

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE CORTEJO Y CÓPULA  
EN *Callisphyris apicornis* F. & G. Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES  
AMBIENTALES Y HORA DEL DÍA**

**JAVIER ANDRES MUÑOZ MILLAN**

**SANTIAGO, CHILE**  
**2011**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE CORTEJO Y CÓPULA  
EN *Callisphyris apicicornis* F. & G. Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES  
AMBIENTALES Y HORA DEL DÍA**

**CHARACTERIZATION OF THE BEHAVIOR OF COURTSHIP AND MATING  
IN *Callisphyris apicicornis* F. & G. And ITS ASSOCIATION WITH  
ENVIRONMENTAL VARIABLES AND HOUR OF THE DAY**

**JAVIER ANDRES MUÑOZ MILLAN**

**SANTIAGO, CHILE**  
**2011**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE CORTEJO Y CÓPULA**  
**EN *Callisphyris apicicornis* F. & G. Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES**  
**AMBIENTALES Y HORA DEL DÍA**

**Memoria para optar al título profesional de: Ingeniero Agrónomo**  
**Mención: Sanidad Vegetal**

**JAVIER ANDRES MUÑOZ MILLAN**

	Calificaciones
Profesor Guía	
Tomislav Curkovic S. Ingeniero Agrónomo PhD.	6,8
Profesores Evaluadores	
Luis Sazo R. Ingeniero Agrónomo	6,7
Jurij Wacyk G. Ingeniero Agrónomo Mg.Sc. PhD.	6,0

SANTIAGO, CHILE  
2011

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
Palabras claves	1
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
Key words	2
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b>	<b>6</b>
Lugar de estudio	6
Colecta y crianza de insectos	6
Ensayos de campo	7
Análisis estadístico	7
Observaciones preliminares	9
Análisis del comportamiento de cortejo y cópula y su asociación con variables ambientales	9
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>11</b>
Descripción de las conductas de Cortejo y Cópula	11
Definición de las unidades de conducta	13
Secuencia general del comportamiento de Cortejo y Cópula en <i>Callisphyris apicicornis</i>	15
<b>Variables ambientales</b>	<b>18</b>
Temperatura ambiental	19

Velocidad del viento	20
Hora del día	21
Atracción de otras especies	22
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>23</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>24</b>
<b>APÉNDICES</b>	<b>29</b>
Apéndice I	29

## RESUMEN

*Callisphyris apicornis* Fairmaire & Germain (Coleoptera: Cerambycidae) es una especie xilófaga nativa y polífaga, que ataca: manzanos, membrillero, feijoa, y zarzaparrilla. Para incrementar el conocimiento acerca de la biología sexual de esta especie, información relevante para desarrollar estrategias de control de plagas basadas en semioquímicos. Se analizó el comportamiento de cortejo y cópula en 31 secuencias exitosas (terminaron en cópula), grabadas en video en el campo. Los pasos observables, homogéneos y discretos realizados por machos y hembras fueron identificados. Las frecuencias de individuos que realizaron los pasos fueron colocadas en celdas (en una tabla de contingencia) indicando el número de individuos que, habiendo realizado un paso previo, realizaron el paso siguiente (cadenas de primer orden de Markov). La prueba exacta de Fisher fue utilizada para identificar dependencia entre pasos. Las frecuencias de transición fueron calculadas y las que fueron significativas se utilizaron para construir un etograma que muestra la secuencia, las frecuencias, y las rutas seguidas por insectos. El índice de estereotipia fue utilizado para identificar la variabilidad dentro de la secuencia. Se utilizó la regresión logística binaria para identificar si la temperatura ambiente, velocidad de viento, y hora del día fueron variables significativas.

Las secuencias del comportamiento fueron altamente estereotipadas y no azarosas. La secuencia del comportamiento en machos fue caracterizada por: "aproximación", "monta", "aproximación de genitales", "cópula", "desacople", "guardia", y "vuelo". Las hembras tienden a permanecer inmóvil durante la cópula. El primer contacto ocurre entre las antenas y patas del macho con diferentes partes del cuerpo de la hembra. El cortejo es breve e imperceptible. La hembra acepta o rechaza a los machos escapando o pateándolos con su tercer par de patas.

Solo la temperatura ambiente fue significativa para la ocurrencia del comportamiento, mayoritariamente entre los 19 y 23°C. En términos generales, los resultados sugieren que el comportamiento sexual en machos de *Callisphyris apicornis* es compatible con el desarrollo de técnicas de control mediante feromonas.

Palabras clave: Estereotipia, etogramas *Lepturinae*,

## ABSTRACT

*Callisphyrus apicornis* Fairmaire & Germain (Coleoptera: Cerambycidae) is a native xylophagous, and polyphagous species, affecting apples, quince, fig, and zarzaparrilla (*Ribes* spp). In order to increase the knowledge about this species sexual biology, information relevant to develop semiochemical-based pest control strategies, courtship and mating behaviors were analyzed in 31 successful sequences (ending in mating), videotaped in the field. Observable, homogeneous, and discrete steps performed by males and females were identified. Frequencies of individuals performing the steps were placed in cells (in a contingency table) indicating the number of individuals that, having performed a previous step, were performing the current one (first order Markov chains). Fisher test was used to identify dependency between steps. Transition frequencies were calculated and significant ones were used to build an ethogram showing the sequence, frequencies, and routes followed by insects. A stereotypy index was used to identify the variability within the sequence. Binary logistic regression was used to identify whether ambient temperature, wind speed, or the time of the day were significant variables.

The behavioral sequences were non random and highly stereotyped. The sequence in males was characterized by “approaching”, “riding”, “genitalia approaching”, “mating”, “uncoupling”, “guarding”, and “flight”. Females tend to stay stationary during mating. First contact used to occur between antennae and legs males with different parts of the female body. Courtship was brief and unobtrusive. Females either accepted/rejected males by walking away or by kicking them with their last pair of legs.

Only ambient temperature was significant for the occurrence of the behavioral sequence, mostly between 19° to 23° C. Overall, results suggest that sexual behavior in *Callisphyrus apicornis* males is compatible with the development of pheromone-based management and control techniques.

Key words: Ethograms, *Lepturinae*, Stereotypy.

## INTRODUCCIÓN

La sierra del manzano, *Callisphyrus apicicornis* (Coleoptera: Cerambycidae), es un insecto nativo, perteneciente a la subfamilia Lepturinae, (Cerda, 1986) presente en Argentina y también en Chile, donde se distribuye desde la Región de Valparaíso a La Araucanía (Artigas, 1994). Su hábito xilófago y polífago le permite atacar una gran variedad de especies agrícolas, forestales y ornamentales (Barriga *et al.*, 1993; Artigas, 1994), en algunas de las cuales (Membrillero, Feijoa) ha sido considerada plaga clave (Curkovic, 2008).

El género *Callisphyrus* incluye tres especies de importancia económica: *C. semicaligatus* o “sierra del coihue”, además de *C. macropus* y *C. apicicornis*, que afectan frutales (Prado 1991; Artigas 1994). La larva de *C. apicicornis* vive y se desarrolla exclusivamente en madera “viva” (Barriga *et al.*, 1993), incluyendo ramas y troncos funcionales, en los cuales construye galerías longitudinales que pueden ocasionar la caída de la rama (Artigas, 1994). También hace sucesivos cortes perpendiculares en ramas y troncos, los que parecen hechos por un objeto cortante, lo que explica su nombre común. Tiene 19 hospederos reportados entre especies nativas y exóticas: *Betula pendula* y *Betula* sp (Betulaceae), *Casuarina cunninghamiana* (Casuarinaceae), *Ribes nigrum*, *R. polyanthes* y *R. rubrum* (Grossulariaceae), *Accra sellowiana* (Feijoa) y *Luma apiculata* (Myrtaceae), *Cotoneaster franchetti*, *Crataegus oxyacantha*, *Cydonia oblonga*, *Malus domestica*, *Pyracantha coccinea*, *Rosa moschata*, *Rosa* sp, *Rubus idaeus* y *R. ulmifolius* (Rosaceae), *Salix* sp (Salicaceae), y *Ulmus* sp (Ulmaceae) (González 1989; Prado 1991; Barriga *et al.* 1993; Artigas 1994).

El control es muy difícil una vez que las larvas se instalan y desarrollan en la madera, pues no hay exposición a tratamientos convencionales, y los individuos que dan protegidos por la corteza. Su control a través de inyecciones de tóxico, con jeringa, directamente en los orificios en que se observa aserrín (Artigas, 1994), no resulta viable a gran escala y es, probablemente, un método ineficiente y peligroso para el operario. El control natural ocurre a través de Tachinidae (Diptera), pues se han encontrado puparios en galerías de *C. apicicornis*, pero no se han identificado las especies parásitas (Barriga, 1990). También se han identificado en nuestras crianzas a *Aulacus kraehmeri* (Aulacidae: Hymenoptera) emergiendo de galerías pupales de *Callisphyrus apicicornis* (reportado anteriormente por Elgueta y Lanfranco, 1994). Sin embargo, no hay ningún desarrollo del control biológico para estas u otras especies emparentadas. Por último, una práctica cultural como la poda de ramas afectadas puede ser una alternativa de manejo, pero requiere de la identificación de las ramas infestadas, a través de la detección de síntomas, que no siempre son evidentes. Esto es particularmente difícil en especies como *C. macropus*, cuya larva tiende a ubicarse en la parte inferior del eje de la planta (en el caso de frambuesa, Carrillo *et al.*, 1996), comportamiento también observado en *C. apicicornis*.

Dada la dificultad de oportuna identificación del daño producido por la especie y las ineficientes estrategias de control utilizadas a la fecha, es que surge la necesidad de encontrar nuevas técnicas de manejo para especies con estos hábitos de vida (Bento *et al.*, 1992; Solomon, 1995, Nakamuta *et al.*, 1997; Ginzler and Hanks, 2005 Hall *et al.*, 2006), los que deben facilitar el control de este tipo de plagas. En este ámbito, la modificación del comportamiento sexual de adultos mediado a través de semioquímicos, se perfila como una poderosa estrategia (Rhainds *et al.*, 2001; Lacey, 2003, Hanks *et al.*, 2007), que ha sido utilizada para otros cerambícidos, incluso en el manejo de plagas cuarentenarias (Lacey *et al.*, 2004; Silk *et al.*, 2007). Estas estrategias tienen su origen en la química ecológica, disciplina que estudia los mecanismos y compuestos químicos que controlan las interacciones intra e interespecíficas entre organismos vivos (Harris and Foster, 1995).

En cerambícidos la química ecológica ha tenido un incipiente desarrollo, con la identificación de feromonas sexuales en al menos una decena de especies en los últimos años. Para ello ha sido necesario hacer estudios de la conducta sexual que permitan identificar las condiciones en que los insectos producen feromonas y cuáles son las respuestas de estos organismos a estos compuestos. Con estos antecedentes, más la disponibilidad de volátiles de plantas que les resultan atractivos, o con sus feromonas sexuales (o de agregación) sintéticas, ha sido posible el desarrollo de tecnologías que logran la modificación del comportamiento de localización del compañero sexual, impidiendo la reproducción (Iwalbuchi, 1986; Ray *et al.*, 2006; R eddy, 2007). No obstante, para poder llevar a cabo la implementación de esta estrategia, es necesario el conocimiento del rol de los semioquímicos en la conducta (Solomon, 1995), lo que requiere el estudio *a priori* del comportamiento del insecto, asociado al comportamiento de llamado (emisión de volátiles) y a la respuesta de con específicos a dichas fuentes atractivas (comportamiento de aproximación/búsqueda del compañero sexual), así como los estudios de las etapas posteriores como el cortejo, cópula, entre los principales. Sin embargo los estudios formales de comportamiento en insectos plaga son escasos en el mundo (Solomon, 1995; Hanks, 1999), al igual que en Chile (C urkovic y Ferrera, 2008), a pesar de que han sido citados como la causa de fallas en el manejo de plagas con feromonas (Krupke, 1999).

El comportamiento sexual en insectos comienza con la emisión de diversas señales (por parte del macho o hembra). Para el caso de *C. apicicornis*, estas primeras señales son hechas por las hembras durante el denominado “llamado” (Ferrera, 2009). El llamado ocurre en determinado estado fisiológico del individuo (*ej.* una vez que alcanza la madurez sexual) y bajo condiciones ambientales particulares (*ej.* cierto rango de temperaturas, Bento *et al.* 1993). Frecuentemente implica conductas particulares, observables, que ayudan a la emisión de las feromonas. Así, algunos insectos desarrollan posturas que facilitan la liberación de feromonas de largo alcance, (Cade 1985). En respuesta a la llamada, el sexo opuesto (generalmente machos) que detecta y reconoce las señales, desarrolla maniobras que favorecen la búsqueda y orientación hacia la fuente (vuelo en zig-zag, en el caso del uso de pistas químicas) (Kennedy 1977). Luego sigue el “cortejo”, que incluye una serie de eventos que ocurren cuando

ambos sexos se encuentran a corta distancia e interactúan, previo a la cópula (Alexander *et al.*, 1997), donde usualmente el macho hace la mayor inversión de energía. En insectos el cortejo también involucra a veces la participación de semioquímicos de corto alcance (Baker y Carde 1979). La última fase es el acoplamiento (cópula) entre ambos sexos para la transferencia de material genético, aunque puede continuarse con otras conductas como la “guardia” post-cópula, el cuidado maternal, etc (Cade 1985). Ferrera (2009) describió uno de los primeros registros de un Cerambycidae en que la hembra es la emisora de feromonas sexuales y el primero para una especie de Lepturinae. Sin embargo, no estudió las etapas posteriores de la conducta sexual de esta especie, las cuales, en caso de identificarse y, finalmente, disponerse de la feromona de esta especie, serán fundamentales para el diseño de estrategias específicas de control. Por ejemplo, la caracterización del cortejo puede ser fundamental en el diseño de atracticidas (Curkovic *et al.* 2006) que requieren de un contacto físico entre la formulación del plaguicida y el insecto para causarle una exposición letal. Algo similar puede ocurrir con la definición de las condiciones ambientales en que este comportamiento ocurre. Por estas razones, esta tesis plantea los siguientes objetivos.

### **Objetivos:**

- 1- Caracterizar la secuencia de eventos que ocurren durante el cortejo y cópula en *C. apicicornis*.
- 2- Determinar la asociación que existe entre la cópula, las variables ambientales temperatura y velocidad del viento, y la hora del día en que se observaron las conductas.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Lugar de estudio

Los experimentos de campo se desarrollaron durante las temporadas 2008 y 2009 en la Estación Experimental Antumapu, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, Comuna de la Pintana, Santiago, Chile, en las coordenadas S:34° 14' 31"; W: 70° 38' 08". La crianza de insectos se llevó a cabo en el laboratorio de Comportamiento y Ecológica Química de insectos, ubicada en el Departamento de Sanidad Vegetal de la misma Facultad.

### Colecta y crianza de insectos

Los individuos utilizados en el estudio se obtuvieron de plantas de Membrillero (*C. oblonga*), Feijoa (*F. sellowiana*) y Crataegus (*C. oxyacantha*), en los que se detectaron síntomas característicos de infestación de *C. apicicornis*, descritos por Barriga *et al.* (1993), en las localidades de Lo Cañas (La Florida, RM) de coordenadas S: 33° 32' 04"; W: 70° 33' 24", Gultro (El Olivar, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins), de coordenadas S: 34° 13' 56"; W: 70° 52' 25" y la EE.EE Antumapu, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Las colectas de material vegetal se realizaron en los meses de septiembre y octubre. Se utilizaron para la extracción: serrucho de poda (Stanley, 18", USA), tijerón de poda (BAHCO), y tijeras de podar. La madera infestada fue cortada longitudinalmente para verificar el estado de desarrollo y sexo de los individuos (Figura 1), mediante caracteres morfológicos externos (largo de antenas y tamaño del abdomen).



Figura 1. Hembra Neonata de *C. apicicornis* en corte longitudinal de madera infestada.

Se mantuvo separados machos y hembras en baterías Flanders en el laboratorio, bajo fotoperíodo ambiente, temperatura promedio de  $20 \pm 5^\circ \text{C}$ , y humedad relativa de  $50 \pm 5\%$ , registradas a través de termo-higrómetro digital (Boeco, BOE 330, Alemania). La emergencia de adultos se monitoreó diariamente entre septiembre y noviembre, a fin de evitar la exposición con otros ejemplares antes de las evaluaciones. Las hembras se utilizaron 1 a 2 días luego de su emergencia y se mantuvieron individualmente por un periodo de hasta 10 días en frascos plásticos transparentes (6,6 cm alto y 4 cm de diámetro) y los machos por un periodo de 14 a 19 días. Ambos se alimentaron a través de algodón embebido en solución de agua y azúcar al 5%.

### **Ensayos de campo**

Se realizaron experimentos basados en la observación del comportamiento de machos y hembras de *C. apicicornis* durante el período de cortejo y cópula. Durante estas observaciones se registró la hora del día, velocidad del viento y temperatura ambiental al momento del arribo de machos a hembras conespecíficas.

### **Análisis estadístico**

El registro detallado de las secuencias de cortejo y cópula, se presentó en tablas de contingencia basadas sobre modelos de primer orden de Markov (Fagen and Young, 1978; Liimatainen and Hoikkala, 1998). Estas presentan la frecuencia de transición de una conducta a todas las otras posibles, asumiendo que la probabilidad de ocurrencia de un paso dentro del comportamiento depende sólo de la identidad de la actividad de conducta previa (Liimatainen and Hoikkala, 1998). Para ello, se asignó a cada celda de la tabla (o matriz) el número de individuos que, haciendo un paso en particular (columnas), haya realizado un paso previo (filas) dentro de la secuencia. Por lo tanto las frecuencias obtenidas son frecuencias de transición (Girling and Cardé, 2006).

Para analizar si existía asociación general entre los pasos que conformaron las secuencias de cortejo y cópula en machos, se realizó el test de Fisher (Fagen and Young, 1978) utilizando el SPSS statistics, 15, USA. Las hipótesis planteadas se contrastaron usando un nivel de significación del 5% y se describen a continuación:

Ho: No existe dependencia o asociación entre los pasos que conforman la secuencia

H1: Existe dependencia o asociación entre los pasos que conforman la secuencia

Esta prueba permite el análisis de categorías en tablas pequeñas ( $n < 100$ ), en las que no se cumplen los supuestos para el análisis a través de la prueba de Chi-cuadrado, lo que evita la pérdida de información a través de la unión de categorías sobre actos relacionados (Visauta, 2007). Para evaluar la magnitud de la asociación entre los pasos que conformaban las secuencias de cortejo y cópula se calculó el coeficiente de contingencia respectivo.

Para conocer aquellos pares de pasos significativos dentro de la secuencia general de machos y hembras, se utilizó el estadígrafo  $Y = (x_{ij} - m_{ij}) / \sqrt{(m_{ij})}$  propuesto por Fagen y Young (1978), el cual discrimina si la transición, acto  $i$  al acto  $j$ , ocurre con una frecuencia que difiere significativamente ( $p < 0,05$ ) de la ocurrencia por azar. Valores de  $|Y| > \sqrt{(X^2 * df) / R^2}$ , (donde  $R$  = número de pasos del repertorio de la especie), implican transiciones significativas. Las hipótesis planteadas se contrastaron usando un nivel de significación del 5% y se describen a continuación:

Ho: La transición entre pasos para la celda específica ocurre por azar y por tanto no es significativa

H1: La transición entre pasos para la celda específica no ocurre por azar y por tanto es significativa

Transiciones significativas se utilizaron en la construcción de etogramas (Figura 4) (Osorio-Osorio y Cibrián-Tovar, 2000). La secuencia general de pasos significativos más usual dentro de la matriz se obtuvo por concordancia entre altas probabilidades de transición y altas frecuencias observadas (Girling and Cardé, 2006).

La variabilidad (grado de estereotipia) de cada paso dentro de la secuencia del comportamiento de cortejo y cópula de machos, se calculó a través de la siguiente fórmula (Girling and Cardé, 2006):

$$SI_i = \sqrt{\left[ \frac{\sum (P_{ij})^2 - (\sum P_{ij})^2 / r_i}{(1 - 1/r_i)} \right]}$$

donde  $SI_i$  es el índice de estereotipia para cada paso,  $P_{ij}$  es la probabilidad de transición desde el paso de comportamiento  $i$  a todos los otros posibles comportamientos  $j$ , y  $r_i$  es el número de posibles transiciones desde el precedente comportamiento  $i$ . (Girling and Cardé, 2006). Para obtener el índice de estereotipia de la secuencia global de comportamiento (SI), el valor obtenido de  $SI_i$  para cada paso del comportamiento (fila) se ponderó por su frecuencia, en relación al comportamiento total observado. La suma de estos valores para cada paso, resultó en el valor del índice de estereotipia para la secuencia global (SI).

Las mediciones de las variables ambientales registradas (temperatura, velocidad del viento y horas del día), se sometieron a regresión logística binaria, utilizando Minitab Statistical software (13,32, USA), a objeto de modelar a través de una función matemática (no lineal), la probabilidad de ocurrencia de un evento binomial (en este caso realiza o no el comportamiento de cortejo o de cópula), en función de las variables antes indicadas. Se evaluó si cada variable dentro del modelo era o no significativa ( $p < 0,05$ ). La validez del modelo se explicó a través del porcentaje de concordancia.

## Observaciones preliminares

Durante el 2008 se realizaron las primeras observaciones de adultos de *C. apicicornis*, a fin de evaluar el comportamiento de cortejo y cópula. Se dispuso de hembras de 1 a 2 días de vida, obtenidas de crianza, sobre una ramilla de *Tamarix parviflora*. Para evitar su escape, se ató una de sus alas membranosas con un nudo con hilo de coser (Figura 2), evitando así la extensión del ala, impidiéndole escapar. Según Ferrera (2009) el “llamado” (conducta asociada a emisión de feromonas que se correlaciona con el período de mayor atracción de machos) ocurre principalmente entre las 10:00 y las 14:00 horas. Las observaciones, entonces, fueron efectuadas durante ese período del día a través de un estudio observacional *in vivo* asistemático (Ferrera, 2009) del comportamiento de machos. Durante el año 2008 se obtuvieron 2 registros exitosos de cópula, que permitieron definir la metodología a utilizar en 2009.



Figura 2. Hembra de *C. apicicornis* con nudo en ala membranosa para evitar que vuele.

## Análisis del comportamiento de cortejo y cópula y su asociación con variables climáticas

El primer experimento se realizó para describir el cortejo y la cópula de macho, caracterizando: 1) la secuencia de pasos y su respectiva frecuencia, 2) la asociación entre las unidades de conducta dentro de la secuencia (Fagen and Young, 1978, Ferrera 2009) y 3) el grado de plasticidad o estereotipia intra-específica (Facundo *et al.*, 1999). A su vez se evaluó si variables ambientales como la temperatura, viento y hora del día tenían incidencia en estas etapas del comportamiento sexual. Para ello, durante el 2009 se analizó, a través del método observacional asistemático, un grupo de 30 hembras vírgenes y sanas de *C. apicicornis*. Cada hembra, de uno a dos días de edad, fue trasladada al lugar de los ensayos (campo) en frascos plásticos transparentes (6,6 cm alto y 4 cm de diámetro), desde los cuales se extrajeron para ser ubicadas sobre una

ramilla de *T. parviflora* (procedente del sitio de observación) a una altura de 1,5 m .. Posteriormente, el observador se ubicó a 1 m de distancia de la hembra, y procedió a esperar hasta la aparición de un macho silvestre en la zona de estudio. Una vez que se observó al macho acercándose a una distancia aproximada de 20 cm., se inició la filmación de la secuencia con cámara de video (SONY Handycam, HDR-SR10, Japón) del comportamiento observado mediante la técnica de observación animal focal (Altmann, 1974 citado por Ferrera, 2009). Las secuencias se dieron por iniciadas con la aproximación macho a una distancia máxima de 10 cm de la hembra. El período de observación se realizó entre las 10:00 y las 14:00 h. de cada día de evaluación.

Del mismo modo que Ferrera (2009), las grabaciones se reprodujeron directamente desde la cámara de video en un televisor (LG, LCD 26LG30R, Corea), lo que permitió en una primera revisión de las grabaciones, definir en forma preliminar la secuencia de pasos homogéneos y discretos de dentro del comportamiento de cortejo y cópula. La construcción de la matriz de transición de este comportamiento se obtuvo de las revisiones posteriores de los videos.

La construcción de la matriz se facilitó gracias a la predeterminación de códigos. Todas las hembras se utilizaron hasta lograr una cópula exitosa. Al día siguiente post-cópula se colocó nuevamente la misma hembra, con la finalidad de verificar si de ser atractiva. Se registraron 58 secuencias del comportamiento con las hembras obtenidas.

Para evaluar la asociación del cortejo y cópula con factores ambientales se utilizaron 31 hembras. El estudio utilizado fue animal focal (cuando se evaluó una sola hembra) o de barrido (cuando hubo emergencia de más de 1 hembra durante un día de observación). El registro fue instantáneo, obteniéndose al inicio del comportamiento, la temperatura ambiental y velocidad del viento a través de termo-anemómetro (EXTECH instrument, 407119, USA). También se registró el horario en que llegaba el macho atraído por las hembras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Descripción de las conductas de cortejo y cópula

Los pasos que forman la secuencia de cortejo y cópula se definen en el Cuadro 1 y algunos se muestran en la Figura 3. Se observó que el macho de *C. apicicornis* vuela en zig-zag hacia las hembras que se encuentran llamando sobre una rama; el vuelo finaliza con un descenso cerca de la hembra. En otras especies, durante esta fase se observa una activa y relativamente prolongada interacción que involucra contacto entre las antenas de machos y diferentes partes del cuerpo de las hembras (Michelsen, 1963, 1966), previo a la monta, lo que podría interpretarse como una evaluación propia de una conducta de cortejo formal. Sin embargo, la aproximación y el intento de monta del macho de *C. apicicornis* sólo involucró contactos breves entre sus antenas y patas, y el cuerpo de la hembra. Este tipo de aproximación es compatible con el uso de trampas o cebos tóxicos (Curkovic *et al.*, 2006), e estrategias que requieren el contacto entre el insecto y la fuente para monitoreo y control, siempre que no requieran al mismo tiempo de otras pistas (por ejemplo visuales o auditivas).

La aproximación del macho de *C. apicicornis* tuvo dos respuestas en las hembras; 1) aceptación (31 secuencias terminaron en cópula), permitiendo al macho realizar los pasos subsiguientes, o 2) rechazo (27 secuencias no exitosas), caracterizado por el escape (ocurrió en 13 de las 27 secuencias) de la hembra que se aleja caminando rápidamente, similar a lo reportado para *Phytoecia rufiventris* Gautier (Coleoptera: Cerambycidae) (Wang *et al.*, 1996). Las hembras que escaparon eran perseguidas por el macho que no lograba montarlas, y finalmente desistía de su persecución. A veces la hembra, en lugar de escapar, se mantuvo en su lugar y rechazó al macho con un golpe (también en 13 de 27 secuencias) que le propinaba con sus patas traseras, impidiéndole aproximarse. La secuencia no exitosa restante ocurrió cuando un macho se aproximó a la hembra (que no escapó ni lo pateó), pero luego de inspeccionarla se alejó sin intentar montarla. Considerando el total de secuencias, los machos se aproximaron por delante (7), por el costado (24) y de trás de la hembra (27), en proporciones similares en secuencias exitosas y no exitosas. Según estos resultados, el cortejo en *C. apicicornis* es poco evidente, sin una interacción que involucre una postura o maniobras complejas, observándose sólo la decisión final de la hembra ante la aproximación del macho. Algo similar se ha observado en *P. rufiventris* (Wang *et al.*, 1996). Los rechazos observados en *C. apicicornis* sugieren que la hembra podría reconocer y evaluar al macho que se aproxima, pero el mecanismo usado es desconocido.

Los machos de *C. apicicornis* no rechazados (53%) se montaron sobre la hembra. Durante esta etapa las hembras se encuentran estacionarias, posadas o colgando sobre la rama. Las antenas del macho y de la hembra se dirigen siempre hacia adelante, pero las de la hembra están fijas hacia abajo. Una vez encima de la hembra, el macho intentó el

acople inmediatamente. La cópula duró 10 a 15 min en promedio, tiempo durante el cual hay repetidos contactos entre palpos labiales y mandíbulas del macho y el cuerpo de la hembra, similar a lo descrito en *Dectes texanus texanus* LeConte (Crook *et al.*, 2004). En tres ocasiones, cuando una pareja de *C. apicicornis* se encontraba en cópula, llegó un segundo macho que se encaramó encima del primero, que dando los tres individuos uno encima de otro. Montas entre machos han sido reportadas para *P. rufiventris*, incluso con intentos de cópula homosexual (Wang *et al.*, 1996). En *C. apicicornis* cuando ocurrió esta monta triple se observó que la cópula sólo ocurre entre la hembra y el macho que se encuentra inmediatamente encima de ella. En algunas ocasiones ocurrió un desacople ocasionado por la llegada del segundo macho.

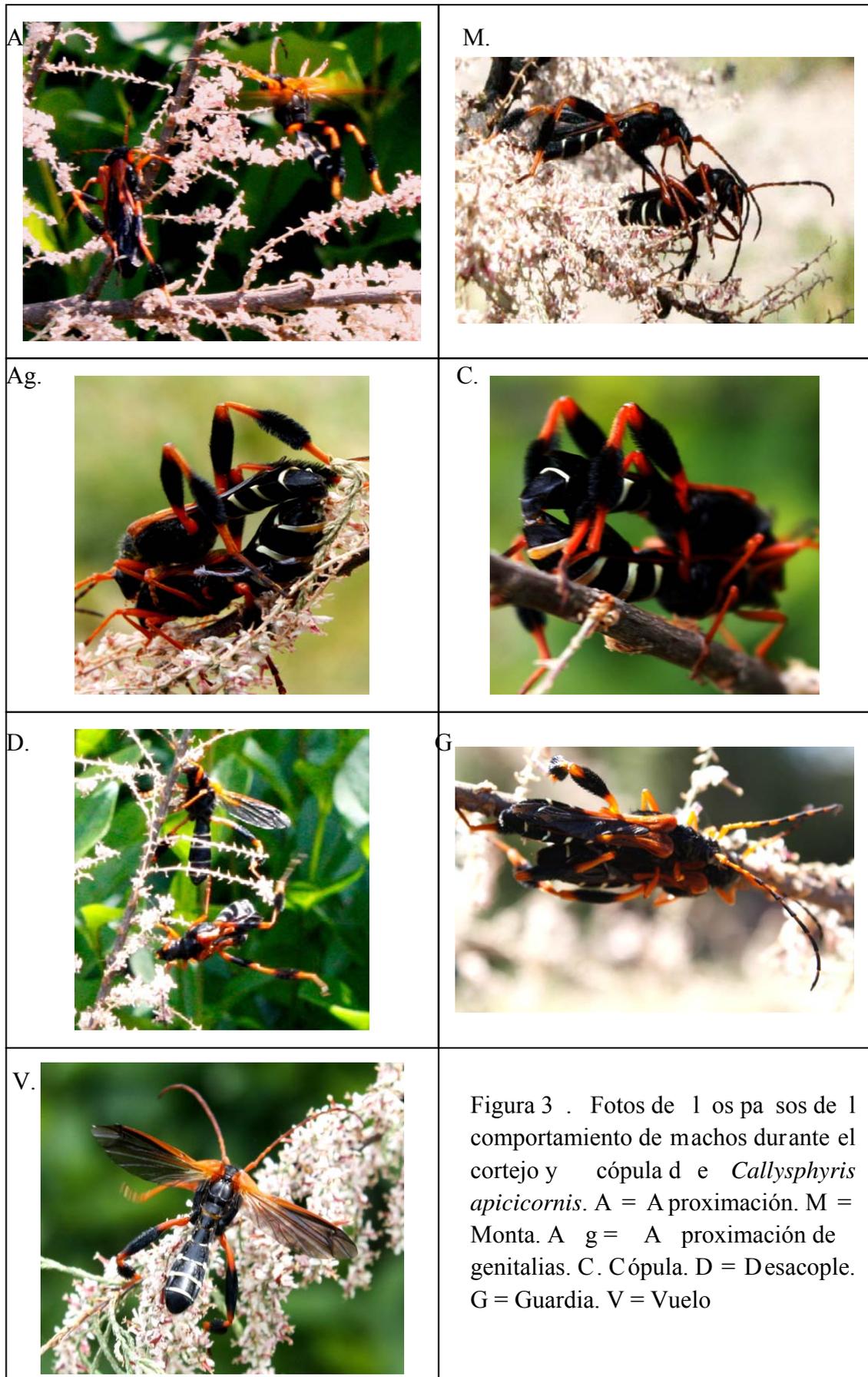
La hembra de *C. apicicornis* suele estar inmóvil durante la cópula, sin embargo, ocasionalmente (22 % de las secuencias exitosas) se desplazó a lo largo de la rama con el macho sobre su dorso, provocando también el desacople, similar a lo observado con *Tetraopes tetraphthalmus* (Forster) (Droney y Thaker, 2006). En todos los desacoples observados en *C. apicicornis*, los machos se alejaron de la hembra volando y eventualmente algunos regresaron para iniciar una nueva secuencia. La cópula finalizó cuando se separaron las genitalias de los individuos. Entonces el macho se aleja volando, mientras que la hembra se queda inmóvil. Por ello, se asume que la cópula en *C. apicicornis* es finalizada por los machos, similar a lo descrito en *P. rufiventris* (Wang *et al.*, 1996). En tres secuencias los machos de *C. apicicornis*, luego de finalizar la cópula, se mantuvieron inmóviles sobre la hembra, lo que podría corresponder a una conducta de guardia, cuya función, en otras especies, es evitar que un macho que llegue posteriormente, copule con la hembra ya cubierta. De esta forma el macho asegura el dominio de su progenie, lo cual ha sido descrito para otros cerambícidos como *Oemona hirta* (F.) (Wang y Davis, 2005) y *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky) (Morewood *et al.*, 2004).

### Definición de las unidades de Conducta.

Se definieron unidades de conducta (pasos dentro la secuencia) del comportamiento de cortejo y cópula de machos y se asignaron códigos para cada una de ellas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Unidades y códigos de conductas realizados por machos de *Callisphyris apicicornis* durante el cortejo y cópula.

<b>Unidad de conducta y código</b>	<b>Definición</b>
Aproximación (A)	El macho llega atraído por la hembra y aterriza a unos cuantos centímetros de ella, para luego caminar e intentar el primer contacto físico
Monta (M)	El macho luego de contactar brevemente a la hembra se monta sobre su dorso, tomándose firmemente con sus patas anteriores y segundo par en la región mesotorácica.
Aproximación de genitalias (Ag)	El macho inclina hacia abajo el abdomen, e intenta introducir su aparato copulador en el orificio genital de la hembra, que ha doblado su abdomen hacia arriba
Cópula (C)	El macho y la hembra se acoplan y se mantienen unidos a través de sus genitalias. Durante ésta etapa, el macho frota periódicamente sus palpos maxilares y mandíbulas sobre el pronoto de la hembra.
Desacople (D)	El macho se desacopla separando su abdomen del de la hembra y, usualmente, se desmonta.
Guardia (G)	Una vez desacoplado el macho se queda montado sobre la hembra
Vuelo (V)	Luego del desacople, o del periodo de guardia, el macho emprende un vuelo alejándose de la hembra.



Para evaluar si existe asociación entre los pasos que conforman las secuencias de conducta presentes en el comportamiento de cortejo y cópula (Cuadro 1), se procedió a la evaluación global de la secuencia obtenida. Como el análisis de los supuestos de la prueba de Chi-Cuadrado muestra que los valores esperados para el 11% de las celdas de la matriz fueron menores a 5, el estadístico utilizado para evaluar la independencia fue la prueba exacta de Fisher.

Los resultados indican que con una alta probabilidad ( $p \leq 0.001$ ) las secuencias no ocurren por azar, y por tanto existe asociación entre los pasos que conforman el cortejo y la cópula. Considerando que la tabla de contingencia analizada se construyó con el criterio de cadenas de Markov de primer orden (Fagen y Young, 1978), esta relación se puede designar como una de dependencia de primer orden. Además, la magnitud de esta asociación es elevada, lo que se refleja en el valor del coeficiente de contingencia (0.89).

### **Secuencia general del comportamiento de cortejo y cópula en *Callisphyris apicicornis***

Se evaluó en forma conjunta las probabilidades de transición presentes en el etograma (Figura 4) y las frecuencias obtenidas  $\neq (0)$  en la matriz de transición (Girling and Cardé, 2006) (Cuadro 2). Esto debido a que “el análisis de la matriz” utiliza la frecuencia total de transición entre pasos, lo que puede “sobreestimar” el comportamiento de un pequeño número de individuos que alternan entre pasos. Las probabilidades de transición (etograma), en tanto, superan este problema, pero pueden producir un peso desproporcionado de algunas transiciones, y la exclusión de aquellas válidas, realizadas por la mayor parte de los individuos (Girling and Cardé, 2006). El uso de estos métodos, junto con el empleo del índice de estereotipia (que permite evaluar la variabilidad de la secuencia) (Haynes and Birch, 1984), proporciona valiosas técnicas para el estudio de secuencias (Girling and Cardé, 2006). Del análisis se deduce que, altas probabilidades entre pares de pasos no se asocian necesariamente con una alta frecuencia de ocurrencia dentro de la muestra observada. Al respecto, cuando la probabilidad de transición toma su valor máximo en el etograma (valor 1), esto sólo implica que los individuos que ingresan a estos pasos se mueven en forma unidireccional desde el paso precedente *i* al consecuente *j*, pero no implica que sea una transición con alta frecuencia dentro de la secuencia (ej: transición “Ag” a “C”) (Cuadro 2 y Figura 4), similar a lo planteado por Ferrera (2009). Por otra parte, valores altos (0,7-0,9) de estas probabilidades, implican que la mayor proporción de los individuos que ingresa al paso “i” se desplazará hacia el paso subsecuente “j” (Ferrera, 2009). Sin embargo, una proporción menor, de ellos se distribuirá hacia cualquier otro paso de la secuencia (ej: pasos “D” a “V”).

En el caso de las transiciones “A” a “M” y de “D” a “V”, puede observarse que la alta probabilidad de transición (Figura 4) concuerda con una alta frecuencia de ocurrencia dentro de la matriz (Cuadro 2). Esto reflejaría que esta “secuencia” es realizada con mayor frecuencia por los individuos, existiendo una ruta alternativa significativa del

comportamiento, pero realizada por una menor cantidad de ellos dentro de la muestra observada (n=30).

El análisis conjunto entre las frecuencias observadas en la matriz de transición del comportamiento de cortejo y cópula (Cuadro 2) y sus probabilidades de transición dentro del etograma (Figura 4), permitieron la definición de la secuencia general de pasos más usual, la que corresponde a: “A” → “M” → “Ag” → “C” → “D” → “V”. Una situación distinta se observa en aquellas celdas con frecuencias bajas, las que poseen a su vez bajas probabilidades de transición, como ocurre en “D” → “G”.

**Cuadro 2.** Matriz de transición para secuencias exitosas del comportamiento de cortejo y cópula en machos de *C. apicicornis*.

Paso Previo	Paso Siguiete							Total
	A	M	Ag	C	D	G	V	
A	0	31	0	0	0	0	0	31
M	0	0	31	0	0	0	0	31
Ag	0	0	0	31	0	0	0	31
C	0	0	0	0	31	0	0	31
D	0	0	0	0	0	3	28	31
G	0	0	0	0	0	0	3	3
V	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	31	31	31	31	3	31	158

(A) Aproximación, (M) Montaña, (Ag) Aproximación de genitalias, (C) Cópula, (D) Desacople, (G) Guardia, (V) Vuelo.

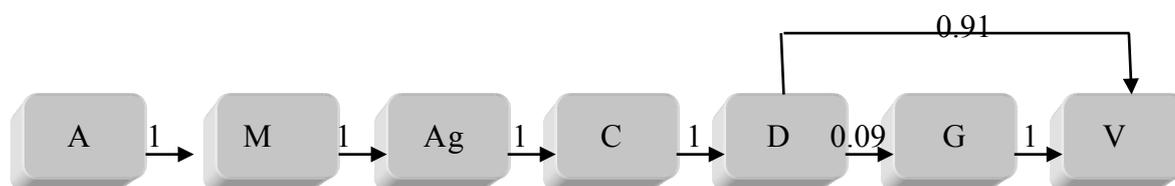


Figura 4. Etograma del comportamiento de cortejo y cópula en machos de *C. apicicornis*, mostrando rutas y probabilidades de transición entre unidades de conducta en secuencias exitosas.

**Cuadro 3.** Índice de estereotipia (SIi = Índice de estereotipia para cada paso, SI = Índice de estereotipia de la secuencia general) para el comportamiento de cortejo y cópula de *C. apicicornis*.

Código	Valor SIi	Valor SI
A	1	0,196
M	1	0,196
Ac	1	0,196
C	1	0,196
D	0,892	0,175
G	1	0,0189
V	0	0
Total		<b>0,9779</b>

Valor en **negrita** corresponde a una secuencia altamente estereotipada según Ferrera (2009).

Los resultados que se muestran en el cuadro 3 indican que el comportamiento de cortejo y cópula en *C. apicicornis* es altamente estereotipado (SI = 0,98). Esto implica que la única ruta alternativa existente, no es de relevancia para la secuencia. Según el etograma (figura 4) existe solo una ruta alternativa en la secuencia que se presenta en el paso “D” donde un 9% de individuos realizó el paso “G” y el 91% restante continuo directamente al paso “V”. Bajo estos datos podemos decir que el cortejo y cópula es unidireccional

El periodo de guardia en *C. apicicornis* no es muy usual (9%), pero ha sido descrito para otras especies de cerambícidos como *Anoplophora glabripennis*, quien puede estar por horas montando guardia sobre la hembra ya cubierta, con el fin de asegurar su paternidad en la progenie (Morewood *et al.*, 2004). *Oemona hirta* también realiza esta etapa de guardia (Wang y Davis, 2005)

La cópula en *C. apicicornis* es finalizada generalmente por los machos, salvo tres casos en que las hembras se desplazaron a lo largo de la rama con el macho sobre su dorso, provocando el desdoblamiento del macho. En *P. rufiventris* las cópulas son generalmente terminadas por los machos (Wang *et al.*, 1996)

### Variables ambientales

Los registros ambientales se obtuvieron sólo al momento de iniciarse la cópula, por tanto no se dispuso de una gran “variabilidad” de datos, lo que puede conspirar al momento de intentar la discriminación con los métodos estadísticos.

La regresión logística de las variables ambientales evaluadas y de la hora del día como variables independientes, muestra que el comportamiento de cortejo y cópula es influido significativamente sólo por la temperatura ( $p = 0,023$ ) (Cuadro 4), mientras que el horario y la velocidad de movimiento no tuvieron una incidencia significativa en la ocurrencia de estas conductas ( $p=0,47$ ;  $p=0,86$  respectivamente). En este escenario, el porcentaje de concordancia obtenido fue de un 73,8% (incluyendo todas las variables evaluadas) (Apéndice I).

**Cuadro 4.** Resultados significativos de la regresión logística binaria entre el comportamiento de cortejo y temperatura

Variable Dependiente	Variable Independiente	P-value	OR	CC
Cortejo y Cópula	Temperatura	0,023	0,75	73,8

## Temperatura ambiental

La temperatura resulta ser el factor relevante en el comportamiento de cortejo y cópula. Autores como Baker and Cardé (1979) y Bento *et al.*, (1993) mencionan que la temperatura actuaría induciendo la ocurrencia de l comportamiento de l llamado e n algunas especies. El cortejo y cópula disminuye e n l a medida que l a t emperatura aumenta por sobre el rango de temperatura para el llamado (15 - 25°C) (Ferrera, 2009) (Figura 5). No se encontraron referencias respecto a las conductas de cortejo y cópula y su relación con la temperatura para *Cerambycidae*, s i n e m b a r g o, e n *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) una disminución de l a t emperatura ambiental reduce significativamente el cortejo (Shreve *et al.*, 2004)

Cerca de l 80 % de l a s copulas se de sarrolla e n e l r a n g o de l o s 19 ° a 23 ° C . de temperatura (Figura 5). Fuera de este rango la ocurrencia de arribos de machos con fines sexuales disminuye, lo que coincide con lo mencionado por Ferrera 2009, qui en observó que el mayor porcentaje de llamados realizados por hembras de *C. apicicornis* ocurren entre los 15 y 25° Celsius.

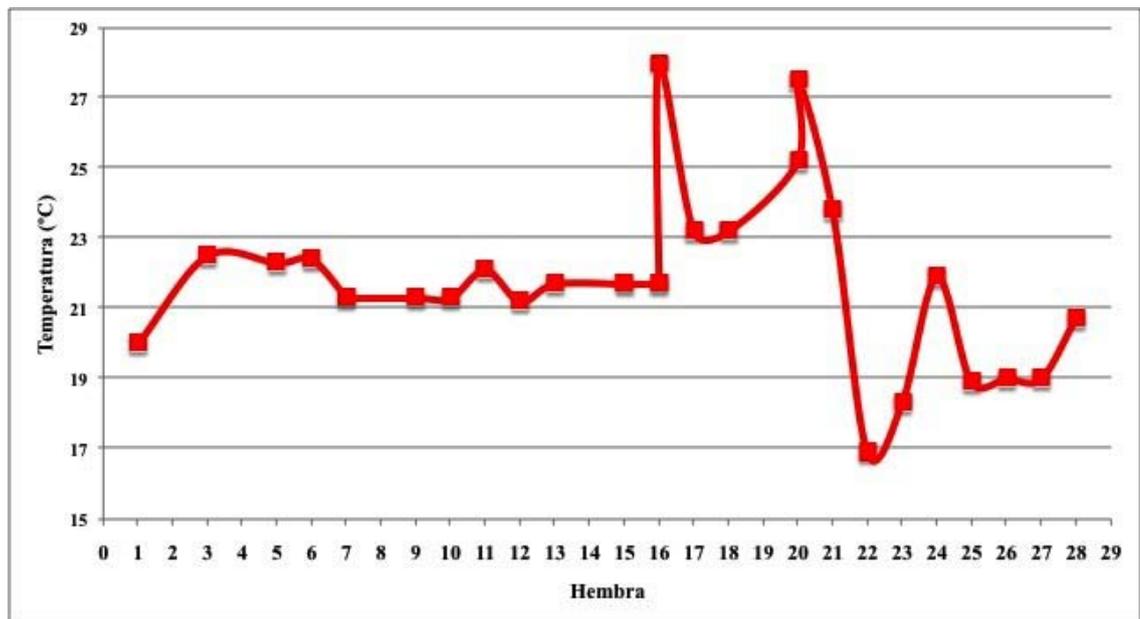


Figura 5. Temperaturas en que se registraron las copulas en *C. apicicornis*

### Velocidad del viento

El viento no resulta ser un factor significativo en la ocurrencia del cortejo y cópula ( $P=0.86$ ). Si bien en fuertes vientos dificultan el vuelo de aproximación y aterrizaje de machos en las cercanías de las hembras, pero no son un impedimento para lograr una cópula. En la figura 6 se puede observar que la velocidad del viento promedio en el sitio de estudio durante el cortejo/cópula es de 0,4 m/s., lo cual no es un factor determinante en la ocurrencia de las conductas de cortejo y cópula. Sin embargo vientos de mayor velocidad solo tienen un efecto en la dificultad para el aterrizaje del macho en las cercanías de la hembra. No se encontraron referencias respecto a las conductas de cortejo y cópula y su relación con la velocidad del viento para *Cerambycidae*.

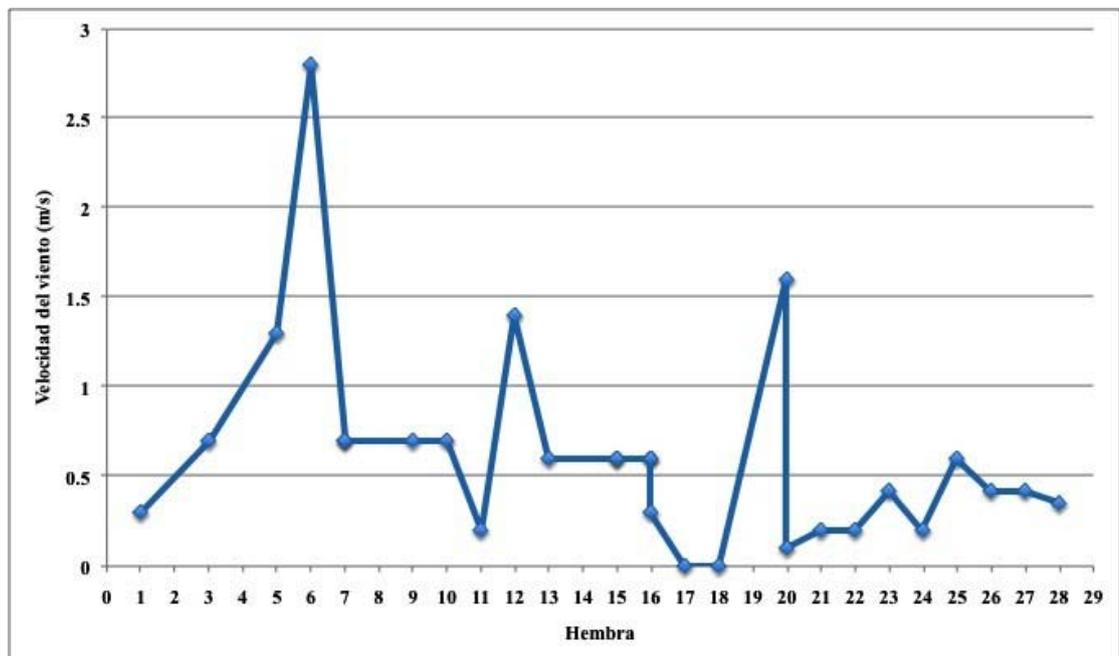


Figura 6. Velocidad del viento registrada al momento del arribo de machos de *C. apicicornis*.

### Hora del día

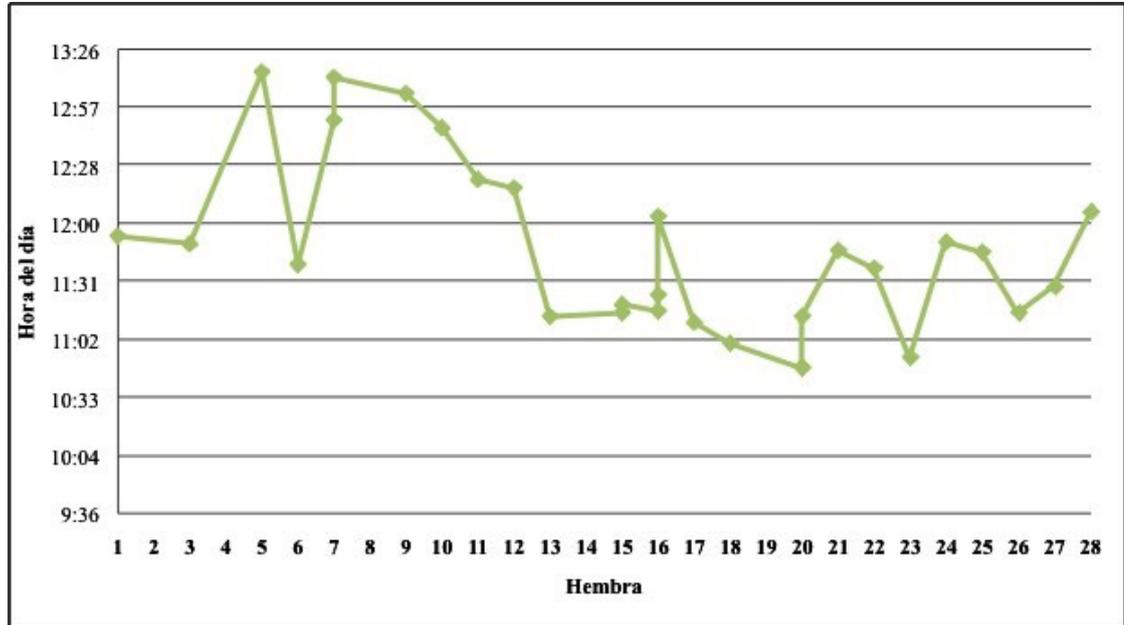


Figura 7. Horas del día en que se registraron los inicios de las cópulas en *C. apicicornis*.

Estudios anteriores demuestran que entre las 10:00 y las 14:00 horas se realiza la mayor actividad de llamado por parte de la hembra y los respectivos arribos de los machos con fines de cópula (Ferrera, 2009). En el presente estudio la hora en que ocurren estas conductas no resulta significativa ( $P=0.47$ ). Observaciones durante el estudio sugieren que las hembras, luego del ser cubiertas, no permiten una nueva monta, salvo en casos donde se produce un desacomple causado aparentemente por factores externos (fuertes vientos, llegada de un segundo macho, entre otros).

### Atracción de otras especies

Las hembras de *C. apicicornis*, y presumiblemente la feromona sexual que emite durante el llamado, resultaron ser atractivas para *Hephaestion violaceipennis* F. & G., otra especie de Cerambycidae perteneciente a la subfamilia Lepturinae. (Figura 8), que al intentar el contacto físico fue golpeado por las patas traseras de la hembra. Ello se observó en dos oportunidades durante el estudio. Cabe señalar que este antecedente coincide con lo reportado por Kramer 1990, quien describe la llegada de machos de *Platynocera viridis* (F. & G.) (también un Lepturinae) a una hembra de *C. macropus* Newman nacida en cautiverio y dispuesta en una jaula para la colecta de machos conoespecíficos.



Figura 8. Macho de *Hephaestion violaceipennis* arribando cerca de una hembra de *C. apicicornis* durante el “llamado”.

## CONCLUSIONES

La conducta de cortejo y cópula en *C. apicicornis* se caracteriza por pasos simples. El contacto inicial entre machos y hembras, previo a la cópula, fue breve y simple, y no corresponde a un cortejo elaborado. Sin embargo, se observaron conductas de rechazo por parte de la hembra, lo que sugiere algún mecanismo de reconocimiento específico y evaluación del macho que se aproxima a ella. La secuencia presentó pasos simples: aproximación, monta, aproximación de genitales, cópula, desacople, guardia (en algunos casos) y vuelo.

La conducta de cortejo y cópula en *C. apicicornis* se caracteriza por ser una secuencia de primer orden, unidireccional, altamente estereotipada y no azarosa. Esta secuencia debería ser repetida por los machos ante la exposición a una fuente de la feromona sexual específica, permitiendo la intoxicación de los individuos al aproximarse y contactar el insecticida incorporado en un cebo tóxico específico de la fuente, o en su defecto, la captura del macho que contacta la trampa.

Solo la temperatura fue significativa en la ocurrencia del cortejo y cópula, que se observó principalmente entre los 19 y 23 °C, mientras que la velocidad del viento (0 a 3 m s<sup>-1</sup>) y la hora del día (entre 10:00 y 14:00 h) no fueron significativas.

La feromona sexual de *C. apicicornis* atrae a machos de *H. violaceipennis* (también perteneciente subfamilia Lepturinae), lo que sugiere la posibilidad del uso de señales químicas similares entre géneros filogenéticamente cercanos.

## BIBLIOGRAFÍA

ALEXANDER R.D., D.C. MARSHALL, J.R. COOLEY 1997. Evolutionary perspectives in insect mating. *In: Mating systems in Insects and Arachnids* (J.C. Choe and B.J. Crespi, edits.), Cambridge Univ. Press, p:4-31.

ARTIGAS J.N. 1994. *Callisphyrus vespa* Fairmaire & Germain. Sierra del manzano, *In: Entomología Económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario* (nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos). Ediciones U. de Concepción, Vol. II, p:140-141.

BAKER T.C., R.T. Cardé 1979. Courtship behavior of oriental fruit moth (*Grapholita molesta*): experimental analysis and considerations of the role of sexual selection in the evolution of courtship pheromones in the Lepidoptera. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 73:100-5.

BARRIGA, J.E. 1990. Parasitos y depredadores de larvas de Cerambycidae y Buprestidae (Coleoptera) en Chile. *Rev. Chil. Ent.* 18: 57-59.

BARRIGA J.E., T. CURKOVIC, T. FICHET, J. HENRIQUEZ, J. MACAYA. 1993. Nuevos antecedentes de coleópteros xilófagos y plantas hospederas en Chile, con una recopilación de citas previas. *Rev. Chil. Ent.* 20: 65-91.

BENTO, J.M.S.; F.E. ALBINO, T.M.C. DELLALUCIA and E.F. VILELA 1992. Field trapping of *Migdolus fryanus* Westwood (Coleoptera, Cerambycidae) using natural sex-pheromone. *J. Chem. Ecol.* 18: 245-251

BENTO J.M.S., T.M.C. DELLALUCIA, R.T.S FRIGHETTO 1993. Male-response to natural sex-pheromone of *Migdolus fryanus* Westwood (Coleoptera, Cerambycidae) females as affected by daily climatic factors. *J. Chem. Ecol.* 19: 2347-2351

CADE W. 1985. Insect mating and courtship behavior. *Compreh. Insect physiology, biochem., pharmac.* 9:591-619.

CARRILLO R., M. NEIRA, C. CIFUENTES, N. MUNDACA 1996. Aspectos biológicos y etológicos de *Callisphyrus macropus* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) en zarzaparrilla (*Ribes nigrum* y *Ribes rubrum*). *Acta Ent. Chilena.* 20:111-114.

CERDA M. 1986. Lista sistemática de los cerambycoides chilenos (Coleoptera: Cerambycidae). *Rev. Chil. Ent.* 14:29-39.

CURKOVIC, T.; J.F. BRUNNER, P. LANDOLT 2006. Courtship behavior of *Choristoneura rosaceana* (Harris) and *Pandemis pyrusana* Kearfott (Lepidoptera: Tortricidae). *Ann. Ent. Soc. Amer.* 99: 617-624.

CURKOVIC, T. 2008. La sierra del manzano: antecedentes biológicos y bases para el desarrollo del control de adultos. Aconex 98 (abril- mayo- junio):10-14.

CURKOVIC, T. y C. FERRERA 2008. Manejo etológico de plagas nativas en Chile en base al estudio de su comportamiento y química ecológica. Rev. Antumapu 5(2). En prensa

CROOK, D., J. HOPPER, S. RAMASWAMY and R. HIGGINS. 2004. Courtship Behavior of the Soybean Stem Borer *Dectes texanus texanus* (Coleoptera: Cerambycidae), evidence for a female contact sex pheromone. Ann. Ent. Soc. Amer 97(3):600-604.

DRONEY, D. and M. THAKER 2006. Factors influencing mating duration and male choice in the red milkweed *Tetraopes tetrophthalmus* (Forster) (Coleoptera: Cerambycidae). Ethol. Ecol. Evol. 18:173-183.

ELGUETA M., D. LANFRANCO 1994. La familia Aulacidae en Chile (Hymenoptera: Evanioidea). Rev. Chil. Ent. 21: 85-97.

FAIRMAIRE L., P. GERAMIAN 1859. Revision des coleopteres du Chili. Ann. Soc. Ent. France (Ser.3) 7:483-532.

FACUNDO, H.T., C.E. LINN, M.G. VILLANI and W.L. ROELOFS. 1999. Emergence, mating, and postmating behaviors of the oriental beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Insect Behavior 12(2): 175-192.

FAGEN, R. and D. YOUNG. 1978. Temporal patterns of behaviors: durations, intervals, latencies, and sequences. pp: 100-107. In: Colgan, P. (Ed). Quantitative ethology. Wiley, New York, United States of America. 364p.

FERRERA C. 2009. Análisis del comportamiento de llamado y orientación hacia el compañero sexual en *Callisphyrus apicicornis* F. & G. y asociación del llamado con variables ambientales y edad de las hembras en campo. Tesis para magister en ciencias Agropecuarias. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago, Chile. 68 p.

FONSECA, M.G and H.G. ZARBIN. 2009. Mating behaviour and evidence for sex-specific pheromones in *Hedypathes betulinus* (Coleoptera: Cerambycidae: Lamiinae). J. of App. Ent. 133(9-10): 695-701.

GINZEL, M.D. and L.M. HANKS 2005. Role of host plant volatiles in mate location for three species of longhorned beetles. J. of Chem. Ecol. 31: 213-217.

- GIRLING, R. and R. CARDÉ. 2006. Analysis of the courtship behavior of the navel orangeworm, *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), with a commentary on methods for the analysis of sequences of behavioral transitions. *Journal of Insect Behavior* 19(4): 497-520.
- GONZÁLEZ R. 1989. Insectos y ácaros de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile. Ograma, Santiago. 310 p.
- HALL, D.R.; S.J. CORK, S. PHYTHIAN, S. CHITTAMURU, B.K. JAYARAMA, M.G. VENKATESHIA, K. SREEDHARAN 2006 Identification of components of male produced pheromone of coffee white stem borer, *Xylotrechus quadripes*. *J. of Chem. Ecol.* 32: 195-219.
- HANKS, L.M.; J.G. MILLAR, J.A. MOREIRA, J.D. BARBOUR, E.S. LACEY, J.S. MCELFRISH, F. RAYREUTER, A.M. RAY 2007. Using Generic pheromone lures to expedite identification of aggregation pheromones for the Cerambycid beetles *Xylotrechus nauticus*, *Phymatodes lecontei*, and *Neoclytus modestus modestus*. *J. of Chem. Ecol.* 33:889-907
- HARRIS, M. and S. FOSTER 1995. Behavior and integration. In: Bella, W.J. and Cardé, R.T. (ed.) *Chemical ecology of insects*. Chapman & Hall. Sunderland, England. 3-48
- HAYNES K.F. and M.C. BIRCH. 1984. Mate-locating and courtship behaviors of the artichoke plume moth, *Platyptilia carduidactyla* (Lepidoptera: Pierophoridae). *Environmental Entomology* 13(2): 399-408
- IWABUCHI, K. 1986. Mating behavior of *Xylotrechus pyrroderus* BATES (Coleoptera: Cerambycidae) III. Pheromone secretion by male. *Applied Entomology and Zoology* 21(4):606-612
- KENNEDY J. 1977. Olfactory responses to distant plants and other odor sources. In: *Chemical control of insect behavior. Theory and applications*. (Shorey, H. and J. McKelvey, Jr., eds.), Wiley-Interscience, pp:67-91.
- KRAHMER, E. 1990. Feromona de una especie de cerambycidae atrae a los machos de otro género (Coleoptera). *Rev. Chil. Ent.* 18:95
- KRUPKE, C. 1999. Behavioral response of male codling moth (*Cydia pomonella* L.) to a semiochemical-based attract-and-kill management strategy. M. Sc. Thesis. Simon Fraser University. British Columbia, Canada, 85p.
- LACEY, E.D. 2003. Aggregation pheromone of the red-headed ash borer, *Neoclytus acuminatus acuminatus* (f.) (Coleoptera: Cerambycidae). Thesis, Master of Science in Entomology. University of Illinois. 23p.

- LACEY, E.D., J. MATTHEW, J. GINZEL, J.G. MILLAR, and L.M. HANKS 2004. Male produced aggregation pheromone of the Cerambycid beetle *Neoclytus acuminatus acuminatus*. J. of Chem. Ecol. 30(8):1493-1507
- LIIMATAINEN, J. and A. HOIKKALA. 1998. Interactions of the males and females of three sympatric *Drosophila virilis*-group species, *D. montana*, *D. littoralis*, and *D. lummei*, (Diptera: Drosophilidae) in intra- and interspecific courtships in the wild and in the laboratory. Journal of Insect Behavior 11(3): 399-417
- MICHELSEN, A. 1963. Observations on the sexual behavior of some longicorn beetles, subfamily Lepturinae (Coleoptera, Cerambycidae). Behavior 22(1-2): 153-166.
- MICHELSEN, A. 1966. The sexual behavior of the some longhorned beetles (Col., Cerambycidae). Entomologiske meddeleiser 34(1): 329-355.
- MOREWOOD, W.D., P. NEINER, J. SELLMER, and K. HOOVER. 2004. Behavior of adult *Anoplophora glabripennis* on a variety of trees under greenhouse conditions. J. Insect Behavior. 17(2) 215-226
- NAKAMUTA, K., W. LEAL, T. NAKASHIMA, M. TOKORO, M. ONO And M. NAKANISHI 1997. Increase of trap catches by a combination of male sex pheromones and floral attractant in longhorn beetle, *Anaglyptus subfasciatus*. J. of Chem. Ecol. 23(6): 1635-1640.
- OSORIO-OSORIO, R. and J. CIBRIÁN-TOVAR, J. 2000. Conducta de cortejo del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea considerata* Heinrich (Lepidoptera: Pyralidae). Agrociencia 34(5): 619-626.
- PRADO, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Santiago, Chile. 207p.
- RAY, A.M.; E.S. LACEY and L.M. HANKS. 2006. Predicted taxonomic patterns in pheromone production by longhorned beetles. Naturwissenschaften 93:543-550
- RHAINININM.; C. CHIEW LAN, S. KING, L. ZHEN-MO And G. GRIES 2001. Pheromone communication and mating behaviour of coffee white stem borer *Xylotrechus quadripes* Chevrolat (Coleoptera: Cerambycidae). Applied Entomology and Zoology 36(3):299-309.
- REDDY, G.V.P. 2007 Improved semiochemical-based trapping method for old-house borer, *Hylotrupes bajulus* (Coleoptera: Cerambycidae). Environmental Entomology 36:281-286

SHREVE S., J. KELTY, and R. LEE. 2004. Preservation of reproductive behaviors during modest cooling: rapid cold-hardening fine-tunes organismal response. *J. Exp. Biol.* 207:1797-1802.

SILK, P., J. SWEENEY, J. WU, J. PRICE, J.M. GUTOWSKI, and E.G. KETTELA 2007. Evidence for a male produced pheromone in *Tetropium fuscum* (F.) and *Tetropium cinnamopterum* (Kirby) (Coleoptera: Cerambycidae). *Naturwissenschaften* 94:697-701.

SOLOMON, J.D. 1995. Guide to insect borers of North American broadleaf trees and shrubs. Pp. 294-304. Dept. of Agriculture. USDA Forest Service. Washington, United States of America 735p.

VISAUTA, B. 2007. Análisis estadístico con SPSS 14. McGraw-Hill. Madrid, España. 820p.

WANG, Q., L.Y. CHEN, J.S. LI and X.M. YIN (1996) Mating behavior of *Phytoecia rufiventris* Gautier (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Behavior* 9: 47-60.

WANG, Q and L.K. DAVIS. 2005. Mating behavior of *Oemona hirta* (F.) (Coleoptera: Cerambycidae: Cerambycinae) in laboratory conditions. *Journal of Insect Behavior* 18(2):187-191.

## APÉNDICES

**Apéndice I.** Resultados regresión logística binaria entre el comportamiento de cortejo y cópula v/s factores ambientales y hora del día

<b>Predictor</b>	<b>Coef</b>	<b>StDev</b>	<b>Z</b>	<b>P</b>	<b>Odds</b>	<b>95% CI</b>	
					<b>Ratio</b>	<b>Lower</b>	<b>Upper</b>
Constant	3,019	6,044	0,50	0,617			
Hora	7,45	10,38	0,72	0,473	1726,70	0,00	1,18E+12
Temperatura	-0,2925	0,1284	-2,28	0,023	0,75	0,58	0,96
Viento	0,0994	0,5881	0,17	0,866	1,10		

P-Value = 0,068  
Cc 73,8