

UCH-FC
B. Ambiental
R457a
C.1



FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE PREGRADO

**ANÁLISIS DEL PATRÓN DE EMERGENCIA DE LA MOSCA
PARASITOIDE *Phasmophaga (Phasmovora) phasmophagae*
(DIPTERA: TACHINIDAE) EN SU HOSPEDERO *Agathemera crassa*
(PHASMATODEA: AGATHEMERIDAE): EFECTOS DEL
TAMAÑO CORPORAL, SEXO Y ESTACIONALIDAD.**

Seminario de Título

entregado a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al título de

Biólogo con mención en Medio Ambiente

Claudio Vittorio Reyes Olivares

Enero-2013

Santiago-Chile

Director del Seminario de Título: Dr. Claudio Patricio Veloso Iriarte



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, que el Seminario de Título presentado por el Sr. **CLAUDIO VITTORIO REYES OLIVARES**

“ANÁLISIS DEL PATRÓN DE EMERGENCIA DE LA MOSCA PARASITOIDE *Phasmophaga (Phasmovora) phasmophagae* (DIPTERA: TACHINIDAE) EN SU HOSPEDERO *Agathemera crassa* (PHASMATODEA: AGATHEMERIDAE): EFECTOS DEL TAMAÑO CORPORAL, SEXO Y ESTACIONALIDAD”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con Mención en Medio Ambiente

Dr. Claudio Veloso Iriarte
Director Seminario de Título

Comisión de Evaluación

Dra. Carezza Botto Mahan
Presidenta Comisión

Dr. Cristian Villagra Gil
Evaluador



Santiago, enero del 2013



Claudio Vittorio Reyes Olivares nació el 28 de octubre de 1988, en Santiago de Chile. Desde pequeño mostró gran interés por la naturaleza, particularmente por el asombroso reino animal. Sus estudios secundarios los realizó en el Instituto Nacional José Miguel Carrera donde reafirmó su pasión por la biología. Posteriormente, en el año 2007, ingresó a estudiar Biología con mención en Medio Ambiente en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, donde desarrolló una marcada fascinación por el estudio de los insectos, por lo que realizó unidades de investigación bajo la tutela de la profesora Irma Vila y del Dr. Claudio Veloso. Al mismo tiempo, y debido a su afición por la fauna de nuestro país, participa hasta el día de hoy como ayudante del curso Zoología de Campo. Actualmente, desarrolla estudios relacionados con el patrón de emergencia de la mosca parasitoide *Phasmophaga phasmophagae* en su hospedero *Agathemera crassa* en el Laboratorio de Ecofisiología Animal, bajo la dirección del Dr. Claudio Veloso. Consecutivamente, Claudio pretende renovar su línea investigativa analizando aspectos ecológicos en reptiles chilenos, su nuevo grupo de interés.

*A mis padres, Graciela y Claudio,
a mis hermanos Carolina, Conny y Gino,
y a mi compañera Inger*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer de forma muy especial a mi tutor el Dr. Claudio Veloso, quien con paciencia y mucha calidad humana me ha guiado y apoyado, no solo en esta etapa, sino que a lo largo de toda mi formación académica. Además, le agradezco sinceramente el haberme inculcado el interés por el fascinante mundo de los insectos.

También, retribuyo a la Dra. Karin Maldonado, Dra. Carezza Botto y Dr. Cristian Villagra por su ayuda en la revisión y mejora de este trabajo, y por el apoyo y consejos entregados a lo largo de su desarrollo, y al Dr. Mauricio Canals por su asistencia en los análisis estadísticos.

Agradezco de forma muy personal a mis amigos Pedro Méndez, Felipe Fuentes, Simón Anguita, y a mi hermana Conny Reyes, por haberme ayudado en el trabajo de terreno. Reconozco la invaluable ayuda de Inger Rain en la traducción del resumen y edición del presente trabajo, y por haber sido un pilar fundamental en la realización de este seminario. Agradezco nuevamente al Dr. Claudio Veloso, Mariana Thienel y Pedro Méndez por facilitarme las fotografías, y a Conny Reyes por la edición de éstas.

Doy las gracias a todos mis amigos, compañeros de laboratorio, primos, tíos, abuelos y conocidos, por entregarme el ánimo necesario para seguir adelante, y por mostrar siempre interés en mi trabajo.

Finalmente, agradezco cariñosamente a mi familia, ya que sin ella esta labor no hubiera sido concretada. Especialmente gratifico a mis padres Graciela y Claudio por estimular desde niño mi pasión por el reino animal.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
<i>Tamaño corporal y sexo como factores en la interacción parasitoide-hospedero</i>	4
<i>Estacionalidad y parasitoidismo</i>	5
<i>Emergencia del parasitoide desde el hospedero</i>	7
<i>Modelo de estudio</i>	8
Hipótesis	12
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
<i>Muestras animales</i>	15
<i>Parámetros morfológicos y CPA</i>	15
<i>Análisis estadístico</i>	17
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN.....	28
<i>CPA e IPA en individuos de A. crassa a lo largo del período libre de nieve</i>	28
<i>¿Existe preferencia de P. phasmophagae por algún sexo en particular de A. crassa?</i>	30
<i>CPA y tamaño corporal del hospedero</i>	31
<i>Emergencia larval a lo largo del cuerpo de A. crassa</i>	32
CONCLUSIONES.....	35
ANEXO.....	37
BIBLIOGRAFÍA.....	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Valores de la Prueba *a posteriori* de Tukey (ANDEVA) por sexo y mes, para cada variable morfométrica registrada en individuos de *A. crassa* (masa corporal (m_b), largo corporal (L_c), largo de fémur (L_f) y largo de tibia (L_t)), separadas por una línea diagonal descendente. En negrita se indican los valores significativos ($P < 0,05$).....20

Tabla 2: Morfometría del parámetro masa corporal (m_b), largo corporal (L_c), largo de fémur (L_f) y largo de tibia (L_t) de individuos de *A. crassa*, para los meses de noviembre ($n = 51 \text{ ♂}$; $n = 36 \text{ ♀}$), enero ($n = 41 \text{ ♂}$; $n = 35 \text{ ♀}$), marzo ($n = 51 \text{ ♂}$; $n = 34 \text{ ♀}$) y abril ($n = 54 \text{ ♂}$; $n = 45 \text{ ♀}$) (Promedio \pm EE). En negrita se indica la significancia del análisis *a posteriori* de comparaciones entre sexos por variables, en cada mes.....21

Tabla 3: Incidencia Parasitaria Aparente (IPA: n° de individuos con cicatrices) relativa al sexo de individuos de *A. crassa* por mes (%).....23

Tabla 1 (ANEXO): Frecuencias de hembras y machos, valores de Chi-cuadrado (χ^2) y proporción sexual de individuos de *A. crassa* por mes de estudio.....38

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Macho y hembra de *A. crassa* (A); adulto (B) y larva (C) de *P. phasmophagae*. Fotos: Claudio Veloso (A) y Mariana Thienel (B y C).....11
- Figura 2:** Registro de las cicatrices generadas por la emergencia del parasitoide *P. phasmophagae* a lo largo de los segmentos abdominales de una hembra (A) y de un macho (B) de *A. crassa*, y segmentos corporales del hospedero (P: Protórax; Meso: Mesotórax; Met: Metatórax; 1° - 7°: primer al séptimo segmento abdominal; G: Genitalia) (C). Fotos: Pedro Méndez.....16
- Figura 3:** CPA mensual de hembras, machos y del total de individuos de *A. crassa*, (Promedio \pm EE). La CPA fue similar entre meses (ANCOVA; $F_{(3,123)} = 1,53, P = 0,21$). Además, el análisis estadístico no reveló un efecto significativo del sexo del animal (ANCOVA; $F_{(1,123)} = 0,0017, P = 0,97$) ni de la interacción mes x sexo (ANCOVA; $F_{(3,123)} = 0,14, P = 0,94$).....22
- Figura 4:** CPA de individuos de *A. crassa* según su L_c (cm) durante el período libre de nieve ($y = 1,0863x - 1,8882; R^2 = 0,053; P < 0,01$).....24
- Figura 5:** CPA por sexo de individuos de *A. crassa* según su L_c (cm), durante los meses libres de nieve. **Hembras** (\blacktriangle): $y = 1,0549x - 1,5584, R^2 = 0,016, P = 0,74$; **Machos** (\bullet): $y = 0,3381x + 2,1746, R^2 = 0,026, P = 0,1$25
- Figura 6:** Cicatrices del exoesqueleto registradas por segmento corporal en hembras y machos de *A. crassa*, considerando sólo individuos con parasitación aparente ($n = 132$), durante el período libre de nieve (Promedio \pm EE). Pro: Protórax, Meso: Mesotórax, Meta: Metatórax, 1^{er} - 6^{to}: primer al sexto segmento del abdomen. (*) Exclusivamente en el 3^{er} segmento abdominal existieron diferencias significativas entre sexos (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,024$).....27

LISTA DE ABREVIATURAS

ARM: Análisis de Regresión Múltiple

CPA: Carga Parasitaria Aparente

cm: Centímetro

SSD: Dimorfismo Sexual con respecto al Tamaño

EE: Error Estándar

°C: Grado Celsius

g: Gramo

IPA: Incidencia Parasitaria Aparente

L_c: Largo corporal

L_f: Largo de fémur

L_t: Largo de tibia

m_b: Masa corporal

msnm: Metros sobre el nivel del mar

RESUMEN

Las estrategias de historia de vida parasitoide, como la idiobionte, donde el hospedero muere o es inmovilizado al momento de la parasitación, o la relación koinobionte, donde al hospedero le es permitido crecer hasta un determinado punto antes de morir, han sido principalmente asociadas al orden Hymenoptera. Sin embargo, existen otros grupos de invertebrados que se consideran como parasitoides, entre estos se destacan los dípteros de la familia Tachinidae. Estas moscas presentan una serie de características que no necesariamente coinciden con las dos estrategias anteriormente mencionadas, ya que en algunos casos, a pesar de requerir cumplir una etapa conspicua de su desarrollo dentro del hospedero, pueden incluso no afectar la sobrevivencia de este mismo. Este es el caso de la relación entre el fásmidio altoandino *Agathemera crassa* (Phasmatodea: Agathemeridae) y su parasitoide taquinido *Phasmophaga phasmophagae* (Diptera: Tachinidae). Investigué los factores abióticos y bióticos que podrían incidir en el patrón de emergencia de este parasitoide. Específicamente, dentro de los factores bióticos evalué la importancia del sexo y tamaño corporal del hospedero, mientras que como factor abiótico estudié el efecto del cambio estacional de la temperatura en la incidencia del parasitoidismo. Para esto exploré las posibles diferencias intersexuales a lo largo del período libre de nieve de la carga parasitaria aparente (CPA¹). Además, evalué si existe una relación entre la CPA y el tamaño corporal de hospederos machos y hembras, y el

¹ Cantidad total de cicatrices dejadas por la emergencia del parasitoide. Es un indicador del número de parasitoides emergidos entre dos mudas, además de ser una aproximación de la carga parasitaria del hospedero.

patrón de emergencia corporal del parasitoide. Conjuntamente, caractericé parámetros poblacionales de la relación parasitoide-hospedero como incidencia parasitaria aparente (IPA²) y proporción sexual del hospedero. Junto con esto consideré la masa y largo corporal y de las extremidades, número total de cicatrices, e identifiqué el segmento en el cual se encontró cada una de éstas. Los resultados indican que no existe variación mensual de la CPA en la población. Este continuo podría atribuirse a una relación de “control” entre hospedero y parasitoide sugerida por Zamorano (2009), a través de selectividad conductual de óptimos ambiental, que mantendría los rendimientos de la larva relativamente constantes. Por otra parte, no hubo diferencia entre sexos en el nivel de CPA al descartar el efecto del tamaño corporal, y se encontró una IPA similar en ambos sexos, por lo que no existiría sesgo de oviposición por parte del taquírido basado en el sexo del hospedero. Esta idea es sustentada por la evidencia de oviposición indirecta reportada para el género *Phasmophaga*, donde el parasitoide ovipositaría en plantas consumidas por el hospedero fitófago, por lo que tanto machos como hembras serían parasitados sin discriminación. Existe una asociación positiva y significativa entre la CPA y el largo corporal. De esta forma, los individuos con tamaños corporales mayores permitirían soportar una mayor CPA, ya que ofrecen mejores reservas energéticas y de espacio para las larvas parasitoides. Adicionalmente, ciertas regiones del cuerpo del hospedero poseen mayor registro de cicatrices, específicamente desde el metatórax al tercer segmento abdominal, debido a la selección larval de áreas blandas

² Proporción de individuos que presentan registro de parasitación en la población. En este trabajo, se considera como parasitado un individuo que al menos presente una cicatriz por emergencia de la larva parasitoide (C. Veloso, comunicación personal).

para emerger en el exoesqueleto del hospedero. Aunque las hembras poseen mayor registro de perforaciones que machos en el 3^{er} segmento abdominal, no existe un patrón de emergencia larval diferencial entre sexos. Por último, las poblaciones naturales de *A. crassa* presentan proporciones sexuales sesgadas a machos, y se confirma el dimorfismo sexual con respecto al tamaño en esta especie.

ABSTRACT

Parasitoid life-history strategies, as idiobiont in which the parasitoid kill or immobilize the host at parasitism, or the relationship koinobiont, in which it delays the death of the host, have been mainly associated to the Hymenoptera order. However, there are several other invertebrates with parasitic life style. Among them one relevant group correspond to the dipteran parasitoids of the family Tachinidae. These flies present a range of characteristics not necessarily related to the strategies above mentioned. This due to the fact that even when tachinids spent part of its life cycle in tight dependence of a host, they may not necessarily affect the survival of it. In this work I explore the abiotic and biotic factors between the Andean phasmid *Agathemera crassa* and its tachinid parasitoid *Phasmophaga* (= *Phasmovora*) *phasmophagae*. Specifically, I evaluated biotic factors as the importance of sex and body size of the host, while as abiotic factor I studied the effects of seasonal temperature change on the incidence of parasitoidism. Potential intersex differences were evaluated along the snow-free period for the apparent parasitic load (APL³). In addition, I focused on the traits derived from sexual dimorphism such as body size and correlated it with APL. Moreover, I analyzed the body emergence pattern of the parasitoid and additional population variables such as apparent parasitic incidence (API⁴) and host sex ratio. As a further matter, I quantified host's body and limbs length, body mass, the total number of parasitoid-produced scars.

³ The total number of parasitoid-produced scars. It indicates the emerged parasitoid number between two moults. Also, it is an approach to the parasitic load of the host.

⁴ Parasite individuals ratio in the host population. A parasite individual is one which at least has one scar produced by the emergence of the parasitoid larva (C. Veloso, personal communication).

Finally we surveyed the identity of *A. crassa*'s segment in which each scar was found. I was not able to detect monthly variation in APL. This continuum has been attributed to a 'control' relationship or feedback between host-parasitoid proposed by Zamorano (2009), through behavioral selectivity of optimal environmental conditions which maintain constant the larva's development time. On the other hand, when I removed the effect of body size, I did not find differences between sexes for APL level. Also I discovered that API values were similar in both sexes. Based on these results I suggest the absence of a host sex bias in oviposition by the parasitoid fly. This idea is supported by the evidence of indirect oviposition on plants used by its phytophagous host, situation described for this genus of parasitic flies. I found a significant and positive association between the APL and body size. Individuals with larger body sizes support a higher APL. This could be explained by the fact that these individuals may offer better energy and spatial resources for the successful development of several parasitoid larvae. Further, certain body regions of the host had higher record of APL, specifically from the metathorax to the third abdominal segment. This situation would be related to soft area selection by the larva to emerge in the exoskeleton of the host. Although females showed a higher scar record than males in the third abdominal segment, we detected no statistical differences in larval emergence pattern among sexes. Finally, I found that natural population of *A. crassa* presents a male-biased sex ratio, and I confirm the sexual size dimorphism present in this species.

INTRODUCCIÓN

Un insecto parasitoide se caracteriza por poseer etapa adulta de vida libre, desarrollar una progenie reducida por hospedero e impedir que su hospedero sobreviva al encuentro con el parasitoide (Vinson y Iwantsch, 1980). Godfray (1994), agrega que un parasitoide puede ser reconocido por el hábito alimenticio de su larva, la cual debe alimentarse del cuerpo de un solo hospedero artrópodo, de forma solitaria o gregaria, matándolo. En estadios superiores el parasitoide emergerá desde el cuerpo de su hospedero para seguir desarrollándose en vida libre (Godfray, 1994).

El modo de vida parasitoide ha sido descrito en cinco órdenes de insectos holometábolos: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Lepidoptera y Neuroptera (Eggleton y Belshaw, 1992), siendo el orden Hymenoptera el que reúne el mayor número de especies de insectos parasitoides, con aproximadamente un 78% del total (Freener y Brown, 1997). Por su gran abundancia, diversidad e importancia ecológica, los himenópteros han sido definidos como grupo modelo en el estudio del parasitoidismo, y por ende, son referentes actuales en la definición de esta interacción (Freener y Brown, 1997; Dindo, 2010). Sin embargo, este grupo comparte características biológicas únicas, tales como: (i) representar un linaje evolutivo único (mientras que en dípteros o coleópteros existen numerosos linajes), (ii) diferenciarse totalmente de los mecanismos de oviposición con otros grupos, y (iii) presentar haplodiploidía (Freener y Brown, 1997), por lo que las definiciones del estilo de vida parasitoide, determinadas por el orden Hymenoptera, no podrían ser extendidas a otros grupos de insectos sin establecer

primero el conocimiento biológico y ecológico de la especie en estudio (Belshaw, 1994; Freener y Brown, 1997; Kan y col., 2003; Stireman y col., 2006; Dindo, 2010). En este sentido, se ha documentado que existen diferencias significativas en la interacción larva parasitoide-hospedero entre Hymenoptera y Diptera ya que los primeros matan o paralizan a su hospedero para atenuar las defensas inmunológicas de éste, mientras que los segundos, al no utilizar tóxicas, deben buscar sistemas de evasión al ataque inmune, tales como ubicarse en regiones protegidas (e.g., glándulas) del sistema inmune del hospedero (Salt, 1968). Estas restricciones para el orden Diptera, producen que en términos ecológicos sean parasitoides más generalistas en cuanto a la selección de hospederos en comparación al orden Hymenoptera donde gran parte de las especies son especialistas (Freener y Brown, 1997).

El orden Diptera es el segundo orden de insectos con mayor número de especies parasitoides (Eggleton y Belshaw, 1992; Stireman y col., 2006). Posee alrededor de 16.000 especies que presentan una estrategia de vida parasitoide (Freener y Brown, 1997), lo que corresponde al 20% de las especies descritas dentro de este grupo. En general, los dípteros como parasitoides se caracterizan por ser endoparásitos (excepto la familia Bombyliidae), y por explotar una gran diversidad de órdenes como hospederos, pertenecientes a cinco Phyla distintos (Eggleton y Belshaw, 1992; Freener y Brown, 1997). Dentro de los dípteros, la familia Tachinidae es la más representativa, con alrededor de 10.000 especies descritas, todas parasitoides, principalmente abundantes en la región Neotropical (O'Hara, 2011). Los taquinidos se caracterizan por poseer tres estadios larvales, y por no atacar insectos en etapa sésil como huevos o pupas (Dindo, 2010). Además, este grupo de parasitoides es definido como Koinobionte, debido a que

depositan sus huevos directa o indirectamente a través de un ovipositor membranoso, sin inyectar toxinas o poliDNAvirus que paralicen o maten a su hospedero al momento del ataque, lo que permite que éste se desarrolle después de ser parasitado (Askew y Shaw, 1986; Pennacchio y Strand, 2006; Dindo, 2010). Parasitan comúnmente estadios larvales de insectos fitófagos del orden Lepidoptera, Heteroptera, Coleoptera, Hymenoptera y Ortoptera, y en menor medida ordenes como Blattodea, Dermaptera, Diptera, Mantodea y Phasmida (Cerreti y Tschorsnig, 2010; Stireman y col., 2006), e incluso del orden Scorpiones (Williams y col., 1990).

A pesar de que este grupo presenta gran diversidad y abundancia, poco se sabe sobre aspectos importantes de su ecología, historia evolutiva y comportamiento (Grenier, 1988; Stireman y col., 2006). Esto ha generado que estudios anteriores, referidos a la interacción parasitoide-hospedero, sean realizados en grupos de parasitoides más conocidos (e.g. orden Hymenoptera), existiendo una carencia de investigaciones que aborden este fenómeno de una manera más generalizada. Por lo tanto, es esencial entender aspectos directamente relacionados a la interacción parasitoide-hospedero, tales como la conducta reproductiva, rangos específicos de hospederos y los patrones de emergencia tanto temporales como espaciales en grupos parasitoides menos conocidos (Wood, 1987; Stireman y Singer, 2003; Stireman y col., 2006).

Tamaño corporal y sexo como factores en la interacción parasitoide-hospedero

Para un parasitoide el tamaño corporal de su hospedero es señalado como un estimador de la cantidad de recursos disponibles para su desarrollo (Charnov, 1982), siendo éste el que determinaría el total de recursos nutricionales destinados a la larva (Nicol y Mckauer, 1999). Asimismo, debido a que el tamaño de un hospedero es considerado como una fuente finita de recursos, éste puede estar relacionado con los niveles de competencia entre parasitoides dentro del hospedero, afectando la sobrevivencia de éstos (Vinson y Iwantsch, 1980). De esta forma, las restricciones de espacio y recursos generadas por el tamaño del hospedero pueden provocar cambios en los parasitoides, tanto en su tamaño corporal al momento de la emergencia (Purrington y Uleman, 1972; Cloutier y col., 2000), como en las proporciones sexuales de su descendencia (Purrington y Uleman, 1972; Stoepler y col., 2011). Asimismo, estas restricciones podrían aumentar el riesgo de sobrevivencia producto del superparasitismo (i.e., cuando huevos de una misma especie son depositados por hembras distintas en un mismo hospedero), como consecuencia de ataques físicos, supresión fisiológica, anoxia y/o secreción de toxinas entre larvas (Vinson y Iwantsch, 1980).

Gran parte de las especies animales poseen dimorfismo, y específicamente en invertebrados las hembras usualmente son de mayor tamaño que los machos (e.g. Esperk y col., 2007; Shreeves y Field, 2008). Dentro de este contexto, diferencias de tamaño generadas por dimorfismo sexual en hospederos podrían inducir variaciones en el desarrollo de los parasitoides, debido a diferencias en la disponibilidad de recursos y

espacio que éstos ofrecen (Teder y Tamaru, 2005), y a la producción de hormonas y defensas inmunológicas específicas a cada sexo (Duneau y Ebert, 2012).

Además, el sexo del hospedero puede generar señales sensoriales distintivas (e.g. señales auditivas, visuales, olfativas, quimiosensoriales, etc.), que pueden ser utilizadas por el parasitoide para localizarlo (Zuk y Kolluru, 1998; Stireman y col., 2006). En la familia Tachinidae se ha observado que algunos parasitoides seleccionan diferencialmente el sexo del hospedero, por ejemplo, a través de percepción de señales auditivas (fonotaxismo) (Cade, 1975), o por percepción de feromonas sexuales volátiles (quimiotaxismo) (Harris y Todd, 1980). También, se ha observado que dípteros parasitoides pueden utilizar señales visuales, como el tamaño corporal diferencial, para localizarlos (Morehead y Feener, 2000). Estas señales individuales podrían permitir al parasitoide atacar preferentemente algún sexo en particular (Stireman y col., 2006).

A pesar de que estas diferencias sexuales en hospederos podrían ser una importante fuente de variación, tanto en los mecanismos de localización como en el desarrollo de parasitoides, trabajos enfocados a abordar esta problemática han sido escasos en estudios de la interacción de moscas parasitoides y sus hospederos, fundamentalmente cuando éstos últimos poseen dimorfismo sexual con respecto al tamaño.

Estacionalidad y parasitoidismo

Las variaciones estacionales son eventos cíclicos, persistentes, que abarcan territorios geográficos amplios (Tauber y col., 1986). Éstas generan cambios en los ciclos de vida de animales y plantas, por lo que se reconocen como modeladoras importantes en los

procesos evolutivos (Tauber y col., 1986). Señales presentes en el ambiente, como fotoperíodo, temperatura o humedad, modulan ajustes conductuales, fisiológicos y morfológicos en insectos, como lo son la resistencia al frío, dormancia y migración (Tauber y col., 1986; Danks, 2005). Además, estas señales permiten sincronizar el ciclo de vida con cada uno de los cambios estacionales (Tauber y col., 1986).

Un factor ambiental sumamente relevante en el ciclo de vida de los insectos es la temperatura. Éstos al ser ectotermos poseen una temperatura corporal que se modula por las variaciones en la temperatura ambiental (Kingsolver y Huey, 2008), las que generan cambios en su fisiología, comportamiento y adecuación biológica (Denis y col., 2011). Por ejemplo, en insectos, incrementos en la temperatura ambiental se han relacionado con aumentos en su tasa metabólica, con importantes consecuencias en su éxito reproductivo (Huey y Kingsolver, 2011). Para el caso de insectos parasitoides se ha documentado que un aumento de su tasa metabólica induce cambios en su conducta de forrajeo dentro de sus hospederos, situación que se relacionaría con una mayor competencia por recursos alimenticios y de espacio (Denis y col., 2011).

Por otra parte, cambios en las temperaturas ambientales no tan sólo pueden afectar la capacidad del adulto para encontrar y evaluar a su hospedero (e.g. Micha y col., 2000), sino también la capacidad de las larvas para ajustarse al ambiente dentro de éste, en términos de la evasión a respuestas inmunes. En este sentido, el hospedero puede aumentar su respuesta inmune en contra de larvas parasitoides inmaduras, lo que determinaría un bajo éxito de parasitismo (Thomas y Blanford, 2003).

Además, parasitoides en condiciones de bajas temperaturas disminuyen su ingesta de alimentos, destinando gran parte de sus reservas a la mantención de su

metabolismo dentro de su hospedero, reduciendo así su tamaño en la emergencia (Hance y col., 2007). Las bajas temperaturas también pueden ser letales, ya que causan tanto daño físico por cristalización y estrés osmótico, como cambios en los tiempos de desarrollo y en las tasas de crecimiento, tamaño, longevidad y fecundidad (Hance y col., 2007).

Debido a que la temperatura ambiental es un importante modulador de la interacción parasitoide-hospedero, esta podría eventualmente afectar el patrón de emergencia a lo largo del tiempo, modificando tal vez el número de irrupciones parasitoides efectivas por temporada.

Emergencia del parasitoide desde el hospedero

Determinante dentro del ciclo de vida de cualquier organismo endoparasitoide es la capacidad de emerger desde su hospedero para continuar desarrollándose en vida libre (Godfray, 1994). Estudios de emergencia en parasitoides generalmente se han orientado por conocer la fenología de ésta y sus efectos sobre las dinámicas poblacionales de la interacción parasitoide-hospedero (Godfray y col., 1994; Cobbold y col., 2009). Otros estudios se han enfocado por entender tanto el efecto fisiológico de la salida del parasitoide y sus consecuencias sobre la conducta del hospedero (Adamo y col., 1997), como la regulación hormonal del hospedero sobre el parasitoide en la emergencia (Beckage y col., 2002). Asimismo, fenómenos poblacionales discretos, tales como cambios en el ritmo de emergencia o variaciones en la proporción sexual determinadas por el fotoperiodo también han sido desarrollados como estudios de este fenómeno (Fantinou y col., 1998; Kivan y Kilic, 2002). Sin embargo, la mayor parte de estos

trabajos han estudiado la emergencia parasitoide en el orden Hymenoptera, y sólo pocos en el orden Diptera (véase Kan y col., 2003).

Conjuntamente, se ha realizado un esfuerzo limitado por profundizar en los aspectos conductuales involucrados en la emergencia parasitoide (Nakamatsu y col., 2006). Registros de la emergencia a lo largo del cuerpo del hospedero podrían ayudar a comprender este tópico, al ser utilizados como rastros de la conducta de selección del parasitoide para emerger. Sin embargo, no existen trabajos que utilicen esta herramienta. Esto se debería a que en general los parasitoides, tanto idiobiontes como koinobiontes, matan a su hospedero en el momento de la parasitación o después de emerger, respectivamente (Godfray, 1994; Dindo, 2010). No obstante, se han descritos algunos casos de parasitoidismo koinobionte en que los hospederos no mueren por efecto de la erupción de larvas de taquínidos parasitoides (e.g. Lepidópteros (Karban y English-Loeb, 1997; Karban, 1998; Greeney y Stireman, 2001) y fásmidos (Thienel, 2010)), por lo que las heridas generadas cicatrizarían, transformándose en registros del fenómeno de emergencia. Ésta característica única del orden Diptera ofrece una oportunidad para comprender la conducta de emergencia de la larva parasitoide al evaluar si seleccionan regiones específicas del cuerpo del hospedero.

Modelo de estudio

Agathemera crassa Blanchard (Phasmatodea: Agathemeridae), conocido con el nombre vernáculo de “chinchemolle”, “chinchemoyo” o “tabolango”, es uno de los cuatro fásmidos endémicos de Chile pertenecientes al género *Agathemera* (Camousseight, 1995; Camousseight, 2005) (Fig.1A). Es un insecto fitófago que vive en

ambientes cordilleranos de Chile central hasta los 3000 msnm., desde el Río Aconcagua hasta las Termas del Flaco (Camousseight, 1995; Thienel, 2010; Vera y col., 2012). Presentan actividad nocturna, aunque en el día se les puede encontrar de forma gregaria, solitaria o en parejas, escondidos bajo piedras o arbustos (e.g., *Acaena* sp.) (Camousseight, 1995), generalmente sobre sus defecaderos comunitarios (C. Veloso, comunicación personal). Se caracterizan por expulsar una sustancia irritante y de fuerte olor secretada desde glándulas ubicadas en los ángulos anteriores del protórax, la que sería utilizada como mecanismo de defensa. Ésta especie, además, presenta un notable dimorfismo sexual en cuanto a la forma y el tamaño, siendo la hembra más grande que el macho (Camousseight, 1995), con una alometría positiva con respecto al tamaño en el abdomen (C. Veloso, comunicación personal). Ambos sexos de *A. crassa* son parasitados por *Phasmophaga* (= *Phasmovora*) *phasmophagae* Cortés (Cortés, 1968; Camousseight, 1995; Zamorano, 2009; Thienel, 2010), taquírido parasitoide dimórfico sexualmente, que tiene desarrollo larvario como endoparásito, y período pupal y adulto de vida libre (Zamorano, 2009) (Fig.1 B-C). Aunque se desconoce el mecanismo exacto por el cual la hembra adulta de *P. phasmophagae* parasita a *A. crassa*, se ha descrito que el género *Phasmophaga* se caracteriza por utilizar una estrategia indirecta de oviposición a través de posturas de huevos sobre las plantas que consume el hospedero, el cual los ingiere accidentalmente (Stireman y col., 2006). Como todos los taquíridos, *P. phasmophagae* es considerado como un parasitoide koinobionte, ya que permite que su hospedero se desarrolle en sincronía con las larvas parasitoides hasta el momento de la emergencia.

Cuando *P. phasmophagae* alcanza su tercer estadio larval abandona el cuerpo de su hospedero para pupar en vida libre, sin matarlo, dejándole perforaciones o cicatrices en su exoesqueleto (Zamorano, 2009; Thienel, 2010). Por lo tanto, el número de perforaciones puede ser considerado como un indicador del número de parasitoides emergidos entre dos mudas de *A. crassa*, además de ser una aproximación de la carga parasitaria del hospedero, lo que se ha definido como Carga Parasitaria Aparente (CPA) (véase Zamorano, 2009; Thienel, 2010). En este sentido, se ha reportado que el número de perforaciones, tanto en machos como en hembras de *A. crassa*, puede ir desde cero hasta más de 30 (Zamorano, 2009; Thienel, 2010), lo que sugeriría una gran capacidad para resistir altas cargas parasitarias. A pesar de la información existente, no hay muchos antecedentes que avalen una estrategia indirecta de oviposición, u otra distinta, en esta especie. Además, no se conocen los niveles de incidencia parasitaria en sus poblaciones naturales ni la existencia de algún patrón de emergencia a lo largo del cuerpo de *A. crassa*, rasgos que podrían verse diferenciados por el dimorfismo sexual de tamaños corporales observado en esta especie. Conjuntamente, el número de emergencias registrado mensualmente podría cambiar debido a las variaciones térmicas ambientales presentes entre estaciones, las cuales afectarían la relación entre la mosca *P. phasmophagae* y su hospedero *A. crassa*.

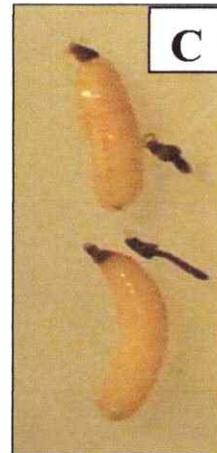
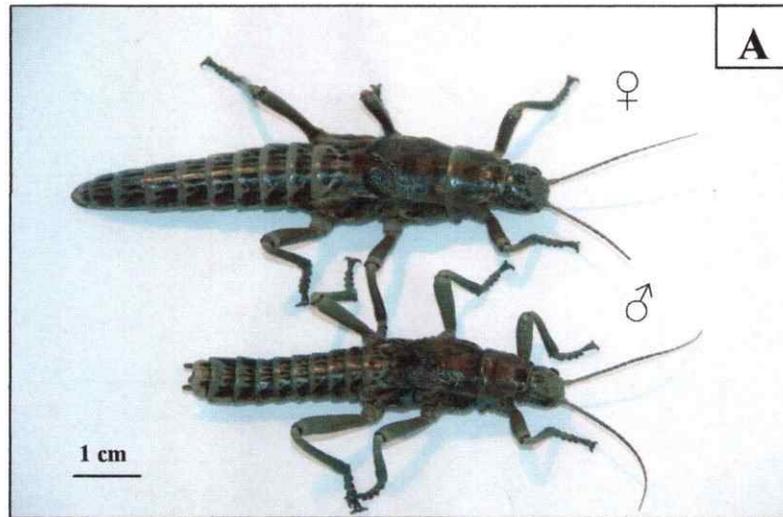


Figura 1: Macho y hembra de *A. crassa* (A); adulto (B) y larva (C) de *P. phasmophagae*.
Fotos: Claudio Veloso (A) y Mariana Thienel (B y C).

Hipótesis

Hipótesis de Estacionalidad

En insectos, se ha documentado una relación positiva entre la temperatura ambiental y la velocidad de desarrollo, lo que determinaría los tiempos para alcanzar estadios superiores. En este contexto, durante los meses con temperaturas ambientales promedio más altas (noviembre-enero), los parasitoides deberían presentar una tasa de desarrollo mayor, por lo que en estos meses se debería registrar un mayor nivel de CPA en los hospederos en comparación con los meses más fríos (marzo-abril).

Hipótesis de preferencia sexual

Si el parasitoide selecciona por sexo, se espera que machos y hembras presenten una CPA diferencial después de controlar por tamaño corporal.

Hipótesis de tamaño corporal

Hospederos grandes deberían presentar una CPA mayor que individuos pequeños, ya que entregarían más recursos alimenticios y de espacio a la larva parasitoide

Objetivo general

Analizar el nivel de CPA y el patrón de emergencia de las larvas de tercer estadio del parasitoide *P. phasmophagae* en el cuerpo de *A. crassa*., relacionándolo con el tamaño corporal y sexo del hospedero, bajo contextos estacionales contrastantes.

Objetivos específicos

- Caracterizar en terreno el largo corporal (L_c), masa corporal (m_b), largo de fémur (L_f), Largo de tibia (L_t), CPA y sexo de individuos de *A. crassa*, a lo largo del período libre de nieve.
- Evaluar si existen efectos del mes y del sexo en las variables morfométricas consideradas.
- Evaluar los niveles de CPA de la población de *A. crassa* a lo largo del período libre de nieve.
- Identificar si *P. phasmophagae* selecciona preferentemente algún sexo del hospedero en el evento parasitario, utilizando el nivel de CPA y descartando la influencia del L_c .
- Comparar la Incidencia Parasitaria Aparente⁵ (IPA) del parasitoide, entre machos y hembras de *A. crassa*, a lo largo del período libre de nieve.

⁵Proporción de individuos que presentan registro de parasitación en la población. En este trabajo, se considera como parasitado un individuo que al menos presente una cicatriz por emergencia de la larva parasitoide (C. Veloso, comunicación personal).

- Ver si existe relación entre la CPA de los hospederos con su tamaño corporal, considerando como variables morfométricas el L_c , L_t , L_f y m_b de los individuos, durante el período libre de nieve.
- Establecer si existen diferencias en el posible patrón de emergencia entre machos y hembras de *A. crassa*. Específicamente se analizará si existe alguna preferencia por parte de las larvas para perforar en algún(os) segmentos corporales específicos del hospedero, y si estas preferencias se encuentran asociadas al sexo del hospedero.

Objetivos extras (ANEXO)

- Evaluar posibles fluctuaciones en la proporción sexual durante el período libre de nieve.
- Estimar el dimorfismo sexual con respecto al tamaño (SSD) de machos y hembras de *A. crassa* en cada mes de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras animales

Se estudió una población natural de *A. crassa* perteneciente a la localidad de Farellones, R.M., Chile (33°18'S 70°19'W, 2500 msnm.). Se realizaron en total seis salidas de campo en los meses de: noviembre 2011 (2), enero 2012 (2), marzo 2012 (1) y abril 2012 (1). Para recolectar los animales se revisaron todos los potenciales refugios para la especie, los que principalmente consistían en sitios rocosos asociados al arbusto *Acaena splendens* Hook. y Arn. (Rosaceae), además de refugios artificiales como tablas y plásticos. Se obtuvieron para el análisis un total de 87, 76, 85 y 99 individuos para el mes de noviembre, enero, marzo y abril, respectivamente.

Parámetros morfológicos y CPA

Para cada individuo de *A. crassa* se registraron las variables morfométricas: m_b , L_c (desde la parte frontal de la cabeza hasta el final del abdomen), L_f , L_t , además de la CPA y el sexo del animal. Se masó cada individuo utilizando una balanza digital Rite Weight® G-SA-TT-50, con una precisión de $\pm 0,01$ g. Las medidas de L_c , L_f y L_t fueron realizadas con un pie de metro manual con precisión $\pm 0,01$ cm. Para la medición de L_f y L_t se utilizó la pata derecha del mesotórax. El número de perforaciones o CPA por individuo (Fig. 2A y 2B), se evaluó por observación directa para cada una de las regiones corporales: cabeza, tórax, mesotórax, metatórax, segmentos abdominales y genitalia (Fig. 2C).



Figura 2: Registro de las cicatrices generadas por la emergencia del parasitoide *P. phasmophagae* a lo largo de los segmentos abdominales de una hembra (A) y de un macho (B) de *A. crassa*, y segmentos corporales del hospedero (P: Protórax; Meso: Mesotórax; Met: Metatórax; 1° - 7°: primer al séptimo segmento abdominal; G: Genitalia) (C). Fotos: Pedro Méndez.

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto del sexo del animal y el mes de captura sobre las variables morfométricas y la CPA se realizó un análisis factorial de varianza (ANDEVA) y un análisis factorial de la varianza utilizando el L_c como covariable (ANCOVA), respectivamente. Luego de efectuar la prueba estadística de ANDEVA se realizó una prueba *a posteriori* de Tukey para comparaciones múltiples. Los datos cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 1996).

Para apreciar posibles diferencias mensuales en el nivel de la IPA entre machos y hembras de *A. crassa* se utilizó prueba de Chi-cuadrado.

Con la finalidad de examinar la relación entre el número de cicatrices y el tamaño corporal, se realizó un análisis de regresión múltiple (ARM) entre la CPA y las variables morfométricas, considerando todos los individuos con registro de cicatrices.

Por último, para evaluar si existen o no diferencias en el nivel de CPA presente por segmento corporal entre machos y hembras, considerando sólo individuos con registro de cicatrices, se utilizó ANDEVA y una prueba *a posteriori* de Tukey. Los datos también cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 1996).

Todos los análisis se realizaron utilizando el software STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc. 2004), considerando un nivel de significancia $\alpha = 0,05$ (Zar, 1996).

RESULTADOS

Análisis de variables morfométricas

El rango de m_b para los machos de *A. crassa* considerando todos los meses en el análisis fue de 0,36 - 4,2 g, con un promedio de $2,95 \pm 0,06$ g ($n = 197$), y de 0,28 - 14,5 g con un promedio de $5,60 \pm 0,27$ g ($n = 150$) para hembras. En machos se encontró un efecto significativo del mes de muestreo sobre la m_b , (ANDEVA; mes: $F_{(3,193)} = 21,4$; $P < 0,001$), donde el análisis *a posteriori* de comparaciones múltiples reveló que en noviembre la m_b promedio de machos es significativamente menor a los otros meses (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,001$) (Tabla 1). Por otra parte, el análisis mostró que la m_b de hembras es similar entre meses (ANDEVA; mes: $F_{(3,146)} = 2,51$; $P = 0,06$). Además, las hembras de *A. crassa* poseen una mayor m_b que los machos en cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,05$) (Tabla 2).

El rango de L_c para los machos fue de 2,22 - 6,90 cm con un promedio de $5,31 \pm 0,056$ cm y de 2,1 - 9,34 cm con un promedio de $6,32 \pm 0,14$ cm para hembras. Existió efecto significativo del mes sobre el L_c de machos (ANDEVA; mes: $F_{(3,193)} = 9,51$, $P < 0,001$). El análisis *a posteriori* de comparaciones múltiples reveló que los machos de *A. crassa* del mes de abril presentan en promedio un menor L_c en comparación con los meses de enero y marzo (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,001$ para ambos meses), sin embargo, éste no difiere del L_c medido para el mes de noviembre (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,717$) (Tabla 1). Por otra parte, las hembras de *A. crassa* presentaron diferencias significativas en el L_c entre meses (ANDEVA; mes: $F_{(3,146)} =$

5,77, $P < 0,001$), donde el L_c de abril fue significativamente menor al de los otros meses (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,05$) (Tabla 1). Además, las hembras poseen un mayor L_c que los machos en cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,05$), exceptuado el mes de abril (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,77$) (Tabla 2).

El rango de L_f para los machos fue de 0,35 - 1,22 cm con un promedio de $0,93 \pm 0,01$ cm, y de 0,34 - 1,62 cm con un promedio de $0,99 \pm 0,02$ cm para hembras. En machos se encontró un efecto significativo del mes de muestreo sobre el L_f (ANDEVA; mes: $F_{(3,193)} = 25,3$; $P < 0,001$), donde el análisis *a posteriori* de comparaciones múltiples reveló que en el mes de noviembre presentan un largo de fémur promedio significativamente menor a cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,001$) (Tabla 1). También, el L_f del mes de enero de machos fue diferente a marzo ($P = 0,041$), pero similar a abril ($P = 0,569$) (Tabla 1), y el L_f promedio de abril solo difirió con el valor de noviembre ($P < 0,001$) (Tabla 1). Por otra parte, el análisis mostró que el L_f de hembras es similar entre meses (ANDEVA; mes: $F_{(3,146)} = 2,20$; $P = 0,09$). Por último, no existe diferencia entre sexos en el L_f para cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P > 0,05$) (Tabla 2).

El rango de L_t para los machos fue de 0,4 - 1,3 cm con un promedio de $0,88 \pm 0,012$ cm y de 0,25 - 1,5 cm con un promedio de $0,93 \pm 0,02$ cm para hembras. En machos se encontró un efecto significativo del mes de muestreo sobre el L_t (ANDEVA; mes: $F_{(3,193)} = 11,9$; $P < 0,001$), donde el análisis *a posteriori* de comparaciones múltiples reveló que el mes de noviembre presenta un L_t promedio significativamente menor a cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P < 0,001$) (Tabla 1). Por otra parte, el análisis reveló que existe efecto del mes sobre el L_t de hembras (ANDEVA; mes:

$F_{(3,146)} = 3,16; P < 0,05$), donde el análisis *a posteriori* de comparaciones múltiples reveló que noviembre presenta un L_t promedio significativamente menor al mes de enero (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,027$) (Tabla 1). Además, no existe diferencia entre sexos en el L_t para cada mes (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P > 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 1: Valores de la Prueba *a posteriori* de Tukey (ANDEVA) por sexo y mes, para cada variable morfométrica registrada en individuos de *A. crassa* (masa corporal (m_b), largo corporal (L_c), largo de fémur (L_f) y largo de tibia (L_t)), separadas por una línea diagonal descendente. En negrita se indican los valores significativos ($P < 0,05$).

♂	Noviembre	Enero	Marzo	Abril	
Noviembre	m_b	0,00177	< 0,001	0,717	
Enero	< 0,001		0,870	0,039	
Marzo	< 0,001	0,134		0,002	
Abril	< 0,001	0,999	0,0627		
Noviembre	L_f	< 0,001	< 0,001	< 0,001	
Enero	< 0,001		0,767	0,1	
Marzo	< 0,001	0,041		0,802	
Abril	< 0,001	0,569	0,455		
♀	Noviembre	Noviembre	Enero	Marzo	Abril
Noviembre	m_b		0,557	0,999	0,046
Enero	-			0,667	< 0,001
Marzo	-	-			0,033
Abril	-	-	-		
Noviembre	L_f		0,027	0,350	0,947
Enero	-			0,685	0,079
Marzo	-	-			0,627
Abril	-	-	-		

Tabla 2: Morfometría del parámetro masa corporal (m_b), largo corporal (L_c), largo de fémur (L_f) y largo de tibia (L_t) de individuos de *A. crassa*, para los meses de noviembre ($n = 51$ ♂; $n = 36$ ♀), enero ($n = 41$ ♂; $n = 35$ ♀), marzo ($n = 51$ ♂; $n = 34$ ♀) y abril ($n = 54$ ♂; $n = 45$ ♀) (Promedio \pm EE). En negrita se indica la significancia del análisis *a posteriori* de comparaciones entre sexos por variables, en cada mes.

Mes	Variable	♀	♂	P
Noviembre	m_b	5,38 \pm 0,56	2,27 \pm 0,16	< 0,01
	L_c	6,48 \pm 0,29	5,00 \pm 0,17	< 0,01
	L_f	0,91 \pm 0,037	0,78 \pm 0,033	0,076
	L_t	0,89 \pm 0,038	0,77 \pm 0,033	0,47
Enero	m_b	6,35 \pm 0,55	3,07 \pm 0,097	< 0,01
	L_c	6,99 \pm 0,21	5,54 \pm 0,085	< 0,01
	L_f	1,05 \pm 0,030	0,94 \pm 0,023	0,23
	L_t	1,02 \pm 0,031	0,90 \pm 0,024	0,16
Marzo	m_b	6,30 \pm 0,56	3,41 \pm 0,046	< 0,01
	L_c	6,54 \pm 0,29	5,65 \pm 0,056	< 0,05
	L_f	1,03 \pm 0,048	1,03 \pm 0,013	1,00
	L_t	0,98 \pm 0,043	0,94 \pm 0,013	1,00
Abril	m_b	4,66 \pm 0,44	3,04 \pm 0,073	< 0,05
	L_c	5,52 \pm 0,27	5,13 \pm 0,060	0,77
	L_f	0,97 \pm 0,048	0,98 \pm 0,012	1,00
	L_t	0,89 \pm 0,044	0,91 \pm 0,011	1,00

CPA e IPA a lo largo del período libre de nieve

En machos la CPA varió entre 0 y 16 con un promedio de $1,34 \pm 0,19$ ($n = 197$), mientras que en hembras varió entre 0 y 28 con un promedio de $2,59 \pm 0,39$ ($n = 150$). Se encontró una correlación positiva y significativa entre la CPA y el L_c ($R^2 = 0,053$; $P < 0,01$). Por otra parte, la CPA fue similar entre meses (ANCOVA factorial; $F_{(3,123)} =$

1,53, $P = 0,21$) (Fig. 3). Además, el análisis estadístico no reveló un efecto significativo del sexo del animal (ANCOVA factorial; $F_{(1,123)} = 0,0017$, $P = 0,97$) ni de la interacción mes x sexo (ANCOVA factorial; $F_{(3,123)} = 0,14$, $P = 0,94$), por lo que no existen diferencias significativas en la CPA entre sexos por mes al covariar el L_c (Fig. 3).

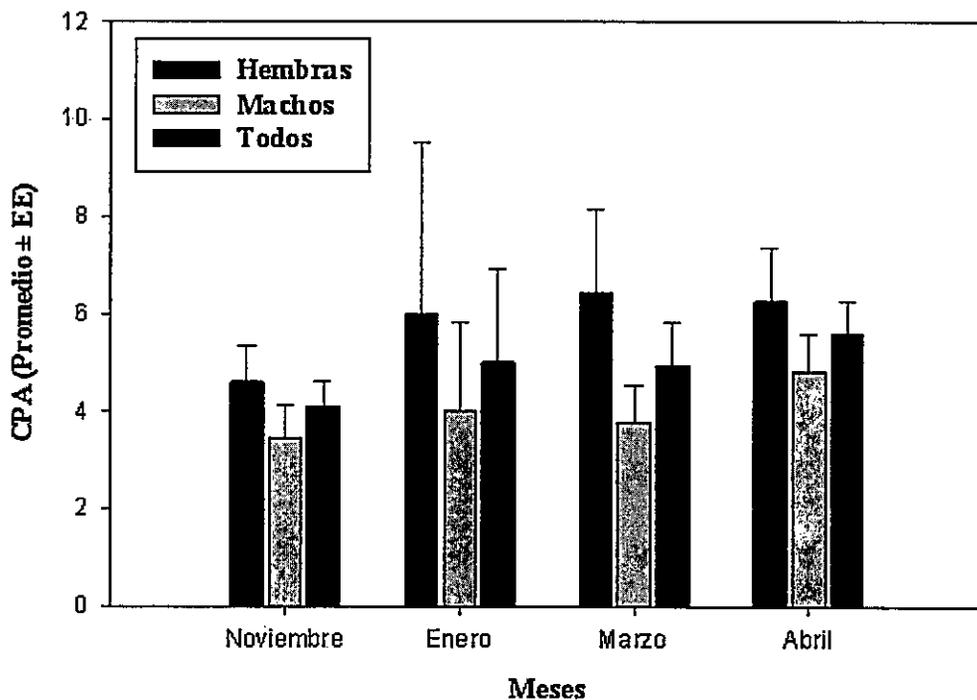


Figura 3: CPA mensual de hembras, machos y del total de individuos de *A. crassa*, (Promedio \pm EE). La CPA fue similar entre meses (ANCOVA; $F_{(3,123)} = 1,53$, $P = 0,21$). Además, el análisis estadístico no reveló un efecto significativo del sexo del animal (ANCOVA; $F_{(1,123)} = 0,0017$, $P = 0,97$) ni de la interacción mes x sexo (ANCOVA; $F_{(3,123)} = 0,14$, $P = 0,94$).

Al analizar la IPA del mes de noviembre se encontró que existe una diferencia significativa en las proporciones de individuos parasitados por sexo ($\chi^2 = 7,14$; $gl = 1$; $P < 0,01$), donde la razón de hembras parasitadas es mayor que la razón de machos parasitados (Tabla 3). En los otros meses, en cambio, la proporción de la IPA fue similar en ambos sexos ($\chi^2 = 0,371$; $gl = 1$; $P > 0,05$ (enero), $\chi^2 = 1,04$; $gl = 1$; $P > 0,05$ (marzo), $\chi^2 = 2,02$; $gl = 1$; $P > 0,05$ (abril)). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas al comparar las frecuencias relativas de la IPA entre sexos por mes ($\chi^2 = 1,36$; $gl = 3$; $P > 0,05$).

Tabla 3: Incidencia Parasitaria Aparente (IPA: nº de individuos con cicatrices) relativa al sexo de individuos de *A. crassa* por mes (%).

Sexo	IPA (%)			
	Noviembre	Enero	Marzo	Abril
Machos	29,4 (n = 15)	12,2 (n = 5)	47,1 (n = 24)	38,9 (n = 21)
Hembras	55,6 (n = 20)	14,3 (n = 5)	55,9 (n = 19)	51,1 (n = 23)

Relación entre el tamaño corporal y la CPA

El análisis de regresión múltiple mostró una correlación positiva y significativamente solo entre la CPA y el L_c al considerar el total de individuos con cicatrices ($R^2 = 0,053$; $P < 0,01$) (Fig. 4). Sin embargo, el análisis no mostró correlación significativa entre la CPA y el L_c al considerar cada sexo en particular (ARM; machos: $R^2 = 0,016$, $P = 0,74$; hembras: $R^2 = 0,026$, $P = 0,1$) (Fig. 5). No obstante, hubo una relación significativa y positiva entre la CPA y el L_f de hembras (ARM; $R^2 = 0,071$, $P < 0,05$), y entre la CPA y la m_b de machos (ARM; $R^2 = 0,071$, $P < 0,05$).

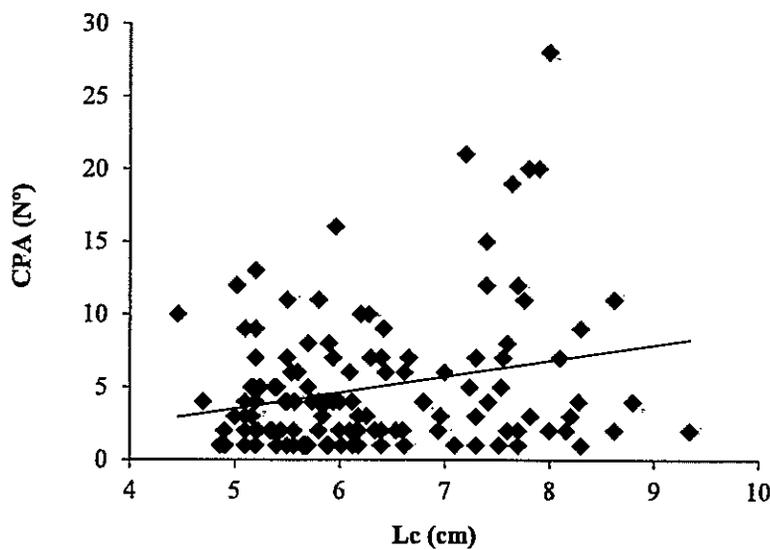


Figura 4: CPA de individuos de *A. crassa* según su L_c (cm) durante el período libre de nieve ($y = 1,0863x - 1,8882$; $R^2 = 0,053$; $P < 0,01$).

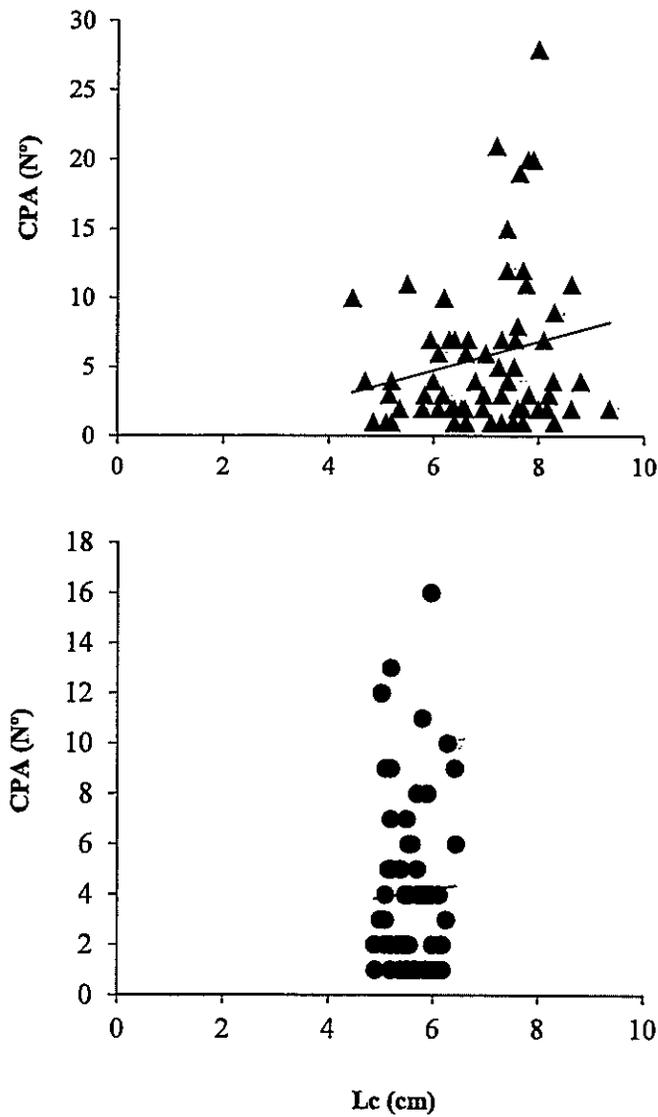


Figura 5: CPA por sexo de individuos de *A. crassa* según su L_c (cm), durante los meses libres de nieve. **Hembras** (▲): $y = 1,0549x - 1,5584$, $R^2 = 0,016$, $P = 0,74$; **Machos** (●): $y = 0,3381x + 2,1746$, $R^2 = 0,026$, $P = 0,1$.

Distribución de la emergencia parasitoide a lo largo del cuerpo de A. crassa

Con respecto a la CPA presente en cada segmento corporal, se observa un efecto significativo del segmento (ANDEVA factorial; $F_{(8, 114)} = 3,62, P < 0,001$), pero no del sexo del animal (ANDEVA factorial; $F_{(1, 114)} = 2,88, P = 0,092$). Sin embargo, la interacción segmento x sexo resultó ser estadísticamente significativa (ANDEVA factorial; $F_{(8, 114)} = 2,13, P < 0,05$). Cuando comparé la CPA presente por segmento corporal entre sexos, solamente encontré diferencias significativas en el 3^{er} segmento abdominal (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,024$), siendo las hembras las que registraron en éste una mayor CPA ($1,18 \pm 0,21$ hembras; $0,58 \pm 0,10$ machos) (Fig. 6): En ellas, el 2^{do} segmento abdominal obtuvo el mayor registro de CPA, siendo similar al 1^{er}, 3^{er} y 4^{to} segmento abdominal. Además, solo las hembras presentaron perforaciones en la región protorácica y en el 5^{to} segmento abdominal. En machos, la mayor cantidad de CPA se observó en el 1^{er} segmento abdominal, el cual fue significativamente similar al metatórax, 2^{do} y 3^{er} segmento abdominal. Las zonas corporales sin registro de perforaciones, fueron: la cabeza, el 7^{mo} segmento del abdomen y la genitalia, para ambos sexos, y el 5^{to} y 8^{vo} segmento abdominal de forma adicional para machos (Fig. 6).

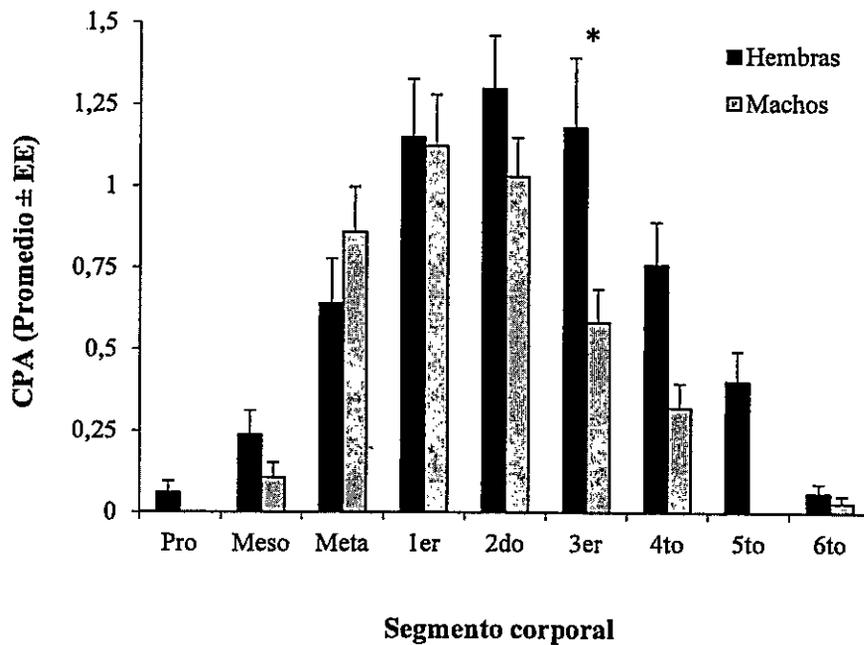


Figura 6: Cicatrices del exoesqueleto registradas por segmento corporal en hembras y machos de *A. crassa*, considerando sólo individuos con parasitación aparente ($n = 132$), durante el período libre de nieve (Promedio \pm EE). Pro: Protórax, Meso: Mesotórax, Meta: Metatórax, 1^{er}–6^{to}: primer al sexto segmento del abdomen. (*) Exclusivamente en el 3^{er} segmento abdominal existieron diferencias significativas entre sexos (Prueba *a posteriori* de Tukey; $P = 0,024$).

DISCUSIÓN

La emergencia de las larvas de *P. phasmophagae* desde el cuerpo de *A. Crassa*, singularmente y contrario a lo establecido para una estrategia parasitoide, no determina la muerte de su hospedero bajo condiciones naturales. El chinchemolle cicatriza las heridas dejadas en su exoesqueleto por el surgimiento de las larvas, definiendo a lo largo de su cuerpo registros o "huellas" del fenómeno de emergencia entre dos eventos de muda. Esta situación particular, establece una potencial herramienta, indirecta y poco perturbadora, para observar patrones de emergencia determinados por el registro de cicatrices, que permite evaluar los niveles aparentes de la carga parasitaria e incidencia parasitaria de sus poblaciones. Adicionalmente, los chinchemolles presentan un dimorfismo sexual con respecto al tamaño y la forma, donde las hembras son más grandes que los machos, característica relevante que puede diferenciar tanto la asignación de recursos hacia el parasitoide como el consecuente patrón de emergencia de las larvas.

CPA e IPA en individuos de A. crassa a lo largo del período libre de nieve

La IPA obtuvo valores similares entre sexos y cercanos al 50% en cada uno de los meses, excepto en noviembre, donde la IPA de machos fue menor que la de hembras, es decir, en machos se registró un menor número de cicatrices. El mes de noviembre se destaca por el gran número de machos ninfales encontrados, los que condicionaron valores promedios más bajos de las variables m_b , L_c , L_f y L_t en este

período. Las ninfas en general presentan baja o nula CPA, situación relacionada con su aún activa capacidad de mudar. Según Vera y Camousseight (2008), los individuos pertenecientes al género *Agathemera* consumen su exuvia después de mudar, borrando así el registro de cicatrices presentes en su exoesqueleto (C. Veloso, comunicación personal). Esta capacidad de muda explicaría además la escasa IPA en ambos sexos en el mes de enero. Exclusivamente en este período se observaron organismos recién mudados, caracterizados por ser blandos y grisáceos, pertenecientes a diferentes rangos de tamaño (C. Reyes, observación personal), los que determinaron un bajo registro de individuos con cicatrices. Es probable que un evento poblacional de muda en rangos etarios múltiples habría disminuido la cantidad de hospederos que presentan CPA en esta temporada. Adicionalmente, el sesgo en el registro de cicatrices explicaría que los niveles de IPA no sean similares a la incidencia parasitaria directa cercana al 100% registrada en sus poblaciones (Thienel, 2010). No obstante, en los meses de noviembre, marzo y abril se observa que gran parte de la población posee CPA. Considerando sólo los animales que presentaron cicatrices, existe un continuo en el número de emergencias de larvas parasitoides a lo largo del período libre de nieve (sesgado por el posible evento poblacional de muda registrado en enero), a pesar de las diferencias térmicas presentes entre meses, por lo que se rechaza la hipótesis de estacionalidad. Seguramente, y visto desde una perspectiva ecológica, el posible continuo en el número de emergencias a lo largo de los meses estaría relacionado con el “control” que puede existir en la relación parasitoide-hospedero. Por una parte, *A. crassa* podría estar seleccionando temperaturas sub-óptimas para el rendimiento del parasitoide (aunque puedan existir compromisos de rendimiento para sí mismo) (Zamorano, 2009). De este

modo, las temperaturas de los microambientes seleccionados podrían influir de forma más directa en la emergencia de *P. phasmophagae* que las variaciones térmicas a lo largo de las estaciones. Una situación similar es observada en los abejorros obreros de la especie *Bombus terrestris* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), los cuales son parasitados por moscas conópidas (Diptera: Conopidae), en época de verano (Müller y Schmid-Hempel, 1993). Los obreros parasitados seleccionan temperaturas bajas, subóptimas para el parasitoide, manteniéndose fuera de sus nidos durante la noche. De esta forma, aumentan su tiempo de vida disminuyendo las oportunidades de la mosca para desarrollarse exitosamente (Müller y Schmid-Hempel, 1993). Como opción inversa, el continuo de emergencia podría ser visto como un “control” por parte del parasitoide sobre el hospedero. Esta alternativa es vislumbrada en parasitoides koinobiontes, los cuales dirigen conductualmente al hospedero parasitado hacia sitios donde las condiciones ambientales son más favorables para su desarrollo (Hance y col., 2007). Por ejemplo, cuando el lepidóptero *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) es parasitado por el taquinido *Eucelatoria bryani* Sabrosky (Diptera: Tachinidae), éste se entierra para evadir las altas temperaturas de la superficie del suelo, y lo hace antes que sus conespecíficos no parasitados (Reitz y Nettles, 1994).

¿Existe preferencia de *P. phasmophagae* por algún sexo en particular de *A. crassa*?

Aunque las hembras registran mayor CPA promedio que machos en cada mes, cuando se descartó el efecto del largo corporal se encontró que no existen diferencias entre sexos en lo que respecta a la CPA. Esta situación más los indicios de similitud en

la IPA entre sexos, permitirían indicar que si la hembra parasitoide oviposita directamente en el hospedero, no existiría selección hacia algún sexo en particular, reforzando de esta manera la idea de que *P. phasmophagae* presentaría más bien algún tipo de oviposición indirecta, fuertemente relacionada con la postura de microhuevos en las plantas que consume el hospedero, como se describe para el género *Phasmophaga*, por lo que se rechaza la Hipótesis de preferencia sexual. Visiblemente, el hecho de que individuos más grandes registrén más CPA se relaciona con su mayor capacidad para ingerir alimento, la que aumentaría la probabilidad de tragar accidentalmente una mayor cantidad de huevos del parasitoide (C. Veloso, comunicación personal). Adicionalmente, ya que poseen tamaños corporales superiores, ofrecerían mayores recursos de alimento y espacio para un óptimo establecimiento y desarrollo de la larva parasitoide (Godfray, 1994; Stireman y col., 2006).

La estrategia indirecta, facilitaría la parasitación de hospederos inaccesibles (e.g. los que presentan actividad nocturna, como sucede con *A. crassa* (Camousseight, 1995)), reduciría los tiempos de búsqueda de hospederos y aminoraría los potenciales daños que ocurrirían al momento de la oviposición (Stireman y col., 2006).

CPA y tamaño corporal del hospedero

Considerando el total de individuos, existió una asociación positiva y significativa entre el L_c y la CPA. Sin embargo, ni las hembras ni los machos en particular presentaron asociación positiva entre estas variables. Esta situación se explicaría por la reducción del espectro de tamaños, ya que la CPA registrada se limita a

rangos mayores de L_c en ambos sexos (siendo este rango más acotado en machos).

Como se dijo anteriormente, el tamaño corporal del hospedero es señalado como un estimador de la cantidad y calidad nutricional de recursos que necesita la larva parasitoide para su desarrollo óptimo, ya que es el único recurso que utiliza, por lo que hospederos más grandes ofrecerían mejores condiciones para una emergencia larval exitosa (Charnov, 1982; Nicol y Mckauer, 1999). De esta manera, el tamaño corporal definiría la carga parasitaria máxima que puede soportar un hospedero (Godfray, 1994). Los datos analizados apoyan este planteamiento, mostrando que las hembras de *A. crassa* obtuvieron un registro considerable de CPA, ya que poseen tamaños corporales mayores que machos. Consecuentemente, e incorporando como fundamento la mayor capacidad para comer de los individuos más grandes, se aprueba la Hipótesis del tamaño corporal.

Emergencia larval a lo largo del cuerpo de A. crassa

La región metatorácica y los primeros segmentos abdominales presentaron el mayor registro de perforaciones en ambos sexos del hospedero. Esta situación, puede estar relacionada con la estrategia de oviposición indirecta descrita para algunos taquínidos del género *Phasmophaga*, explicada anteriormente. Por ejemplo, Baronio y Campadelli (1979), detallan el ciclo de vida de *Pseudogonia rufifrons* (Wiedemann) (Diptera: Tachinidae), una mosca parasitoide que ocupa este tipo de estrategia, en donde huevos ingeridos accidentalmente eclosionan por acción mecánica y del pH en la región anterior y media del intestino de su hospedero *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae); posteriormente, la larva de primer estadio rompe la pared

intestinal para ubicarse en la musculatura abdominal, evitando así la encapsulación por hemocitos (citado por Dindo, 2010). Las larvas de taquípidos, al no presentar mecanismos supresores del sistema inmune, deben ubicarse en regiones donde no sean afectadas por éste, como ganglios, músculos o glándulas y/o tener contacto con aire fresco a través de “embudos” que se conectan a las tráqueas del hospedero (Salt, 1968; Freener y Brown, 1997). Esta última característica esta presente en las larvas de *P. phasmophagae*, las cuales utilizan estos tubos respiratorios en cada uno de sus estadios, incluso cuando se encuentran encapsuladas por hemocitos. Sin embargo, se ha observado que esta especie no utiliza sitios de resguardo específicos, si no que más bien se encuentra activa en diversas regiones del cuerpo de su hospedero (incluyendo el hemocele) (C. Veloso, comunicación personal). Por esta razón, el patrón de emergencia a lo-largo del cuerpo *A. crassa* no estaría relacionado con el comportamiento de resguardo, sino que más bien dependería del impedimento mecánico que ejerce el exoesqueleto en ciertas regiones del cuerpo durante el proceso de emergencia. Por ejemplo, el mayor registro de CPA se encontró en el abdomen de los insectos, el cual se caracteriza por ser liso y blando, esencialmente en los sitios de unión de los segmentos abdominales. Además el metatórax, al presentar una superficie mayoritariamente rugosa y dura (Camousseight, 1995), únicamente exhibió registro de cicatrices en áreas blandas que rodean los puntos de inserción de extremidades.

Aunque se encontraron diferencias entre sexos en el número de cicatrices del 3^{er} segmento abdominal, no existe un patrón intersexual diferencial marcado de la emergencia larval. En ambos sexos las larvas prefieren sitios similares de erupción, lo que estaría relacionado con la activa conducta de búsqueda de regiones blandas en el

exoesqueleto, la alta movilidad de las larvas en el hemoceloma y los altos niveles de incidencia parasitaria directa que hay en ambos sexos (Zamorano, 2009; Thienel, 2010). La diferencia en el número de perforaciones registrada entre sexos en el 3^{er} segmento abdominal sería explicada por el mayor volumen abdominal que presentan las hembras en esta región: se describe que las hembras tienen muy engrosada la base del abdomen, donde los primeros segmentos abdominales tienen el mismo ancho que el metatórax (Camousseight, 1995).

CONCLUSIONES

- Existiría un continuo en los niveles de CPA en la población de *A. crassa* a lo largo del período libre de nieve, sesgado por la ocurrencia de un evento de muda en enero. Por lo tanto, se rechaza la Hipótesis de estacionalidad.
- No existe diferencia de CPA entre sexos por mes al controlar el efecto del tamaño corporal diferencial, por lo que no existiría selección parasitoide hacia algún sexo en particular de hospedero estimulada por señales sexo-específicas. De esta manera se refuerza la idea de que *P. phasmophagae* presenta una estrategia indirecta de oviposición de microhuevos en el alimento del hospedero fitófago. Se rechaza la Hipótesis de preferencia sexual.
- La IPA en las poblaciones de *A. crassa* es similar entre sexos y llega a niveles cercanos al 50% en la mayor parte del período libre de nieve.
- La CPA posee asociación significativa y positiva con el largo corporal al considerar el total de individuos con cicatrices. Los individuos con tamaños corporales mayores permiten soportar CPA altas, ya que ofrecen mejores reservas energéticas y de espacio para las larvas parasitoides.

- Por esta razón, animales adultos soportarían una mayor carga parasitaria que las ninfas. Se acepta la Hipótesis de tamaño corporal.

- La mayor parte de las larvas de *P. phasmophagae* prefirieron como sitio de emergencia desde la región metatorácica hasta el 3^{er} segmento abdominal del cuerpo de *A. crassa*, situación que se relacionaría con la búsqueda de áreas blandas en el exoesqueleto del hospedero, ubicadas específicamente en los sitios de unión de segmentos abdominales y en las zonas de inserción de patas en el tórax.

- Sólo existieron diferencias en la CPA por segmento corporal entre sexos en el 3^{er} segmento abdominal del hospedero, por lo que no se observó un patrón de emergencia diferencial importante de la larva parasitoide entre los hospederos dimórficos sexualmente.

ANEXO

De forma complementaria, se evaluó la proporción sexual y el dimorfismo sexual con respecto al tamaño (SSD) de los individuos de *A. crassa*, para contribuir con el escaso conocimiento de historia natural que poseemos sobre este fásmido endémico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras animales y medición de parámetros morfométricos

Explicados en la sección de Materiales y Métodos del presente seminario de título.

Análisis estadístico

Con la finalidad de determinar si existe una desviación significativa con respecto a una proporción esperada de sexo 1:1, de forma mensual y total, se utilizó una prueba de Chi-cuadrado (χ^2). Para estimar el SSD, se ocupó el índice de Lovich y Gibbons (1992), donde $SSD = (\text{tamaño de sexo más grande} / \text{tamaño del sexo más pequeño}) - 1$, siendo el valor obtenido positivo cuando hembras son el sexo más grande, y negativa cuando los machos son el sexo mayor. Como las hembras de *A. crassa* son más grandes que los machos, se calculó el índice como: $SSD = (\text{promedio de la } m_b \text{ (g) de hembras} / \text{promedio de la } m_b \text{ (g) machos}) - 1$, para cada uno de los meses estudiados.

RESULTADOS

En total, la proporción de sexos fue de 1 Macho: 0,76 Hembra, encontrándose una diferencia significativa de la proporción esperada 1:1 ($\chi^2 = 6,1$; $gl = 1$; $P < 0,05$) (Tabla 1, ANEXO). Sin embargo, el análisis estadístico reveló que en cada uno de los meses no hubo diferencia en la proporción Macho: Hembra, considerando el total de individuos ($\chi^2 = 2,25$; $gl = 1$; $P = 0,13$ (noviembre), $\chi^2 = 0,474$; $gl = 1$; $P = 0,49$ (enero), $\chi^2 = 3,01$; $gl = 1$; $P = 0,083$ (marzo), $\chi^2 = 0,647$; $gl = 1$; $P = 0,42$ (abril)) (Tabla 1, ANEXO).

Tabla 1(ANEXO): Frecuencias de hembras y machos, valores de Chi-cuadrado (χ^2) y proporción sexual de individuos de *A. crassa* por mes de estudio.

Mes	Hembras	Machos	Total	χ^2	Proporción Macho : Hembra
Noviembre	36	51	87	2,25	1:0,70
Enero	35	41	76	0,474	1:0,85
Marzo	34	51	85	3,01	1:0,67
Abril	45	54	99	0,647	1:0,83
Total	150	197	347	6,1	1:0,76

Como se esperaba para *A. crassa*, las hembras fueron más grandes que machos en todos los meses estudiados, dado que los valores del índice de SSD fueron mayores que cero (SSD = 1,36 (noviembre); 1,10 (enero); 0,85 (marzo); 0,53 (abril)).

DISCUSIÓN

Proporción sexual de la población

La proporción sexual encontrada durante los meses de estudio fue significativamente diferente a una proporción 1:1 (1:0,76 Macho: Hembra). No obstante, en cada mes las proporciones son cercanas a la proporción 1:1, aunque con una tendencia hacia una mayor proporción de machos. En términos de las fuerzas selectivas que podrían mediar esta situación, Fisher (1958), establece que será ventajoso para un individuo producir una descendencia con una proporción 1:1, ya que éstos, en promedio, perpetuarán equivalentemente el genoma de sus padres, siempre y cuando la selección favorezca a aquellos que inviertan lo mismo para producir cada sexo (citado por Thornhill y Alcock, 2001).

Sin embargo, y aunque en cada mes machos y hembras poseen una proporción estadísticamente similar a una proporción 1:1, existe una notoria tendencia hacia una mayor cantidad de machos que de hembras, que se expresa claramente al aumentar el número de individuos evaluados. Esta orientación hacia algún sexo en particular es notoria en muchos taxa (e.g. fásmidos (Sivinski, 1977), lepidópteros (Dyson y Hurst, 2004), anfibios (Lodé y col., 2004), ungulados (Clutton-Brock y col., 1997) y aves (Donald, 2007)), y puede afectar a los individuos adultos en la elección de apareamiento y en la competencia entre machos, ya que influye en la tasa de encuentro con una potencial pareja o con un macho competidor, específicamente (Klug y col., 2010). Por ejemplo en grillos, una proporción sesgada a machos aumenta la competencia macho-

macho y la selectividad de la hembra (Gwynne, 1984). En general en fásmidos, los machos tienden a alcanzar la madurez en menos tiempo, y si consideramos que las tasas de mortalidad son constantes y equivalentes para ambos sexos, deberían encontrarse menos hembras maduras que machos maduros, por lo que la proporción sexual operacional⁶ tendería a machos (Thornhill y Alcock, 2001). Sivinski (1977), al estudiar el fásmido *Diapheromera velii* Walsh (Phamatodea: Heteronemiidae), se dio cuenta que en ciertas épocas del año éste puede alcanzar proporciones Macho: Hembra superiores a 4: 1, debido a la maduración temprana de machos y a la depredación selectiva de aves. Específicamente en *A. crassa*, Thienel (2010) muestra la existencia de una proporción operacional Macho: Hembra de 2:1, similar a lo encontrado en este estudio, que se relacionaría con el dimorfismo entre sexos en lo que respecta a tiempos de desarrollo, y que se comporta de forma independiente con la duración de la cópula en esta especie.

Dimorfismo sexual en A. crassa

Los resultados encontrados avalan el dimorfismo sexual, ya que los valores del índice de SSD fueron todos positivos, confirmando así el mayor tamaño de las hembras. Éstas masaron significativamente más que machos en todos los meses estudiados, llegando a tener aproximadamente el doble de masa promedio desde noviembre a marzo. También fueron significativamente más largas que machos en los meses de noviembre, enero y marzo. Sin embargo en el mes abril, aunque existieron diferencias

⁶ Proporción entre el número de machos activamente reproductivos con el número de hembras fértiles, abarcando solo un subgrupo del total de adultos en la población (Kvarnemo y Ahnesjö, 1996).

significativas para la m_b , éstas no se detectan para el L_c , ya que machos y hembras tuvieron un valor promedio similar.

El dimorfismo sexual es descrito como una característica común en muchas especies de fásmidos, donde los machos son más pequeños que hembras cuando la fecundidad está relacionada con el tamaño corporal (Bedford, 1978; Sivinski, 1978). Según Sivinski (1978), cuando los nichos de machos y hembras son muy similares el grado de dimorfismo es una consecuencia de las mayores presiones reproductivas que recaen sobre machos, como lo son maximizar la tasa de encuentros con hembras, tener la habilidad de invertir recursos para el éxito de obtención de progenie y/o mantener cópulas con agresiones. Estas presiones, en general, dan como resultado que fásmidos machos presenten tiempos de desarrollo postembrionarios reducidos que determinarían tamaños corporales menores, condición que les permitiría llegar a la madurez sexual con menos costos (Bedford, 1978; Sivinski, 1978; Thornhill y Alcock, 2001).

Alternativamente, variables ambientales como el clima u otros factores ecológicos pueden afectar de forma desigual la ontogenia de machos y hembras, generando variaciones en el grado de plasticidad que pueden exhibir como respuesta a estos cambios, surgiendo de esta manera niveles dimórficos heterogéneos (Fairbairn, 2005; Fox y Czesak, 2006). Factores como temperatura o calidad de dieta, determinarían respuestas desiguales establecidas por canalizaciones adaptativas de rasgos diferentes entre sexos (Fairbairn, 2005; Teder y Tammaru, 2005). Por ejemplo, las mulitas de agua *Aquarius remigis* (Say) (Hemiptera: Gerridae), tienden a canalizar de forma sexo-específica rasgos relacionados con la adecuación biológica cuando la temperatura varía: las hembras en la longitud del abdomen y los machos en la longitud

de la genitalia (Fairbairn, 2005). La inducción de SSD por variaciones térmicas, también se ha observado en *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae), donde los machos son más sensibles que hembras a esta variación, reconociéndose mayor dimorfismo a temperaturas intermedias (30°C), y menor dimorfismo a temperaturas menores (20°C) (Stillwell y Fox, 2007).

En el género *Agathemera* el dimorfismo sexual se indica como un rasgo característico de grupo (Camousseight, 1995). Además, para la especie *A. mesoauriculae*, se han registrado tiempos de desarrollo postembrionarios menores para machos, los que duran aproximadamente 110 días, con un máximo de seis estadios reconocidos hasta llegar a imago, mientras que las hembras tienen un período de 139 días, con siete estadios (uno más que machos para alcanzar la madurez sexual) (Vera y Camousseight, 2008). Este desarrollo a corto plazo en machos, posiblemente presente en *A. crassa*, más los bajos valores promedio de L_c de hembras, pueden ser fundamentos que expliquen la igualdad significativa del L_c entre sexos en el mes de abril. En el período libre de nieve constantemente se observó que gran parte de los machos se encuentra en un rango de tamaño mayor (4 - 7 cm de L_c), mientras que las hembras presentan tamaños corporales diversos (con valores similares de m_b y L_f entre meses), registrando solamente éstas, por ejemplo, individuos con tamaños menores a 3 cm en abril, lo cual supone la aparición de una nueva clase etaria de ninfas. Estas menores proporciones de tamaño contribuirían a que hembras exhiban en promedio L_c similares a machos en este mes. La diversidad en la composición etaria de las poblaciones podría estar relacionada con alta producción de huevos descrita en muchas especies de fásmidos, estrategia que da a suponer que muchos especímenes no alcanzarían la

maduración (Bedford, 1978). Tal vez por esta razón algunas especies de palotes, como *Lamponius portoricensis* Rehn (Phasmatodea: Phasmatidae), se reproducen durante todo el año, generando a cada momento clases etarias mixtas en las poblaciones (Willig y col., 1986). Conjuntamente, Camousseight (1995) establece que la heterogeneidad de estadios de los individuos pertenecientes al género *Agathemera* supondría largos tiempos de desarrollo relacionados con los extensos períodos invernales que soportan algunas de estas especies, las que incluso permanecen bajo nieve algunos meses.

Finalmente, aunque las hembras presentaron tamaños mayores que machos, estas no los superaron en el tamaño de las extremidades ya que no hubo diferencias entre sexos en el valor del L_f y L_t en todos los meses. Fundamentos para esta esta situación serían el desarrollo acelerado de machos y la presencia de una alometría positiva con respecto el tamaño en las extremidades de machos (C. Veloso, comunicación personal).

CONCLUSIONES

- Al considerar la población total, *A. crassa* posee una proporción sexual que tiende a machos y que difiere significativamente de una proporción 1:1 macho:hembra. Se espera que exista una proporción operacional donde los machos superen en número a las hembras, debido a que los primeros poseen tiempos más cortos que éstas para alcanzar la madurez sexual.
- Se reafirma la existencia de un marcado dimorfismo sexual con respecto al tamaño en *A. crassa*, donde las hembras fueron más grandes que los machos en cada uno de los meses estudiados.
- A lo largo del período libre de nieve las hembras presentaron mayor diversidad de rangos de estadios en cada uno de los meses de estudio, mientras que los machos al avanzar la temporada se establecieron solamente en estadios superiores, situación que concuerda con el desarrollo diferencial con respecto al dimorfismo sexual presente en fásmidos.

BIBLIOGRAFÍA

Adamo, S.A., Linn, C.E. y Beckage, N.E. 1997. Correlation between changes in host behavior and octopamine levels in the tobacco hornworm *Manduca sexta* parasitized by the gregarious braconid parasitoid wasp *Cotesia congregata*. *The Journal of Experimental Biology*. **200**: 117-127.

Askew, R.R. y Shaw, M.R. 1986. Parasitoid communities: their size structure and development. *En* J. Waage y D. Greathead (eds.), *Insect Parasitoids*. pp. 225-264. Academic Press, London.

Beckage, N.E., Foreman, R.C., Palmatier, C.M. y Tan, F.F. 2002. Inhibition of the larval ecdysis and emergence behavior of the parasitoid *Cotesia congregata* by methoprene. *Journal of Insect Physiology*. **48**: 725-732.

Bedford, G.O. 1978. Biology and ecology of the Phasmatodea. *Annual Review of Entomology*. **23**: 125-149.

Belshaw, R. 1994. Life history characteristics of Tachinidae (Diptera) and their effect on polyphagy. *En* B.A. Hawkins y W. Sheehan (eds.), *Parasitoid community ecology*. pp. 145-162. Oxford University Press, New York.

Cade, W. 1975. Acoustically orienting parasitoids: fly phonotaxis to cricket song. *Science*. **190**: 1312-13.

Camousseight, A. 1995. Revisión taxonómica del género *Agathemera* (Phasmatodea: Pseudophasmatidae) en Chile. *Revista Chilena de Entomología*. **22**: 35-53.

Camousseight, A. 2005. Redefinición del género *Agathemera* Stål, 1875 (Phasmatodea, Pseudophasmatidae). *Revista Chilena de Entomología*. **31**: 13-20.

Cerretti, P. y Tschorsnig, H.P. 2010. Annotated host catalogue for the Tachinidae (Diptera) of Italy. *Stutt Beitr Naturk A NS*. **3**: 305-340.

Charnov, E.L. 1982. *The Theory of Sex Allocation*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Cloutier, C., Duperron, J., Tertuliano, M. y McNeil, J.N. 2000. Host instar, body size and fitness in the koinobiotic parasitoid *Aphidius nigripes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **97**: 29-40.

- Clutton-Brock, T.H., Rose, K.E. y Guinness, F.E. 1997. Density-related changes in sexual selection in red deer. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **264**: 1509 - 1516.
- Cobbold, C.A., Roland, J. y Lewis, M.A. 2009. The impact of parasitoid emergence time on host-parasitoid population dynamics. *Theoretical Population Biology*. **75**: 201-215.
- Cortés, R. 1968. Taquínidos chilenos (*Dipt.*, *Tachinidae*) parásitos de phasmidos (Phasmoidea). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*. **40**: 101-111.
- Danks, H.V. 2005. Key themes in the study of seasonal adaptations in insects I. Patterns of cold hardiness. *Applied Entomology and Zoology*. **40**: 199-211.
- Denis, D., Pierre, J., van Baaren, J. y van Alphen J.J.M. 2011. How temperature and habitat quality affect parasitoid lifetime reproductive success: A simulation study. *Ecological Modelling*. **222**: 1604-1613.
- Dindo, M.L. 2010. Tachinid parasitoids: are they to be considered as koinobionts? *BioControl*. **56**: 249-255.
- Donald, P.F. 2007. Adult sex-ratios in wild bird populations. *Ibis*. **149**: 671- 692.
- Duneau, D. y Ebert, D. 2012. Host sexual dimorphism and parasite adaptation. *PLOS Biology*. **10**: e1001271.
- Dyson, E.A. y Hurst, G.D.D. 2004. Persistence of an extreme sex-ratio bias in a natural population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **101**: 6520-6523.
- Eggleton, P. y Belshaw, R. 1992. Insect Parasitoids: An Evolutionary Overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. **337**: 1-20.
- Esperk, T., Tammaru, T., Nylin, S. y Teder, T. 2007. Achieving high sexual size dimorphism in insects: females add instars. *Ecological Entomology*. **32**: 243-256.
- Fairbairn, D.J. 2005. Allometry for sexual size dimorphism: testing two hypotheses for Rensch's rule in the water strider *Aquarius remigis*. *The American Naturalist*. **166**: S69-S84.
- Fantinou, A.A., Alexandri M.P. y Tsitsipis J.A. 1998. Adult emergence rhythm of the egg-parasitoid *Telenomus busseolae*. *Biocontrol*. **43**: 141-151.

- Fox, C. W. y Czesak, M. E. 2006. Selection on body size and sexual size dimorphism differs between host species in a seed-feeding beetle. *Journal of Evolutionary Biology*. **19**: 1167-1174.
- Freener, D. y Brown, B. 1997. Diptera as parasitoids. *Annual Review of Entomology*. **42**: 73-97.
- Godfray, H.C. 1994. *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press. 474 pp.
- Godfray, H.C., Hassell, M.P. y Holt, R.D. 1994. The population dynamics consequences of phenological asynchrony between parasitoids and their hosts. *Journal of Animal Ecology*. **63**: 1-10.
- Greeney, H.F. y Stireman, J.O. 2001. Emergence of parasitic flies from adult *Actinote diceus* (Nymphalidae: Acraeinae) in Ecuador. *Journal of Lepidopterists' Society*. **55**: 79-80.
- Grenier, S. 1988. Applied biological control with tachinid flies (Diptera, Tachinidae): a review. *Anz. Schädling. Pfl. Umw.* **51**: 49-56.
- Gwynne, D.T. 1984. Sexual selection and sexual differences in Mormon crickets (Orthoptera: Tettigoniidae, *Anabrus simplex*). *Evolution*. **38**: 1011-1022.
- Hance, T., van Baaren, J., Vernon, P. y Boivin, G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. *Annual Review of Entomology*. **52**: 107-126.
- Harris, V.E. y Todd, J.W. 1980. Male-mediated aggregation of male, female and 5th-instar southern green stink bugs and concomitant attraction of a tachinid parasite, *Trichopoda pennipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **27**: 117-126.
- Huey, R.B. y Kingsolver, J.G. 2011. Variation in universal temperature dependence of biological rates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **108**: 10377-10378.
- Kan, E., Fukuhara, N. y Hidaka, T. 2003. Parasitism by tachinid parasitoids (Diptera: Tachinidae) in connection with their survival strategy. *Applied Entomology and Zoology*. **38**: 131-140.
- Karban, R. y English-Loeb, G. 1997. Tachinid parasitoids affect host plant choice by caterpillars to increase caterpillar survival. *Ecology*. **78**: 603-611.
- Karban, R. 1998. Caterpillar basking behavior and nonlethal parasitism by Tachinid flies. *Journal of Insect Behavior*. **11**: 713-723.

- Kingsolver, J.G. y Huey, R.B. 2008. Size, temperature, and fitness: three rules. *Evolutionary Ecology Research*. **10**: 251- 268.
- Kivan, M. y Kilic, N. 2002. Host preference: parasitism, emergence and development of *Trissolcus semistriatus* (Hym., Scelionidae) in various host eggs. *Journal of Applied Entomology*. **126**: 395-399.
- Klug, H., Heuschele, J., Jennions, M.D. y Kokko, H. 2010. The mismeasurement of sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology*. **23**: 447-462.
- Kvarnemo C. y Ahnesjö I. 1996. The dynamics of operational sex ratios and competition for mates. *Trends in Ecology & Evolution*. **11**: 404-408.
- Lodé, T., Holveck, M.-J., Lesbarreres, D. y Pagano, A. 2004. Sex- biased predation by polecats influences the mating system of frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. **271**: S399-S401.
- Lovich, J.E. y Gibbons, J.W. 1992. A review of techniques quantifying sexual size dimorphism. *Growth, Development and Aging*. **56**: 269-281.
- Micha, S.G., Kistenmacher, S., Mölck, G. y Wyss, U. 2000. Tritrophic interactions between cereals, aphids and parasitoids: discrimination of different plant-host complexes by *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Aphidiidae). *European Journal of Entomology*. **97**: 539-543.
- Morehead, S.A. y Feener, D.H. 2000. Visual and chemical cues used in host location and acceptance by a dipteran parasitoid. *Journal of Insect Behavior*. **13**: 613-625.
- Müller, C.B. y Schmid-Hempel, P. 1993. Exploitation of cold temperature as defence against parasitoids in bumblebees. *Nature*. **363**: 65 - 67
- Nakamatsu, Y., Tanaka, T. y Harvey, J.A. 2006. The mechanism of the emergence of *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) larvae from the host. *European Journal of Entomology*. **103**: 355-360.
- Nicol, C.M.Y. y Mackauer, M. 1999. The scaling of body size and mass in a host-parasitoid association: influence of host species and stage. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **90**: 83-92.
- O'Hara, J.E. 2011. World genera of the Tachinidae (Diptera) and their regional occurrence, version 6.0. 75 pp. URL: http://www.nadsdiptera.org/Tach/Genera/Gentach_ver6.pdf. [Citado] 7 abril 2012.

- Pennacchio, F. y Strand, M. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*. **51**: 233-258.
- Purrington, F.F. y Uleman, J.S. 1972. Brood size of the parasitic wasp *Hyssopus thymus*: Functional correlation with the mass of a cryptic host. *Annals of the Entomological Society of America*. **65**: 280-281.
- Reitz, S.R. y Nettles, W.C.J. 1994. Regulation of *Helicoverpa zea* larval behavior by the parasitoid *Eucelatoria bryani*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **71**: 33-39.
- Salt, G. 1968. The resistance of insect parasitoids to the defense reactions of their hosts. *Biological Reviews*. **43**: 200-32.
- Shreeves, G. y Field, J. 2008. Parental care and sexual size dimorphism in wasps and bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. **62**: 843-852.
- Sivinski, J. 1977. Factors affecting mating duration in the walkingstick *Diaperomera velii* Walsh (Phasmatodea: Heteronemiidae). M.S. Thesis Univ. of New Mexico.
- Sivinski, J. 1978. Intrasexual aggression in the stick insects *Diaperomera velzei* and *D. covilleae* and sexual dimorphism in the phasmatodea. *Psyche*. **85**: 395-405.
- Stillwell, R.C. y Fox, C.W. 2007. Environmental effects on sexual size dimorphism of a seed-feeding beetle. *Oecologia*. **153**: 273-280.
- Stireman, J.O. y Singer, M.S. 2003. What determines host range in parasitoids? An analysis of a tachinid parasitoid community. *Oecologia*. **135**: 629-638.
- Stireman, J. O'Hara, J. y Wood, D. 2006. Tachinidae: Evolution, Behavior, and Ecology. *Annual Review of Entomology*. **51**: 525-555.
- Stoepler, T.M., Lill, J.O. y Murphy, S.M. 2011. Cascading effects of host size and host plant species on parasitoid resource allocation. *Ecological Entomology*. **36**: 724-735.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A. y Masaki, S. 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press. 411 pp.
- Teder, T. y Tammaru, T. 2005. Sexual size dimorphism within species increases with body size in insects. *Oikos*. **108**: 321-334.
- Thienel, M. 2010. Carga parasitaria aparente de los machos de *Agathemera crassa* (Phasmatodea: Agathemeridae): ¿Implicancias en la selección sexual? Seminario de Título Biólogo Ambiental, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. x + 73 pp.

Thomas, M.B. y Blanford, S. 2003. Thermal biology in insect-parasite interactions. *Trends in Ecology & Evolution*. **18**: 344-350.

Thornhill, R. y Alcock, J. 2001. The evolution of insect mating systems. Harvard University Press. 547 pp.

Vera, A. y Camousseight, A. 2008. Ciclo vital de *Agathemera mesoauricularae* Camousseight, 1995 (Phasmatodea: Agathemeridae), en condiciones de cautiverio. *Revista Chilena de Entomología*. **34**: 57-61.

Vera, A., Pastenes, L., Veloso, C. y Méndez, M.A. 2012. Phylogenetic relationships in the genus *Agathemera* (Insecta: Phasmatodea) inferred from the genes *16S*, *COI* and *H3*. *Zoological Journal of the Linnean Society*. **165**: 63-72.

Vinson, S.B. y Iwantsch, G.F. 1980. Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*. **25**: 397-419.

Williams, S.C., Arnaud P.H. y Lowe, G. 1990. Parasitism of *Anuroctonus phaiodactylus* (Wood) and *Vaejovis spinigerus* (Wood) (Scorpiones: Vaejovidae) by *Spilochaetosoma californicum* Smith (Diptera: Tachinidae), and a review of parasitism in scorpions. *Mýia*. **5**:11-27.

Willig, M.R., Garrison, R.W. y Bauman, A.J. 1986. Populations dynamics and natural history of a neotropical walking stick *Lamponius portoricensis* Rehn (Phasmatodea: Phasmatidae). *The Texas Journal of Science*. **38**: 121-137.

Wood, D. 1987. Tachinidae. En J.F. McAlpine, B.V. Peterson, G.E. Shewell, H.J. Teskey, J.R. Vockeroth y D.M. Wood (eds.), *Manual of Nearctic Diptera*: 1193-1269. Vol.2. Biosystematics Research Institute. Ontario, Canada.

Zamorano, J. 2009. Consecuencias de la aclimatación térmica pupal sobre rasgos de historia de vida y la tasa metabólica de la mosca parasitoide de altura *Phasmovora phasmophagae* (Tachinidae). Tesis de Magister en Ciencias c/m en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. xiii + 61 pp.

Zar, J. 1996. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA.

Zuk, M. y Kolluru, G.R. 1998. Exploitation of sexual signals by predators and parasitoids. *The Quarterly Review of Biology*. **73**: 415-438.

