d'étroites interactions entre l'endoparasitoïde et le système immunitaire de son hôte (Godfray 1994).

Différentes formes d'exploitation de l'hôte se rencontrent chez les parasitoïdes. Lorsque des larves de deux espèces de parasitoïdes exploitent un même hôte et entrent en compétition on parle alors de multiparasitisme. Alors que le superparasitisme permet le développement de plusieurs larves d'une même espèce sur le même hôte.

L'hyperparasitisme survient lorsqu'un parasitoïde attaque un autre parasitoïde. Ce cas de figure peut prendre la forme d'hyperparasitisme stricte : c'est-à-dire que l'hyperparasitoïde nécessite la présence de son hôte parasitoïde afin d'assurer son développement. Dans un autre cas, l'hyperparasitisme est facultatif : c'est-à-dire que la présence d'un premier parasitoïde n'est pas nécessaire à son développement, il se développe donc comme parasitoïde ou hyperparasitoïde selon le type d'hôte. Contrairement aux hyperparasitoïdes, les cleptoparasitoïdes usurpent les ressources de leurs hôtes. Cela n'implique pas directement la mort de l'hôte, mais lorsque c'est le cas, l'hôte n'est pas consommé. Par exemple, certains cleptoparasitoïdes utilisent un trou foré dans le bois par un parasitoïde pour atteindre son hôte afin de profiter également de cette ressource (Godfray 1994).

1.2.2. Les hyménoptères

L'ordre des hyménoptères se caractérise par sa grande diversité d'espèces, auxquelles sont associées une multitude de traits d'histoire de vie. Quatre principaux éléments ont permis aux hyménoptères d'occuper une très grande variété de niches écologiques : la détermination du sexe par le mécanisme d'haplo-diploïdie, les différentes fonctions associées à l'ovipositeur (i.e. injection de venin, ponte d'œufs), les différentes stratégies d'investissement parental (associées à la recherche de la nourriture et à la ponte) et la diversification de la diète des larves, par la capacité de rétention des déchets métaboliques jusqu'à la pupaison (Austin & Downton 2000). Plusieurs de ces traits d'histoire de vie ont favorisé la spécialisation des hyménoptères en différents groupes « fonctionnels »: ecto- et endoparasitoïdes, hyperparasitoïdes, galligènes, granivores, pollinisateurs, prédateurs et insectes sociaux (Austin & Downton 2000).

La phylogénomique, sur la base de l'analyse de 185 gènes nucléaires, a permis récemment de replacer les hyménoptères à la base des insectes holométaboles (i.e. les insectes dont le cycle de développement inclut une métamorphose complète entre les stades larvaires et

l'adulte) : hyménoptères, coléoptères, lépidoptères et diptères (Savard et *al.* 2006). Le plus vieux fossile appartenant à l'ordre des hyménoptères date d'il y a 220 millions d'années. Cependant, des dommages foliaires fossilisés et causés par un hyménoptère dateraient d'il y a 300 millions d'années, ce qui repousse à un temps encore plus ancien l'origine des hyménoptères (Whitefield 1998). Dès la fin du Crétacé (65-70 millions d'années) on retrouve l'ensemble des superfamilles de l'ordre des hyménoptères. Cette période correspond à la diversification des plantes à fleurs et des insectes qui leurs sont associés (Whitefield 1998) diversifiant par le fait même les réseaux d'interactions écologiques.

1.2.3. Les réseaux d'interactions écologiques

L'écologie se définit comme l'étude des interactions qui déterminent la répartition et l'abondance des organismes (Krebs 2001). Il existe une grande variété d'interactions entre espèces et de processus écologiques qui caractérisent les écosystèmes (Hutchinson 1959). Les auteurs d'un article synthèse (Olf et *al.* 2009) mettent en évidence l'importance de considérer l'ensemble des interactions écologiques afin de comprendre la dynamique des écosystèmes. On compte parmi ces principales interactions écologiques la compétition pour les ressources (Schoener 1974; Tilman 1982), le mutualisme (Oksanen 1988), la compétition apparente (Holt 1977), le mutualisme indirect (Vandermeer 1980; Ulanowicz 1997), la prédation intraguilde (Polis et *al.* 1989), la facilitation (Callaway 2007), la rétroaction positive (DeAngelis et *al.* 1986) la rétroaction régulatrice (Bagdassarian *et al.* 2007) et la cascade trophique (Carpenter et *al.* 2008). Certaines de ces interactions ont des capacités plus grandes que d'autres à structurer les communautés. La théorie du réseau trophique est un concept clef de l'écologie (Elton 1927; Lindeman 1942; Hairston et *al.* 1960) et c'est ce module d'interactions qui a été le plus étudié (Wajnberg et *al.* 2008), bien qu'il soit aujourd'hui considéré comme faisant partie d'un ensemble d'interactions toutes aussi importantes pour le fonctionnement des écosystèmes.

1.2.4. Les interactions multitrophiques

L'étude des interactions multitrophiques (MTI), à l'origine celles tritrophiques entre les plantes, les herbivores et leurs ennemis naturels, a permis de mettre en évidence les mécanismes moléculaires, physiologiques, écologiques et comportementales qui régissent les relations entre les organismes des différents niveaux trophiques, ainsi que d'explorer leur influence sur la dynamique des populations et sur la structure des communautés (Wajnberg *et al.* 2008). Il a ainsi été possible d'établir les bases théoriques de deux modèles déterminants de la régulation des populations: « Top-Down » (Hairston *et al.* 1960) et « Bottom-Up » (Murdoch 1966). Aujourd'hui, les écologistes s'entendent sur le fait que la régulation des populations d'herbivores procèdent à la fois du haut vers le bas (Top-Down) par l'entremise des ennemis naturels et du bas vers le haut (Bottom-Up) via les mécanismes de défense des plantes et la disponibilité des ressources (Forkner & Hunter 2000). L'importance relative de ces deux types de régulation peut varier temporellement et spatialement selon les systèmes biologiques (Gratton & Denno 2003; Denno & Gratton 2005). L'identification des facteurs qui influencent les mécanismes de régulation est d'une grande importance dans les domaines de l'écologie des populations et de la lutte biologique (Denno *et al.* 2002), la défense des plantes a été identifiée comme étant un point central des MTI.

La défense des plantes peut ainsi avoir un effet direct ou indirect sur les insectes herbivores et leurs ennemis naturels. Les attributs des plantes, structures et métabolites secondaires, peuvent influencer non seulement la capacité des insectes herbivores à localiser leur hôte mais également leur survie, leur développement et leur potentiel reproducteur. La défense des plantes peut être induite par l'attaque des herbivores et aura des conséquences directes et indirectes sur les autres membres du système MTI (Karban & Baldwin 1997; Dicke & Vet 1999; Sabelis *et al.* 1999). Ainsi, en affectant la qualité ou l'abondance d'un herbivore, la plante influence indirectement la physiologie, le comportement et le développement des organismes du troisième niveau trophique, les ennemis naturels (Benrey *et al.* 1998), voire

ceux du quatrième niveau trophique, les hyperparasitoïdes (Harvey et *al.* 2003). Lorsqu'attaquées par un herbivore, certaines plantes émettent des composés volatiles qui attirent les ennemis naturels de l'herbivore (Agrawal 2000; Dicke 1994; Turlings et *al.* 1990). Des parasitoïdes possèdent une réponse innée pour certains composés volatiles émis par les plantes (Vet et *al.* 1990) et démontrent aussi, via l'apprentissage, une flexibilité comportementale de préférence pour d'autres composés volatiles (Turlings 1993; Vet et *al.* 1995). Ces composés volatiles auraient pour origine des produits dérivés de la défense directe des plantes ou encore seraient une conséquence physico-chimique de l'herbivorie, ce qui dans les deux cas auraient favorisé les parasitoïdes capables de reconnaître ces signaux (Wajnberg et *al.* 2008). Les plantes fournissent aussi des ressources alimentaires (nectar et pollen) et offrent des refuges qui peuvent être exploités par les organismes du troisième niveau trophique. Par exemple, les espèces spontanées de vignes possèdent de nombreux poils foliaires (domatia) qui abritent des acariens détritvires de la famille des Tydeidae. Or, ces acariens s'alimentent sur les spores et les hyphes de champignons phytopathogènes causant la maladie du blanc (English-Loeb et *al.* 1999). La plante abrite ainsi des arthropodes qui la protègent contre une maladie. La plupart des cultivars de vignes utilisés en viticulture ne possèdent plus ces poils foliaires et sont donc davantage vulnérables à la maladie fongique.

Les microorganismes (champignons, protozoaires, bactéries et virus) colonisent tous les écosystèmes et jouent un rôle essentiel en entretenant une variété d'interactions directes et indirectes avec les organismes et ressources d'un système multitrophique. Par exemple, les champignons mycorhiziens à arbuscules ont un impact indirect sur les insectes phytophages en modifiant la qualité de la plante. En conséquence, les mycorhizes arbusculaires peuvent avoir un impact positif ou négatif sur les ennemis naturels des insectes phytophages (Tscharntke & Hawkins 2002a). Ainsi, en plus d'augmenter le potentiel photosynthétique et donc la taille des plantes, les champignons mycorhiziens à arbuscules modifient le rapport carbone / azote des feuilles et en changeant la composition chimique (Tscharntke & Hawkins 2002a). Par ailleurs, les champignons endophytes et endosymbiontes des plantes

(Arnold & Lutzoni 2007) peuvent avoir un impact direct sur les insectes phytophages par l'entremise de la production d'alcaloïdes (Clay 1990). Ils ont ainsi la capacité de protéger la plante, et affectent indirectement les niveaux trophiques supérieurs en modifiant la qualité de l'hôte (Omacini et al. 2001; Müller & Krauss 2005; de Sassi et al. 2006; Harri 2007; Harri et al. 2008). Des bactéries endosymbiontes et les phages qui les colonisent peuvent également augmenter la défense de l'hôte contre les parasitoïdes. Ainsi le bactériophage de la bactérie endosymbionte *Hamiltonella defensa* du puceron du pois, *Acrythosiphon pisum*, code pour une toxine ayant la capacité d'interférer avec le développement du parasitoïde *Aphidius ervi* (Oliver et al. 2009). Bactéries et champignons jouent aussi un rôle important dans la nutrition des insectes via la biosynthèse d'éléments essentiels à ceux-ci. La métagénomique a permis d'identifier les microorganismes ainsi que les gènes impliqués dans ces voies biosynthétiques (revue par Douglas 2009).

1.2.5. La dynamique spatio-temporelle des populations

Une autre dimension importante à prendre en considération dans l'étude de ces systèmes est la dynamique spatio-temporelle des populations des différents organismes qui forme un système multitrophique (Tschardtke & Hawkins 2002a). Par exemple, le succès de programmes de lutte biologique dépend de ce qui se déroule dans une population (mortalité et reproduction), mais aussi de ce qui se passe à un niveau régional : c'est-à-dire au niveau de la métapopulation (Burdon & Thrall 2004). La fragmentation, la dispersion et la dynamique d'extinction-recolonisation sont trois facteurs importants qui influencent la structure des métapopulations.

L'intensification de l'agriculture réduit considérablement la complexité des paysages, ce qui a pour conséquence de créer une mosaïque d'habitats favorables ou défavorables pour les proies/hôtes et leurs ennemis naturels (Daily et al. 2001; Tschardtke et al. 2002b; Tschardtke et al. 2005a). La perception du paysage par les parasitoïdes généralistes n'est

pas la même que pour les spécialistes; ces derniers ayant la possibilité d'utiliser une plus petite variété de ressources, ainsi la fragmentation de l'habitat aura un impact plus important sur la disponibilité des ressources utilisées par les spécialistes (Golden & Crist 1999; Tschardtke et al. 2005a; Tschardtke et al. 2005b; Rand & Tschardtke 2007). Par contre, certains parasitoïdes généralistes peuvent avoir des exigences similaires aux parasitoïdes spécialistes telle que la présence d'un couvert végétal permanent pour assurer la survie hivernale, la présence de proies alternatives ou de ressources alimentaires tels que le pollen et le nectar (Landis et al. 2000; Cronin & Reeve 2005; Bianchi et al. 2006). L'effet de la fragmentation est aussi fonction de la capacité de dispersion de l'organisme et de sa capacité de recolonisation (i.e. la dynamique d'extinction-recolonisation). La stabilité d'un système MTI dépend donc de la structure spatiale des populations de tous les membres de ce système. Par exemple, une mosaïque de plantes peut supporter plusieurs populations d'herbivores peu mobiles, alors que les parasitoïdes ayant une plus grande capacité de dispersion peuvent former une population continue et à leur tour supporter des populations d'hyperparasitoïdes moins mobiles (Tschardtke & Hawkins 2002a).

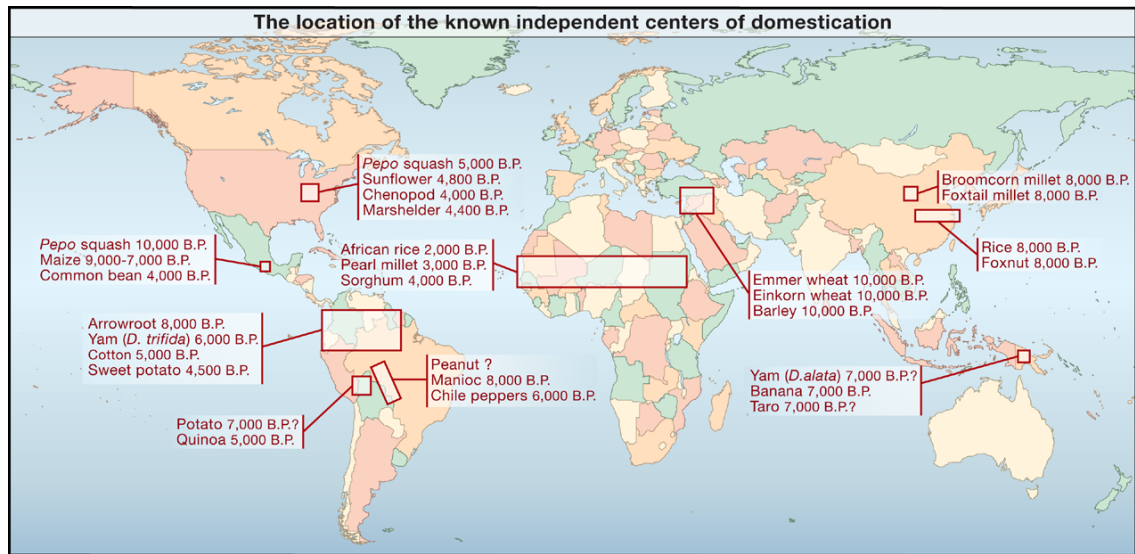


Figure 1.1: Identification géographique des centres indépendants de domestication connus jusqu'à ce jour, de leur principales plantes domestiquées ainsi que d'un estimé du moment de leur domestication (revue par Doebley et *al.* 2006).

1.2.6. Le processus de domestication

Sur la base des données archéologiques et génétiques, plusieurs centres indépendants de domestication de plantes ont été identifiés à travers le monde (Figure 1.1 : revue par Doebley et *al.* 2006). La domestication est un processus dynamique, continu impliquant tous les mécanismes de l'évolution. La sélection des plantes spontanées s'est faite sur des bases nutritionnelles, culturelles et environnementales. Le syndrome de la domestication représente toutes les caractéristiques qui distinguent les formes domestiquées de leurs ancêtres spontanés. Ainsi, la domestication des plantes dont les graines ont une valeur nutritive voient leur capacité de dispersion altérée. Les fruits ou les graines sont plus gros et les plants plus robustes, ils ont des croissances déterminées, une synchronisation florale, une réduction de la dormance des graines, une diminution de leur toxicité, et une diminution de la sensibilité aux changements photopériodiques (revue par Doebley et *al.* 2006).

Deux scénarios sont généralement acceptés pour expliquer l'émergence de l'agriculture et de la domestication des plantes. Chez certaines plantes la domestication aurait commencé dans des zones perturbées par des brûlis ou des inondations saisonnières. Ainsi l'humain aurait pu favoriser certaines plantes comestibles au détriment d'autres plantes (revue par Doebley et *al.* 2006). Les chasseurs-cueilleurs pouvaient ensemercer ces zones ouvertes avec des semences récoltées les saisons précédentes. Cette pratique une fois implantée permettait par la sélection de certains phénotypes le changement de la fréquence des allèles dans les populations de plantes. Les campements temporaires des chasseurs-cueilleurs, établis le long de leur route de migration saisonnière, ont également été des terrains propices pour certaines plantes. En amenant les plantes à valeur nutritive au campement, certaines plantes auraient pu profiter de cette dispersion en milieu perturbé par l'humain pour se développer. En revenant chaque année au même site et durant la même période il est possible que les fruits ou les graines aient été récoltés préférentiellement. Ce processus aura eu l'effet d'un goulot d'étranglement (revue par Doebley et *al.* 2006).

L'émergence de l'agriculture coïncide avec un contexte écologique particulier, celui du changement rapide et significatif du climat, de la végétation et de la faune (revue par Gremillion & Piperno 2009). En utilisant le modèle de « diet breadth » ces auteurs expliquent que le passage à la production alimentaire serait dû au remplacement de la mégafaune par de plus petits animaux dispersés dans une savane devenue forêt tropicale. Ce modèle abondamment utilisé en entomologie (Fox & Morrow 1981; Jermy 1984; Bernays & Graham 1988; Rausher 1992; Bernays & Chapman 1994) permet de prédire la diète la plus profitable pour un individu en évaluant le rapport coût et bénéfices selon les caractéristiques du milieu. Ainsi, la production alimentaire serait devenue une stratégie plus efficace pour les populations humaines de cette époque.

Le changement rapide et significatif du climat, de la végétation et de la faune au moment de l'émergence de l'agriculture aurait induit l'expression de nouveaux phénotypes

antérieurement restés cryptiques et ainsi favorisé leur sélection par les populations humaines (Grimillon & Piperno 2009). La génomique comparative (ancêtre spontané vs plante domestiquée) a permis d'identifier les gènes impliqués dans les différences phénotypiques. Ces gènes sont principalement impliqués dans la régulation de la transcription (revue par Doebley et *al.* 2006). Il existerait donc un pool de variation cryptique pouvant être induit par l'environnement et cela pourrait se réaliser en une seule génération par l'activation de gènes régulateurs de l'expression génique (Gremillion & Piperno 2009).

La relation particulière entre les plantes domestiquées et les humains a habituellement eu pour conséquence d'augmenter l'aire de répartition de ces dernières, ainsi que d'augmenter la taille de leurs populations (Zeder et *al.* 2006). L'effet est semblable pour l'humain, qui par l'agriculture a pu augmenter la taille de ses populations en assurant un tampon vis-à-vis des fluctuations environnementales et coloniser de nouveaux habitats (Zeder et *al.* 2006). Depuis le début de la domestication le système agraire s'est continuellement modifié pour aussi modifier le réseau d'interactions écologiques qui le constitue.

1.3. Section II : Quantifier l'évolution

La génétique et l'écologie évolutive ont beaucoup apporté à la compréhension des systèmes biologiques. Ainsi, l'étude d'un système hôte-parasitoïde permet au moyen du diagnostic moléculaire de mieux évaluer le spectre d'hôtes, de connaître la structure génétique des populations des organismes impliqués, d'identifier les routes d'invasion et origines des organismes, de reconnaître les changements évolutifs et écologiques importants ayant eu lieu dans l'histoire récente et ancienne des organismes. Cette approche permet d'explorer les conséquences des activités anthropogéniques (associées au transport de marchandises, à l'utilisation de pesticides, à la fragmentation de l'habitat, à la domestication des organismes, etc.) en évaluant de manière quantitative leur impact sur la

diversité génétique des organismes en cause. De plus, l'expertise taxonomique nécessaire à l'identification des espèces d'arthropodes se fait rare. D'autant plus chez les parasitoïdes, les caractères morphologiques utilisés pour reconnaître la présence d'isolement reproductif sont impossibles à distinguer chez plusieurs espèces. C'est pourquoi la taxonomie moléculaire s'avère un outil puissant (Bellows & Fisher 1999).

1.3.1. La génétique des populations

Les processus populationnels issus des interactions multitrophiques sont des facteurs déterminants de l'évolution des organismes. La génétique des populations est une approche qui permet de s'intéresser à tous les processus populationnels en quantifiant l'influence qu'ils ont sur l'organisation de la diversité génétique des populations et donc de l'évolution des organismes vivants. Cette discipline prend ses racines dans la théorie synthétique de l'évolution (Fisher 1930; Haldane 1932; Wright 1931), une synthèse de la théorie de l'évolution de Darwin (basée sur la sélection naturelle) et de la théorie de l'héritabilité de Mandel. Les modèles mathématiques font partie intégrante de cette discipline et permettent d'expliquer les mécanismes (i.e. la mutation, la dérive génétique, la sélection et la migration) par lesquels les populations évoluent.

La mutation est un processus qui modifie un allèle (Balding *et al.* 2003). Ainsi, les mutations augmentent le nombre d'allèles dans une population donnée et s'accumulent avec le temps (Haldane 1937; Muller 1950; Chao 1990). Dès les années soixante, la diversité moléculaire observée suite aux premières séquences protéiques était considérée trop importante pour n'être que le fruit de la sélection naturelle; elle devait plutôt comporter une composante majoritairement neutre (Kimura 1968; King & Juke 1969). C'est dans cette optique que Kimura (1983) proposa la théorie neutre de l'évolution selon laquelle la diversité génétique est le résultat de processus stochastiques (i.e. la dérive génétique) puisque les mutations qui apparaissent dans une population sont majoritairement ou

presque neutres et sont fixées ou perdues de manière stochastique puisque la taille efficace (N_e) des populations est généralement petite.

Dans une population de taille finie, le processus stochastique d'échantillonnage des gamètes causé par la reproduction d'un nombre limité d'individus, change la fréquence des allèles d'une génération à l'autre (i.e. la dérive génétique). À long terme, ce processus engendre la fixation d'allèles et résulte en une perte de diversité génétique (Buri 1956). À l'état d'équilibre, le processus de mutation compense la perte de diversité génétique engendrée par la dérive génétique (Kimura 1968). La mutation et la dérive génétique augmentent la divergence entre les populations.

La sélection s'opère lorsque des individus aux génotypes différents présentent un succès reproductif différent et contribuent de manière inégale à la constitution génotypique de la génération suivante (Hartl & Clark 2007). La sélection engendre ainsi un changement dans la fréquence des allèles au cours des générations et cela au niveau du gène sous pression de sélection puisque seulement les gènes ou les loci liés à ce gène seront affectés. La sélection est positive, négative ou balancée lorsque le polymorphisme est avantageux. La sélection positive aura pour conséquence de faire évoluer rapidement (en quelques générations) la fréquence allélique d'une population jusqu'à sa fixation ce qui mène à l'adaptation locale (Salemi & Vandamme 2003). Selon la théorie neutre de l'évolution, peu de mutations seront fixées sous l'effet de la sélection positive (Salemi & Vandamme 2003).

La migration est le mouvement des allèles d'une population à une autre. Pour qu'il y ait migration, les nouveaux arrivants doivent engendrer une descendance. Ainsi lorsque les allèles diffèrent de la population source à la population puits, la migration engendre un changement dans la fréquence allélique de la population. La migration tend à homogénéiser les populations selon son importance et contribue donc à réduire la divergence entre les

populations (Wright 1940). Par contre, la pression de sélection peut empêcher la reproduction des nouveaux arrivants.

La taille efficace des populations est un concept clef de la génétique des populations (Crow & Kimura 1970). La taille d'une population est le nombre total d'individus d'une population donnée, ce nombre ne représente pas le nombre d'individus participant à la reproduction et ne peut donc pas être utilisé en génétique des populations afin d'estimer son effet sur la capacité de la population à évoluer. La taille efficace est une valeur qui prend en considération les facteurs influençant la condition de reproduction des individus et leur participation à la génétique des individus de la génération suivante (Wright 1931). Ces facteurs sont entre autres le ratio mâle / femelle, la variance du succès reproducteur, la structure d'âge de la population et les processus d'extinction locale (Crow & Kimura 1970; Whitlock & Barton 1997; Wright 1969). La N_e d'une population subdivisée en sous-populations (dèmes) peut être plus grande que la N_e de la population totale dans le cas où la migration reste relativement faible. Dans ce cas, la dérive génétique agit rapidement sur les dèmes et lentement sur la population totale, ce qui a pour conséquence de permettre une grande rétention d'allèles anciens puisque chaque dème subit de manière indépendante la dérive génétique (Nei & Takahata 1993).

La démographie est intrinsèquement liée aux mécanismes de l'évolution par son influence directe sur la N_e des populations. La structure démographique fait référence aux processus qui influencent le nombre et la distribution de classes phénotypiques telles que les groupes d'âge, les sexes, les différents variants de traits d'histoire de vie (Roderick 1996), alors que les processus démographiques font référence à la naissance, la mort, l'immigration et l'émigration (Roderick 1996). Les événements démographiques (i.e. le goulot d'étranglement, l'effet fondateur, l'expansion, la réduction ou la stabilité à travers le temps) ayant eu cours dans l'histoire récente des populations laissent une signature au niveau de l'organisation de la diversité génétique des populations. Il est possible, sous certaines

conditions, d'inférer à partir de la structure génétique des populations sur la structure démographique et l'histoire démographique récente des populations. Le nombre de générations avant lesquelles il sera possible d'observer une généalogie monophylétique à l'aide de marqueurs moléculaires dépend essentiellement de la N_e de cette population (Avice 2000).

1.3.2. L'analyse phylogénétique des données moléculaires

Contrairement à la génétique des populations, la phylogénie s'intéresse à l'évolution des organismes à long terme (i.e. macroévolution) en se basant sur le taux de substitution. Les fondements conceptuels de la phylogénie ont été posés en 1950 par Hennig. Cette discipline a pour but d'estimer des relations évolutives entre organismes et cela aux différents niveaux taxonomiques que sont les individus, les populations, les espèces, et autres groupements taxonomiques de plus en plus éloignés, avec comme objectif de reconstruire l'arbre de la vie. La relation entre gènes homologues (i.e. partageant un ancêtre commun) se fait à partir de mutation, de délétion et d'insertion, alors que d'autres sources de variation sont dues à la recombinaison, la duplication et la réorganisation du génome (Salemi & Vandamme 2003). Le défi consiste à utiliser des marqueurs permettant de bien distinguer les groupes taxonomiques à l'étude. Il existe une zone optimale de divergence ou similitude, c'est-à-dire une zone où l'homoplasie ne brouille pas le signal phylogénétique et permet la discrimination de taxons éloignés, tout en générant assez de divergence pour discriminer les taxons apparentés (Bellows & Fisher 1999). En relation avec des données de la paléobiologie et de la géologie, les arbres phylogénétiques permettent d'inférer sur l'histoire ancienne des organismes (i.e. radiation, extinction, spéciation, changement d'hôte, etc.).

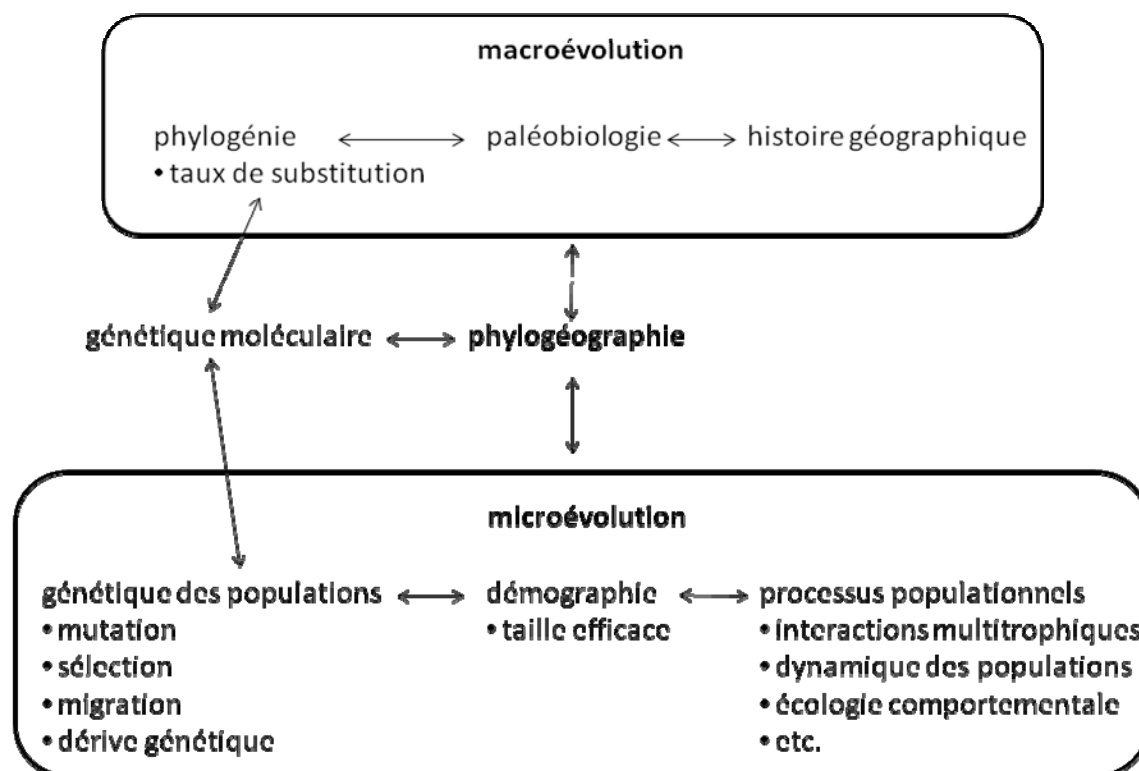


Figure 1.2 : La phylogéographie fait le pont entre la macroévolution et la microévolution des organismes. La macroévolution s'intéresse à l'histoire ancienne des organismes par l'étude des relations phylogénétiques basées sur le taux de substitution des séquences d'ADN et l'étude des processus historiques étudiés en paléobiologie et géologie. Tandis que la microévolution s'intéresse à tous processus populationnels par l'étude des mécanismes responsables de l'évolution des populations (mutation, sélection, migration, dérive génétique) dans son contexte démographie (adapté de Avise 2000).

1.3.3. La phylogéographie

En reconstruisant l'histoire ancienne et récente des organismes, la phylogéographie intègre l'information issue de la phylogénie et de la génétique des populations (Figure 1.2). Le terme phylogéographie a été introduit en 1987 par Avise et ses collaborateurs pour rendre compte d'une discipline émergente et toujours plus importante (Avise et *al.* 2009,

Hickerson et *al.* 2010). La phylogéographie se base sur l'analyse de la variation de caractères héréditaires et s'est particulièrement développée avec l'avenue de la génétique moléculaire. Sa résolution est maximale lorsque l'analyse se situe au niveau des populations d'un ensemble de taxons et couvre l'ensemble de l'aire de répartition des organismes étudiés. Dans ce cas on parle de paysage génétique et l'étude peut être conduite sans *a priori* (i.e. définition de populations) afin d'identifier les facteurs environnementaux et écologiques responsables de l'organisation génétique des populations (Manel et *al.* 2003).

La phylogéographie comparée (Bermingham & Avise 1986) offre l'opportunité d'explorer et de tester des hypothèses relatives à l'histoire évolutive d'un ensemble d'organismes en s'intéressant à leurs similitudes (Avise 1992; Bernatchez & Wilson 1998; Schneider et *al.* 1998) et différences (Zink 1996; Bernatchez & Wilson 1998) au niveau de l'organisation de la diversité génétique de leurs populations. Ainsi, par cette approche il est possible de faire des liens de cause à effet entre ce qui pourrait être considéré comme des traitements évolutifs tels que des phénomènes géographiques, géologiques, climatologiques et écologiques affectant la distribution de la diversité génétique (Hickerson et *al.* 2010). Cette discipline prend ses racines dans la biogéographie, laquelle est traditionnellement séparée en deux domaines, historique et écologique (Myers & Giller 1988). La répartition des espèces ou groupe d'espèces sur une échelle spatiale et temporelle est du domaine de la biogéographie historique alors que la répartition des espèces due aux interactions écologiques (< 10 000 ans) est du domaine de la biogéographie écologique (Myers & Giller 1988).

1.3.4. La mitochondrie comme marqueur moléculaire

Les gènes mitochondriaux ont été largement utilisés comme marqueurs moléculaires dans les études de biogéographie. Les organismes diploïdes possèdent une paire de

chromosome par cellules somatiques alors que ces mêmes cellules possèdent généralement de quelques centaines à plusieurs milliers de mitochondries qui sont généralement haploïdes étant donné que seulement quelques mitochondries sont transmises par les femelles. Les marqueurs mitochondriaux possèdent une taille efficace quatre fois plus petite que celle des marqueurs nucléaires, dans le cas d'organismes diploïdes et trois fois plus petite pour les organismes haplo-diploïdes tel que les hyménoptères parasitoïdes. Ainsi les populations se différencient en moins de générations sous l'effet de la dérive génétique lorsque des marqueurs mitochondriaux sont utilisés. La mitochondrie ne présente habituellement pas de recombinaison ce qui permet d'utiliser les séquences polymorphes comme des haplotypes uniques (Avisé 2000). Certaines situations peuvent compliquer l'utilisation de ces marqueurs tel que la présence d'endosymbiontes (F. Sperling, communication personnelle), de copies nucléaires de séquences mitochondriales (numts : Bensasson et *al.* 2001) et de la coexistence de plusieurs haplotypes mitochondriaux dans un même individu dû à l'hétéroplasmie (Magnacca & Brown 2010). Chez les oiseaux et les mammifères, les régions codantes de la mitochondrie possèdent un taux de substitution habituellement de l'ordre de 0.01 substitution / site / million d'années soit ~1% de divergence par million d'années (Brown et *al.* 1979; Shields & Wilson 1987; Ho et *al.* 2007) alors que la région non-codante de la mitochondrie (i.e. D-loop) possède généralement un plus haut taux de substitution (Pesole et *al.* 1992; Quinn 1993). Les marqueurs mitochondriaux possèdent l'avantage d'avoir une variabilité intra-spécifique considérable, ce qui permet de l'utiliser pour retrouver un signal phylogéographique (Cox & Hebert 2001; Wares & Cunningham 2001a,b)

1.4. Section III : Le système à l'étude

Le Mexique a été récemment identifié comme étant le centre présumé de domestication du haricot commun (*P. vulgaris*), ce qui en fait un site privilégié pour explorer et tester des hypothèses en lien avec l'histoire évolutive des organismes associés à cette plante par l'étude de l'organisation spatial de la diversité génétique des populations. Le système à

l'étude possède potentiellement jusqu'à quatre niveaux trophiques par la présence de la bactérie endosymbionte *Wolbachia* spp. chez les parasitoïdes. Ainsi le troisième niveau trophique est composé de quatre espèces de parasitoïdes (*H. depressus*, *H. missouriensis*, *H. butcheri* et *Horismenus* sp.), puis le deuxième niveau trophique est composé de quatre espèces de bruche du haricot (*A. obvelatus*, *A. obtectus*, *Z. sylverstris* et *Z. subfasciatus*) et l'on retrouve pour premier niveau trophique deux espèces de haricot domestiqué (*P. vulgaris* et *P. coccineus*). Le projet de recherche présenté dans ce mémoire porte sur l'étude de l'organisation spatiale de la diversité génétique des populations des quatre espèces de parasitoïdes du genre *Horismenus* de bruche du haricot.

1.4.1. Histoire ancienne

Le paysage où l'étude se déroule se distingue de par son histoire géologique complexe (Ferrusquía-Villafranca 1998). L'Altiplano mexicain est traversé par plusieurs formations de montagnes relativement récentes pour le continent Nord américain ~ 65 millions d'années: La Sierra Madre Occidentale, la Sierra Madre Orientale, la Sierra Madre del Sur ainsi que la Ceinture Volcanique Trans-Mexicaine (Maldonado-Koerdell 1964; Brouillet & Whetstone 1993).

Le genre *Phaseolus* a pour centre d'origine la Mésoamérique dont fait parti l'Altiplano mexicain (Delgado-Salinas et al. 2006). Parmi les taxons apparentés au haricot commun on retrouve *P. coccineus*, *P. costariensis*, *P. dumosus*, *P. albescens* (Delgado-Salinas et al. 2006). Le temps de divergence entre *P. vulgaris* et ses espèces sœurs a été estimé à 2 million d'années à partir de la séquence du gène inhibiteur de l' α -amylase (Gepts et al. 1999) et à 1,3 million d'années à partir des séquences d'un fragment de gène du chloroplaste ITS (Chacón et al. 2005). Donc cette espèce est beaucoup moins âgée que l'ouverture du passage de l'Isthme de Panamá qui a donné lieu au « Great American Biotic Interchange » à la fin du Miocène (7,1 million d'années : Coates et al. 2004).

Les relations plantes-insectes qui mettent en évidence les insectes de la super famille des Chrysomeloidea (Coleoptera) ont été largement étudiées. On associe la diversité de ce groupe à la diversification des angiospermes car chacune des parties de la fleur est utilisée comme source de nourriture par les formes larvaires (Johnson 1981). Certains chercheurs expliquent ce rythme de diversification par les processus de radiation adaptative (Simpson 1953; Schluter 2000), de radiation séquentielle (Abrahamson et al. 2003) ou encore par le processus de coévolution (i.e l'adaptation des plantes en réponse à l'adaptation des insectes aux différentes stratégies de défense de ces dernières: Ehrlich & Raven 1964; Futuyma 1983; Becerra 2003). Dans ce groupe on retrouve entre autres les granivores et particulièrement les Bruchidae qui se sont spécialisés sur certains sous-groupes de la famille des légumineuses (Fabacea).

Les bruches (Bruchidae) appartiennent à deux clades distincts (50-40 million d'années) selon qu'elles originent du Nouveau Monde ou de l'Ancien Monde (Kergoat et al. 2005). Le plus vieux fossile trouvé remonte à 50 million d'années (Archibald & Matheuses 2000). Jusqu'à maintenant, 1700 espèces ont été décrites dans 60 genres (Southgate 1979). Les bruches sont principalement associées à la famille des Fabaceae (i.e. légumineuse). Les larves de ce groupe se développent à l'intérieur des graines jusqu'au stade adulte. Il existe un conservatisme dans l'utilisation de plantes qui se situerait au niveau d'un sous groupe d'espèce de Fabaceae avec quelques cas de changements de plante hôtes, particulièrement chez le genre *Acanthoscelides* (Kergoat et al. 2005). Le signal phylogénétique de coévolution s'expliquerait par la présence d'un mécanisme de détoxification partagé entre espèces apparentées de bruches contre des défenses des plantes ayant des origines communes (Kergoat et al. 2005). Le passage des bruches aux milieux de stockage aurait été particulièrement facilité chez les bruches possédant déjà les adaptations nécessaires pour vivre dans les milieux arides (Tuda et al. 2006).

Le genre *Horismenus* fait partie de la super famille des Chalcidoidea (Hymenoptera) dont 21 000 espèces ont été décrites appartenant à 19 familles et 89 sous-familles (Gauthier et al. 2000). La sous-famille des Eulophidae (Hymenoptera : Chalcidoidea) est un groupe de parasitoïdes particulièrement intéressants puisqu'il possède une grande variété de traits d'histoire de vie. Il existe une abondante littérature scientifique sur ce groupe issue du milieu de la recherche fondamentale mais aussi de la lutte biologique (Gauthier et al. 2000).

1.4.2. Histoire récente

Aujourd'hui, les populations de haricot commun sont génétiquement structurées par le processus biogéographique de dispersion alors que les populations de haricots spontanés sont structurées par le processus biogéographique de vicariance (Kwak et al. 2009, Papa & Gepts 2003). Les populations de haricots domestiqués ne sont pas organisées selon un patron d'isolement par la distance, alors que les populations de leur ancêtre spontané sont structurées géographiquement selon un patron d'isolement par la distance (Kwak et al. 2009, Papa & Gepts 2003). La migration engendrée par l'humain a été identifiée comme étant le mécanisme explicatif de la faible différenciation sur une longue distance des populations de la bruche du haricot, *A. obvelatus* et *A. obtectus* (Restoux et al. 2010, Alvarez et al. 2007).

1.5. Hypothèses

Ce projet de recherche, réalisé dans le contexte intégrateur de la phylogéographie comparée et des interactions multitrophiques, a pour but d'explorer l'histoire évolutive de quatre espèces de parasitoïdes du genre *Horismenus* (Hymenoptera : Eulophidae) qui parasitent les bruches du haricot (Coleoptera : Bruchidae) au Mexique. La migration par l'entremise de l'humain a joué un rôle important dans la détermination de la structure génétique des populations de haricot et de la bruche du haricot. Nos prédictions sont les

suivantes : (1) puisque les parasitoïdes complètent leur développement à l'intérieur de leurs hôtes, la structure génétique des populations de parasitoïdes devrait ressembler à celle de leur hôtes et être également influencée par la migration induite par l'homme. (2) Compte tenu des stratégies de manipulation reproductrice utilisées par la bactérie endosymbionte *Wolbachia* spp. pour assurer sa transmission, la structure génétique des populations de parasitoïdes inférée par le génome mitochondrial devrait être altérée chez les populations infectées par la bactérie du fait de la transmission conjointe des mitochondries et des bactéries.

1.6. Objectifs

Cette étude a été menée sur une petite échelle géographique au sein du présumé centre de domestication du haricot commun afin d'identifier les processus de la microévolution impliqués dans l'organisation de la structure génétique des parasitoïdes. Afin de réaliser cet objectif, quatre espèces de parasitoïdes du genre *Horismenus* (*H. depressus*, *H. missouriensis*, *H. butcheri* et *Horismenus* sp.) ont été analysées et criblées pour la présence de l'endosymbionte *Wolbachia* spp. dans le but de déterminer la structures génétiques de leurs populations et de comparer les structures détectées à celles précédemment publiées chez le haricot commun et les bruches. La diversité génétique des quatre espèces de parasitoïdes a été établie à partir d'un fragment du gène mitochondrial COI. Ainsi, l'ADN mitochondriale a été utilisé pour identifier les facteurs historiques et contemporains ayant pu influencer la structure génétique des parasitoïdes. Finalement, la comparaison entre les membres d'un même niveau trophique donné et entre les membres de niveaux trophiques inférieurs et supérieurs a été accomplie en relation avec les régions géographiques des populations dans le but de détecter des tendances communes dans l'organisation de la diversité génétique de leurs populations.

2. Chapitre 2: Inconsistent genetic structure among members of a multitrophic system: did bruchid parasitoids (*Horismenus* spp.) escape from the effects of bean domestication?

Simon Laurin-Lemay¹, Bernard Angers¹, Betty Benrey^{2*} and Jacques Brodeur¹

1-Department of Biological Sciences, Université de Montréal. C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7.

2-Laboratoire d'Entomologie Évolutive, Université de Neuchâtel, 11 rue Emile-Argand, C. P. 158, CH-2009, Neuchâtel, Switzerland. Phone: ++41 (0) 32 718 3132, Fax: ++41 (0) 32 718 3001, E-mail:

* Corresponding author: Betty Benrey

Key words: *Horismenus* spp., *Wolbachia* spp. endosymbionts, domestication process, multitrophic interactions, phylogeography, parasitoid population genetics

Running title: Population genetic structure of bruchid parasitoids

Résumé

Cette étude vise à comparer l'histoire évolutive des parasitoïdes du genre *Horismenus* (Hymenoptera: Eulophidae) à celle de leurs hôtes bruches (Coleoptera: Bruchidae) et plante hôte (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivée dans le contexte de l'agriculture traditionnelle au sein de son centre de domestication Mésoaméricain. Nous avons analysé la structure génétique des populations de quatre espèces de parasitoïdes au Mexique, en utilisant un fragment du gène mitochondrial COI afin de les comparer aux structures précédemment publiées des hôtes bruches et du haricot commun. Les deux espèces de parasitoïdes les plus abondantes sont *H. depressus* et *H. missouriensis*; alors que les espèces *H. butcheri* et *H. sp.* étaient trop peu nombreuses pour être utilement analysées. Les populations de *H. missouriensis* sont infectées par l'endosymbionte *Wolbachia* spp. et ne sont pas différenciées ($F_{ST} = 0.06$). L'histoire mitochondriale de *H. missouriensis* est masquée par la présence de *Wolbachia* spp. En dépit d'une importante migration entremise par l'humain, engendrant l'homogénéisation de la structure des populations des hôtes bruches *Acanthoscelides*, les populations de *H. depressus* sont hautement différenciées ($F_{ST} = 0.34$) étant donné l'absence de flux génique et sont structurées, tel que leur plante hôte, par une récente dispersion aléatoire à partir d'un pool génique ancestral hautement diversifié. La structure observée dans les populations de *H. depressus* n'a pas pu être expliquée par aucune composantes spatiales testées et contrairement à sa plante hôte domestiquée, les parasitoïdes proviennent probablement des populations de haricot spontanés en bordure des champs cultivés. L'intégration de plusieurs niveaux trophiques à l'étude de l'histoire évolutive s'est avérée fructueuse dans la détection des différentes réponses écologiques face aux perturbations entremises par l'humain et les interactions hôtes-parasites, mais montre aussi la pertinence d'analyser les systèmes écologiques complexes dans leur ensemble.

Abstract

This study aims to compare the evolutionary history of *Horismenus* parasitoids (Hymenoptera: Eulophidae) to that of their bruchid beetle hosts (Coleoptera: Bruchidae) and their domesticated host plant (*Phaseolus vulgaris* L.) in the context of traditional agriculture within their Mesoamerican center of domestication. We analyzed the population genetic structure of four *Horismenus* species in Mexico using COI mitochondrial gene fragments and compared the structures to previously published data on bean plant and beetle hosts. The two most abundant parasitoid species were *H. depressus* and *H. missouriensis*; while populations of *H. butcheri* and *H. sp.* were too few to be meaningfully analyzed. *Horismenus missouriensis* populations were infected by *Wolbachia* spp. endosymbionts and had little to no differentiation ($F_{ST} = 0.06$). The mitochondrial history of *H. missouriensis* was then blurred by *Wolbachia* spp. In spite of an extensive human-mediated migration, homogenizing the population structure of *Acanthoscelides* beetle hosts, *H. depressus* populations are highly differentiated ($F_{ST} = 0.34$) following unsuccessful gene flow and structured, like its host plant, by a recent random dispersal from a highly diversified ancestral gene pool. The structure observed within *H. depressus* populations could not be explained by tested spatial components and contrarily to its domesticated host plant, parasitoids likely come from wild bean populations at crop field borders. Integrating multitrophic level to the study of evolutionary history has proved to be fruitful in detecting different ecological responses face to human-mediated disturbances and host-parasite interactions, but also points out the necessity of analyzing complex ecological systems as a whole.

2.1. Introduction

Interactions among community members are the driving force behind natural and human-mediated ecosystems [reviewed in Tschardtke & Hawkins (2002)]. Comparative studies using crops and their wild relatives have revealed that trophic interactions between plants, herbivores and their natural enemies can be significantly altered by selection on plant attributes during the domestication process [reviewed in Macfadyen & Bohan (2010)]. For example, seed damage by larvae of the sunflower seed moth, *Homoeosoma electellum*, was found to be 20 times higher on cultivated flowers than on their wild relatives. However, the parasitoid, *Dolichogenidea homoeosomae*, was more likely to parasitize seed moth larvae on wild plants because the parasitoid's ovipositor is too weak to penetrate seeds of cultivated plants (Chen & Welter 2007). Anthropogenic range expansion and cultural practices have further modified the distribution, abundance and genetic diversity of domesticated organisms [reviewed in Doebley et al. (2006)], thereby altering multitrophic assemblages through space and time (Macfadyen & Bohan 2010). Microorganisms associated with members of a biological system represent additional layers of interactions and are strongly linked to the evolutionary outcome of multitrophic assemblages (Dicke 1996).

When studying the evolutionary history of an organism, population genetics can be used to reveal contemporary factors (demographic processes, migration and selection), while historical events (colonization, dispersal, speciation and extinction), recent or ancient, can be recovered by determining spatial patterning of the gene genealogy (Hickerson et al. 2010). Furthermore, incongruities in genetic structures arising from comparative phylogeography can reveal the relative influence of strong ecological interactions (Hickerson et al. 2010) or variation in life history traits (Barrett et al. 2008) among members of a multitrophic assemblage.

Mexico, the putative Mesoamerican domestication center of the common bean, *Phaseolus vulgaris* L. (Kwak et al. 2009), is an ideal region to investigate the effects of plant domestication on the genetic structure of members of a multitrophic system. As described below, human-mediated migration has been identified as an important evolutionary factor

influencing the genetic structure of both the beans and their associated beetle populations (Restoux *et al.* 2010; Kwak & Gepts 2009; Alvarez *et al.* 2007; Papa & Gepts 2003). In the present study we moved to the upper trophic level and explored the recent evolutionary history of beetle parasitoids. The results are then compared to those from the plant and the herbivorous hosts to determine if the population genetic structure of the organisms is congruent across trophic levels. We predicted that because parasitoids complete their development within the beetle host, the genetic structure of both the host and the parasitoid would be similar or equally influenced by human-mediated migration. As a secondary hypothesis, we predicted a bias in the genetic structure of parasitoid populations infected by the bacterial endosymbiont *Wolbachia* spp., due to both the hitchhiking effect of maternally inherited mtDNA haplotypes and the reproductive manipulation strategies used by the bacteria to enhance and spread infection in host populations.

2.2. The multitrophic system

The plant: Beans (Leguminosae: *Phaseolus* spp.) are the most important grain legumes for direct human consumption in the world (Broughton 2003). Common beans, *Phaseolus vulgaris* L., are the primary source of protein in Mexico, with 67% of the crop being produced on small farms (< 5 ha) (Broughton 2003). Common beans are predominantly autogamous (self-fertilizing), unlike their close relative, the scarlet runner beans, (*Phaseolus coccineus* L.), which are allogamous (cross-fertilizing). Cultivated bean populations from the Mesoamerican gene pool are now structured by the biogeographical process of dispersal while their wild relatives are structured by vicariance (Kwak & Gepts 2009; Papa & Gepts 2003).

The beetles: Bruchid beetles (Coleoptera: Bruchidae) are among the most important pests of bean seeds in Mexico. Bruchids develop inside the bean from the first instar to the adult stage. Two *Acanthoscelides* species feed on both *P. vulgaris* and *P. coccineus* bean seeds in Mexico. *Acanthoscelides obvelatus* Bridwell is univoltine (Alvarez *et al.* 2005b) and mostly found on wild beans and at higher altitudes than its sibling species *A. obtectus* Say (Alvarez *et al.* 2005a). The multivoltine status of *A. obtectus* is likely to have favored its adaptation to grain stores (Alvarez *et al.* 2005b). For both *Acanthoscelides* species, human-

mediated migration has been proposed to explain the low genetic differentiation of beetle populations over long distances and the absence of a significant isolation-by-distance (IBD) pattern found among populations of *A. obvelatus* associated to domesticated beans in Mexico (Restoux et al. 2010, Alvarez et al. 2007). Two *Zabrotes* beetle species, *Z. subfasciatus* Boheman and *Z. sylverstris*, also feed on *P. vulgaris* in Mexico (Romero & Johnson 1999), with *Z. sylverstris* being the predominant *Zabrotes* species on *P. vulgaris* between 1200 m to 2000 m (Aebi et al. 2008).

The parasitoids: Members of the genus *Horismenus* Walker (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae: Entedoninae) are the most abundant parasitoids associated with wild and domesticated beans in Mexico (Hansson et al. 2004). This genus includes parasitoids and hyperparasitoids known to attack Lepidoptera, Coleoptera, and Hymenoptera larvae. Four *Horismenus* species (*H. butcheri* Hansson, Aebi & Benrey, *H. depressus* Gahan, *H. missouriensis* Ashmead and *H. productus* Ashmead) have been identified from beans infested by *A. obvelatus*, *A. obtectus*, *Z. subfasciatus* and *Z. sylverstris* in Mexico (Bonet 2009).

Endosymbionts: The intracellular endosymbiont alpha-proteobacteria *Wolbachia* is commonly found in numerous arthropod species (Hilgenboecker et al. 2008). These bacteria can modify reproductive success of their host through reproductive manipulation strategies such as male-killing (Hurst et al. 1999), male feminization (Rigaud et al. 1991) cytoplasmic incompatibility (Yen & Barr 1973) and induction of thelytokous parthenogenesis (Stouthamer et al. 1997). Because endosymbiotic bacteria are transmitted maternally (much like mitochondria), the hitchhiking effect associated with *Wolbachia* tends to alter the frequency distribution of mtDNA haplotypes of its host populations (i.e. Charlat et al. 2009).

2.3. Objectives

The aim of this study was to identify contemporary (human-mediated gene flow) and historical (past fragmentation, dispersion, etc.) factors that may have shaped the genetic

structure of parasitoid populations in domesticated beans across the Mexican Altiplano. Three species of *Horismenus* parasitoids were first morphologically and genetically identified. The trophic links to the host plant and bruchid hosts were then established and abiotic factors (longitude, latitude and altitude) were tested as explanatory variables structuring the communities. Partition of the genetic diversity was next inferred from a fragment of the COI gene (mtDNA). Finally, genetic characterization of the communities was completed by screening for the presence of *Wolbachia* spp. endosymbionts.

2.4. Material and Methods

2.4.1. Parasitoid collection

Sixty sites were sampled during the dry season from January to March 2008, ranging from latitude 18°33'38.4" to 20°03'47.8"N and from longitude 97°28'11.3" to 101°49'43.8"W, in the Altiplano of southern Mexico characterized by high altitudes (see Table 2.1). With the aim of identifying historical and contemporary factors structuring the genetic diversity of *Horismenus* spp. at the scale of microevolutionary processes, three regions were targeted for sampling, A, B and C (Figure 2.1), to provide a set of short and long geographical distances between populations. The sampling scheme was designed to target small producers of local bean varieties (*P. vulagris* and *P. coccineus*) in order to maximize the probability of finding infested beans, as the use of pesticides is common in larger, commercial fields. Farmers typically harvest their crops from August to February. Beans were either sampled in the field, collected from plants left over following harvest, or bought directly from farmers or at local markets. GPS coordinates and altitude for each sampling site were either recorded in the field or deduced from information provided by farmers. One to two kilograms of dry beans per site were brought back to the laboratory, placed into 1L plastic containers with holes for ventilation, and stored at room temperature (18 to 25°C). Emerged parasitoids and beetles were removed every 2-3 days and observations were followed for 14 days after the last emergence. Parasitoids were individually preserved in vials with 100% ethanol for DNA extraction and beetles were identified to genus. Only 16 out of the 60 sample sites, ranging from 1290 to 2402 meters in altitude and appertaining to the three regions targeted, were retained for further analysis; to be considered, populations had to have produced more than six individuals ($n \geq 6$) from a

single *Horismenus* species. Field collections from previous and ongoing studies indicate that beans collected in the Mexican Altiplano are infested primarily by *Acanthoscelides* beetles (Alvarez et al. 2005a). Accordingly, most of the parasitoids examined in this study emerged from *Acanthoscelides*-infested seeds (Table 2.1).

2.4.2. Parasitoid identification and community structure

Individuals from the *Horismenus* complex, the most abundant parasitoids emerging from beetle-infested beans (87% of all emerging parasitoids; N = 730, Table 2.1), were identified according to a taxonomic key based on morphological traits (Hansson et al. 2004). A fourth rare species was discovered when morphological identifications were validated using mtDNA. This species is currently being identified using both morphological and genetic characters (S. Kenyon, personal communication).

Spatial variation of species abundance (by sampling site) from the *Horismenus* complex was analyzed using principal component analyses (PCA). The effects of abiotic (altitude, longitude, latitude) and biotic (host plant species, beetle host genus) factors on *Horismenus* complex were tested using the redundancy analysis (RDA) model with Forward selection procedure. Prior to PCA and RDA, Hellinger transformations (Legendre & Gallagher 2001) were applied to the matrix of species abundance using the R language package “Vegan” (Oksanen et al. 2008). Forward selection implemented in the “Packfor” package (Dray et al. 2005) under the “forward.sel” function was also performed in the R language to determine the relative importance of abiotic and biotic factors by adding most significant factors one at the time to the linear model used in the RDA.

2.4.3. DNA extraction and genotyping

DNA extraction was performed using the whole abdomen according to the protocol from Sambrook et al. (1989). DNA analysis was used to validate morphological identification of the four *Horismenus* species and for population genetics analyses. Of the 617 specimens from the *Horismenus* complex, we failed to amplify any DNA fragment

from only 17 individuals. The 600 remaining extractions were screened for mitochondrial DNA variation using single strand conformation polymorphism (SSCP) (Orita et al. 1989; Sheffield et al. 1993), on a 278 bp segment of the cytochrome c oxidase subunit I (COI). Variation is known to be recovered to 99% when using the SSCP technique for fragment lengths between 100-300 bp (Girman 1996). Primers 130F and 430R (Table 2.2) were designed for amplification of the COI segment nested in the “Folmer fragment” and to avoid the amplification of *Wolbachia* spp. endosymbionts. Amplification reactions were carried out in 12.5 µL volumes, including 1.25 µL of 10 × reaction buffers, 1.25 µL of 10% trehalose solution, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP, 0.4 µM of each primers, 0.5 U of Taq DNA polymerase and 2 µL of DNA template. Conditions were as follows: 92 °C for 30s, 35 cycles of 48 °C for 15s, 68 °C for 30s and one cycle 68 °C for 1 min. Amplified products were electrophoresed on a non-denaturing polyacrylamide gel following Angers and Bernatchez (1998) and visualized using silver nitrate staining (Bassam et al. 1991).

2.4.4. *Wolbachia* spp. endosymbionts screening

Occurrence of *Wolbachia* spp. bacteria in samples was examined (Table 2.1) for each parasitoid species using PCR detection. A maximum of 30 individuals was tested for each population. Specific primers, wbcF and wbcR (Table 2.2), were designed to amplify a 280 bp fragment of COI from a sequence obtained in pre-test using SSCP screening (GenBank [accession number XXX]) with 2154-bee and 2492-bee primers (Table 2.2). The same conditions as described above were used for the amplification with the exception of an adjusted Ta (Table 2.2). Detection of *Wolbachia* spp. (inferred from the amplification product) was performed on a 1.5 % agarose gel.

2.4.5. DNA sequencing

Each different conformer detected on SSCP was reamplified for sequencing in 50-µL volumes and PCR products were purified using the QIAquick purification kit (QIAGEN). PCR sequencing was performed with the Big Dye terminator cycle sequencing kit version 1.1 (Applied Biosystems). Sequencing was performed with an Applied Biosystem DNA analyser ABI 3730. Chromatograms of all sequences were checked with

FinchTV 1.4.0 (Geospiza Inc.); sequences were then checked with BioEdit (Hall 1999) and aligned using Clustal X version 1.83 (Thompson et al. 1997).

2.4.6. Phylogenetic relationships and molecular identification

Phylogenetic relationships among *Horismenus* species were inferred using Bayesian (BE) and Maximum Likelihood (ML) methods as implemented in the MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) and Treefinder (Jobb et al. 2004), respectively. The best-fit substitution model (GTR+G) was first determined using MODELTEST 3.7 (Posada & Crandall 1998). The sequences of *Entedon* sp. (GenBank [accession number DQ149194]), *Torymus benefices* [accession number AB070504.1]) and *Megastigmus transvaalensis* (GenBank [accession number AF420405]) were used as outgroups. Each Bayesian analysis was initiated with a random starting tree and assumed a GTR+G substitution model with six substitution rate categories and gamma distribution of variable sites. All analyses included two parallel runs of Markov chain Monte Carlo, each with four chains and tree sampling every 1000 generations. The runs were continued until the average standard of split frequencies was close to 0.01. A 50% majority rule consensus tree was constructed from the remaining trees after discarding the first 1000 generations (burn-in) of sampled trees.

2.4.7. Genetic diversity, structure and differentiation

Measures of population genetic diversity, including the number of haplotypes (n), number of sequenced haplotypes (s), haplotype diversity (hd, Nei & Tajima 1981), nucleotide diversity (π , Nei 1987) and the number of substitutions (ns) were estimated from mitochondrial DNA polymorphism using the computer program Arlequin 3.0 (Excoffier et al. 2005). A matrix of mutational differences between haplotypes was calculated to produce a minimum length spanning network of haplotypes using the same software. Nodes of the network represent the haplotypes, while length of the branches is proportional to the number of mutations between them.

Genetic diversity found within versus among populations was estimated by computing global and pairwise F_{ST} (Weir & Cockerham 1984) estimates using Arlequin 3.0 (Excoffier et al. 2005). This was also quantified by using global and pairwise Φ_{ST} to take into account the mutational differences among haplotypes. The contribution of mutation to genetic differentiation was tested by a randomization procedure implemented in SPAGED1 1.1 (Hardy & Vekemans 2002). Hierarchical analyses of the genetic diversity (Excoffier et al. 1992) were also performed using Arlequin 3.0 (Excoffier et al. 2005). *A priori* criteria for grouping were tested according to the three distanced geographical regions sampled (A, B and C: Figure 2.1) or by *Horismenus* complex composition analyses (Figure 2.2). *A posteriori* analysis was performed with SAMOVA 1.0 (Dupanloup et al. 2002) to identify groups of populations with maximum genetic differentiation within a minimum geographic distance.

The spatial structure was also investigated by autocorrelation analysis based on Moran's *I* coefficient calculated from AIDA software (Bertorelle & Barbujani 1995). For *H. depressus* and *H. missouriensis*, Moran's *I* coefficient was calculated for four and three distance classes, respectively, as implemented in AIDA software (Bertorelle & Barbujani 1995). The shape of the correlogram (Moran's *I* coefficient plotted against geographic distance) represents the pattern of genetic similarity over space.

2.5. Results

2.5.1. Community structure

From the 16 sampling sites (domesticated beans), *H. depressus* was the most abundant species (345 out of 730 parasitoids), detected in 12 sites; followed by *H. missouriensis* (10 sites, 209/730). The two other species, *H. butcheri* and *H. sp.*, were observed in four (65/730) and two (15/730) sites, respectively. A number of other parasitoid species were detected in seven sites (96/730). Bruchid beetles from the *Acanthoscelides* genus were detected in all sites and were the most abundant host beetles (14042 out of 14493 individuals) compared to *Zabrotes* beetles which were detected in six sites (451/14493). *Horismenus depressus* and *H. missouriensis* were the most abundant species parasitizing

beetles on seeds of *P. vulgaris*, while *H. butcheri* and *H. sp.* were the predominant species on *P. coccineus* (Table 2.1). The two most abundant *Horismenus* species tend to segregate among sites, clustering respectively in the first and second quadrant of the PCA projection (Figure 2.2), except for three sites (B3, B10, A2) where the two species were collected together. Host plant species was the most important factor in determining the species of *Horismenus* emerging from beetles, although none of the biotic or abiotic factors tested were significant according to the Forward selection procedure under RDA model (host plant species: $P = 0.131$; beetle host genus: $P = 0.150$; elevation: $P = 0.243$; longitude: $P = 0.402$; latitude $P = 0.500$).

2.5.2. Species diversity

The SSCP screening revealed 80 distinct COI haplotypes over the four *Horismenus* species. A total of 58 haplotypes were detected in *H. depressus* (332), 9 in *H. missouriensis* (194), 11 in *H. butcheri* (59) and 2 in *Horismenus sp.* (15). A total of 56 haplotypes were sequenced: 42/58 for *H. depressus*, 6/9 *H. missouriensis*, 6/11 *H. butcheri* and 2/2 *H. sp.* (Table 2.3). These sequences clustered into four monophyletic lineages well-supported by BE and ML analyses (Figure 2.3). Each cluster was found to correspond to a given morphological species. Divergence between mtDNA haplotypes was high for *H. depressus* (6.5%), *H. butcheri* (6.0%) and *Horismenus sp.* (3.2%), but low for *H. missouriensis* (0.4%).

2.5.3. Population diversity

The SSCP survey identified 3 to 12 haplotypes per population of *H. depressus*. For *H. missouriensis*, 1 to 4 haplotypes were found, with two fixed populations (B4 and B5). For *H. butcheri*, 1 to 7 haplotypes were identified and one population was fixed (B2). The two *H. sp.* populations were each fixed with distinct haplotypes.

Haplotype relationships reveal a contrasting situation between *H. depressus* and *H. missouriensis* (Figure 2.4). *Horismenus depressus* displays a large number of private

haplotypes (detected in a single population), with only haplotype h03 detected in more than one population. In addition, the nucleotide diversity is generally very high within most populations (3.0) due to the coexistence of highly divergent haplotypes. For instance, haplotypes h05 and h06 detected in the C1 population are separated by 10 mutations (Annex 1). In contrast, one unique haplotype is detected in 5 of 6 *H. missouriensis* populations and the alternative haplotype differs by only a single mutation. As a result, the nucleotide diversity is very low for populations of *H. missouriensis*. Screening for the presence of *Wolbachia* spp. revealed that most of the *H. missouriensis* populations were infected (5/6, Table 2.1). Up to 83% of individuals within a population were infected by *Wolbachia* spp. and possessed identical mtDNA haplotypes (Figure 2.4, h59). This suggests that the low diversity in this species may be due to the effects of bacterial infection. The bacteria was not detected in the other *Horismenus* species.

2.5.4. Genetic structure

The estimated values of F_{ST} and Φ_{ST} for *H. depressus* were 0.3872 and 0.4376, respectively ($P = 0.0349$; $N_{ST} = 0.6069$). Both estimators were calculated using only the 42 haplotypes for which sequencing was performed, corresponding to 87% of sampled individuals. The difference between F_{ST} and Φ_{ST} , however, is driven by only two populations (B10 and B11) which are characterized by very low diversity. When these sites are removed from the analyses, F_{ST} 0.3403 and Φ_{ST} 0.3191 become similar and the randomization procedure implemented in SPAGEDI 1.1 permits us to statistically assess the absence of molecular information ($P = 0.9674$). These analyses suggest that the absence of historical structure in the system results from random dispersal of haplotypes among regions and populations. The lack of shared haplotypes suggests very limited to nonexistent gene flow among populations; this might be restricted to females due to the fact that mtDNA is maternally transmitted and we have no evidence (from the nuclear genome) of a different dispersion pattern for males.

A priori geographical grouping by region A, B and C (Figure 2.1) or by *Horismenus* complex composition (Table 2.1, Figure 2.2) do not provide significant F_{CT} estimates (Table 2.4) for *H. depressus* and *H. missouriensis* populations. On the other hand, analyses using SAMOVA software suggest the presence of a barrier excluding C1 and A2 from

other populations. Using these results for *a posteriori* grouping by geographic proximity did not provide significant F_{CT} values when A2 and C1 were considered as distinct groups (Table 2.4).

Another way to test the genetic structure is by computing Moran's I autocorrelation coefficient values for different distance classes. For *H. depressus*, all Moran's I coefficients were significant ($P < 0.005$) and range from low positive values within populations, transitioning to increasingly negative values with added distance (Figure 2.5). Except for the first distance class (within populations) where low autocorrelation is detected, set of coefficients shown in the correlogram can be attributed to random spatial distribution of haplotypes as they are close to 0. For *H. missouriensis*, no significant Moran's I values were detected. This also indicates the absence of spatial patterns of DNA diversity (Bertorelle & Barbujani 1995).

The estimation of F_{ST} 0.9317 and Φ_{ST} 0.9317 for *H. missouriensis* was higher than for *H. depressus*. However, most of the inter-population diversity is driven by a single population (B4), which was not infected by *Wolbachia* spp. and was fixed for a distinct haplotype. Removing this population decreased F_{ST} to 0.0604 and Φ_{ST} to 0.0604 reflecting an insignificant level of population differentiation.

2.6. Discussion

This study aims to compare the evolutionary history of parasitoids to that of their bruchid beetle hosts as well as to their domesticated host plant in Mexico. Consistent structure among members from different trophic levels is expected in presence of strong ecological interactions. Consequently, we predicted that the genetic structure of host and parasitoid populations would be congruent as they have been similarly influenced by human-mediated migration since the beginning of the domestication process. On the other hand, parasitoid structure can be biased by the presence of *Wolbachia* endosymbionts.

Four *Horismenus* species had emerged from *Acanthocelides* spp. domesticated infested beans contrarily to the only one species, *H. missouriensis*, found by Aebi et al. (2008). The two most abundant species, *H. depressus* and *H. missouriensis* tend to segregate among sampled sites and emerged predominantly from infested seeds of *P. vulgaris*. Although uncommon, *H. butcheri* and *H. sp.* were the most abundant species on seeds of *P. coccineus*. However, populations of these two species were too few to be meaningfully analyzed.

2.6.1. A blurred evolutionary history

When collected from domesticated beans, populations of *H. depressus* and *H. missouriensis*, exhibited different patterns of mitochondrial diversity. *H. missouriensis* showed very low intra-population diversity, with one haplotype shared by nearly all populations. This low diversity appears to be linked to the presence of *Wolbachia*, which was detected exclusively in this species. Both *Wolbachia* and mtDNA are transmitted maternally and the reproductive manipulations of the bacteria (e.g. cytoplasmic incompatibility) tend to alter the frequency distribution of mtDNA haplotypes within host populations (Charlat et al. 2009). This also may explain the marked difference observed between infected and uninfected populations of *H. missouriensis*: this would be the first reported consequence of *Wolbachia* infection in lowering population genetic diversity of a parasitoid. Thereby, it is not possible to determine on the basis of mitochondrial genome if *H. missouriensis* has evolved in parallel with other *Horismenus* species since its historical signal has likely been blurred by the effects of *Wolbachia* infection. Interestingly, the broad geographic range of a single infected haplotype may indicate at least one relatively recent historical event of dispersion.

2.6.2 Inconsistent genetic structure among trophic levels

Populations of *H. depressus* are strongly differentiated even over short distances. Unlike *H. missouriensis*, high levels of sequence divergence were detected within *H. depressus*. The existence of only one shared haplotype among *H. depressus* populations from regions A and B, suggests rare gene flow among sites. However, relatively low F_{ST} or Φ_{ST} estimates are observed due to the very high intra-population diversity, with a large number of distinct haplotypes and abundant mutations among haplotypes. The polyphyly

characterizing lineages within *H. depressus* populations and the absence of monophyletic topology suggest that the actual population structure is recent (i.e. random distribution of divergent haplotypes within populations; Neigel & Avise, 1986).

These results suggest that *H. depressus* populations have a similar genetic organization to the one of their host plant but not with their *Acanthoscelides* beetle hosts. Today's domesticated bean populations from the Mesoamerican gene pool are highly differentiated (Kwak & Gepts 2009; Zizumbo-Villarreal et al. 2005) and have a very limited geographical structure (absence of spatial autocorrelation: Papa & Gepts 2003). This pattern of genetic diversity reflects the random distribution that results from human mediated seed dispersion in addition to genetic drift and grower/environmental selection that has engendered ecogeographic races since domestication (Rossi et al. 2009; Blair et al. 2009; Kwak & Gepts 2009; Zizumbo-Villarreal et al. 2005, Papa & Gepts 2003). In contrast to the bean and *H. depressus* populations, the two *Acanthoscelides* beetle pest populations have low levels of differentiation even over long distances (Restoux et al. 2010, Alvarez et al. 2007). Negligible genetic differentiation among populations suggests at least one recent historical event of dispersion for beetles. It also means that there was insufficient time since dispersion to allow for differentiation among populations.

2.6.3 Explanatory hypotheses

The spatial genetic organization of *H. depressus* populations is similar to the one of its host plant, consisting of a random historical dispersal from a highly diversified ancestral gene pool. However, human-mediated migration cannot be considered as a contemporary relevant factor for *H. depressus* parasitoids as presumed for their beetle hosts. Inconsistent patterns among trophic levels could be explained by distinct evolutionary dynamics: (i) in spite of an extensive human-mediated migration, homogenizing the population structure of beetle hosts, parasitoid populations are maintained highly differentiated following unsuccessful gene flow, and therefore (ii) parasitoids likely come from wild-weedy bean populations adjacent to crop fields.

The relatively high nucleotide and haplotype diversity found within *H. depressus* populations indicates the existence of a large and stable population with a long evolutionary history and subsequent contacts between differentiated lineages (Category 4, Grant & Bowen, 1998) associated with wild beans. Ancestral lineages maintenance in the *Horismenus* parasitoid complex suggests past fragmentation and restricted gene flow among parasitoid populations. The complex topography of the Mexican Altiplano (i.e. an important altitudinal range), together with the limited effect of the last glaciations (i.e. altitudinal effect, Brown 1985; Graham 1993; McDonald 1998) might be important factors favoring conservation of ancient mtDNA lineages in subdivided populations. Extinction-recolonization dynamics could, however, be responsible for the absence of numerous intermediate haplotypes. For instance, metapopulation dynamics in insects can fall anywhere along the spectrum from almost completely differentiated populations, some level of differentiation or no genetic differentiation at all (Nyabuga et al. 2010).

Hypothesis (i): Parasitoids may not have a large enough capacity for dispersal between crop fields and houses where grains are stored. Furthermore, they may not be able to survive to grain storage conditions as they need other sources of nutrition (e.g. nectar and pollen). On the contrary, bruchid beetle hosts are well pre-adapted to become pests of stored beans as they consume dry seeds and show polymorphism in dispersal and reproductive traits (Tuda et al. 2006). Furthermore, *A. obtectus* have been found to exhibit resistance to several types of pesticides (Alvarez et al. 2005b): this species is now cosmopolitan while *Horismenus* parasitoids have a much more restricted distribution.

Hypothesis (ii): Asymmetrical gene flow from the surrounding environment could be responsible for the population genetic structure observed in *Horismenus* parasitoid as the actual seed exchange does not support effective gene flow among their populations, even over short distances. Traditional crop fields in Mexico are commonly surrounded by wild-weedy bean populations (Zizumbo-Villarreal et al. 2005, Papa & Gepts 2003) known to support far more abundant *Horismenus* parasitoids than within domesticated bean populations (S. Laurin-Lemay, personal observations). On the other hand, local adaptation to highly differentiate wild-weedy-domesticated bean complexes might also prevent actual

gene flow. A recent study has shown how evolution of pre-mating reproduction isolation behaviors could be extremely rapid for parasitoids (i.e. *Aphidius transcaspicus* a parasitoid of the mealy plum aphid, *Hyalopterus pruni*: J. Lozier, personal communication).

From our study two questions should be investigated in the aim of understanding the origin of the spatial organization of the genetic diversity of *Horismenus* parasitoid populations. First, further investigations are needed to quantify the importance of parasitoid populations associated with wild-weedy beans in structuring genetic diversity of parasitoids attacking bruchids in crop fields. Secondly, additional molecular data should be obtained from all members of the system to assess with more resolution phylogeographical inferences on the origin of the recent dispersal detected among all members of the system.

2.7. Conclusion

In conclusion, the approach we used has proven to be fruitful in detecting different ecological responses to human-mediated disturbances and host-parasite interactions among members of a multitrophic system, but also points out the necessity of analyzing complex ecological systems as a whole. High-throughput data from new sequencing technology and geographic information systems based on ecological niche modeling are promising great strides towards this objective.

New strategies for conservation and plant breeding have suggested maintaining and using the genetic diversity of wild-weedy-domesticated complexes to improve plant productivity (Zizumbo-Villarreal et al. 2005). Germplasm has also been shown to be of great value in protecting this diversity, as fast changes in the global economic system tend to homogenize crop production processes by replacing landraces with high-yielding cultivars (van den Bergh 2002). Multitrophic associations and their resident genetic diversity are not included in these banks, nor are other organisms connected to complex ecological systems. Therefore, wild-weedy-domesticated complexes from domestication centers can play a key role in maintaining the genetic diversity of natural enemies. Research program should focus on domestication centers, in the aims of understanding consequences of domestication

processes on multitrophic interactions valuable to their use as ecological services (i.e. evolutionary applications).

Acknowledgments

This work was financially supported by the Canada Research Chair Program and the Swiss National Science Foundation (Project No. 31003A_127364). We thank Omar Arellano-Aguilar for help with sampling in Mexico and the Instituto de Ecología at UNAM for logistical assistance. We thank Josée Doyon for technical assistance, as well as Sarah Kenyon for comments on an earlier version of this paper and help during field work in Mexico.

Table 2.1: Sample sizes of *Horismenus* parasitoid and bruchid populations, proportion of parasitoids infected with *Wolbachia* spp., and abundance of other parasitoid species and the two genera of bruchids (*Acanthoscelides* and *Zabrotes*). Environmental variables of sampled sites include altitude, sampling method and bean species.

	West (A)		Central (B)												East (C)	
	A1	A2	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	C1	C2
<i>H. depressus</i>	16	17	27	124	3	-	-	-	36	14	21	31	18	-	34	4
<i>H. missouriensis</i>	-	106	2	1	6	9	24	30	6	1	-	24	-	-	-	-
<i>H. butcheri</i>	-	-	-	22	-	-	-	-	-	2	-	2	-	-	-	39
<i>H. sp</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	11	-	-
Others parasitoid species	1	-	-	36	-	1	-	-	31	-	5	1	21	-	-	-
<i>Acanthoscelides</i>	856	989	148	2331	209	119	459	553	2410	203	1295	587	186	32	815	2850
<i>Zabrotes</i>	26	-	37	3	1	-	-	10	374	-	-	-	-	-	-	-
Altitude (m)	1290	2055	1489	1594	1443	2402	2402	1841	1714	2437	2202	1928	1860	2081	2012	1660
<i>Wolbachia</i> infection rate	-	6%	-	-	83%	0%	33%	30%	-	-	-	21%	-	-	-	-
Sampling method	F	H	M	F	M	M	M	H	H	H	F	F	F	H	H	H
Bean species	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	v	c	v	v & c

Legend. v: *Phaseolus vulgaris*; c: *Phaseolus coccineus*. A maximum of 30 individuals per population were screened for presence of *Wolbachia* spp. and only infection rates from *H. missouriensis* are displayed as different then 0. F: field, H: house, M: market.

Table 2.2: Primers list used in this study to amplified a fragment of the COI gene form *Horismenus* spp. and *Wolbachia* spp.

Name	Sequence 5' to 3'	Orientation	Annealing temperature °C	References
130F	CGGGGGTTAGITCIATTATAGG	F	48	This study
430R	TTCATAGACTCATTACAAATTATATGAG	R	48	This study
2154-bee	GGAAGTGGATGAACAGTATATCCACC	F	Touchup	Simon <i>et al.</i> 1994
2492-bee	ACTTCTGGATGTCCAAAAAACCAA	R	Touchup	Simon <i>et al.</i> 1994
wbcF	GCACTTCATGTTGCTGGTATGTCATCAATT	F	51	This study
wbcR	CTTGGATGACCAAAAAATCAAAACAGGTG	R	51	This study

Table 2.3: Genetic diversity of mtDNA: the population name can be found along the top of the table and the number of haplotypes (n), number of sequenced haplotype (s), haplotype diversity (hd), nucleotide diversity (π) and the number of substitutions (ns) are indicated for each species.

<i>H. depressus</i>	A1	A2	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	C1	C2	Total	Means	SD
n	2	3	9	12					9	5	3	4	3		8		58	5.8	3.4
s	2	1	7	9					6	3	3	4	3		4		42	4.2	2.4
hd	0.40	0.49	0.88	0.83					0.78	0.54	0.49	0.31	0.41		0.62		-	0.6	0.2
π	0.92	0.00	5.07	6.55					5.05	2.07	1.61	3.34	0.66		4.55		-	3.0	2.2
ns	2	0	19	22					16	9	6	20	3		20		42	11.6	8.4
<i>H. missouriensis</i>																			
n		3			2	1	1	3					4				9	2.3	1.2
s		1			1	1	1	1					2				6	1.2	0.4
hd		0.11			0.33	0.0	0.0	0.20					0.61				-	0.2	0.2
π		0.00			0.00	0.0	0.0	0.00					0.13				-	0.0	0.1
ns		0			0	0	0	0					1				1	0.2	0.4
<i>H. butcheri</i>																			
n				1					2			1			7		11	2.8	2.9
s				0					2			1			3		6	1.5	1.3
hd				0.00					1.00			0.00			0.64		-	0.4	0.5
π				0.00					1.00			0.00			0.28		-	0.3	0.5
ns				-					2			0			8		23	2.5	3.8
<i>H. sp.</i>																			
n												1		1			2	1.0	0.0
s												1		1			2	1.0	0.0
hd												0.00		0.00			-	0.0	0.0
π												0.00		0.00			-	0.0	0.0
ns												0		0			9	0.0	0.0

Table 2.4: Partition of the genetic diversity as estimated by hierarchical AMOVAS based on SSCP surveys and sequences of mtDNA for *H. depressus* and *H. missouriensis*. Groups were defined by geographic region A, B, C (Figure 2.1), by geographic proximity (SAMOVA) and *Horismenus* complex composition. For *H. depressus* B10, B11 sites and for *H. missouriensis* the B4 site were not included in the analyses as explained in the material and methods section (Population diversity).

Structure	<i>H. depressus</i>	<i>H. missouriensis</i>
Geographic region ϕ		
Among groups (F_{CT})	0.0438 $P = 0.1169$	-0.1277 $P = 0.5970$
Among populations within groups (F_{SC})	0.2737 $P = 0.0000$	0.2643 $P = 0.0008$
Within populations (F_{ST})	0.6945 $P = 0.0000$	0.8634 $P = 0.0002$
Geographic proximity 2 groups \ddagger		
Among groups (F_{CT})	0.0280 $P = 0.6274$	
Among populations within groups (F_{SC})	0.2766 $P = 0.0000$	
Within populations (F_{ST})	0.6954 $P = 0.0000$	
Geographic proximity 3 groups \pounds		
Among groups (F_{CT})	0.0594 $P = 0.3318$	
Among populations within groups (F_{SC})	0.2560 $P = 0.0000$	
Within populations (F_{ST})	0.6846 $P = 0.0000$	
Horismenus complex \neg		
Among groups (F_{CT})	-0.0494 $P = 0.8281$	
Among populations within groups (F_{SC})	0.3293 $P = 0.0000$	
Within populations (F_{ST})	0.7198 $P = 0.0000$	
ϕ A1, A2 / B1, B2, B7, B8, B9 / C1		
\ddagger A1, A2, B1, B2, B7, B8, B9 / C1		
\pounds A2 / A1, B1, B2, B7, B8, B9 / C1		
\neg A1 / A2, B1, B7, B8, B9, C1 / B2,		

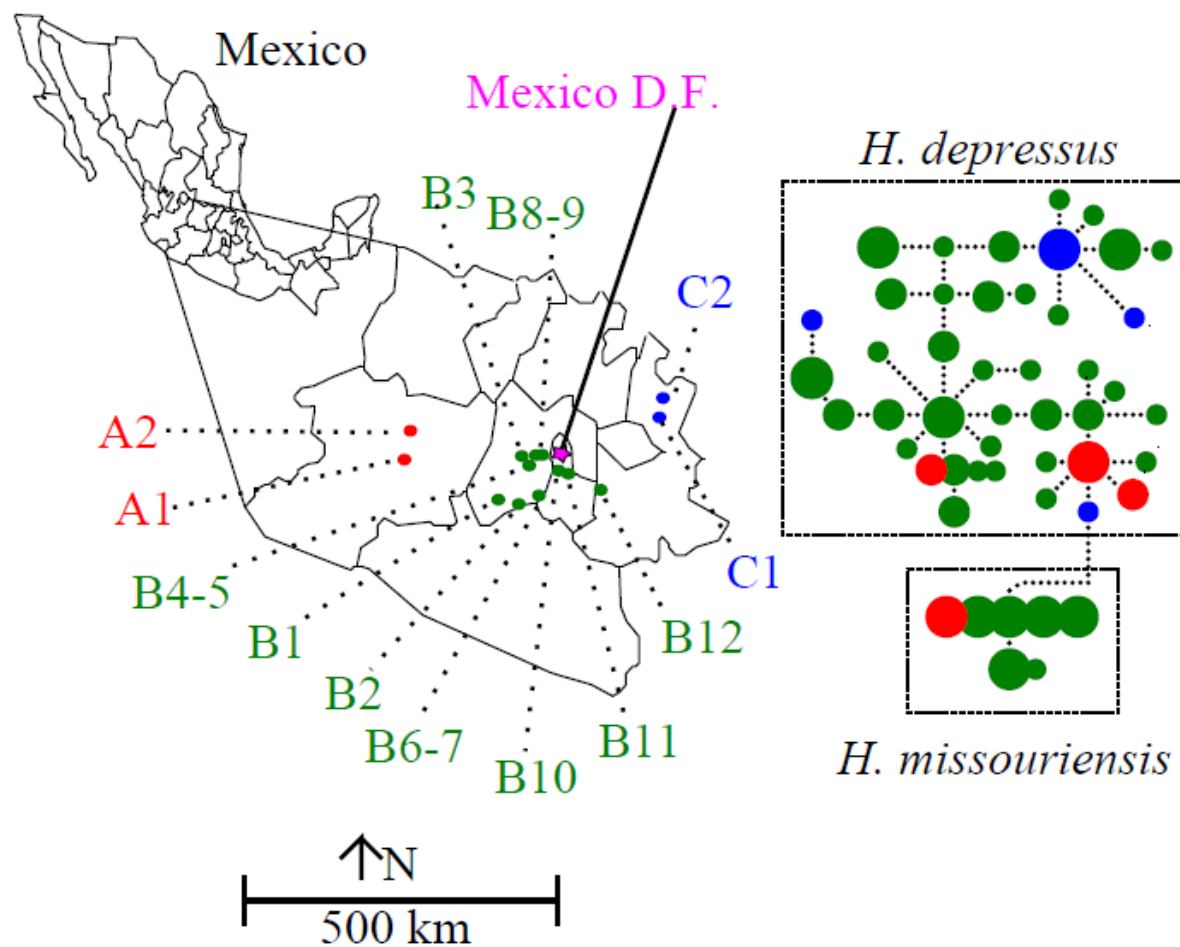


Figure 2.1: Sampling sites in the central Mexican Altiplano. Filled circles represent sites that were used in this study. The magnified map shows the three regions identified with letters A, B and C. Region A includes sampling sites A1 and A2; region B includes sites B1-12, and region C includes sites C1 and C2.

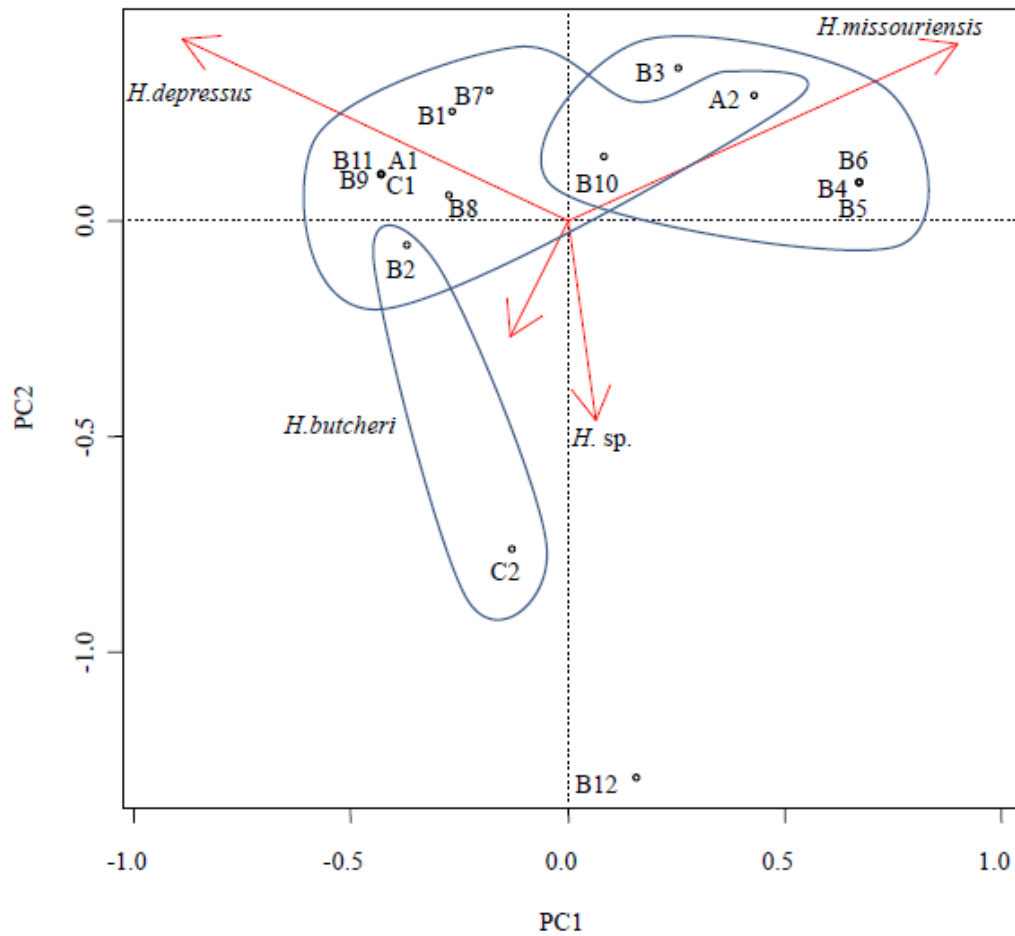


Figure 2.2: Biplot from principal component analysis (PCA) of the *Horismenus* complex. Sites are grouped per species: *H. depressus* (Sites A1-2, B1-2, 7-11, and C1), *H. missouriensis* (Sites A2, B3-B6, and B10), *H. butcheri* (Sites B2 and C2), *H. sp.* (B12). First and second axis scores correspond to 60.0 % and 23.4 % of the total variation, respectively.

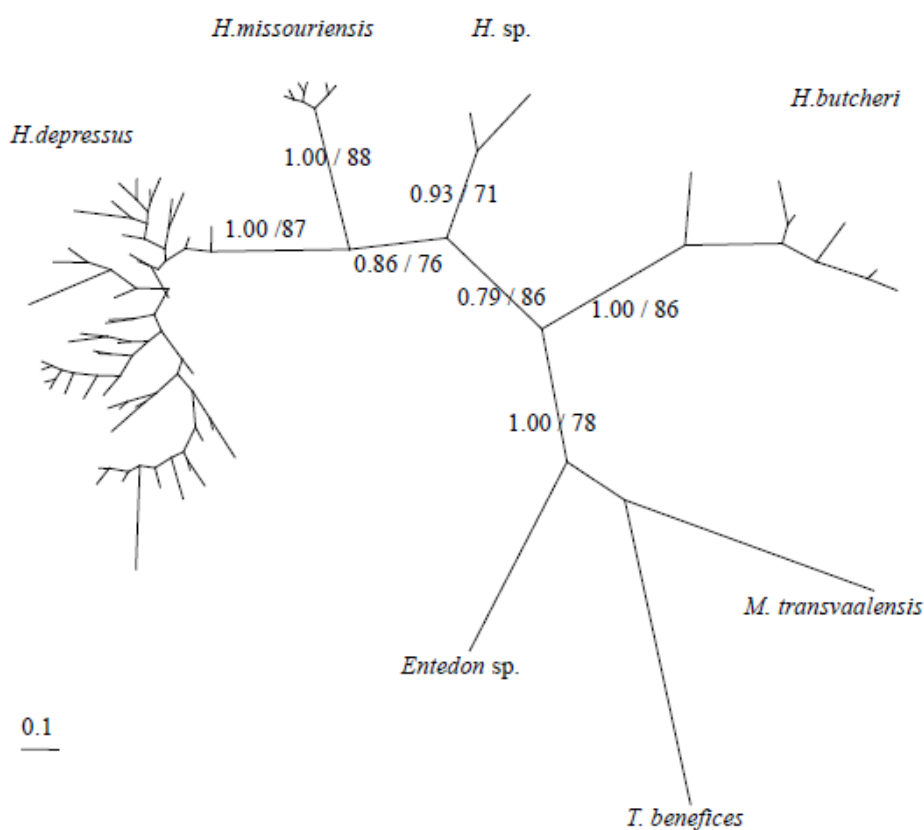


Figure 2.3: Monophyletic group differentiation by Bayesian (BE) and Maximum Likelihood (ML) analysis of the observed COI sequences of SSCP survey. Scale bar represents an interval of GTR+G genetic distance and support values are indicated for BE and ML analyses, respectively. There are four *Horismenus* species (*H. depressus*, *H. missouriensis*, *H. butcheri*, *Horismenus* sp.) and three species (*Entedon* sp., *Torymus beneficus*, *Megastigmus transvaalensis*) used as outgroups. Outgroups were chosen by blasting *Horismenus* sequences and chose 100% query coverage within results. Nucleotide sequences data have been deposited in GenBank databases under the accession numbers (GenBank [accession number XXX] to [accession number XXX]).

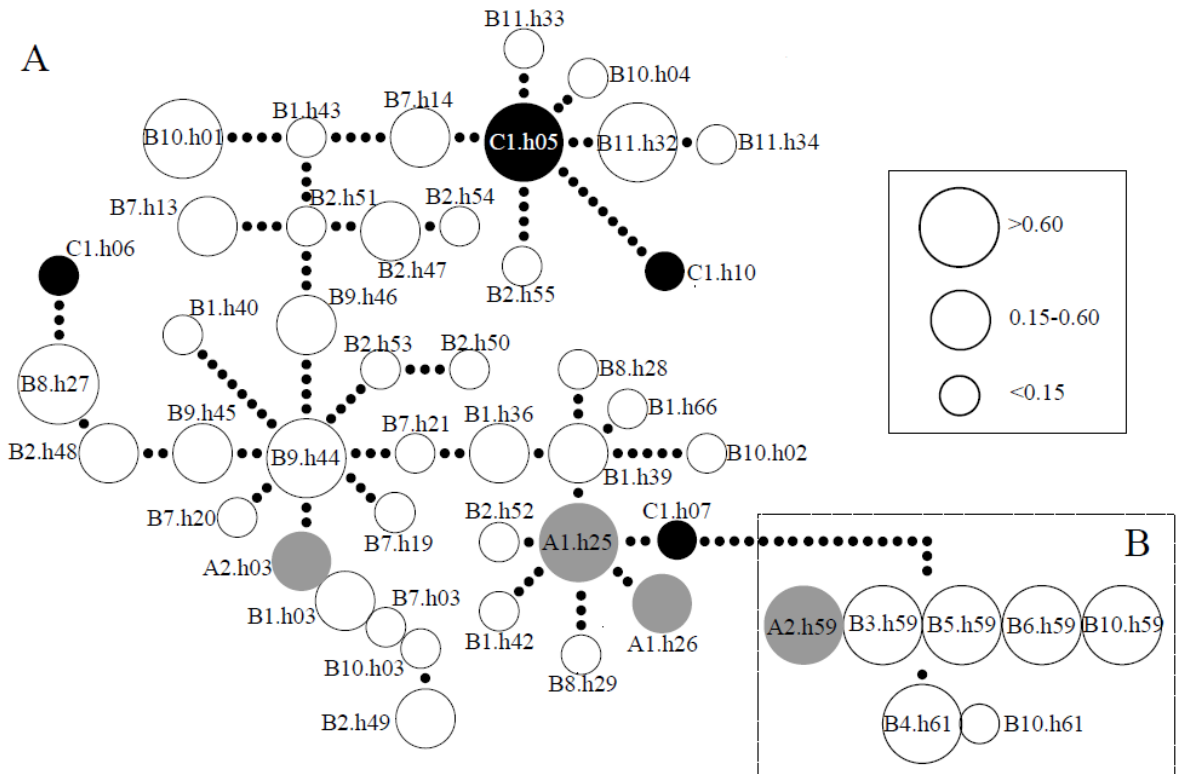


Figure 2.4: Minimum spanning network of mtDNA of the 10 populations of *H. depressus* (A) and 6 populations of *H. missouriensis* (B). Colors correspond to the three sampling regions: grey for A, white for B and black for C (Figure 2.1). For each circle representing an observed haplotype there is a sampling site and haplotype identifier. The size of each circle is also scaled to its relative haplotype frequency (low: < 0.15 , average $> 0.15-0.60$ and high > 0.60). Little black circles indicate intermediate haplotypes.

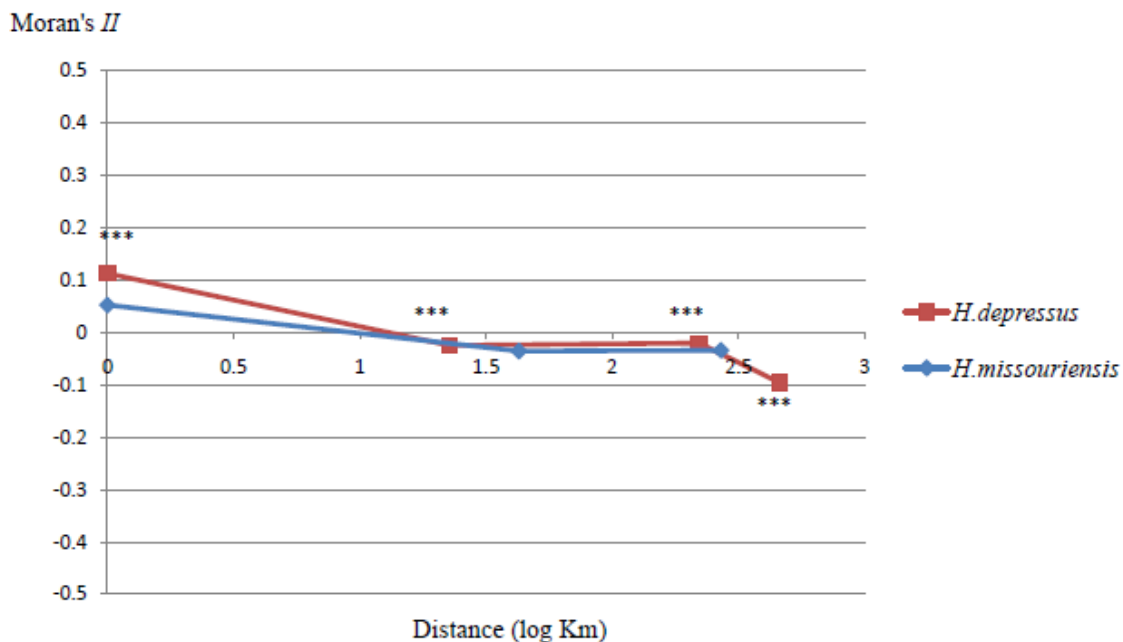


Figure 2.5: Correlogram of COI variation for *H. depressus* populations without B10 and B11 and *H. missouriensis* populations without B4. Distance classes are log-transformed and the first distance class is 1 km to include comparison between individuals belonging to the same population. The maximum distance for the other classes are 22.69 km, 220.37 km and 455.5 km (*H. depressus*) and 42.71 km and 270.05 km (*H. missouriensis*). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.005$ indicate significance level of the Moran's *II* coefficient.

3. Conclusion générale

L'approche intégratrice de la phylogéographie ainsi que la méthodologie scientifique utilisée dans ce projet de recherche se sont révélées particulièrement puissantes à détecter les processus de la microévolution ayant pu modeler la structure génétique des ennemis naturels des bruches des haricots au Mexique. Les inférences phylogénétiques faites à partir du marqueur mitochondrial utilisé dans cette étude a permis de confirmer l'identification morphologique de trois espèces de parasitoïdes ainsi que de détecter la présence d'une quatrième espèce non identifiée du genre *Horismenus*. La structure de la communauté a pu être caractérisée par des méthodes d'ordination issues de l'écologie numérique et être complétée par détection de la bactérie endosymbionte *Wolbachia* spp. chez les quatre espèces de parasitoïdes étudiés au moyen de la PCR. Au niveau intra-spécifique, la diversité génétique des quatre espèces de parasitoïdes a pu être estimée à partir des haplotypes détectés au moyen du polymorphisme de conformation des simples brins et du séquençage des individus possédant un haplotype différent. Ainsi, l'organisation géographique de la diversité intra-spécifique de deux espèces de parasitoïdes (*H. depressus* et *H. missouriensis*) a pu être analysée et comparée au sein du troisième niveau trophique mais aussi avec les membres des niveaux trophiques inférieurs, soit l'hôte et la plante hôte.

Tel que prédit, la présence de *Wolbachia* spp. semble expliquer l'absence de diversité génétique observée chez *H. missouriensis*. De plus, la distribution géographique du même haplotype infecté suggère un évènement historique récent de dispersion. Alors que nos résultats permettent de statuer que la migration par l'entremise de l'humain n'est pas un facteur contemporain important pour *H. depressus*, et cela même sur de courtes distances. Ainsi la présence de *Wolbachia* spp. nous empêche de conclure sur une histoire évolutive conjointe (*H. missouriensis* et *H. depressus*). La différence dans les structures génétiques détectées chez les membres du système multitrophique peut s'expliquer par des dynamiques évolutives distinctes : (i) alors que la migration entremise par l'humain homogénéise la structure des population des hôtes bruches, les populations de parasitoïdes sont maintenue hautement différencié étant donné l'absence de flux génétique, et ainsi (ii)

la structure génétique des populations de parasitoïdes s'explique probablement par la présence d'un flux génétique en provenance des parasitoïdes associés aux populations de haricot spontané à proximité des champs cultivés.

Il est impossible d'identifier clairement quel mécanisme de dispersion historique a pu engendrer la structure génétique détectée chez *H. depressus*, mais il est probable que le contexte particulier du début de la domestication soit à l'origine de la dispersion des parasitoïdes appartenant auparavant à des populations restées jusqu'à ce jour isolées par la géographie complexe de l'Altiplano mexicain. Ainsi l'expansion géographique des populations de haricot, les premières pratiques agricoles du Néolithique ou encore du système d'échange entre les humains de cette époque sont probablement des éléments ayant pu organiser la diversité génétique des populations de *H. depressus* telle que détectée aujourd'hui. D'un autre côté, contrairement aux autres membres des niveaux trophiques inférieurs, *H. depressus* semble échapper au processus de la domestication. Ainsi, l'expérience acquise au travers de cette étude me permet de proposer quelques pistes de recherche potentiellement prometteuses.

3.1. Perspectives

La phylogéographie comparée est probablement l'approche scientifique la plus intégratrice dans le domaine de l'écologie évolutive (Hickerson et *al.* 2010) et est particulièrement puissante lorsque menée à l'échelle des populations. C'est aussi une approche qui sera appelée à changer rapidement avec l'intégration de la génomique chez les organismes non-modèles, par la métagénomique et par le développement d'outils analytiques adéquats pour traiter l'immensité de l'information génomique et écologique qui ne cesse de grandir. Ainsi, avec les nouvelles technologies de séquençage haut débit (pyroséquencage) il sera de plus en plus rapide d'établir la structure génétique des populations de l'ensemble des membres d'une communauté donnée, mais aussi d'en comparer les génomes afin d'identifier les gènes impliqués dans les différences

phénotypiques et d'ainsi comprendre l'aspect biologique des interactions écologiques. De plus, les résultats obtenus pourrait favoriser la convergence des approches dans l'étude de l'écologie des populations, des communautés et des écosystèmes afin d'être en mesure de comprendre les conséquences à court et à long terme des activités humaines sur l'environnement (i.e. la destruction et la fragmentation de l'habitat, la pollution, les changements climatiques, la surexploitation des ressources biologiques, l'homogénéisation et la perte de biodiversité: Loreau 2010).

Ce système, celui des ennemis naturels des bruches des haricots au Mexique, abordé dans son ensemble et sa complexité revêt un potentiel de recherche important, tant au niveau fondamental (comportement animal, co-évolution, interactions symbiotiques, perturbations humaines, interactions multitrophiques, etc.) que appliqué (lutte biologique) d'autant plus que la recherche faite sur les haricots est constante, diversifiée et d'un très haut niveau ce qui procure une base exceptionnelle sur laquelle il est possible d'énoncer des hypothèses de recherche.

À court terme, il serait intéressant d'inclure la contribution des populations de haricots spontanés afin de déterminer la dynamique qui existe entre l'agro-écosystème et le milieu naturel et quantifier son potentiel rôle dans la régulation des populations de bruches. Il serait aussi essentiel de prendre en compte les variables paysagères pouvant être déterminantes dans la dynamique spatio-temporelle des membres de la communauté. De plus, l'utilisation d'un marqueur moléculaire encore plus variable tel que la région de contrôle de la mitochondrie permettrait probablement d'estimer sur la base du taux de mutation la période (e.g. temps de divergence) depuis laquelle les populations sont isolées (*H. depressus*) et infectées par la bactérie endosymbionte *Wolbachia* spp. (*H. missouriensis*). Bien que la structure génétique des populations de la bactérie *Wolbachia* spp. ne soit pas nécessairement concordante avec celle de ses hôtes, par l'existence de transfert horizontal, il serait intéressant d'en explorer la structure génétique puisqu'il est possible que la transmission de ce parasite ait été facilitée par le processus historique de

dispersion détecté dans notre étude (*H. depressus* et *H. missouriensis*) que l'ont présume être lié à la domestication des haricots. Une batterie d'essais en laboratoire sont possible afin d'évaluer la variation qu'il peut exister dans l'efficacité des parasitoïdes de populations différentes à trouver leur hôte, le parasiter ou encore éviter l'encapsulation. Cela peut nous amener à comprendre pourquoi les parasitoïdes sont si peu présents dans le système domestiqué, alors qu'on les retrouve en grand nombre dans les populations de haricots spontanés (S. Laurin-Lemay, observations personnelles).

La diversité intra-spécifique identifiée dans cette étude peut se traduire par une variation dans les compétences des parasitoïdes comme agents de lutte biologique. Deux approches ont traditionnellement été mises de l'avant dans l'établissement de programme de lutte biologique classique : la première approche cherche à sélectionner des populations d'ennemis naturels de la région d'origine du ravageur (revue dans Lozier et *al.* 2008) alors que d'autres chercheurs proposent une toute autre stratégie qui consiste à introduire des ennemis naturels à partir d'une source qui présente une grande diversité génétique (revue dans Lozier et *al.* 2008). Par ailleurs, bien que des recherches soient encore nécessaires, la diversité détectée dans les haricots domestiqués au Mexique, dépend probablement de la dynamique source-puits qui peut exister entre les agro-écosystèmes et les écosystèmes naturels. C'est pourquoi, il serait important de connaître l'ensemble du système.

À plus long terme, les centres de domestication des plantes et des animaux domestiqués devraient faire partie d'un plan d'action prioritaire de conservation et d'exploration de la diversité génétique de tous les membres des communautés multitrophiques dont ces organismes font partis afin d'en caractériser la diversité intra-spécifique. Dans le but de mieux comprendre les conséquences de la domestication et les mécanismes sous-jacents ayant déterminé l'évolution des différents membres de ces communautés et ainsi aménager l'agro-écosystème de manière à favoriser les services écologiques rendus par les interactions entre les organismes. Mais aussi d'en identifier les communautés uniques ayant pu être conservé jusqu'à nos jours dans le paysage complexe et diversifié des centres de

domestication constitué des cultivars modernes, des variétés locales, des ancêtres spontanés et des populations hybrides qui sont les fondements génétiques de l'agriculture moderne.

Références

- Abrahamson, W.G. Blair, C.P. Eubanks, M.D. Morehead, S.A. (2003). Sequential radiation of unrelated organisms: the gall fly *Eurosta solidaginis* and the tumbling flower beetle *Mordellistena convicta*. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 781–789.
- Aebi, A. Shani, T. Hansson, C. Contreras-Garduno, J. Mansion, G. & Benrey, B. (2008). The potential of native parasitoids for the control of Mexican bean beetles: A genetic and ecological approach. *Biological Control*, **47**, 289-297.
- Agrawal, A.A. (2000). Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, **3**, 329-335.
- Alvarez, N. Hossaert-McKey, M. Rasplus, J.Y. McKey, D. Mercier, L. Soldati, L. Aebi, A. Shani, T. Benry, B. (2005a). Sibling species of bean bruchids: a morphological and phylogenetic study of *Acanthoscelides obtectus* Say and *Acanthoscelides obvelatus* Bridwell. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **43**, 29-37.
- Alvarez, N. Hossaert-McKey, M. Restoux, G. Delgado-Salinas, A. Benrey, B. (2007). Anthropogenic effects on population genetics of phytophagous insects associated with domesticated plants. *Evolution*, **61**, 2986-2996.
- Alvarez, N. McKey, D. Hossaert-McKey, M. Born, C. Mercier, L. Benrey, B. (2005b). Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say, a cosmopolitan pest of beans. *Molecular Ecology*, **14**, 1015-1024.
- Angers, B. Bernatchez, L. (1998). Combined use of SMM and non-SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of closely related brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidea) populations from microsatellites. *Molecular Biology and Evolution*, **15**, 143-159.
- Archibald, S.B. Mathewes, R.W. (2000). Early Eocene insects from Quilchena, British Columbia, and their paleoclimatic implications. *Canadian Journal of Zoology*, **78**, 1441–1462.
- Arnold, A.E. Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology*, **88**, 541-549.
- Austin, A.D. Dowton, M. (2000). *Hymenoptera: evolution, biodiversity and biological control*. CSRIO Publishing, Collingwood, 480 pp.

- Avise, J.C. (1992). Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, **63**, 62-76.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, 447 pp.
- Avise, J.C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, **36**, 3-15.
- Avise, J.C. Arnold, J. Ball, R.M. Jr, Bermingham, E. Lamb, T. Neigel, J.E. Reeb, C.A. Saunders, N.C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489–522.
- Bagdassarian, C. K. Dunham, A. E. Brown, C. G. Rauscher, D. (2007). Biodiversity maintenance in food webs with regulatory environmental feedbacks. *Journal of Theoretical Biology*. **245**, 705–714.
- Balding, D. J. Bishop, M. Cannings, C. (2003). *Handbook of statistical genetics*. 2nd ed, John Wiley & Sons, Etobicoke, 1308 pp.
- Barnaud, A. Deu, M. Garine, E. McKey, D. Joly, H. (2007). Local genetic diversity of sorghum in a village in northern Cameroon: structure and dynamics of landraces. *Theoretical and Applied Genetics*, **114**, 237-248.
- Barrett, L.G. Thrall, P.H. Burdon, J.J. Linde, C.C. (2008). Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 678-685.
- Bascompte, J. Melian, C. J. (2005). Simple trophic modules for complex food webs. *Ecology*, **86**, 2868–2873.
- Bassam, B.J. Caetano-Anollés, G. Gresshoff, P.M. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, **196**, 80-83.
- Becerra, J.X. (2003). Synchronous coadaptation in an ancient case of herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**, 12804–12807.
- Bellows, T.S. Fisher, T.W. (1999). *Hand Book of Biological Control: Principles and Applications of Biological Control*. Academic Press, San Diego, 1046 pp.

- Benrey, B. Callejas, A. Rios, L. Oyama, K. Denno, R.F. (1998). The effects of domestication of brassica and phaseolus on the interaction between phytophagous insects and parasitoids. *Biological Control*, **11**, 130-140.
- Bensasson, D. Zhang, D.-X. Hartl, D.L. Hewitt, G.M. (2001). Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 314–321.
- Bermingham, E. Avise, J.C. (1986). Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics*, **113**, 939-965.
- Bernatchez, L. Wilson, C.C. (1998). Comparative phylogeography of nearctic and palearctic freshwater fishes. *Molecular Ecology*, **7**, 431-452.
- Bernays, E. Graham, M. (1988). On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology*, **69**, 886-892.
- Bernays, E.A. Chapman, R.F. (1994). *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman and Hall, New York, 312 pp.
- Bertorelle, G. Barbujani, G. (1995). Analysis of DNA diversity by spatial autocorrelation. *Genetics*, **140**, 811-819.
- Bianchi, F. Booij, C. J. H. Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**, 1715-1727.
- Blair, M. Díaz, L. Buendía, H. Duque, M. (2009). Genetic diversity, seed size associations and population structure of a core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **119**, 955-972.
- Bonet, A. (2009). New hosts, host plants, and distribution records for *Horismenus* (Hymenoptera: Eulophidae) species in a bruchid beetle parasitoid guild attacking wild type *Phaseolus Coccineus* and *P. Vulgaris* in Central Mexico. *Florida Entomologist*, **91**, 698-701.
- Bressani, R. (1983). Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)*, **32**, 101-110.
- Broughton, W.J. Hernández, G. Blair, M. Beebe, S. Gepts, P. Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant and Soil*, **252**, 55-128.

- Brouillet, L. Whetstone, R.D. (1993). Climate and physiography. In: Editorial Committee (ed). *Flora of North America, Flora of North America*. Volume 1, Oxford University Press, New York, 15–46 pp.
- Brown, B.R. (1985). A summary of late-Quaternary pollen records from Mexico west of the Isthmus of the Tehuantepec. In: Bryant, V.M. Jr. Holloway, R.G. (eds) *Pollen records of late-Quaternary North American sediments*. American Association of Stratigraphic Palynologist Foundation, Dallas, 71–94 pp.
- Brown, W.M. George, M.Jr. Wilson, A.C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **76**, 1967–1971.
- Burdon, J.J. Thrall, P.H. (2004). Genetic structure of natural plant and pathogen populations. In: Ehler, L.E. Sforza, R. Mateille, T. (eds) *Genetics, Evolution, and Biological Control*, CABI Publishing, Wallingford, 288 pp.
- Buri, P. (1956). Gene frequency in small populations of mutant *Drosophila*. *Evolution*, **10**, 367–402.
- Callaway, R.M. (2007). *Positive interactions and interdependence in plant communities*. Springer, New York, 415 pp.
- Cardoso, E. Nogueira, M.A. Ferraz, S.M.G. (2007). Biological N-2 fixation and mineral N in common bean-maize intercropping or sole cropping in southeastern Brazil. *Experimental Agriculture*, **43**, 319–330.
- Carpenter, S. R. Brock, W. A. Cole, J. J. Kitchell, J. F. & Pace, M. L. (2008). Leading indicators of trophic cascades. *Ecology Letter*, **11**, 128–138.
- Chacón, M.I. Pickersgill, B. Debouck, D.G. (2005). Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theoretical and Applied Genetics*, **110**, 432-444.
- Chao, L. (1990). Fitness of RNA virus decreased by Muller's ratchet. *Nature*, **348**, 454-455.
- Charlat, S. Duploux, A. Hornett, E. Dyson, E. Davies, N. Roderick, G. Wedell, N. Hurst, G.D.D. (2009). The joint evolutionary histories of *Wolbachia* and mitochondria in *Hypolimnas bolina*. *BMC Evolutionary Biology*, **9**, 64.
- Chen, Y.H. Welter, S.C. (2007). Crop domestication creates a refuge from parasitism for a native moth, *Journal of Applied Ecology*, **44**, 238-245.

- Clay, K. (1990). Fungal endophytes of grasses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **21**, 275–297.
- Coates, A.G. Collins, L.S. Aubry, M.-P. Berggren, W.A. (2004). The Geology of the Darien, Panama, and the late Miocene-Pliocene collision of the Panama arc with northwestern South America. *Geological Society of America Bulletin*, **116**, 1327-1344.
- Cox, A.J. Hebert, P.D.N. (2001). Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology*, **10**, 371–386.
- Cronin, J. T. Reeve, J. D. (2005). Host-parasitoid spatial ecology: a plea for a landscape-level synthesis. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **272**, 2225-2235.
- Crow, J.F. & Kimura, M. (1970). *An Introduction to Population Genetics Theory*. Harper & Row Publishers, New York, 591 pp.
- Daily, G. C. Ehrlich, P. R. Sanchez-Azofeifa, G. A. (2001). Countryside biogeography: use of human-dominated habitats by the avifauna of southern costa rica. *Ecological Applications*, **11**, 1-13.
- de Sassi, C. Müller, C.B. Krauss, J. (2006). Fungal plant endosymbionts alter life history and reproductive success of aphid predators. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **273**, 1301–1306.
- DeAngelis, D. L. Post, W. M. Travis, C. C. (1986). *Positive feedback in natural systems*. Springer, Berlin, 290 pp.
- Delgado-Salinas, A. Bibler, R. Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, **31**, 779-791.
- Denno, R. F. Gratton, C. Peterson, M. A. Langellotto, G. A. Finke, D. L. Huberty, A. F. (2002). Bottom-up forces mediate natural-enemy impact in a phytophagous insect community, *Ecology*, **83**, 1443-1458.
- Denno, R. F. Lewis, D. Gratton, C. (2005). Spatial variation in the relative strength of top-down and bottom-up forces: causes and consequences for phytophagous insect populations. *Annales Zoologici Fennici*, **42**, 295-311.

- Dicke, M. (1994). Why do plants 'talk'? *Chemoecology*, **5**, 159-165.
- Dicke, M. (1996). The Role of microorganisms in tri-trophic interactions in systems consisting of plants, herbivores, and carnivores. In: Colwell, R. R. Simidu, U. Ohwada, K. (eds) *Microbial Diversity in Time and Space*. Plenum Press, New York, 71-84 pp.
- Dicke, M. Vet, L.E.M. (1999). Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. In: Olf, H. Brown V.K. Drent, R.H. (eds) *Herbivores: Between Plants and Predators*. Blackwell Science, Oxford, 483–520 pp.
- Doebley, J. F. Gaut, B. S. Smith, B. D. (2006). The Molecular Genetics of Crop Domestication. *Cell*, **127**, 1309-1321.
- Douglas, A.E. (2009). The microbial dimension in insect nutritional ecology. *Functional Ecology*, **23**, 38-47.
- Dray, S. (2005) packfor: forward selection with multivariate Y by permutation under reduced model. Laboratoire Biométrie et Biologie Évolutive, Lyon. Available at: <http://biomserv.univ-lyon1.fr/~dray/software.php>
- Dupanloup, I. Schneider, S. Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, **11**, 2571-2581.
- Ehrlich, P.R. Raven, P.H. (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, **18**, 586–608.
- Elton, C. (1927). *Animal ecology*. Sidgwick and Jackson, London, 296 pp.
- English-Loeb, G. Norton, A. P. Gadoury, D. M. Seem, R. C. & Wilcox, W. F. (1999). Control of powdery mildew in wild and cultivated grapes by a tydeid mite. *Biological Control*, **14**, 97-103.
- Excoffier, L. Laval, G. Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**, 47-50.
- Excoffier, L. Smouse, P.E. Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.

- Ferrusquía-Villafranca, I. (1998). Geología de México: Una synopsis. In: Ramamoorthy, T.P. Bye, R. Lot, A. Fa, J. (eds). *Diversidad Biológica de México: Origenes y Distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México, 3–108 pp.
- Fisher, R.A. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*, Oxford University Press, Oxford, 318 pp.
- Forkner, R.E. Hunter, M.D. (2000). What goes up must come down? Nutrient addition and predation pressure on oak herbivores. *Ecology*, **81**, 1588-1600.
- Fox, L. R. Morrow, P. A. (1981). Specialization: species property or local phenomenon? *Science*, **211**, 887-893.
- Futuyma, D.J. Slatkin, M. (1983). *Coevolution*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, 566 pp.
- Gauthier, N. Lasalle, J. Quicke, D.L. J. Godfray, H.C.J. (2000). Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Systematic Entomology*, **25**, 521-539.
- Gepts, P. Papa, R. Coulibaly, S. Gonzalez Mejia, A. Pasquet, R. (1999). Wild legume diversity insights from molecular methods. In: Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (ed). *International Workshop on Genetic Resources*, National Institute of Agrobiological Resources Tsukuba, 19–31 pp.
- Girman, D. (1996). The use of PCR-based single-stranded conformation polymorphism analysis (SSCP-PCR) in conservation genetics. In: Smith, T.B. Wayne, R.K. (eds). *Molecular Genetic Approaches in Conservation*, Oxford University Press, Oxford, 167–182 pp.
- Godfray, H. C. J. Shimada, M. (1999). Parasitoids as model organisms for ecologists. *Researches on Population Ecology*, **41**, 3-10.
- Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, New Jersey, 488 pp.
- Golden, D.M. Crist, T.O. (1999). Experimental effects of habitat fragmentation on old-field canopy insects: community, guild and species responses. *Oecologia*, **118**, 371-380.

- Graham, A. (1993). Factores históricos y biológicos de la diversidad en México. Geología de México. In: Ramamoorthy, T.P. Bye, R. Lot, A. Fa, J. (eds). *Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México, 109–127 pp.
- Grant, W.S. Bowen, B.W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insight from sardines and anchovies and lesson for conservation. *Journal of Heredity*, **89**, 415–426.
- Gratton, C. Denno, R. F. (2003). Seasonal shift from bottom-up to top-down impact in phytophagous insect populations. *Oecologia*, **134**, 487-495.
- Gremillion, K.J. Piperno, D.R. (2009). Human behavioral ecology, phenotypic (developmental) plasticity, and agricultural origins: insights from the emerging evolutionary synthesis. *Current Anthropology*, **50**, 615-619.
- Hairston, N. G. Smith, F. E. & Slobodkin, L. B. (1960). Community structure, population control and competition. *The American Naturalist*, **44**, 421–425.
- Haldane, J. B. S. (1932). *The Causes of Evolution*. Longmans, Green & Co., London, 60 pp.
- Haldane, J. B. S. (1937). The Effect of Variation of Fitness. *The American Naturalist*, **71**, 337-349.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95–98.
- Hancock, J.F. (2004). *Plant evolution and the origin of crop species*. 2nd ed, CABI Publishing, Wallingford, 336 pp.
- Hansson, C. Aebi, A. Benrey, B. (2004). *Horismenus* species (Hymenoptera: Eulophidae) in a bruchid beetle parasitoid guild, including the description of a new species. *Zootaxa*, **548**, 1-16.
- Hardy, O.J. Vekemans, X. (2002). Spagedi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, **2**, 618-620.

- Harri, S. A. Krauss, J. Muller, C. B. (2008). Fungal endosymbionts of plants reduce lifespan of an aphid secondary parasitoid and influence host selection. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **275**, 2627-2632.
- Harri, S.A. (2007). *Effects of endophytes on multitrophic interactions*. PhD dissertation, University of Zurich, Zurich.
- Hartl, D.L. Clark, A.G. (2007). *Principles of Population Genetics*, 4th ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, 542 pp.
- Harvey, J.A. van Dam N.M. Gols, R. (2003). Interactions over four trophic levels: foodplant quality affects development of a hyperparasitoid as mediated through a herbivore and its primary parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, **72**, 520-531.
- Hickerson, M. J. Carstens, B. C. Cavender-Bares, J. Crandall, K. A. Graham, C. H. Johnson, J. B. Rissler, L. Victoriano, P.F. Yoder, A.D. (2010). Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **54**, 291-301.
- Hilgenboecker, K. Hammerstein, P. Schlattmann, P. Telschow, A. Werren, J.H. (2008). How many species are infected with *Wolbachia*?-a statistical analysis of current data. *FEMS Microbiology Letters*, **281**, 215–220.
- Ho, S.Y.W. Shapiro, B. Phillips, M. Cooper, A. Drummond, A.J. (2007). Evidence for time dependency of molecular rate estimates. *Systematic Biology*, **56**, 515–522.
- Holt, R. D. (1977). Predation, apparent competition and the structure of prey communities. *Theoretical Population Biology*, **12**, 197–229.
- Holt, R. D. (1997). Community modules. In : Gange, A.C. Brown, V. K. (eds). *Multitrophic interactions in terrestrial ecosystems*. Blackwell Scientific, Oxford, 333–349 pp.
- Hurst, G.D.D. Jiggins F.M. von der Schulenburg J.H.G. Bertrand, D. West, S.A. Goriacheva, I.I. Zakharov, I.A. Werren, J.H. Stouthamer, R. Majerus, M.E.N. (1999). Male killing *Wolbachia* in two species of insect. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **266**, 735-740.
- Hutchinson, G. E. (1959). Hommage to Santa Rosalia, or why are there so many kinds of animals? *The American Naturalist*, **93**, 145–159.

- Jermy, T. (1984). Evolution of insect/host relationships. *The American Naturalist*, **124**, 609–630.
- Jobb, G. von Haeseler, A. Strimmer, K. (2004). TREEFINDER: a powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. *BMC Evolutionary Biology*, **4**, 18.
- Johnson, C.D (1981). Seed beetle host specificity and the systematic of the Leguminosae. In: Polhill, R.M. Raven, P.H. (eds). *Advances in Legume Systematics*, The Royal Botanic Gardens, Kew, 995–1027 pp.
- Karban, R. Baldwin, I. T. (1997). Induced responses to herbivory. Chicago University Press, Chicago, 330 pp.
- Kergoat, G.J. Alvarez, N. Hossaert-Mckey, M. Faure, N. Silvain, J.F. (2005). Parallels in the evolution of the two largest New and Old World seed-beetle genera (Coleoptera, Bruchidae). *Molecular Ecology*, **14**, 4003-4021.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary rate at the molecular level. *Nature*, **217**, 624–626.
- Kimura, M. (1983). *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, 384 pp.
- King, J.L. Jukes, T.H. (1969). Non-Darwinian Evolution. *Science*, **164**, 788–798.
- Krebs, C.J. (2001). Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance. Benjamin Cummings, San Francisco, 688 pp.
- Kwak, M. Gepts, P. (2009). Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, **118**, 979-992.
- Kwak, M. Kami, J.A. Gepts, P. (2009). The putative mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago Basin of Mexico. *Crop Science*, **49**, 554-563.
- Landis, D.A. Wratten, S.D. Gurr, G.M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, **45**, 175-201.
- Legendre, P. Gallagher, E. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, **129**, 271-280.

- Lindeman, R. L. (1942). The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology*, **23**, 399-417.
- Loreau, M. (2010). Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **365**, 49-60.
- Lozier, J. D. Roderick, G. K. & Mills, N. J. (2008). Evolutionarily significant units in natural enemies: Identifying regional populations of *Aphidius transcaspicus* (Hymenoptera: Braconidae) for use in biological control of mealy plum aphid. *Biological Control*, **46**, 532-541.
- Macfadyen, S. Bohan, D.A. (2010). Crop domestication and the disruption of species interactions. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 116-125.
- Magnacca, K.N. Brown, M.J.F. (2010). Tissue segregation of mitochondrial haplotypes in heteroplasmic Hawaiian bees: implications for DNA barcoding, *Molecular Ecology Resources*, **10**, 60-68.
- Maldonado-Koerdell, M. Geohistory y paleogeography of Middle America. (1964). In: West, R.C. (ed). *Handbook of Middle America Indians*. Volume 1, Natural Environment and early cultures. University of Texas Press, Austin, 3–32 pp.
- Manel, S. Schwartz, M. K. Luikart, G. Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 189-197.
- McDonald, J.A. Fitogeografía e historia de la flora alpina-subalpina del noreste de México. (1998). In: Ramamoorthy, T.P. Bye, R. Lot, A. Fa, J. (eds). *Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México, 665–686 pp.
- Müller, C.B. Krauss, J. (2005). Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes. *Current Opinion in Plant Biology*, **8**, 450-456.
- Muller, H. J. (1950). Our load of mutations. *American Journal of Human Genetics*, **2**, 111–76.
- Murdoch, W.W. (1966). Aspects of the population dynamics of some marsh *Carabidae*. - *J. Animal Ecology*, **35**, 127–156.

- Myers, A. A. Giller, P. S. (1988). *Analytical Biogeography; An Integrated Approach to the Study of Animal and Plant Distributions*. Chapman and Hall, London, 580 pp.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512 pp.
- Nei, M. Tajima, F. (1981). DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, **97**, 145-163.
- Nei, M. Takahata, N. (1993). Effective population size, genetic diversity, and coalescence time in subdivided populations. *Journal of Molecular Evolution*, **37**, 240–244.
- Neigel, J.E. Avise, J.C. (1986). Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. In: Nevo, E. Karlin, S. (eds). *Evolutionary Processes and Theory*, Academic Press, New York, 515–534 pp.
- Nyabuga, F.N. Loxdale, H.D. Heckel, D.G. Weisser, W.W. (2010). Spatial population dynamics of a specialist aphid parasitoid, *Lysiphlebus hirticornis* Mackauer (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae): evidence for philopatry and restricted dispersal. *Heredity*, **105**, 433-442.
- Oksanen, J. Kindt, R. Legendre, P. O'Hara, B. Simpson, G.L. Solymos, P. Stevens, M.H.H. Wagner, H. (2008). vegan: Community Ecology Package. R package version 1.15-0. <<http://cran.r-project.org/>, <http://vegan.r-forge.r-project.org/>>
- Oksanen, L. (1988). Ecosystem organization—mutualism and cybernetics or plain Darwinian struggle for existence? *The American Naturalist*, **131**, 424–444.
- Oldfield, M. L. Alcorn, J. B. (1987). Conservation of Traditional Agroecosystems. *BioScience*, **37**, 199-208.
- Oliver, K. M. Degnan, P. H. Hunter, M. S. Moran, N. A. (2009). Bacteriophages encode factors required for protection in a symbiotic mutualism. *Science*, **325**, 992-994.
- Olf, H. Alonso, D. Berg, M. P. Eriksson, B. K. Loreau, M. Piersma, T. Rooney, N. (2009). Parallel ecological networks in ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **364**, 1755-1779.
- Omacini, M. Chaneton, E.J. Ghersa, C.M. Müller, C.B. (2001). Symbiotic fungal endophytes control insect host-parasite interaction webs, *Nature*, **409**, 78–81.

- Orita, M. Iwahana, H. Kanazawa, H. Hayashi, K. Sekiya, T. (1989). Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **86**, 2766-2770.
- Papa, R. Gepts, P. (2003). Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theoretical and Applied Genetics*, **106**, 239-250.
- Pesole, G. Sbisa, E. Preparata, G. Saccone, C. (1992). The evolution of the mitochondrial D-loop region and the origin of modern man. *Molecular Biology and Evolution*, **9**, 587-598.
- Polis, G.A. Myers, C.A. Holt, R.D. (1989). The ecology and evolution of intraguild predation—potential competitors that eat each other. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **20**, 297–330.
- Posada, D. Crandall, K.A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, **14**, 817 - 818.
- Pressoir, G. Berthaud, J. (2004). Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity*, **92**, 88-94.
- Quinn, T.W. Wilson, A.C. (1993). Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *Journal of Molecular Evolution*, **37**, 417–425.
- Rand, T. A. Tschardtke, T. (2007). Contrasting effects of natural habitat loss on generalist and specialist aphid natural enemies. *Oikos*, **116**, 1353-1362.
- Rausher, M. D. (1992). The measurement of selection on quantitative traits: biases due to environmental covariances between traits and fitness. *Evolution*, **46**, 616-626.
- Restoux, G. Hossaert-McKey, M. Benrey, B. Alvarez, N. (2010). The effect of host plant and isolation on the genetic structure of phytophagous insects: A preliminary study on a bruchid beetle. *European Journal of Entomology*, **107**, 299-304.
- Rigaud, T. Souty-Grosset, C. Raimond, R. Mocquard, J.P. Juchault, P. (1991). Feminizing endocytobiosis in the terrestrial crustacean *Armadillidium vulgare* Latr. (Isopoda): recent acquisitions. *Endocytobiosis and Cell Research*, **7**, 259–273.

- Roderick, G. K. (1996). Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, **41**, 325-352.
- Romero, J. Johnson, C.D. (1999). *Zabrotes sylvestris*, a new species from the United States and Mexico related to *Z. subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). *Coleopterists Bulletin*, **53**, 87-98.
- Ronquist, F. Huelsenbeck, J. P. (2003). MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, **19**, 1572-1574.
- Rossi, M. Bitocchi, E. Bellucci, E. Nanni, L. Rau, D. Attene, G. Papa, R. (2009). Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Evolutionary Applications*, **2**, 504-522.
- Sabelis, M. W. van Baalen, M. Bakker, F. M. Bruin, J. Drukker, B. Egas, M. Janssen, A. R. M. Lesna, I. K. Pels, B. van Rijn, P. C. J. Scutareau, P. (1999). The evolution of direct and indirect plant defence against herbivorous arthropods. In Olf, H. Brown, V.K. Drents, R. H. (eds). *Herbivores: between Plants and Predators*. Blackwell Science, Oxford. 106-109 pp.
- Salemi, M. Vandamme, A.M. (2003). *The Phylogenetic Handbook: a Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny*. 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge, 430 pp.
- Savard, J. Tautz, D. Richards, S. Weinstock, G. M. Gibbs, R. A. Werren, J. H. Tettelin, H. Lercher, M.J. (2006). Phylogenomic analysis reveals bees and wasps (Hymenoptera) at the base of the radiation of Holometabolous insects. *Genome Research*, **16**, 1334-1338.
- Schluter, D. (2000). *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press, Oxford, 296 pp.
- Schneider, C. J. Cunningham, M. Moritz, C. (1998). Comparative phylogeography and the history of endemic vertebrates in the wet tropics rainforests of Australia. *Molecular Ecology*, **7**, 487-498.
- Schoener, T. W. (1974). Resource partitioning in ecological communities. *Science*, **185**, 27-39.

- Sambrook, J. Fritsch, E.F. Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 999 pp.
- Sheffield, V.C. Beck, J.S. Kwitek, A.E. Sandstrom, D.W. Stone, E.M. (1993). The sensitivity of single-strand conformation polymorphism analysis for the detection of single base substitutions. *Genomics*, **16**, 325-332.
- Shields, G.F. Wilson, A.C. (1987). Calibration of mitochondrial DNA evolution in geese. *Journal of Molecular Evolution*, **24**, 212–217.
- Simpson, G.G. (1953). *The Major Features of Evolution*. Columbia University Press, New York, 434 pp.
- Smith, B. D. (1995). *The emergence of agriculture*. W. H. Freeman, New York, 232 pp.
- Southgate, B.J. (1979). Biology of the Bruchidae. *Annual Review of Entomology*, **24**, 449–473.
- Stouthamer, R. (1997). *Wolbachia*-induced parthenogenesis. In: O'Neill, S.L. Hoffmann, A.A. Werren, J.H. (eds). *Influential Passengers – Inherited Micro-organisms and Arthropod Reproduction*. Oxford University Press, Oxford. 102–124 pp.
- Thompson, J.D. Gibson, T.J. Plewniak, F. Jeanmougin, F. Higgins, D.G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, **25**, 4876-4882.
- Tilman, D. (1982). Resource competition and community structure. Princeton University Press, Princeton, 296 pp.
- Tscharntke, T. Hawkins, B.A. (2002a). *Multitrophic Level Interactions*. Cambridge University Press, Cambridge, 288 pp.
- Tscharntke, T. Klein, A. M. Kruess, A. Steffan-Dewenter, I. Thies, C. (2005a). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters*, **8**, 857-874.
- Tscharntke, T. Rand, T. A. Bianchi, F. J. J. A. (2005b). The landscape context of trophic interactions: insect spillover across the crop-noncrop interface. *Annales Zoologici Fennici*, **42**, 421-432.

- Tscharntke, T. Steffan-Dewenter, I. Kruess, A. Thies, C. (2002b). Contribution of small habitat fragments to conservation of insect communities of grassland-cropland landscapes. *Ecological Applications*, **12**, 354-363.
- Tuda, M. Ronn, J. Buranapanichpan, S. Wasano, N. Arnqvist, G. (2006). Evolutionary diversification of the bean beetle genus *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): traits associated with stored-product pest status. *Molecular Ecology*, **15**, 3541-3551.
- Turlings, T. Benrey, B. (1998). The effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience*, **5**, 321-333.
- Turlings, T.C.J. McCall, P.J. Alborn, H.T. Tumlinson, J.H. (1993). An elicitor incaterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 411-425.
- Turlings, T.C.J. Tumlinson, J.H. Lewis, W.J. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps, *Science*, **250**, 1251-1253.
- Ulanowicz, R. E. (1997). Ecology, the ascendent perspective. Columbia University Press. New York, 201 pp.
- UN, J. (2004). *World population to 2300*. United Nations, New York.
- van den Bergh, J.C.J.M. (2002). *Handbook of Environmental and Resource Economics*. Edward Elgar Publ, Cheltenham, 1328 pp.
- Vandermeer, J. (1980). Indirect mutualism—variations on a theme by Stephen Levine. *The American Naturalist.*, **116**, 441-448.
- Vet, L.E.M. Groenewold, A.W. (1990). Semiochemicals and learning in parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, **16**, 3119-3135.
- Vet, L.E.M. Lewis, W.J. Cardé, R.T. (1995). Parasitoid foraging and learning. In: Cardé, R.T. Bell, W.J. (eds). *Chemical Ecology of insects 2*. Chapman & Hall, New York, 65-101 pp.
- Wajnberg, E. Bernstein, C. van Alphen, J. (2008). *Behavioural Ecology of Insect Parasitoids - From theoretical approaches to field applications*. Blackwell Publishing, Malden, 445 pp.
- Wares, J.P. Cunningham, C.W. (2001a). Comparative phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, **55**, 2455-2469.

- Wares, J.P. Cunningham, C.W. (2001b). Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, **12**, 2455–2469.
- Weir, B.S. Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1371-1383.
- Whitefield, J. B. (1998). Phylogeny and evolution of host-parasitoid interactions in hymenoptera. *Annual review of entomology*, **43**, 129-151.
- Whitlock, M. C. Barton, N. H. (1997). The effective size of a subdivided population. *Genetics*, **146**, 427-441.
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian Populations. *Genetics*, **16**, 97-159.
- Wright, S. (1969). *Evolution and the Genetics of Populations*. Volume 2. The Theory of Gene Frequencies. University of Chicago Press, Chicago, 520 pp.
- Wright, S. (1940) The statistical consequences of mendelian heredity in relation to speciation. In Huxley J.S. (ed). The new systematics. Oxford University Press, Oxford, 161-83 pp.
- Yen, J.H. Barr, A.R. (1973). The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **22**, 242-250.
- Zeder, M. A. Emshwiller, E. Smith, B. D. Bradley, D. G. (2006). Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *Trends in Genetics*, **22**, 139-155.
- Zink, R.M. (1996). Comparative phylogeography of North American birds. *Evolution*, **50**, 308-317.
- Zizumbo-Villarreal, D. Colunga-Garcia Marin, P. Payro de la Cruz, E. Delgado-Valerio, P. Gepts, P. (2005). Population structure and evolutionary dynamics of wild-weedy-domesticated complexes of common bean in a Mesoamerican region. *Crop Science*, **45**, 1073-1083.

Annexe

Annexe 1.1 : Sites d'échantillonnage avec coordonnées GPS.

Sites	Localités	États	Longitude	Latitude
A1	Los Negros	Michoacan	W101 47 23.3	N19 10 38.7
A2	Tzintzintzan	Michoacan	W101 32 46.2	N19 38 23.8
B1	Pontzontepc	Mexico	W99 54 0.00	N18 43 58.80
B2	Santa Maria Guerrero	Guerrero	W99 40 24.9	N18 41 36.7
B3	Zapayactla	Mexico	W99 33 11.0	N19 00 48.9
B4	San Simon del Alto	Mexico	W99 30 11.0	N18 59 39.7
B5	San Simon del Alto	Mexico	W99 30 11.0	N18 59 39.7
B6	Santa Maria Xociat	Mexico	W99 29 39.5	N18 48 37.5
B7	Nostepec de Zaragosa	Mexico	W99 28 47.0	N18 48 38.3
B8	La Guarda	Mexico	W99 28 45.9	N19 01 12.0
B9	La Guarda	Mexico	W99 28 34.4	N19 00 13.6
B10	Tepoztlan	Morelos	W99 07 08.1	N18 59 57.8
B11	San Jose de los Laureles	Morelos	W99 00 34.3	N18 58 51.1
B12	San Juan Amecac	Puebla	W98 39 28.3	N18 50 01.6
C1	Tlamanca	Puebla	W97 41 46.1	N19 40 30.6
C2	Cauximaloyan	Puebla	W97 39 38.9	N19 51 59.4