



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

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL Y ESTIMACIÓN  
DEL GRADO DE ESTEREOTIPIA DE *Proeulia auraria* CLARKE  
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)**

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Agropecuarias

**YURI KRISTAL CUEVAS RIVAS**

Director de Tesis  
TOMISLAV CURKOVIC S.

Profesores Consejeros  
AMANDA HUERTA FUENTES  
JAIME ARAYA CLÉRICUS

SANTIAGO - CHILE  
2015

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

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL Y ESTIMACIÓN DEL  
GRADO DE ESTEREOTIPIA DE *Proeulia auraria* CLARKE (LEPIDOPTERA:  
TORTRICIDAE)**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magister en  
Ciencias Agropecuarias

**YURI KRISTAL CUEVAS RIVAS**

|                              | Calificaciones |
|------------------------------|----------------|
| <b>DIRECTOR DE TESIS</b>     |                |
| Tomislav Curkovic S.         | 6,0            |
| Ing. Agr., Ph.D              |                |
| <b>PROFESORES CONSEJEROS</b> |                |
| Amanda Huerta F.             | 6,5            |
| Ing. Forestal, Dra.          |                |
| Jaime Araya C.               | 6,0            |
| Ing. Agr., MS, Ph.D          |                |

Santiago, Chile  
2015

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA .....   | 1  |
| COMPORTAMIENTO SEXUAL EN TORTRÍCIDOS MEDIADO POR COMPUESTOS QUÍMICOS FEROMONALES EN ESPECIES PRESENTES EN CHILE.....                               | 1  |
| Revisión Bibliográfica .....   | 2  |
| 1. Tortricidos.....  | 3  |
| 2. Comportamiento animal.....  | 5  |
| 3. Estereotipia.....   | 7  |
| 4. Comportamiento sexual en insectos.....  | 8  |
| 5. Feromonas.....  | 10 |
| 6. Consideraciones finales.....  | 11 |
| Literatura Citada.....   | 12 |
| CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO.....  | 19 |
| CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL Y ESTIMACIÓN DEL GRADO DE ESTEREOTIPIA DE <i>Proeulia auraria</i> CLARKE (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)..... | 19 |
| Resumen.....   | 20 |
| Abstract .....   | 20 |
| Introducción .....   | 21 |
| Características generales de <i>P. auraria</i> .....   | 21 |
| Comportamiento sexual en insectos.....   | 21 |
| Estereotipia.....  | 22 |
| Hipótesis.....   | 23 |
| Objetivos .....  | 23 |
| Objetivo general:.....   | 23 |

|  |    |
|--|----|
| Objetivos específicos: .....   | 23 |
| Materiales y Métodos .....   | 24 |
| I. Ubicación del estudio.....  | 24 |
| II. Material Biológico.....  | 24 |
| III. Condiciones de estudio .....  | 25 |
| IV. Análisis estadístico.....  | 28 |
| Resultados .....   | 31 |
| 1. Caracterización de la conducta de llamado y estimación del grado de estereotipia de hembras vírgenes de <i>P. auraria</i> . ..... | 31 |
| Discusión.....   | 43 |
| Conclusiones .....   | 49 |
| Literatura Citada.....   | 50 |
| APÉNDICE 1 .....   | 55 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| <b>Cuadro 1.</b> Unidades de conducta desarrolladas por hembras de <i>P. auraria</i> durante las secuencias de llamado. ....                              | 32 |
| <b>Cuadro 2.</b> Tabla de contingencia de la conducta del llamado de <i>P. auraria</i> . ....   | 33 |
| <b>Cuadro 3.</b> Índice de estereotipia de cada paso (Sli) e índice ponderado (SI) de la conducta de llamado de <i>P. auraria</i> . ....                  | 34 |
| <b>Cuadro 4.</b> Siglas y unidades de conducta desarrolladas por machos de <i>P. auraria</i> durante las secuencias del vuelo a fuentes feromonales. .... | 35 |
| <b>Cuadro 5.</b> Tabla de contingencia de la conducta del vuelo en machos de <i>P. auraria</i> en campo. ....   | 36 |
| <b>Cuadro 6.</b> Índice de estereotipia de cada paso (Sli) e índice ponderado (SI) de la conducta de vuelo de machos de <i>P. auraria</i> . ....          | 37 |
| <b>Cuadro 7.</b> Unidades de conducta de parejas de <i>P. auraria</i> durante las secuencias del cortejo. ....  | 38 |
| <b>Cuadro 8.</b> Tabla de contingencia de las transiciones de la conducta del cortejo en <i>P. auraria</i> . ....   | 40 |
| <b>Cuadro 9.</b> Índice de estereotipia de cada paso (Sli) e índice ponderado (SI) de la conducta del macho en el cortejo de <i>P. auraria</i> . ....     | 42 |
| <b>Cuadro 10.</b> Índice de estereotipia de cada paso (Sli) e índice ponderado (SI) de la conducta de la hembra en el cortejo de <i>P. auraria</i> . .... | 42 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Horario del llamado de hembras vírgenes de *P. auraria*, durante 55 secuencias de tal conducta. .... 31
- Figura 2.** Duración de la conducta de llamado en hembras vírgenes de *P. auraria*, durante 55 secuencias de tal conducta. .... 31
- Figura 3.** Secuencia de la conducta de llamado en *P. auraria*. .... 33
- Figura 4.** Etograma del comportamiento de llamado de *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre unidades de la conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el consecuente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos. .... 34
- Figura 5.** Secuencia de la conducta de vuelo de acercamiento a la feromona sexual de machos de *P. auraria* en el campo. .... 35
- Figura 6.** Etograma del comportamiento del vuelo de machos de *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre las unidades (pasos) de conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el consecuente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos. .... 37
- Figura 7.** Caracterización de las secuencias globales de la conducta de cortejo y cópula de *P. auraria*. Detalles de pasos conductuales en Cuadro 3. .... 39
- Figura 8.** Etograma del comportamiento del cortejo en *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre unidades de conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el siguiente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos. .... 41

**CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA**

**COMPORTAMIENTO SEXUAL EN TORTRÍCIDOS MEDIADO POR  
COMPUESTOS QUÍMICOS FEROMONALES EN ESPECIES PRESENTES EN  
CHILE.**

## Revisión Bibliográfica

En lepidópteros, los mecanismos de aislamiento reproductivo ocurren principalmente por aspectos del comportamiento sexual, del que se han definido cuatro etapas principales: *llamado*, el cual implica frecuentemente posturas o movimientos que ayudan a la emisión y posterior distribución de feromonas (Cade, 1985; Parra *et al.*, 2006; Altesor *et al.*, 2010); *búsqueda y orientación*, corresponde a la respuesta al llamado que hace el sexo opuesto mediante maniobras que favorecen la ubicación de la fuente (Kennedy, 1977); *cortejo*, incluye una serie de movimientos y posturas que ocurren cuando ambos sexos interactúan a corta distancia, previo a la cópula (Cade, 1985; Alexander *et al.*, 1997), lo que contribuye a la identificación y evaluación de un potencial compañero sexual; y finalmente la *cópula*, que incluye el acople y transferencia de material genético del macho a la hembra (Baker y Cardé, 1979; Altesor *et al.*, 2010). Todas estas conductas en su conjunto sirven, entre otros propósitos, a evitar las cópulas interespecíficas (Curkovic y Brunner, 2007). Adicionalmente, las feromonas sexuales también juegan un importante rol en el aislamiento intraespecífico, permitiendo la orientación, encuentro e identificación del compañero sexual (Grant, 1991; Borden, 1993).

En el Orden Lepidoptera, la familia Tortricidae tiene gran importancia agrícola a nivel mundial (Van der Geest y Evenhuis, 1991), pues disminuyen los rendimientos de los cultivos y afectan su comercialización en los productos (González, 2003). Entre los tortricidos de mayor importancia económica en Chile, se encuentran polillas introducidas, como la polilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.), la polilla oriental (*Cydia molesta* Busck), la polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana* Denis & Schiffermuller) la polilla del frejol (*Crociosema aporema* Walsingham) y polillas endémicas, como la polilla enrolladora de frutales (*Proeulia auraria* Clarke), la polilla enrolladora de las viñas (*Proeulia triquetra* Obraztsov) y la polilla enrolladora de la hoja del manzano (*Proeulia chrysopteris* Butler). Estas plagas, tienen gran importancia económica por su capacidad de afectar especies frutales y leguminosas, además de su estatus cuarentenario en productos de exportación (Arretz *et al.*, 1975; González, 2003).

Entre 2007 y 2012 se han producido numerosos rechazos en las exportaciones de frutas chilenas por la presencia de *C. pomonella*, *C. molesta* y *Proeulia* spp. (Moore, 2013). Para *L. botrana*, recientemente detectada en Chile, hasta el momento no se han encontrado registros de rechazos cuarentenarios. Por otro lado, *C. aporema* ha producido cuantiosas pérdidas económicas en la producción de semilla de alfalfa desde 1975 (Arretz *et al.*, 1981). Para las especies introducidas, la información sobre su conducta y taxonomía abundan (Avidov y Harpaz, 1969; Baker y Cardé, 1979; González, 2003; Llanos y Marín, 2004; Altesor *et al.*, 2010; Vacas, 2011; SAG, 2015), no así para las especies endémicas en donde, la información en su conducta es escasa y antigua (Faccin, 1979), y sólo existen algunos estudios recientes de las características taxonómicas (González, 2003; Razowski y Pelz, 2010; Cepeda y Cubillos, 2011).

Estas plagas se controlan normalmente con insecticidas convencionales, pero, su uso tiene numerosos efectos secundarios negativos. Por lo tanto, el desarrollo de controles



alternativos es de suma importancia en el manejo sustentable de cultivos. Para ello, disponer de información sobre su conducta y ecología química ayudará al desarrollo de estrategias apropiadas para programas de Manejo Integrado de Plagas basadas en la modificación de la conducta de apareamiento, en particular de aquellas fases dependientes de la feromona sexual. Estas tecnologías de manejo de plagas son herramientas particularmente atractivas por su acción específica, sin riesgos conocidos para el ambiente, y permiten la supervivencia de otras especies benéficas, lo que aumenta la biodiversidad local. Además, no tienen efectos adversos conocidos sobre las personas, y su uso permite incluso reducir el uso de insecticidas en la agricultura (Curkovic y Ferrera, 2010). Por ello, el estudio del comportamiento sexual, además de incrementar el conocimiento, es importante como línea base para el desarrollo de nuevas estrategias de control de plagas que adopten las técnicas convencionales existentes a su uso más eficiente.

## 1. Tortricidos

Los tortricidos son una de las principales familias de Lepidoptera de importancia agrícola a nivel mundial (Van der Geest y Evenhuis, 1991). Incluye más de 9.800 especies de pequeñas polillas de hábitos nocturnos o crepusculares (Guilligan y Epstein, 2012), sus larvas polífagas son defoliadoras o perforadoras de brotes, flores, legumbres o frutos carnosos (González, 2003), causan pérdidas de rendimiento de los cultivos y afectan la comercialización.

En Chile, esta familia está representada por las subfamilias Olethreutinae y Tortricinae. En Olethreutinae destacan cuatro especies que causan grandes pérdidas en pomáceas (*C. pomonella*), carozos (*C. molesta*), uva vinífera (*L. botrana*) y leguminosas (*C. aporema*). La subfamilia Tortricinae incluye como única tribu de importancia agrícola y cuarentenaria en Chile a Euliini (González, 2003), que contiene 20 géneros y 76 especies, incluyendo 38 especies de *Proeulia* y varios otros géneros sin connotación económica (Razowski y Pelz, 2010). En estas 38 especies descritas para Chile, destacan tres de gran importancia económica: la polilla enrolladora de frutales (*P. auraria*), el enrollador de las viñas (*P. triquetra*) y la polilla enrolladora de la hoja del manzano (*P. chrysopteris*). Éstas especies, han sido estudiadas por diversos autores, que indican daños en uva vinífera, carozos, pomáceas, kiwi y cítricos, entre otros (Campos *et al.*, 1981; González, 1989; González, 2003).

### 1.1. Polilla de la manzana (*Cydia pomonella*)

Perteneciente a la tribu *Grapholitini*, es la plaga más importante a nivel mundial del manzano y peral. En Chile afecta además al nogal, membrillo, cerezo, y con menos frecuencia, damascos, ciruelas, nectarinos y duraznos. Su daño lo hace en el fruto, con mordeduras y perforaciones profundas y dirigidas hacia la semilla, e incluso perforándolas (González, 2003). Tiene carácter cuarentenario para Corea, Filipinas, Taiwán y Japón, y además no se permite su ingreso en países donde ya está presente (Bolivia, Brasil, Canadá, Colombia), y también en países en donde esta plaga no tiene posibilidades ecológicas ni hospederos para establecerse (Cuba y Ecuador) (González, 2003). Las poblaciones de *C. pomonella* más significativas desde el punto de vista económico se ubican entre las

regiones del Libertador General Bernardo O'Higgins y del Maule, las que concentran más de 80% de la superficie nacional productora de manzanas (Klein y Waterhouse, 2000).

### **1.2. Polilla de los carozos (*Cydia molesta*)**

Esta plaga de la tribu Grapholitini es importante para los frutales de carozo en varias regiones de Chile. Este tortricido tiene una gran polifagia y afecta principalmente brotes y frutos de carozos y secundariamente pomáceas y ornamentales. Su distribución geográfica sobre plantas cultivadas abarca desde la Región de Coquimbo a la Región de la Araucanía. Esta plaga primaria de duraznos y nectarinos causa mayores daños en frutos, afecta en estado larvario a brotes tiernos, provocando serios problemas en la formación de los árboles. Entre las pomáceas el membrillo es el más afectado; le sigue el peral y en menor grado el manzano (González, 2003). La larva puede afectar más de un brote, se introduce en su interior y hace una galería que termina por secarlo (Llanos y Marín, 2004).

### **1.3. Polilla del racimo de la vid (*Lobesia botrana*)**

Este insecto originario de Europa, es para Chile una plaga de importancia cuarentenaria (SAG, 2008), debido a que en su área de origen, se comporta como una plaga primaria de los viñedos. En la actualidad es una de las plagas más graves en vid vinífera (*Vitis spp.*) a nivel mundial, su principal hospedero, de preferencia variedades tintas, y además tiene un amplio registro de hospederos alternativos (Guilligan *et al.*, 2011). En Chile se ha determinado su presencia en todas las regiones con vid, desde la región de Atacama a la Región del Bío-Bío. Actualmente esta plaga se concentra en las Regiones Metropolitana, Libertador General Bernardo O'Higgins y Maule (SAG, 2015). El daño lo causa la larva al alimentarse directamente sobre las bayas de uva en los racimos, lo que conlleva pudrición y deshidratación de las bayas, y disminuye los rendimientos si no se toman medidas de control. Además favorece pudriciones por la proliferación de hongos como *Botrytis cinerea* (Vacas, 2011).

### **1.4. Polilla del frejol (*C. aporema*)**

Este tortricido neotropical, oligófago, se encuentra distribuido desde el sur de EE.UU., México, América Central y del Sur (Castillo, 2009). Las larvas se alimentan endofíticamente de leguminosas herbáceas (Caballero, 1972). Afecta los brotes, inflorescencias y perfora los capis nuevos donde la larva daña la semilla (Urretabizkaya *et al.*, 2010)

### **1.5. Polilla enrolladora de frutales (*P. auraria*)**

Tortricido nativo de Chile, ha sido citada por sus daños en uva vinífera, carozos, pomáceas, kiwi y cítricos, entre otros (Campos *et al.*, 1981; González 1989; González, 2003).

La especie *P. auraria* fue descrita por primera vez por Clarke en 1949, con seis machos colectados en el cajón del Maipo (Región Metropolitana), bajo el género *Eulia*. Luego, en 1964, Obraztsov revisó la especie y describió los caracteres morfológicos de la hembra de varios ejemplares obtenidos de la zona central y los trasladó al género *Proeulia* (González, 2003).

Actualmente, *P. auraria* es considerada la plaga secundaria de mayor potencial primario en un gran número de especies frutales, tales como vid, frutos de carozo y pomáceas, nogales y naranjos. En uva de mesa y vinífera puede constituirse como plaga primaria por sus daños directos sobre el racimo y follaje, o por sus daños indirectos al facilitar el ingreso de *Drosophila* y de hongos patógenos como *B. cinerea* (González, 2003). Esta especie representa un riesgo mayor, ante la eventual masificación del control específico de otros tortricidos plagas a través de su feromona sexual, lo que puede llevarla a un estatus superior de plaga, situación que ha ocurrido en otros países que han implementado estos cambios en el manejo fitosanitario, donde se ha observado una incidencia creciente de plagas nativas de hábito similar a *P. auraria* (Beers *et al.*, 1993).

Su connotación cuarentenaria en EE.UU., China, Europa, Taiwán y Japón, le agrega mayores riesgos (González, 2003). La ubicación geográfica de *P. auraria* es bastante amplia, ya que se extiende desde las Regiones de Coquimbo a Los Lagos, y es además una de las especies más polífagas en el grupo de los enrolladores presentes en la zona central. Esta especie tiene una gran diversidad de plantas hospederas (plantas cultivadas, malezas y arbustos), y causa un mayor daño a la fruticultura de hoja caduca y persistente. Posee dos generaciones al año, con diapausa invernal en hoja caduca y aparentemente al menos 3 ciclos sin reposo invernal en hospederos de hoja persistente, notablemente en cítricos. Sus larvas se alimentan de brotes, flores y frutos, en los que hace galerías superficiales en el exocarpio e ingresa en el mesocarpio; en hojas se alimenta de las láminas, en que pliega mediante hilos de seda (Álvarez y González, 1982; González, 2003; Ripa y Larral, 2008).

#### **1.6. Polilla enrolladora de las viñas (*P. triquetra*)**

Esta especie se encuentra desde la Región del Maule hasta la Región de los Lagos. Entre sus hospederos están uva vinífera, manzanos, frambuesas y otros berries, además de otras plantas arbustivas ornamentales (Cepeda y Cubillos, 2011). *P. triquetra* es polífaga con daño principal durante su generación estival, se ha revelado como importante en uva vinífera al sur de Curicó. Aunque todavía se considera una especie emergente debe considerarse su control en la segunda generación en las zonas de Lontué, Molina y Linares para reducir el impacto de *Botrytis* (González, 2003).

#### **1.7. Polilla enrolladora de la hoja del manzano (*P. chrysopteris*)**

Esta especie se encuentra desde la Región de Valparaíso hasta la Región del Maule, entre sus hospederos se encuentran ciruelo, damasco, duraznero, kiwi, manzano, naranjo, peral, vid, caqui y limonero (Klein y Waterhouse, 2000; Cepeda y Cubillos, 2011). Su daño se traduce en flores cortadas, frutos perforados con galerías amplias que pueden comprometer toda la superficie interna de un ramillete floral. Al igual que *P. auraria*, tiene dos generaciones al año y diapausa invernal (González, 2003).

## **2. Comportamiento animal**

El comportamiento es definido como un conjunto de acciones en las que un animal vivo (Yela, 1996; Matthews y Matthews, 2010), resuelve las dificultades a los que se ve enfrentado a lo largo de su vida (Yela, 1996; Carranza, 2010; Matthews y Matthews, 2010).

El comportamiento es una respuesta que no implica, necesariamente, estados conscientes (Carranza, 2010). Es un proceso físico, registrable y cuantificable, generado a partir de una relación del ser vivo con su ambiente y con otros individuos conespecíficos (Yela, 1996).

La etología es la disciplina que se aboca al estudio del comportamiento animal. Etimológicamente la palabra etología procede de las raíces griegas *ethos* (costumbres) y *logos* (tratado). “Esta ciencia intenta comprender los comportamientos exhibidos por individuos bajo diferentes situaciones y caracterizar su comportamiento” (Matthews y Matthews, 2010).

El estudio del comportamiento animal busca identificar sus causas próximas y últimas. Las primeras hacen referencia a un determinado comportamiento, y las causas últimas a ¿para qué el animal tiene un comportamiento determinado?, ¿cuál es su objetivo? (Matthews y Matthews, 2010).

### **2.1. Métodos de descripción y cuantificación del comportamiento**

La etología se ha basado en la obtención sistemática de información que permita cuantificar la conducta generada de manera espontánea. Para ello, en la observación se registran objetos o fenómenos tal como se presentan en la naturaleza, sin introducir ninguna modificación (Cantó, 2004). El objetivo es predefinir, desde el continuo observable del comportamiento, categorías conductuales o unidades de conducta, las que serán registradas por uno o más observadores cada vez que ocurran. El primer paso es seleccionar la muestra de sujetos que serán objeto de estudio y luego considerar un método adecuado de registro, el que puede ser *in vivo*, y/o apoyado en la grabación de las sesiones de observación. En este caso, el registro es posterior gracias a la revisión de las cintas de video, y se puede apoyar con codificación (letras, números, trazos) para hacerlo más rápido y fácil (Cantó, 2004).

Posteriormente se describen los pasos observables homogéneos y discretos (Castroville y Cardé, 1980), mutuamente excluyentes y íntegros dentro de la secuencia de comportamiento, es decir, se observan cambios en las posiciones del sujeto, orientado hacia el entorno en el cual está incluido (Lahitte *et al.*, 2002).

Los propósitos de estas metodologías son, entre otras, 1) describir o caracterizar el repertorio conductual de la especie (creación de etogramas), 2) evaluar la asociación entre las cadenas de actos efectuadas por cada sujeto (que se cuantifican a través de medidas conductuales como la frecuencia de cada paso o unidad de conducta), 3) medir la duración media de las secuencias (Veá, 1990), y 4) cuantificar la variabilidad individual o global (estereotipia) del repertorio analizado (Facundo *et al.*, 1999). El índice de estereotipia (Haynes y Birch, 1984) proporciona información valiosa en el estudio de secuencias (Girling y Cardé, 2006). Estas metodologías se pueden utilizar en bioensayos. Aquellos utilizados en estudios conductuales son herramientas básicas para evaluar la actividad biológica de los estímulos químicos y visuales involucrados en la búsqueda de alimento, plantas hospederas o una pareja sexual por un organismo (Finch, 1986). Los principales bioensayos se basan en las respuestas fisiológicas o conductuales de organismos completos o en las respuestas electrofisiológicas de órganos o estructuras aisladas (Hare, 1998). Existen

diferentes bioensayos para evaluar las respuestas conductuales de un organismo a un estímulo químico determinado, y pueden desarrollarse tanto en el campo como en laboratorio, en arenas experimentales pequeñas o en un túnel de viento (Curkovic *et al.*, 2006; Altesor *et al.*, 2009; Altesor *et al.*, 2010). Los bioensayos en túnel de viento, según Baker y Cardé (1984), necesitan aire en movimiento controlado, con fuerza y dirección uniformes entre ensayos. Los químicos volátiles son transportados por el viento en una pluma de olor y las repuestas de comportamiento del organismo se registran de acuerdo a la entrada o salida de dicha pluma de compuestos (Hare, 1998). Las respuestas obtenidas a partir del vuelo de un insecto son altamente integradas, por lo que los ensayos en este equipo son los más discriminatorios en el área de la investigación de feromonas (Hare, 1998).

## **2.2. Etograma: Unidad básica de un estudio de comportamiento**

Se le llama “etograma” a un “conjunto de descripciones amplias de los patrones de comportamiento característicos de una especie” (Lehner, 1979). Los etogramas pueden ser hechos para el repertorio global de la especie o para una sección de éste al que se le atribuya una función específica. Estos últimos han dado origen a la creación de etogramas parciales (Cantó, 2004).

El estudio aislado de un comportamiento en base a su función, ha permitido obtener información relevante sobre diversas conductas. En insectos existe evidencia de este tipo de estudios, por ejemplo, en avispas (*Vespula germánica* F., Hymenoptera: Vespidae), el comportamiento de forrajeo de las obreras es altamente estereotipado (Espinoza, 2006). Por otra parte, en el ácaro *Theridion evexum* (Araneae: Theridiidae) se han descrito sus secuencias depredadoras (Ferreira y Gonçalves, 2005); en cerambícidos existen estudios de los comportamientos de llamado (Barbour *et al.*, 2006; Ferrera, 2009), búsqueda del macho hacia la hembra (Ferrera, 2009), agresión, estridulación (Michelsen, 1966), cortejo-cópula (Michelsen, 1963; Michelsen, 1966; Fonseca y Sarbin, 2009). En lepidópteros, los comportamientos de apareamiento y cópula han sido ampliamente definidos (Baker y Cardé, 1979; Baker *et al.*, Roelofs, 1981; Curkovic *et al.*, 2006).

## **3. Estereotipia**

Se define “estereotipia” a una secuencia de movimientos repetida, y relativamente invariable (Mason, 1991; Concha, 2010). Zahavi (1979) sugiere que la estereotipia proporciona un trasfondo uniforme sobre el que pueden destacar de forma más clara diferencias sutiles en la ejecución de la señal por los animales, y que la repetición aumenta la redundancia de las señales, y podría estar relacionada con la elección de la pareja sexual. En insectos, el índice de estereotipia es utilizado para identificar la variabilidad dentro de la secuencia de un comportamiento específico (Haynes y Birch 1984). Este índice asigna una medida objetiva al nivel de variabilidad asociado a una transición de comportamiento en una tabla de contingencia de un repertorio analizado (Facundo *et al.*, 1999; Girling y Cardé, 2006). Fagen y Young (1978), consideran como altamente estereotipadas las secuencias de comportamiento en que las frecuencias relativas tienden a 1, es decir, el comportamiento es siempre precedido por un acto único y unidireccional. Este índice

proporciona herramientas para el estudio de secuencias conductuales (Girling y Cardé, 2006).

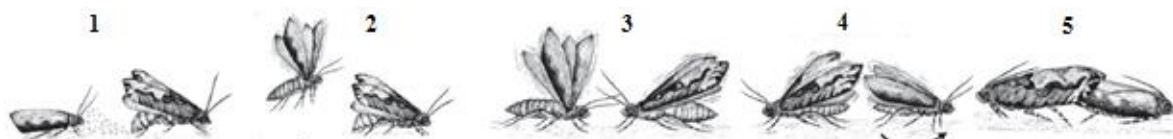
#### 4. Comportamiento sexual en insectos

La mayoría de los comportamientos en insectos está programada genéticamente para surgir de manera estereotipada inmediatamente al percibir el estímulo apropiado. Sin embargo, otros comportamientos pueden ser modificados fisiológicamente (etapas juveniles y adultas pueden responder en forma a estímulos idénticos) o mediante aprendizaje (adquisición de nueva información, por ejemplo, cambios espaciales en el ambiente o características visuales u olfatorias nuevas) (Gullan y Cranston, 2014).

El comportamiento sexual en insectos se presenta en cuatro fases: 1) el *llamado* de la hembra, mediante la emisión de la feromona sexual (Cade, 1985; Gemeno *et al.*, 2005), que ocurre en un determinado estado fisiológico del individuo (*ej.* una vez que alcanza la madurez sexual), bajo condiciones ambientales particulares, por ejemplo en cierto rango de temperaturas (Bento *et al.* 1993), y frecuentemente implica conductas particulares observables (posturas) que facilitan la emisión de las feromonas (Cade 1985); 2) *respuestas del macho hacia la feromona sexual*, mediante la detección y reconocimiento de las señales, esta conducta implica maniobras que favorecen la búsqueda y orientación hacia la fuente (vuelo zigzagante y/o pendular tras pistas químicas) (Kennedy, 1977); 3) 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), y 4) finalmente la última fase, la *cópula* entre ambos sexos para la transferencia de material genético (Alexander *et al.*, 1997, Cade 1985).

##### 4.1. Comportamiento sexual en tortricídeos

Se ha encontrado que el comportamiento sexual de la familia Tortricidae es muy similar entre varias especies, como en *C. pomonella* (Ferro y Akre, 1975; Castrovillo y Cardé, 1980), *C. aporema* (Altesor *et al.*, 2010), *Choristoneura rosaceana* Harris (Curkovic, *et al.*, 2006), *C. fumiferana* (Palaniswamy *et al.*, 1979; Grant, 1987), y *Pandemis pyrusana* Kearfott (Curkovic *et al.*, 2006), y se han definido cuatro etapas en secuencia: llamado, búsqueda del macho hacia a hembra, cortejo y cópula, las que representan un mecanismo de aislamiento etológico que evita encuentros interespecíficos que, de ocurrir, representarían un alto costo para la especie (Curkovic y Brunner 2007) (Figura 1).



**Figura 1.** Secuencia del comportamiento sexual en *C. aporema*. (1) Llamado de la hembra. (2) Búsqueda del macho hacia la hembra. (3) Cortejo (primer contacto macho – hembra a través de las antenas). (4) Ambos ejemplares se ubican para el acople de genitales. (5) Cópula (Altesor, *et al.*, 2010).

**4.1.1. Llamado:** emisión de feromona sexual durante la exposición de una glándula interna, en el extremo posterior del abdomen de una hembra virgen para liberar un atrayente específico (Parra *et al.*, 2006; Altesor *et al.*, 2010). Consecuentemente en esta etapa es fundamental el uso de señales químicas intraespecíficas denominadas feromonas (Romero, *et al.*, 2005). Estas feromonas tienden, en general, a ser similares entre especies emparentadas, aunque la especificidad se logra por el uso de compuestos semejantes, pero con diferencias en grupos funcionales, insaturaciones, proporciones relativas, etc. (House *et al.*, 1998). Por ejemplo, en especies de Tortricidae cercanas filogenéticamente, compuestos relativamente similares pueden servir como señales químicas inhibitoras de respuesta sexual interespecífica (estas señales en la naturaleza permiten modificar la conducta y así impedir encuentros o cópulas entre distintas especies emparentadas) (Curkovic y Brunner, 2007).

**4.1.2. Búsqueda:** En respuesta al llamado, el macho detecta y reconoce las señales, mediante maniobras que favorecen la búsqueda y orientación hacia la fuente (Kennedy, 1977). Esta búsqueda se realiza mediante un vuelo en zigzag hacia la fuente de feromona, el que disminuye en amplitud y velocidad a medida que los individuos se aproximan a la hembra, hasta hacerse pendular (“casting” en inglés), lo que les permite a los machos mantenerse dentro de la “pluma de olor” y aterrizar a corta distancia (a pocos cm) de la hembra y caminar raudamente hacia ella mientras dirige sus antenas hacia adelante y efectúa un “aleteo rápido” permanente.

**4.1.3. Cortejo:** 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 Cardé 1979). La caracterización del cortejo permite comprender las interacciones intraespecíficas, pues sirve para asegurar el reconocimiento y encuentro conespecífico exitoso (aquel que termina en cópula). El cortejo también sirve para que el individuo que decide el resultado de un encuentro de este tipo, evalúe al potencial compañero sexual y lo acepte o, eventualmente, lo rechace si no satisface sus expectativas (“fitness”). La caracterización de estas conductas permite identificar los respectivos mecanismos de evaluación, y sirve al desarrollo de estrategias de manejo de plagas basadas en la modificación de su conducta sexual, como en el uso de formulaciones de atracticidas (Curkovic, *et al.* 2006). En algunas especies, como en *C. pomonella* (Castrovillos y Cardé, 1980; Ferro and Akre, 1975), *C. aporema* (Altesor *et al.*, 2010), *C. rosaceana* (Curkovic *et al.*, 2006), *C. fumiferana* (Palaniswamy *et al.*, 1979; Grant, 1987), y *P. pyrusana* (Curkovic *et al.*, 2006), el macho se aproxima a la hembra con sus antenas dirigidas hacia delante. En cambio, en *Homona coffearia* Nietner (Lepidoptera: Tortricidae), el macho camina con sus antenas, dirigidas hacia atrás, en contacto con sus alas delanteras (Shimizu y Tamaki, 1980). En todas las especies con descripción detallada de esta etapa, los machos extienden sus pelos abdominales (“hair pencils”) distales antes del “primer contacto”, el que ocurre entre algún apéndice o la cabeza del macho, con distintas partes del cuerpo de la hembra, en un paso que puede servir para el reconocimiento específico (Baker *et al.*, 1981). Sólo en *P. pyrusana* macho y hembra contactan sus cabezas durante esta etapa. Una secuencia atípica ocurre en *C. molesta*, donde luego del “primer contacto”, el macho permanece inmóvil

mientras la hembra se voltea hacia él y lo contacta, antes de proseguir la secuencia (Baker y Cardé, 1979).

**4.1.4. Cópula:** La cópula, que sigue al cortejo, es la etapa final de una secuencia sexual exitosa (Altesor *et al.*, 2010). Esta etapa consiste en el intento de acoplamiento por parte del macho, lo que frecuentemente implica una ubicación paralela al cuerpo de la hembra mientras curva el extremo posterior del abdomen los pelos abdominales se ubican en forma perpendicular al eje de su cuerpo y expone parte de su genitalia. Frecuentemente, las secuencias de las etapas del comportamiento sexual terminan con éxito (en cópula), pero hay informes de hembras que evitan y escapan del macho (Curkovic *et al.*, 2006).

## 5. Feromonas

En 1959 Karlson y Butenandt proponen el término feromona del griego “*pherein*” (llevar) y “*horman*” (estimular). Las feromonas son sustancias semioquímicas secretadas por un individuo y percibidas por otro individuo de la misma especie, en el que causan un comportamiento específico (Cisneros, 1995; House *et al.*, 1998). Las feromonas de tipo sexual son las responsables de la localización del congénere conespecífico (Acin, 2007). En las hembras de la mayoría de los lepidópteros, la feromona sexual es producida por una estructura glandular que se abre entre el octavo y noveno segmentos abdominales. Durante los períodos de receptividad de la hembra, las feromonas son emitidas al aire y transportadas por el viento. La feromona sexual está formada por varios compuestos (la mayoría alcoholes y acetatos). Uno o más compuestos principales, que forman la mayor proporción de los componentes feromonales, cumplen el rol del llamado a larga distancia y, otros compuestos menores intervienen sólo en la última fase de acercamiento y cópula (Cichón *et al.*, 2001). Tanto los compuestos principales como secundarios conforman la feromona completa y única, y logran la especificidad de la señal, por lo que, se necesita que la mezcla de la feromona sexual artificial tenga todos sus componentes, pues si no, se puede reducir significativamente las respuestas de los machos (Curkovic y Brunner, 2007).

En *C. pomonella* la feromona sexual se ha identificado como (E,E)-8-10-dodecadien-1-ol. Para su uso práctico se ha sintetizado el isómero “trans”, que produce una mayor reacción sensorial en los machos. Comercialmente, este compuesto se produce bajo el nombre de “codlemone”, que impregna una cápsula de goma con 1 mg del producto, en fibras capilares o microcápsulas polimerizadas, diluido en agua (González, 2003). El macho capta estos volátiles mediante sus antenas, y se dirige hacia la fuente de la emisión mediante varios vuelos cortos y cruzados para finalmente llegar en la trampa cerca del emisor (González, 2003).

En su feromona sexual, *G. molesta* tiene cuatro componentes: (Z)-8-dodecenyl acetato (Z-8-DDA), (E) isomero (E-8-DDA), (Z)-8-dodecen-1-ol y dodecanol. De la misma forma que para *C. pomonella*, el control para *C. molesta* se ha desarrollado en Chile a través de la interrupción del apareamiento con la feromona (Z)-8-dodecenyl acetato (González, 2010).



En *L. botrana*, el control mediante el método de confusión sexual se basa en la emisión de la feromona sintética (E, Z)-7,9-dodecadienil acetato, desde unos difusores instalados sobre las vides (Marquinez, 2012).

Para *C. aporema* se han identificado dos compuestos químicos en la feromona sexual, (Z, Z)-7,9-dodecadienol y (Z, Z)-7,9-acetato de dodecadienilo. En países de Latinoamérica, especialmente en Uruguay, el uso de la feromona sexual de *C. aporema* para el seguimiento de la plaga se presenta como una opción viable y aplicable en el corto plazo, que permitiría avanzar en una estrategia de manejo sustentable de plagas de soja y otras leguminosas, y evitarse el uso excesivo de insecticidas convencionales que finalmente eliminan los enemigos naturales y esto amenazan la sustentabilidad de los agroecosistemas (Altesor *et al.*, 2009).

La feromona sexual de *P. auraria* es emitida por la hembra durante el crepúsculo y entre 10 y 11°C (Álvarez y González, 1982; Reyes-García *et al.*, 2014). Investigaciones de Faccin (1979) permitieron conocer los componentes primordiales de la feromona emitida por hembras vírgenes. Posteriormente se sintetizó la feromona Trans-11-tetradecen-1 y 1-acetato en proporción 7:3 (González, 2003). Estudios recientes de las universidades Católica de Valparaíso y de Chile han indicado que los componentes químicos encontrados en la glándula feromonal de hembras vírgenes de *P. auraria* serían: 500 µg (E)-11-Tetradecenil acetato (E11-14: OAc), 5 µg (Z)-11-tetradecenil acetato (Z11-14: OAc), 150 µg (E)-11-tetradecenol (E11-14: OH) y 70 µg acetato (14:OAc) (Reyes-García *et al.*, 2014).

En *P. triquetra* recientemente se ha descrito el horario en que ocurre la conducta del llamado (05:00 y 07:00 h) y con tal información se pudo identificar los componentes biológicamente activos presentes en su glándula feromonal de la hembra, siendo estos: (Z)-11-tetradecenil acetato (Z11-14:OAc), (E)-9-dodecenil acetato (E9-12:OAc), y (E)-11-tetradecenil acetato (E11- 14:OAc) (Bergmann *et al.*, 2015 (publicación enviada).

Con respecto a *P. crysopteris*, aún no hay información científica de los componentes de su feromona sexual.

## 6. Consideraciones finales

El estudio del comportamiento sexual y la estimación de su estereotipia, son importantes para diseñar estrategias de control basadas en feromonas específicas. Por ejemplo, la caracterización del cortejo y del primer contacto puede ser fundamental en el desarrollo de atraccidas orientados a la eliminación de machos de insectos plaga (Curkovic *et al.*, 2006).

### Literatura Citada

- Acin, P. 2007. Identificación de feromonas y proteínas implicadas en la percepción feromonal de Lepidopteros plaga. Tesis Departamento de Química y Biología y Modelización Molecular del Instituto de Química Avanzada de Cataluña. España. 237 p.
- Alexander, R., D. Marshall, and J. Cooley. 1997. The evolution of mating systems in insects and arachnids. Cambridge University Press, New York, USA. pp 4-31.
- Altesor, P., C. Rossini, P. Zarbin, and A. González. 2009. Sex pheromone of the bud borer *Epipotia aporema*: Chemical identification and male behavioral response. *Journal of Chemical Ecology* 35: 349-354.
- Altesor, P., V. Horas, M. Arcia, C. Rossini, P. Zarbin, and A. González. 2010. Reproductive behaviour of *Crociosema* (= *Epipotia*) *aporema* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae): Temporal pattern of female calling and mating. *Neotropical Entomology* 39: 324-329.
- Álvarez, P. y R. González. 1982. Biología de la polilla enrolladora del peral, *Proeulia auraria* (Clarke). *Revista Frutícola (Chile)* 3: 75-80.
- Arretz, V; C. Araya y G. Avendaño. 1975. Control de la polilla del frijol, *Epipotia aporema* Wals, con *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Innovación Agrícola* 1: 183-190.
- Avidov, Z. and I. Harpaz. 1969. Family Tortricidae: Leaf roller moths. In: Plant Pests of Israel. Israel Universities Press, Jerusalem, Israel. pp 380-384.
- Baker, T., and R. 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. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 172-188.
- Baker, T., R. Nishida, and W. Roelofs. 1981. Close-range attraction of female Oriental fruit moths to herbal scent of male hairpencils. *Science* 214: 1359-1361.
- Baker, T., and R. Cardé. 1984. Techniques for behavioral bioassays. In: Hummel, H.E., and T.A., Miller, eds. Techniques in pheromone research. Springer Verlag, New York. pp. 45-73.
- Barbour, J., E. Cervantes., E. Lacey, and L . Hanks. 2006. Calling behavior in the primitive longhorned beetle *Prionus californicus* Mots. *Journal of Insect Behavior* 19(5): 623-629.
- Beers, E., F. Brunner, M. Willett, and G. Warner. 1993. Orchard pest management: a resource book for the Pacific Northwest. Good Fruit Grower, Yakima, Washington. 276 p.

- Bento, J., T. Dellalucia, R. Frighetto. 1993. Male-response to natural sex-pheromone of *Migdolus fryanus* Westwood (Coleoptera, Cerambycidae) females as affected by daily climatic factors. *Journal of Chemical Ecology* 19: 2347 - 2351.
- Bergmann, J., L. Reyes-García, C. Ballesteros, Y. Cuevas, and T. Curkovic. 2015. Identification of the female sex pheromone of the leafroller *Proeulia triquetra* Obraztsov (Lepidoptera: Tortricidae). *Neotropical Entomology*. (Publicación enviada).
- Borden, J. 1993. Strategies and tactics for the use of semiochemicals against forest insect pests in North America. In: Biologically Based Technologies. Washington, USA. American Chemical Society. pp 265-276.
- Caballero, C. 1972. Reconocimiento, biología y control de las principales plagas que afectan los semilleros de alfalfa y trébol rosado en Chile. *Revista Peruana de Entomología* 15: 201-214.
- Cade W. 1985. Insect mating and courtship behavior. In: Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology 9: 591-619 (ed. by Kerkut G.A., and L.I. Gilbert), Oxford: Pergamon Press. pp. 591-619.
- Campos, L., M. Faccin, N. Echeverría, y L. Sazo. 1981. Distribución y ciclo evolutivo del tortricido enrollador de la vid *Proeulia auraria* (Clarke). *Agricultura Técnica* 41: 246-256.
- Cantó, R. 2004. Comportamiento motor espontáneo en el patio de recreo escolar: análisis de las diferencias por género en un grupo de escolares de 8-9 años. Tesis Doctoral en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. Universidad Politécnica de Madrid. Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. INEF. Madrid. España. 300 p.
- Carranza, J. 2010. Etología, Introducción a la Ciencia del Comportamiento. Universidad de Extremadura. Cáceres, España. 591 p.
- Castillo, P. 2009. Plagas del cultivo de soya. Universidad Nacional de Tumbes - Perú. Disponible en: <http://www.slideshare.net/p260958/manual-de-plagas-de-soya>. Consultada el 10 de agosto 2014.
- Castrovillo, P., and R. Cardé. 1980. Male codling moth (*Laspeyresia pomonella*) orientation to visual cues in the presence of pheromones and sequences of courtship behaviors. *Annals of the Entomological Society of America* 73: 100-105.
- Cepeda, D., y G. Cubillos. 2011. Descripción del último estado larvario y recopilación de registros de hospederos, de siete especies de tortricidos de importancia económica en Chile (Lepidoptera: Tortricidae). *Gayana* 75: 14-42.
- Cichón, L., D. Fernández, D. Raffo, y T. Ballivian. 2001. Técnica de la confusión sexual. Pautas para el uso correcto de la técnica de la confusión sexual en los Valles de Río Negro

- y Neuquén. Centro Regional Patagonia Norte. Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle (INTA). 53 p.
- Cisneros, F. 1995. Control de plagas agrícolas. Lima. Editorial Cisneros Vera Fausto. 80 p.
- Curkovic, T., J. Brunner and, P. Landolt. 2006. Courtship behavior in *Choristoneura rosaceana* and *Pandemis pyrusana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Annals of the Entomological Society of America* 99: 617-624.
- Curkovic, T., and J. Brunner. 2007. Short communication. Pheromone inhibitors for *Pandemis pyrusana* males (Lepidoptera: Tortricidae). *Spanish Journal of Agricultural Research* 5: 385-388.
- Curkovic, T. y C. Ferrera. 2010. Autoconfusión: Una nueva tecnología en base a feromonas para el control de *Lobesia botrana* en Chile. *Aconex* 105: 5-11.
- Concha, M. 2010. El bienestar animal. Una evaluación científica del sufrimiento animal En: Carranza, J. (ed.). Etología: Introducción a la Ciencia del Comportamiento. Publicaciones de la Universidad de Extremadura, Cáceres, España. 3ª Edición. pp. 493-597.
- Espinoza, C. 2006. Comportamiento de forrajeo de *Vespula germanica* (F.) en laboratorio. Memoria Ingeniero Agrónomo, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad de Chile. Facultad de Agronomía. 49 p.
- Faccin, M. 1979. Feromona sexual del enrollador de la vid, *Proeulia auraria* (Clarke) (Lepidoptera, Tortricidae). Memoria Ingeniero Agrónomo, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. 64 p.
- Facundo, H., C. Linn, M. Villani, and W 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 secuencias. In: Colgan, P. (Ed.) Quantitative ethology. Willey. New York, United States of America. pp. 100-107.
- Ferrera, C. 2009. Caracterización del comportamiento de llamado y orientación hacia el compañero sexual en la sierra del manzano y asociación del llamado con variables climáticas y edad de las hembras. Tesis Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad de Chile. Chile. 84 p.
- Ferreira, H. e J. Gonçalves. 2005. Forrageamento em *Achaearanea cinnabarina* levi 1963 (Araneae, Theridiidae) e evolução da caça em aranhas de teia irregular. *Biota Neotropica* 5: 1-15.

- Ferro, D., and R. Akre. 1975. Reproductive morphology and mechanics of mating of the codling moth, *Laspeyresia pomonella*. *Annals of the Entomological Society of America* 68: 417-419.
- Finch, S. 1986. Assessing host-plant finding by insects. In: J.R. Miller and T.A. Miller. Insect-plant interactions. (eds) Springer-Verlag, New York Inc, USA. pp. 23 - 63.
- Fonseca, M., and H. Zarbin. 2009. Mating behaviour and evidence for sex-specific pheromones in *Hedypathes betulinus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology* 133: 651-770.
- Gemeno, C., J. Claramunt, and J. Dasca. 2005. Nocturnal calling behavior in mantids. *Journal of Insect Behavior* 18(3): 1572-8889.
- 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. Ediciones Ograma, Santiago, Chile. 310 p.
- González, R. 2003. Las Polillas de la fruta en Chile (Lepidoptera Tortricidae). Serie Ciencias Agronómicas N° 9, Santiago, Chile. 188 p.
- Grant, C. 1987. Copulatory behavior of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): experimental analysis of the role of sex pheromone and associated stimuli. *Annals of the Entomological Society of America* 80: 78-88.
- Grant, C. 1991. Development and use of pheromones for monitoring Lepidoptera forest defoliators in North America. *Forest Ecology Management* 39: 153-162.
- Guilligan, T., M. Epstein, S. Passoa, J. Powell, O. Sage, and J. Brown. 2011. Discovery of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) in California: an invasive species new to North America (Lepidoptera: Tortricidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 113: 14-30.
- Gullan P., and P. Cranston. 2014. The insects, an outline of entomology. Fifth edition. Ed. Wiley Blackwell. New Jersey. 987 p.
- Guilligan T., M. Epstein. 2012. Tortricids of agricultural importance. En: <http://idtools.org/id/leps/tortai/>. Consultado el 30 de junio del 2015.
- Hare, J. 1998. Bioassay methods with terrestrial invertebrates. In: K.F. Haynes, and J.G. Millar. Methods in Chemical Ecology. Bioassay methods. (eds) Springer Kluwer Academic Publisher, Chapman & Hall, USA. Vol. 2. pp. 212-270.

- Haynes K., and M. Birch. 1984. Mate-locating and courtship behaviors of the artichoke plume moth, *Platyptilia carduidactyla* (Lepidoptera: Pterophoridae). *Environmental Entomology* 13(2): 399-408.
- Howse, P., I. Stevens, and O. Jones. 1998. Insect pheromones and their use in pest management. 369 p. Chapman and Hall, London, UK.
- Karlson P., and A. Butenandt. 1959. Pheromones (ectohormones) in insects. *Annual Review Entomology* 4:49-58.
- Kennedy, J. 1977. Olfactory responses to distant plants and other odor sources. In: Shorey, H., and J. McKelvey, Jr. (eds), *Chemical Control of Insect Behavior. Theory and Applications*. Willey-Interscience. pp. 67-91.
- Klein K., and D. Waterhouse. 2000. The distribution and importance of arthropods associated with agriculture and forestry in Chile. Canberra, Australia. ACIAR Monograph N° 68. 234 p.
- Lahitte, H., H. Ferrari, and L. Lázaro. 2002. About the ethogram, 1: From the ethogram as a language to the language of ethogram. *Revista de Etología* 2: 129-141.
- Lehner, P. 1979. *Handbook the ethological methods*. 2nd Edition. Cambridge University Press. New York, USA. 644 p.
- Llanos, L. y M. Marín. 2004. Caracteres físico-químicos del hospedero preferencial de *Grapholita molesta*: brotes y frutos de duraznero. Mendoza, Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo* 35: 29-36.
- Marquínez M., F. Cibriáin, L. Caminero, A. Sagüés, C. Arrondo, I. Oria, I. Subirats, J. Suberviola, P. Sambado. 2012. Difusores de confusión sexual para el control de Polilla del racimo. Ensayo sobre su caída con vendimia mecánica y su posible influencia en el vino. Dirección General de Agricultura y Ganadería Servicio de Agricultura Sección Viticultura. Editorial CBC Iberia S.A. España. 6 p.
- Mathews, R., and J. Mathews. 2010. *Insect Behavior*. 2<sup>nd</sup> Edition. Springer, Athens, Georgia, USA. 514 p.
- Mason, G. 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behavior* 41: 1015-1037.
- 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: 329-355.

- Moore, C. 2013. Rechazos por Pseudococcidae y su estatus cuarentenario. Región del Libertador General Bernardo O'Higgins. Servicio Agrícola y Ganadero. Disponible en: [http://www.fdf.cl/biblioteca/presentaciones/2012/04\\_jt\\_chancho\\_fosfina/Presentacion\\_FDF\\_Copiapo\\_SAG.pdf](http://www.fdf.cl/biblioteca/presentaciones/2012/04_jt_chancho_fosfina/Presentacion_FDF_Copiapo_SAG.pdf). Consultado el 16 marzo del 2015.
- Palaniswamy, P., W. Seabrook, and R. Ross. 1979. Precopulatory behavior of males and perception of a potential male pheromone in spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 544-551.
- Parra, A., A. Cossé, Y. Murata, J. Bento, E. Vilela, and W. Leal. 2006. Towards the identification and synthesis of the sex pheromone of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) *Neotropical Entomology* 35: 12 - 8.
- Razowski, J., and V. Pelz. 2010. Tortricidae from Chile (Lepidoptera: Tortricidae). *Revista de Lepidopterología*. 38: 5-55.
- Reyes-García L., Y. Cuevas, C. Ballesteros, T. Curkovic, C. Löfstedt, and J. Bergmann. 2014. A 4-component sex pheromone of the Chilean fruit leafroller *Proeulia auraria* (Clarke) (Lepidoptera: Tortricidae). *Ciencia e Investigación Agraria* 41(2): 187-196.
- Ripa, R. y P. Larral. 2008. Manejo de plagas en paltos y cítricos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Colección libros INIA N° 23. 116 p.
- Romero, A., R. Arzuffi, y M. Morón. 2005. Feromonas y atrayentes sexuales de Coleópteros Melonithidae de importancia agrícola. *Folia Entomologica Mexicana* 44: 233-245.
- SAG, 2015. *Lobesia botrana* o polilla del racimo de la vid. Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/lobesia-botrana-o-polilla-del-racimo-de-la-vid>. Consultado el 30 de junio del 2015.
- Shimizu, K., and Y. Tamaki. 1980. Releasers of male copulatory attempt in the smaller tea tortrix moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Applied Entomology and Zoology* 15: 140-150.
- Urretabizkaya, N., A. Vasicek, and E. Saini. 2010. Insectos perjudiciales de importancia agronómica I. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Buenos Aires, Argentina. 74 p.
- Vacas, S. 2011. Uso de semioquímicos en el control de plagas. Estudios básicos y de aplicación. Tesis Doctoral del Departamento de Química de la Universidad Politécnica de Valencia. Centro de Ecología Química Agrícola (CEQA) Instituto Agroforestal del Mediterráneo (IAM). España. 328 p.
- Van der Geest L., and H. Evenhuis. 1991. Tortricid pests, their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam. The Netherlands. 808 p.

Veá, J. 1990. Variabilidad conductual y comportamiento adaptativo. *Revista de Psicología General y Aplicada* 43: 443 - 449.

Yela, M. 1996. La estructura de la conducta. Estímulo, situación y conciencia. *Psicothema* 8: 89-147.

Zahavi, A. 1979: Ritualization and the evolution of movement signals. *Animal Behaviour* 72: 77-81.



**CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO**

**CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL Y ESTIMACIÓN  
DEL GRADO DE ESTEREOTIPIA DE *Proeulia auraria* CLARKE  
(LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)**

## Resumen

*Proeulia auraria*, una especie nativa de Chile, causa daños en vides, arándanos, manzanos y perales, entre otros, y tiene estatus cuarentenario. El desarrollo de controles alternativos de esta plaga es de gran importancia en el manejo agrícola sustentable del país. La identificación de la feromona sexual de *P. auraria*, en el 2014, permitirá evaluar nuevos controles alternativos, pero antes se debe disponer de una línea base conductual. Para ello se caracterizó el comportamiento sexual de *P. auraria* y su grado de estereotipia. En laboratorio, se determinó el horario en que ocurre la conducta de llamado (05:00 y 07:00 h, n = 55 secuencias). Para evaluar las respuestas de los machos se hicieron ensayos en laboratorio y campo y se obtuvieron secuencias de vuelo de 22 individuos. Para el cortejo, se obtuvieron 8 parejas de individuos, con 5 cortejos exitosos. Estas secuencias se analizaron ya sea con la prueba de Chi-cuadrado o con la prueba Exacta de Fischer, lo que indicó que cada paso conductual depende del paso inmediatamente anterior y que las transiciones entre secuencias de pasos fueron estereotipadas. Este estudio ayudará al desarrollo de nuevas técnicas de control para esta plaga, basadas en la modificación de su conducta sexual.

Palabras clave:

Línea base conductual, conductas estereotipadas, manejo integrado de plagas.

## Abstract

*Proeulia auraria*, a native species from Chile, causes damage to vineyards, blueberries, apple trees, pear trees, among others, and has quarantine status. The development of alternative controls for this pest is very important to the sustainable agricultural management of the country. The identification of the sexual pheromone of *P. auraria*, in 2014, will allow to evaluate new alternative controls, but before there must be a based behavioral line. For that, it was characterized the sexual behavior of *P. auraria* and its stereotype grade. In laboratory assays, the time in which calling behavior occurs was characterized (05:00 – 07:00 h) from a total of 55 sequences. To evaluate male responses, field and laboratory assays were performed and the flight sequences from 22 males were obtained. For courtship, eight pairs of individuals who courted were obtained, of which 5 were successful. These sequences were analyzed with Chi-square or Fisher's Exact tests, indicating that each behavioural step depends on the immediately preceding step and that transitions among step sequences were stereotyped. This study will support the development of new control techniques for this pest, based on modifying their sexual behavior.

Keywords:

Based behavioral line, stereotype behavior, integrated pest management.

## Introducción

La familia Tortricidae tiene gran importancia agrícola a nivel mundial (Van der Geest y Evenhuis, 1991), al disminuir en los rendimientos de los cultivos y afecta la comercialización de los productos (González, 2003). En *Proeulia auraria* Clarke, una plaga de impacto creciente en la fruticultura chilena (Curkovic, 2014), los antecedentes de su conducta y ecología química son muy acotados y antiguos (Faccin, 1979), y principalmente existen estudios taxonómicos (Razowski y Pelz, 2010; Cepeda y Cubillos, 2011). En Chile, *P. auraria* afecta varias especies frutales, tiene rol cuarentenario (González, 2003), y causan cuantiosos rechazos en la exportación de fruta fresca (Curkovic, 2014).

Esta plaga se controla normalmente con insecticidas convencionales, aunque su uso tiene numerosos efectos secundarios negativos. Por ello, es necesario entender el comportamiento sexual mediado por la feromona sexual, lo que servirá para desarrollar una alternativa al uso de insecticidas, utilizando compuestos feromonales de manera de alterar el comportamiento de este insecto, para impedir su reproducción y daño en el campo. En este sentido es fundamental la identificación reciente de la feromona sexual de *P. auraria* (Reyes-García *et al.*, 2014). Con esta investigación se plantea sentar las bases para el primer desarrollo de estas tecnologías en Sudamérica contra especies nativas de la región.

### Características generales de *P. auraria*

La polilla enrolladora de frutales *P. auraria* causa daños en uva vinífera, carozos, pomáceas, kiwi y cítricos, entre otros (Campos *et al.*, 1981; González 1989, 2003). Actualmente, *P. auraria* es la plaga de mayor potencial clave en un gran número de especies frutales, como vid, frutos de carozo y pomáceas, nogales y naranjos. Es un insecto cuarentenario, pues su presencia causa rechazos de las partidas de fruta en la inspección previa al embarque (Ripa y Larral, 2008). Se encuentra desde la región de Coquimbo a la región de Los Lagos, y es una de las especies más polífagas del grupo de los enrolladores en la zona central. Esta especie tiene una gran diversidad de plantas hospederas (plantas cultivadas o malezas y arbustos), y tiene un mayor potencial de daño a la fruticultura de hoja caduca y persistente. Sus larvas se alimentan de brotes, flores y frutos, y destacan por defoliar brotes, y enrollar las hojas (Álvarez y González 1982; Ripa y Larral, 2008).

### Comportamiento sexual en insectos

El comportamiento sexual en insectos tiene cuatro fases: 1) el *llamado*, el que implica frecuentemente posturas o movimientos que ayudan a la emisión y posterior distribución de la feromona (Cade, 1985; Gemeno *et al.*, 2005) 2) el comportamiento de *búsqueda del compañero sexual*, donde se desarrollan una serie de maniobras para encontrarlo (Kennedy, 1977), 3) el comportamiento de *cortejo*, el que incluye una serie de eventos que ocurren cuando ambos sexos se encuentran a corta distancia e interactúan en forma previa al acople (Alexander *et al.*, 1997), 4) y finalmente la *cópula*, en donde ocurre el acople de las

genitalias y la transferencia de gametos del macho (Altesor *et al.*, 2010). Tanto la conducta del llamado como el cortejo, son inducidos por los semioquímicos (Gemeno *et al.*, 2005).

### **Comportamiento sexual en la familia Tortricidae**

El comportamiento sexual en las especies de Tortricidae es muy similar, como *Cydia pomonella* (Ferro y Akre, 1975; Castrovillo y Cardé, 1980), *Crociosema aporema* (Altesor *et al.*, 2010), *Choristoneura rosaceana* (Curkovic *et al.*, 2006), *C. fumiferana* (Palaniswamy *et al.*, 1979; Grant, 1987), y *Pandemis pyrusana* (Curkovic *et al.*, 2006). Esta secuencia tiene cuatro etapas: llamado, búsqueda del macho hacia a hembra, cortejo y cópula. El *llamado* corresponde a la emisión de feromona sexual por una hembra virgen para atraer a los machos de su especie (Parra *et al.*, 2006; Altesor *et al.*, 2010). La *búsqueda* es la respuesta al llamado que hace el sexo opuesto, mediante maniobras conductuales que favorecen la ubicación de la fuente de feromona (Kennedy, 1977). Una vez que los individuos se encuentran próximos, el *cortejo* cumple un rol en la identificación y evaluación del potencial compañero sexual (Cade, 1985). La secuencia exitosa de cortejo finaliza con la *cópula* donde se acoplan las genitalias y ocurre la transferencia de gametos del macho (Altesor *et al.*, 2010).

### **Feromonas sexuales en la familia Tortricidae**

Las feromonas sexuales son responsables de la localización, por parte del sexo receptor, del congénere emisor para el éxito reproductivo (Acin, 2007). En las hembras de la mayoría de los lepidópteros, la feromona sexual es producida por una estructura glandular que se abre entre los segmentos abdominales octavo y noveno (Chichón *et al.*, 2001). Durante los periodos de receptividad de la hembra, esta feromonas es emitida al aire y transportada por el viento. La feromona sexual está conformada por varios compuestos, por ejemplo, alcoholes y acetatos. Uno o más compuestos principales tienen el rol del llamado a larga distancia y otros compuestos menores intervienen sólo en la última fase de acercamiento y cópula (Chichón *et al.*, 2001). Tanto los compuestos principales como secundarios conforman la feromona completa y única, y confieren especificidad en la señal (Curkovic y Brunner, 2007). La feromona sexual de *P. auraria* es emitida por la hembra durante las últimas dos horas de la escotofase, y ha sido descrita recientemente (Reyes-García, *et al.*, 2014).

### **Estereotipia**

El índice de estereotipia es una herramienta valiosa para el estudio de secuencias conductuales (Haynes y Birch, 1984; Girling y Cardé, 2006). Este índice asigna una medida objetiva al nivel de variabilidad asociado a una transición de comportamiento en una tabla de contingencia de un repertorio analizado (Facundo *et al.*, 1999; Girling y Cardé, 2006). Fagen y Young (1978) consideran como altamente estereotipadas las secuencias de comportamiento en que el índice de estereotipia tiende a 1. Es decir, cada paso conductual es siempre precedido por un acto único y unidireccional.

El estudio de estos comportamientos y la estimación de su estereotipia son importantes para diseñar estrategias de control basadas en feromonas específicas, así como la caracterización del cortejo y del primer contacto puede ser fundamental en el desarrollo de formulaciones de atraccidas orientadas a la eliminación de machos de plagas (Curkovic *et al.*, 2006).

## **Hipótesis**

El comportamiento sexual de *Proeulia auraria* es estereotipado.

## **Objetivos**

### **Objetivo general:**

Caracterizar el comportamiento sexual y estimar el grado de estereotipia de machos y hembras de *Proeulia auraria* en laboratorio.

### **Objetivos específicos:**

1. Caracterizar la conducta de llamado y estimar el grado de estereotipia de hembras vírgenes de *P. auraria*.
2. Caracterizar la respuesta de aproximación y búsqueda de machos vírgenes y estimar el grado de estereotipia a fuentes de feromona sexual.
3. Caracterizar las conductas de cortejo de machos y hembras vírgenes de *P. auraria* y estimar el grado de estereotipia.

## Materiales y Métodos

### I. Ubicación del estudio

La crianza de insectos y los experimentos de laboratorio se llevaron a cabo durante las temporadas del año 2011 y 2015 en el Laboratorio de Comportamiento y Ecología Química de Insectos del Departamento de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, comuna de la Pintana, Santiago, Chile. Los ensayos de campo preliminares se hicieron en el predio agrícola Santa Emiliana, ubicado en Nancagua Región del Libertador General Bernardo O'Higgins.

### II. Material Biológico

Los individuos utilizados para el estudio se obtuvieron desde plantas de *Vitis vinifera*, y galega (*Galega officinalis* L.), en los que se observaron síntomas y signos característicos de infestación de *P. auraria*, ubicados en la localidad de Nancagua.

La crianza de *P. auraria*, además de la colecta en campo involucró una supervisión constante de las colonias en laboratorio, que se mantuvieron en una cámara a una temperatura de  $22 \pm 5^\circ \text{C}$ , una humedad relativa de  $50 \pm 5\%$  y un fotoperiodo 16:8 (luz: oscuridad). El horario del fotoperiodo fue retrasado 6 h, en una segunda cámara de crianza, para poder hacer los ensayos durante el día en el laboratorio. Las larvas se mantuvieron en dieta fresca (hojas de galega o vid) en envases plásticos redondos, de 2,5 cm de diámetro transparentes, cerrados, con ventanas laterales y cubiertas de tul en la tapa, para permitir la ventilación, y se les proporcionó dieta artificial en cajas plásticas transparentes, con pequeños orificios de ventilación en la tapa.

Las pupas se sexaron observando la morfología del extremo del abdomen, bajo una lupa entomológica y conservadas individualmente en frascos de polietileno en la cámara de crianza. Al emerger los adultos, parte de ellos se destinaron a mantener la colonia y el resto para los ensayos y estudios correspondientes a esta tesis.

En los ensayos se utilizaron individuos de 1 día desde la emergencia y sin malformaciones.

#### Manejo del experimento:

**Material químico:** Para los ensayos de respuestas de aproximación y búsqueda de machos vírgenes a fuentes de feromona sexual, se utilizó el componente principal (E)-11-Tetradecenil acetato (E11-14: OAc) en dosis de 500  $\mu\text{g}$  (Reyes-García *et al.*, 2014).

#### Equipos:

**Túnel de viento:** Para los ensayos en laboratorio de la caracterización de las respuestas del macho hacia la fuente feromonal y las hembras, se utilizó un túnel de viento en el laboratorio, de estructura de acrílico, de 1,5 m x 50 cm, y también se adaptó un túnel pequeño fabricado con tul de 50 cm x 20 cm.

El túnel de viento consiste de tres partes: a) una zona de entrada en la que el aire se acelera y el flujo se regula, b) una sección de trabajo, y generalmente menor a 1 m de diámetro, y c) una zona de salida donde el aire es desacelerado (Finch, 1986).

**Cámara de video:** Para filmar las conductas del comportamiento sexual de *P. auraria* se utilizó una cámara de video (SONY Handycam, HDR-SR10, Japón)

**Notebook:** Las grabaciones se reprodujeron directamente desde la cámara de video en un notebook (modelo VAIO SVE-11125CLP, marca SONY, Japón) lo que permitió definir la secuencia de los pasos observables, discretos y homogéneos (Fagen y Young, 1978; Facundo *et al.*, 1999; Curkovic, 2004).

### III. Condiciones de estudio

#### Condiciones ambientales

- a) **Conductas de llamado y cortejo en laboratorio:** Durante todas las filmaciones de estas conductas se registraron las condiciones ambientales en las que ocurrieron. La temperatura y velocidad del viento en promedio fueron 20,48 °C y 3,63 m/s, respectivamente. El viento se mantuvo con un ventilador encendido a 2 m de la arena experimental (para el caso de la conducta del llamado se utilizó hembras vírgenes de un día de edad, se llevaron a frascos de vidrio transparente de 6,5 cm de alto y 5,5 cm de diámetro, con un velo en la parte superior para permitir la circulación de aire). Cada hembra permaneció en los frascos 30 min para la aclimatación antes de iniciar el período de filmación, evitando el efecto de “situación nueva” (Veá, 1990). Posterior a la aclimatación, se esperó hasta que el individuo comenzara a hacer posturas características del llamado. Para el caso del cortejo la metodología fue la misma, sólo que en vez de estar una hembra virgen sola, ésta estaba con un macho virgen. La HR media fue de 27,30% y la intensidad lumínica de 0,01 Lux.
- b) **Respuestas de los machos a fuentes feromonales en el campo:** Durante observaciones preliminares de campo, las condiciones ambientales, entre las 24:00 y 03:00 h, fueron temperatura (16,7°C), velocidad del viento (2,6 m/s), intensidad lumínica (0,01 Lux) y finalmente una HR de 57,1%.
- c) **Respuestas del macho a fuentes feromonales en túnel de viento en laboratorio:** Para evaluar las respuestas de los machos a fuentes feromonales se controlaron las condiciones ambientales, que fueron, en promedio, una temperatura 20,02 °C, velocidad del viento de 0,5 m/s, HR de 26,7% e intensidad lumínica de 0,01 lux.

#### Observaciones preliminares

- a) **Horario y noche en que ocurre la conducta del llamado en la hembra:** Durante el 2011 se llevó a cabo un período inicial de observación de hembras vírgenes de *P. auraria*, a fin de evaluar el horario en que ocurría la conducta de llamado, durante tres noches seguidas de haber emergido las hembras, esto es debido a que en la mayoría de las especies de tortricidos esta conducta se presenta en esta etapa, pues

es cuando las hembras alcanzan su máximo de liberación de la feromona sexual (Vickers y Rothschild, 1991; Altesor *et al.*, 2010). La observación y filmación se mantuvieron entre las 00:00 y 08:00 h., período descrito por Baker y Cardé (1979), ya que las hembras de esta familia (Tortricidae) tienen usualmente una conducta de llamado en horas de la escotofase. Las secuencias conductuales se filmaron mediante la técnica animal focal, un método de observación en el que se registra un individuo durante un período determinado y se observa el momento en que ocurran los pasos conductuales (Altmann, 1974). Durante este período de observación la filmación se hizo a una distancia de 1 m de la arena experimental. No hubo registros visuales de las hembras entre las 08:00 y 23:59 h.

De acuerdo a lo observado en este estudio preliminar, 11 individuos presentaron la conducta de llamado durante 1 ó 2 noches y ninguno “llamó” las tres noches consecutivas, sin embargo, para efectos logísticos en cuanto al estudio del resto de las conductas, sin dejar de utilizar individuos recientemente emergidos, se evaluaron los individuos sólo durante la primera noche. El horario en que se desarrolló mayormente esta conducta fue entre las 05:00 y 07:00 h, estas condiciones se replicaron en laboratorio para los siguientes estudios con hembras.

- b) **Condiciones ambientales y horario de respuestas del macho hacia su feromona sexual:** Se realizó un estudio preliminar en el campo para conocer las condiciones ambientales y el horario en que ocurren las respuestas de los machos hacia su feromona sexual en campos infestados. Se instalaron trampas tipo Delta con emisores cargados con el componente feromonal principal. Se registraron la temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, intensidad lumínica y horario en que ocurren las capturas de machos que responden a la feromona sexual, durante seis noches en la primavera. El mayor número de capturas (100 machos, durante las 6 noches), se obtuvo entre las 24:00 y 03:00 h. Los registros de las condiciones ambientales y la captura de machos en las trampas se hicieron cada hora. Después de haber obtenido tal información se replicaron en laboratorio esas condiciones ambientales para los estudios con machos y hembras.

### **Ensayos conductuales**

Para evaluar las secuencias conductuales del comportamiento de *P. auraria* y evaluar su grado de estereotipia, se hicieron ensayos, filmando los individuos de un día de vida, durante la primera noche desde la emergencia, y luego se observaron los registros audiovisuales de las conductas, bajo las mismas condiciones ambientales de las observaciones preliminares.

La matriz de transición y la duración total del comportamiento sexual se obtuvieron desde revisiones posteriores de los videos (Mori y Saito, 2006), con las que se obtuvo la ocurrencia y duración de cada paso conductual (Veá, 1990).

Para caracterizar cada fase del comportamiento sexual en *P. auraria* se utilizaron 55 secuencias de hembras vírgenes llamando, 22 secuencias de machos vírgenes en respuestas a feromona sexual de esta especie (17 a emisores en campo, 3 a emisores en laboratorio y 2 a hembras vírgenes en laboratorio), 8 secuencias de cortejo y 5 secuencias de cópula.



- a) **Ensayo 1. Caracterización de la conducta de llamado y estimación del grado de estereotipia de hembras vírgenes de *P. auraria*:** Para caracterizar la conducta de llamado y estimar su grado de estereotipia se hicieron ensayos durante las temporadas de primavera – verano de 2011 y 2014. Se observaron 55 hembras adultas vírgenes de *P. auraria* (incluyendo 11 individuos de las observaciones previas), emergidas desde el material de colonia. La metodología ya fue descrita en el ensayo preliminar.
- b) **Ensayo 2. Caracterización de la respuesta de aproximación y búsqueda de machos vírgenes y estimación del grado de estereotipia a fuentes de feromona sexual:** Para caracterizar las respuestas de los machos hacia fuentes feromonales, se hicieron ensayos de campo (febrero 2013) y laboratorio durante la temporada primavera verano de 2014-2015. Se observó un total de 63 machos, de los cuales se obtuvieron 17 secuencias del vuelo en el campo y 5 secuencias en laboratorio.

Al comienzo, se intentó mantener las mismas condiciones ambientales que en el ensayo preliminar de campo. Sin embargo, la conducta del llamado en laboratorio ocurrió en condiciones distintas (mayor velocidad del viento y menor HR), además, al intentar mantener una velocidad del viento dentro del túnel similar a la obtenida en campo, los machos no volaban. Por tanto, considerando las velocidades de viento reportadas para otros tortrícidos (entre 0,3 y 0,7 m/s) en condiciones controladas (Baker y Carde, 1979; Curkovic *et al.*, 2006), se utilizó un promedio de 0,5 m/s.

Este ensayo se hizo a las 05:00 y 07:00 h, de acuerdo a lo observado en la conducta del llamado. En el estudio preliminar se utilizó feromonas sintéticas y no hembras (debido a no poseer una cantidad suficiente de ejemplares en la colonia del laboratorio). Se estima que los machos podrían sobre-estimularse al estar expuestos a compuestos feromonales durante períodos extensos, y anticipar la respuesta de aproximación, como se vio en el horario en que ocurrió tal conducta en campo.

Para los ensayos de laboratorio, los machos se ubicaron al nacer en jaulas de polietileno de 5,5 cm de largo x 2,5 cm de diámetro. Donde permanecieron 30 min en el túnel de viento antes de comenzar el ensayo para su aclimatación. De los 5 ensayos efectuados, en 3 de ellos se expusieron a la feromona sexual sintética y el resto se expuso a hembras vírgenes. Los machos antes de comenzar el ensayo, se les abrieron la puerta de la jaula, para así poder activarse (caminatas de un lado para otro). Las secuencias de vuelo se dieron por iniciadas con el despegue del macho, previo a activarse, luego un vuelo tipo casting, y finalmente la llegada, ya sea con caminata y aleteo rápido alrededor del emisor o de la hembra, o caminata y aleteo rápido cercano a la fuente.

Para los análisis estadísticos y caracterización de la conducta de vuelo sólo se utilizaron las secuencias de campo, ya que el número de ejemplares en laboratorio fue muy acotado ( $n = 5$ ).

- c) **Ensayo 3. Caracterización de las conductas de cortejo y cópula de machos y hembras vírgenes de *P. auraria* y estimación del grado de estereotipia:** Este

experimento, se desarrolló durante la temporada primavera verano del 2014 - 2015. Las parejas se obtuvieron de la colonia establecida en laboratorio ( $n = 31$  parejas), de las cuales se observaron 8 secuencias de cortejos y 5 de las cuales terminaron en cópula. Al nacer, cada pareja se introdujeron en un frasco de vidrio transparente de 6,5 cm de alto y 5,5 cm de diámetro, con un velo en la parte superior para permitir circulación de aire y se esperaron 30 min para la aclimatación. Las filmaciones se grabaron entre las 05:00 y 07:00 h, según lo determinado en el ensayo de la conducta de llamado. Luego se esperó que las parejas comenzaran a interactuar.

#### IV. Análisis estadístico

El registro detallado de las secuencias de las conductas de llamado, respuestas de machos y cortejo se resumieron en tablas de contingencia basadas en los modelos de primer orden de Markov (mientras que un acto puede ser determinísticamente seguido por el segundo, el segundo puede solamente ser probabilísticamente precedido por el primero) (Fagen y Young, 1978; Liimatainen y Hoikkala, 1998). Estas tablas proporcionan 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 unidad de conducta previa (Liimatainen y Hoikkala, 1998), para ello, se asignó para cada celda de la tabla (o matriz) el número de individuos que, realizando un paso en particular (columnas), haya realizado un paso previo (filas) dentro de la secuencia. Por lo tanto, las frecuencias que se obtuvieron fueron de transición (Girling y Cardé, 2006).

Para analizar si existe asociación general entre los pasos que conforman las secuencias del comportamiento sexual en *P. auraria* se hicieron test de Chi-cuadrado (Fagen y Young, 1978; Espinoza, 2006; Ferrera, 2009) y la prueba Exacta de Fisher (Espinoza, 2006; Ferrera, 2009). El test de Chi-cuadrado se utilizó cuando los resultados esperados cumplieron con los criterios establecidos por Fagen y Young (1978), quienes mencionan que ningún valor debe ser menor a 1; y que no más del 20% de ellos sea inferior a 5. La Prueba Exacta de Fisher se utilizó cuando los criterios del Chi-cuadrado no se cumplieron. Esta prueba también tiene restricciones para los valores esperados, de ellos al menos el 20% debe ser menor a 5 y el valor mínimo esperado inferior a 3.

Las hipótesis planteadas se contrastaron usando un nivel de significación del 5% y se describen a continuación:

$H_0$ : No existe dependencia o asociación entre los pasos que conforman la secuencia.

$H_a$ : Existe dependencia o asociación entre los pasos que conforman la secuencia.

Para evaluar la magnitud de la asociación entre los pasos que conformaron las secuencias conductuales sexuales en *P. auraria* se calculó el coeficiente de contingencia respectivo (Ferrera, 2009).

El programa estadístico utilizado para ambos tests fue el Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 15.0.

Para conocer aquellos pares de pasos estadísticamente significativos dentro de la secuencia general de comportamiento sexual en *P. auraria* se utilizó el estadígrafo  $Y = (x_{ij} - m_{ij}) / \sqrt{m_{ij}}$  propuesto por Fagen y Young (1978), en donde  $x_{ij}$  representa la frecuencia observada en la celda  $(i,j)$ ; y  $m_{ij}$  representa la frecuencia respectiva esperada en la celda. Este estadígrafo 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  $|Y| > \sqrt{(X^2 \cdot df) / R^2}$ , (donde  $R$  = número de pasos del repertorio de la especie), implican transiciones significativas (Fagen y Young (1978).

Las hipótesis planteadas se contrastaron con un nivel de significación del 5% y se describen a continuación:

Ho: La transición entre pasos ocurre por azar y por tanto no es significativa.

Ha: La transición entre pasos no ocurre por azar y por tanto es significativa.

En la construcción de etogramas, se utilizan transiciones significativas (Osorio-Osorio y Cibrián-Tovar, 2000). La secuencia general de pasos significativos más común dentro de la matriz por concordancia entre altas probabilidades de transición y altas frecuencias observadas (Girling y Cardé, 2006).

La variabilidad (grado de estereotipia) de la secuencia general del comportamiento sexual de *P. auraria*, se calculó a través de los índices de estereotipia ( $SI_i$ ) y estereotipia global (SI).

$$SI_i = \sqrt{\left[ \frac{\sum (P_{ij})^2 - (\sum P_{ij})^2 / r_i}{(1 - 1 / r_i)} \right]}, \text{ con } 0 < SI_i < 1$$

donde  $P_{ij}$  es la probabilidad de transición desde el paso de comportamiento  $i$  a todos los otros posibles comportamientos  $j$ ;  $r_i$  es el número de posibles transiciones desde el precedente comportamiento  $i$ . 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 pondero 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) (Charlton y Cardé, 1990).

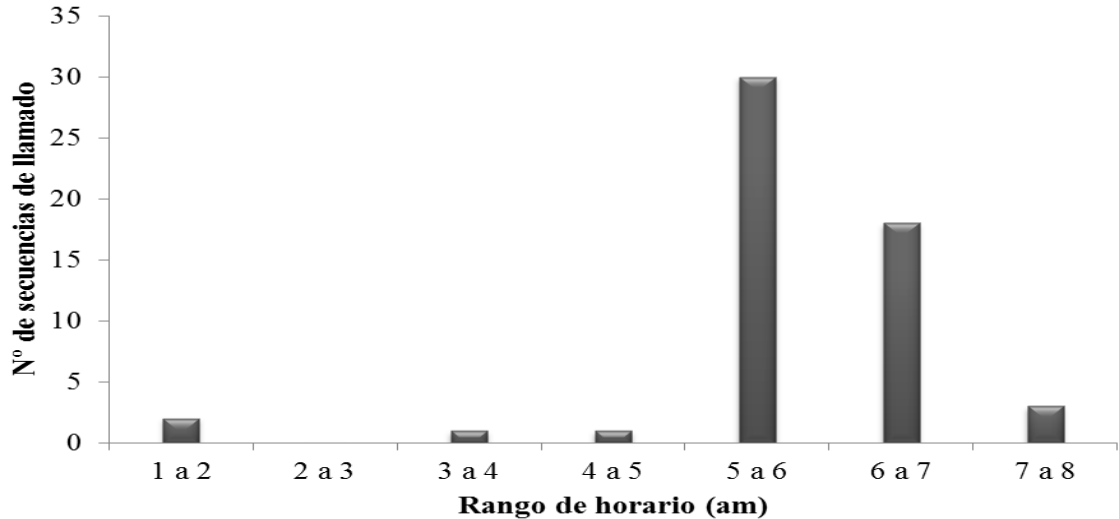
Con respecto a valores de SI para el comportamiento sexual de la especie *Exomala orientales* (Coleoptera: Scarabaeidae), Facundo *et al.*, (1999) definen como valores altamente estereotipados a aquellos superiores a 0,87, mientras que Charlton y Cardé (1990) señalan como altamente estereotipados a aquellos superiores a 0,92 y como moderadamente estereotipado a 0,76. Finalmente, Ferrera (2009), al observar variabilidad un valor de estereotipia alto y moderado, estimó un promedio de los autores ya señalados y estimo que valores de SI superiores o iguales a 0,89 serían altamente estereotipados y aquellos entre 0,76 y 0,88 serían moderadamente estereotipados. Por lo tanto, en el presente

estudio también se utilizó este criterio para evaluar el índice de estereotipia. En los casos que el SI fue menor a 0,76 pero superior a 0,5 se consideraron como levemente estereotipados.

## Resultados

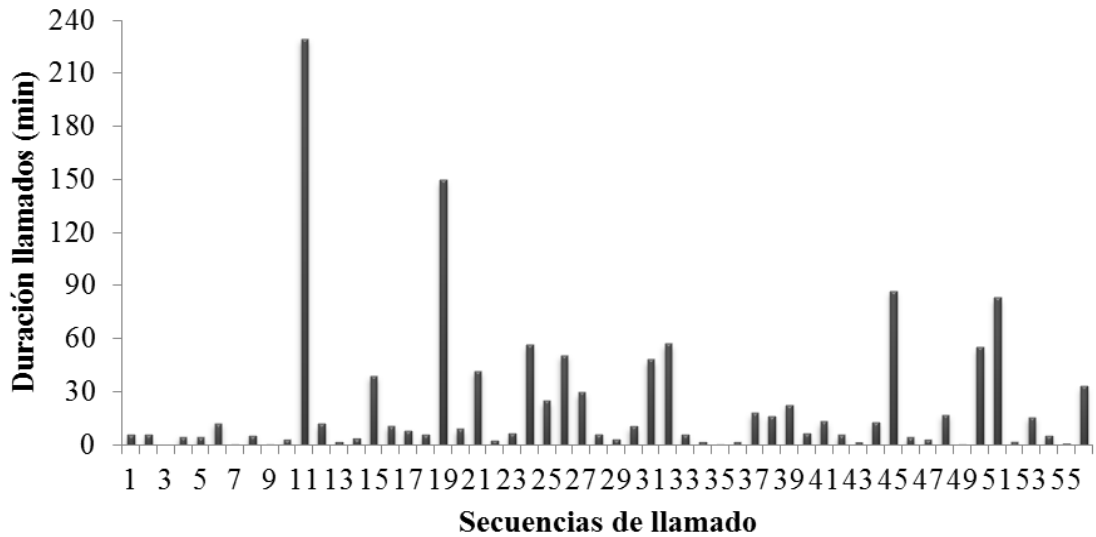
### 1. Caracterización de la conducta de llamado y estimación del grado de estereotipia de hembras vírgenes de *P. auraria*.

El horario del llamado en hembras de *P. auraria*, ocurrió mayoritariamente entre las 05:00 y 07:00 h (Figura 1).



**Figura 1.** Horario del llamado de hembras vírgenes de *P. auraria*, durante 55 secuencias de tal conducta.

También se evaluó la duración de la conducta de llamado en hembras vírgenes de *P. auraria* (Figura 2), la que resultó muy variable, con secuencias desde 48 seg. a 230 min.



**Figura 2.** Duración de la conducta de llamado en hembras vírgenes de *P. auraria*, durante 55 secuencias de tal conducta.

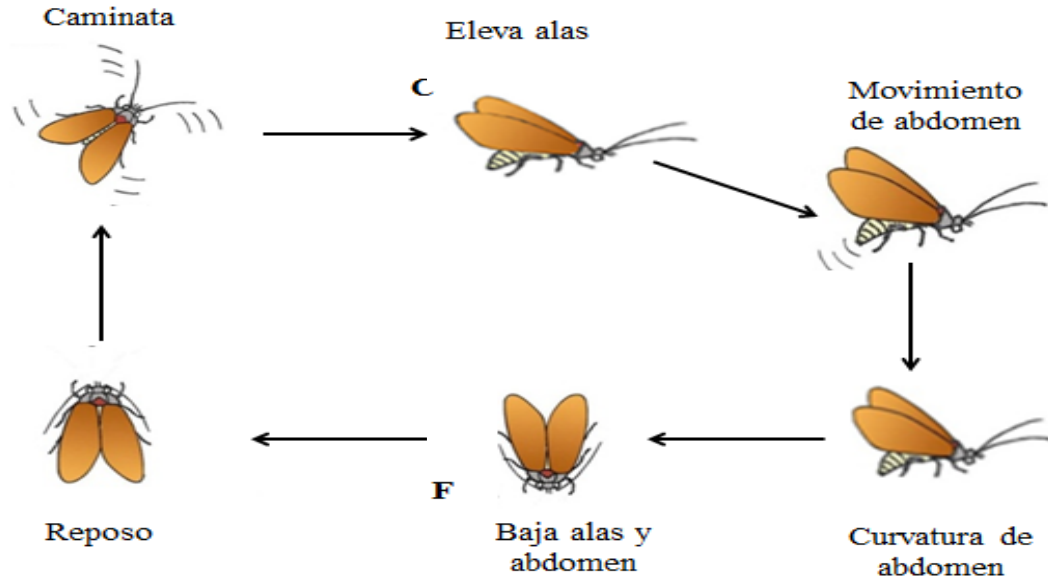
### 1.1. Obtención de las unidades de conducta dentro de la secuencia de llamado.

Se obtuvo las unidades de conducta dentro de la secuencia de llamado de hembras, definiéndose las unidades conductuales (pasos dentro la secuencia) observadas durante las temporadas 2011 y 2014, y los respectivos códigos utilizados para cada una (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Unidades de conducta desarrolladas por hembras de *P. auraria* durante las secuencias de llamado.

| Unidades de conducta                  | Definiciones  |
|---------------------------------------|---|
| Reposo ( <b>R</b> )                   | El individuo mantiene sus extremidades sin movimiento, adoptando una postura característica, con las alas ligeramente separadas del cuerpo hasta tocar la superficie donde se ha posado; sus antenas permanecen erectas, dirigidas levemente hacia atrás. |
| Caminata ( <b>C</b> )                 | La hembra comienza a caminar y a aletear muchas veces en forma repetida y mueve sus antenas (de un lado para otro) en forma casi imperceptible.   |
| Alzamiento de alas ( <b>AA</b> )      | La hembra levanta sus alas.   |
| Movimiento de abdomen ( <b>MAb</b> )  | La hembra mueve su abdomen en forma circular y/o retráctil, seguido del paso AA; sus antenas están erectas hacia delante.   |
| Curvamiento de abdomen ( <b>CAb</b> ) | La hembra comienza a curvar lentamente el abdomen, seguido del paso MAb.  |
| Baja alas y abdomen ( <b>BAAb</b> )   | La hembra baja lentamente sus alas y su abdomen, hasta quedar en reposo o caminar, finalizando el llamado.  |

Las secuencias de comportamiento se dieron por iniciadas con la posición de reposo en estado estacionario de la hembra (R), caminatas (C), alzamiento de alas (AA), movimiento del abdomen (MAb), curvatura del abdomen (CAb), bajan las alas y abdomen (BAAb) (Figura 3)



**Figura 3.** Secuencia de la conducta de llamado en *P. auraria*.

### 1.2 Análisis de las secuencias globales del comportamiento de llamado de hembras.

Para determinar si existe asociación entre los actos de conducta presentes en el comportamiento de llamado, se hizo una evaluación global de las secuencias obtenidas. Los resultados cumplieron con los supuestos de Chi-cuadrado, y según esta prueba se rechazó la  $H_0$  ( $p < 0,001$ ). Por lo tanto, existe dependencia de los pasos conductuales de la secuencia del llamado (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Tabla de contingencia de la conducta del llamado de *P. auraria*.

| Paso previo | Paso siguiente |                     |                     |                     |                     | Total |
|-------------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
|             | R              | AA                  | MAB                 | CAB                 | BAAB                |       |
| R           | -              | 55 <sup>(+**)</sup> | 0                   | 0                   | 0                   | 55    |
| AA          | 0              | -                   | 36 <sup>(+**)</sup> | 19 <sup>(+**)</sup> | 0                   | 55    |
| MAB         | 0              | 0                   | -                   | 36 <sup>(+**)</sup> | 0                   | 36    |
| CAB         | 0              | 0                   | 0                   | -                   | 59 <sup>(+**)</sup> | 59    |
| Total       | 0              | 55                  | 36                  | 55                  | 59                  | 205   |

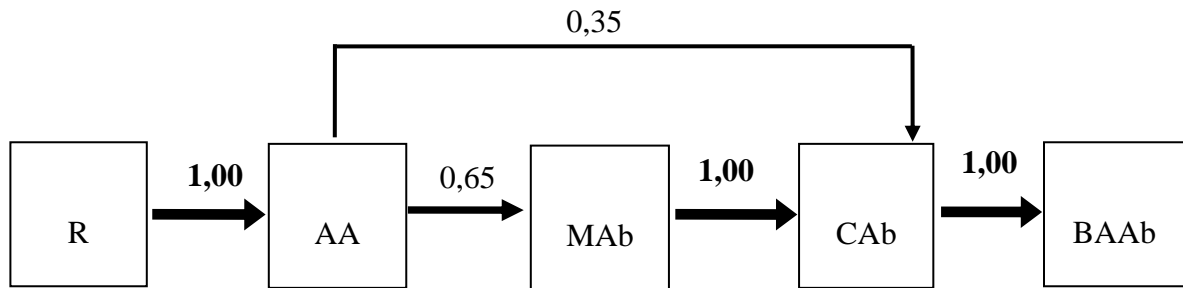
Prueba de Chi-Cuadrado:  $p < 0,001$ ; Coeficiente de contingencia: 0,84.

(<sup>+</sup>) = paso previo induce al siguiente.

Los asteriscos indican diferencias significativas: \*  $\alpha = 0,05$ ; \*\*  $\alpha = 0,01$ .

Las transiciones de pasos “R” → “AA” y “CAB” → “BAAB” fueron las más frecuentes. El coeficiente de contingencia de 0,84 obtenido demuestra una elevada magnitud de la correlación de estas secuencias.

A partir de la tabla de contingencia anterior (Cuadro 2), se desarrolló un etograma con las probabilidades de transición entre un paso conductual y el siguiente (Figura 4).



**Figura 4.** Etograma del comportamiento de llamado de *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre unidades de la conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el consecuente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos.

En los pasos de “R” a “AA”, “MAb” a “CAb” y “CAb” a “BAAb”, se observó una alta probabilidad de transición (1,00) lo que concuerda con una alta frecuencia de ocurrencia (100%). Solo hubo una ruta alternativa, significativa, de comportamiento pero realizada por una menor cantidad de individuos en la muestra observada.

Por otra parte, el índice de estereotipia de esta conducta, a partir del cálculo del estadígrafo Y (Apéndice 1), arrojó un valor de 0,90, un índice de una secuencia “altamente estereotipada” (Facundo *et al.*, 1999; Charlton y Cardé, 1990; Ferrera, 2009) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Índice de estereotipia de cada paso ( $S_{li}$ ) e índice ponderado (SI) de la conducta de llamado de *P. auraria*.

| Pasos        | $S_{li}$ | SI          |
|--------------|----------|-------------|
| R            | 1,00     | 0,21        |
| AA           | 0,63     | 0,17        |
| MAb          | 1,00     | 0,18        |
| CAb          | 1,00     | 0,29        |
| BAAb         | 0,00     | 0,00        |
| <b>Total</b> |          | <b>0,90</b> |

## 2. Caracterización de la respuesta de aproximación y búsqueda de machos vírgenes y estimación del grado de estereotipia a fuentes de feromona sexual.

### 2.1. Obtención de las unidades de conducta dentro de la secuencia del vuelo de los machos.

Se definió las unidades de conducta de las respuestas de aproximación y búsqueda de los machos a fuentes de feromonas observadas durante febrero del 2013 y la temporada primavera verano de 2014-2015. A continuación se presentan los respectivos códigos utilizados para cada una (Cuadro 4).



**Cuadro 4.** Siglas y unidades de conducta desarrolladas por machos de *P. auraria* durante las secuencias del vuelo a fuentes feromonales.

| <b>Unidad de conducta y sigla</b>           | <b>Definiciones</b>  |
|---|--|
| Casting (C)                                 | El macho vuela a la fuente feromonal de forma pendular, disminuyendo en amplitud a medida que se aproxima a la fuente, lo que les permite a los machos mantenerse dentro de la “pluma de olor” (estructura formada a medida que el viento dispersa las moléculas de olor desde su fuente). |
| Aleteo rápido estacionario (ARE)            | El macho aletea rápidamente al aterrizar y se mantiene en una misma posición cercano a la fuente feromonal.  |
| Caminata y aleteo rápido en círculo (CaARC) | Al aterrizar el macho camina y aletea rápidamente, y da vueltas alrededor de la fuente feromonal.  |
| Caminata y aleteo rápido (CaAR)             | Igual que el paso ARE, pero al hacerlo, también camina cercano a la fuente feromonal.  |
| Pegado en el piso (PP)                      | Finalmente vuela cerca del piso de la trampa y cae quedando pegado en ella.  |

Todas las secuencias filmadas comienzan registrando el vuelo tipo casting. Este vuelo disminuye en amplitud, el macho aterriza sobre la trampa. Este aterrizaje puede ser caminando y con un aleteo rápido alrededor del emisor (CaARC), ó caminando con un aleteo rápido cerca de la fuente feromonal (CaCR), para finalizar pegados en el piso de la trampa (Figura 5).



**Figura 5.** Secuencia de la conducta de vuelo de acercamiento a la feromona sexual de machos de *P. auraria* en el campo.

## 2.2. Análisis de las secuencias globales de la conducta de aproximación y búsqueda de machos.

Para determinar si hubo asociación entre los pasos conductuales en el comportamiento de vuelo de los machos, se hizo una evaluación global de las secuencias obtenidas. Como el análisis de los supuestos de la prueba de Chi-Cuadrado indicó que los valores esperados para el 81% de las celdas de la matriz fueron menores a 5, la dependencia se evaluó con la prueba exacta de Fisher (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Tabla de contingencia de la conducta del vuelo en machos de *P. auraria* en campo.

| Paso previo | Paso siguiente |                    |                    |                    |                     | Total |
|-------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------|
|             | C              | ARE                | CaARC              | CaAR               | PP                  |       |
| C           | -              | 3 <sup>(+**)</sup> | 5 <sup>(+**)</sup> | 9 <sup>(+**)</sup> | 0                   | 17    |
| ARE         | 0              | -                  | 0                  | 1 <sup>(+ns)</sup> | 2 <sup>(+**)</sup>  | 3     |
| CaARC       | 0              | 0                  | -                  | 2 <sup>(+ns)</sup> | 4 <sup>(+**)</sup>  | 6     |
| CaAR        | 0              | 0                  | 1 <sup>(-ns)</sup> | -                  | 11 <sup>(+**)</sup> | 12    |
| Total       | 0              | 3                  | 6                  | 12                 | 17                  | 38    |

Prueba Exacta de Fisher: <0,001; Coeficiente de contingencia: 0,65.

<sup>(+)</sup> = paso previo induce al siguiente; <sup>(-)</sup> = paso previo inhibe al siguiente.

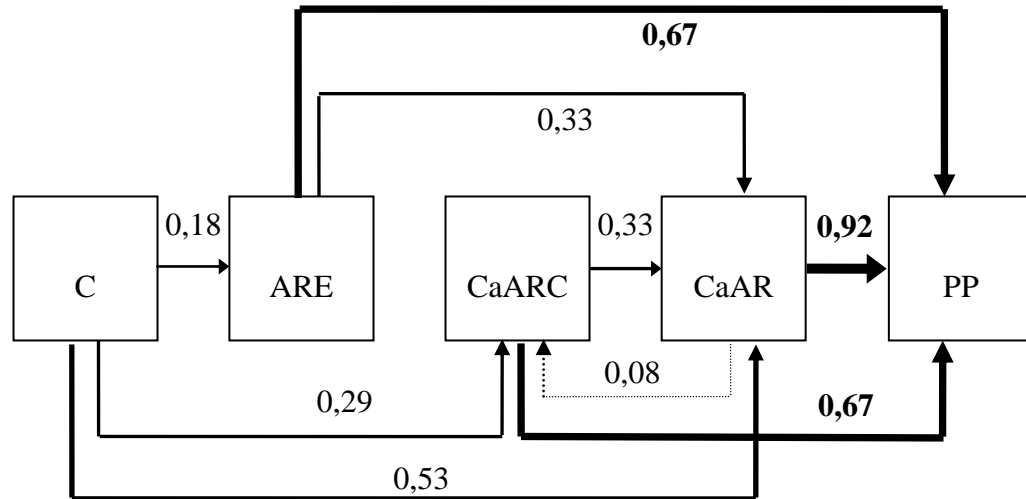
Los asteriscos indican diferencias significativas: \*  $\alpha = 0,05$ ; \*\*  $\alpha = 0,01$ ; (ns) = no significativo.

En este caso las transiciones de pasos más desarrolladas fueron “C” → “CaAR” y “CaAR” → “PP”.

Un macho realizó el paso de “CaAR” → “CaARC”, y finalizó luego en “PP” (sin repetir el paso “CaARC”), y además el estadígrafo “Y” arrojó un valor negativo para esta celda, inhibiendo el paso previo de la secuencia, pero la transición para este paso no sería significativa (Apéndice 1).

El análisis estadístico de esta tabla de contingencia también indicó una dependencia de los pasos conductuales observados. Sin embargo, en este caso el coeficiente de contingencia fue 0,65, valor que demuestra una correlación de estas secuencias.

Posteriormente, a partir de las frecuencias de la tabla de contingencia (Cuadro 5) se desarrolló un etograma de esta conducta (Figura 6).



**Figura 6.** Etograma del comportamiento del vuelo de machos de *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre las unidades (pasos) de conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el consecuente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos.

El 8% de los individuos cumplió la transición del paso “CaAR” a “CaARC” y pasó directamente al paso “PP”.

El índice de estereotipia de esta conducta, fue 0,63, que se considera levemente estereotipada (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Índice de estereotipia de cada paso (S<sub>ii</sub>) e índice ponderado (SI) de la conducta de vuelo de machos de *P. auraria*.

| Paso         | S <sub>ii</sub> | SI*         |
|--------------|-----------------|-------------|
| C            | 0,44            | <b>0,20</b> |
| ARE          | 0,64            | 0,05        |
| CaARC        | 0,64            | 0,10        |
| CaAR         | 0,89            | <b>0,28</b> |
| <b>Total</b> |                 | <b>0,63</b> |

\* = Los valores en negrita indican pasos altamente estereotipados de la conducta.

### 3. Caracterización de las conductas de cortejo de machos y hembras vírgenes de *P. auraria* y estimación del grado de estereotipia.

Durante las temporadas de primavera – verano de los años 2014 y 2015 se llevó a cabo un período de observación de 31 parejas de *P. auraria*, emergidas desde el material de la colonia. De ellas se registraron un total 8 secuencias de cortejo y 5 secuencias de cópula.

### 3.1. Obtención de las unidades de conducta dentro de la secuencia del cortejo.

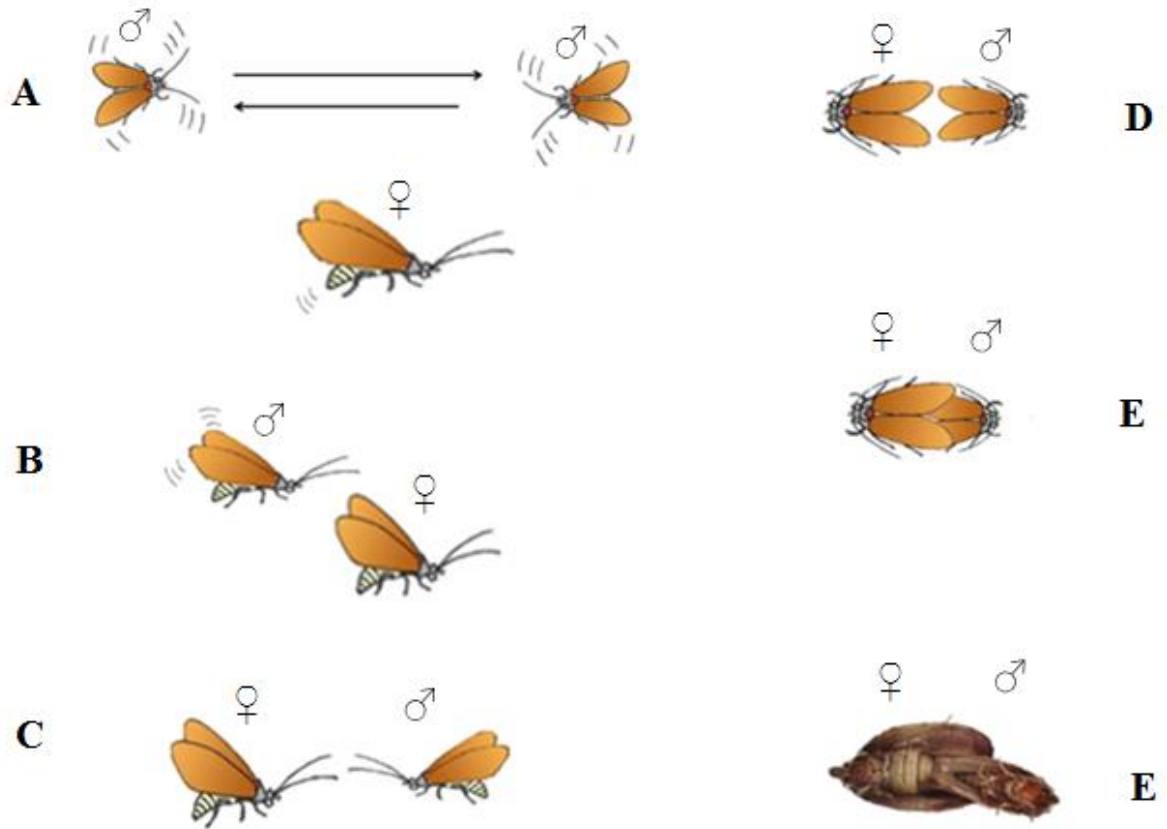
Se definió las unidades de conducta (pasos dentro la secuencia) del comportamiento de cortejo en machos y hembras de *P. auraria* observados (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Unidades de conducta de parejas de *P. auraria* durante las secuencias del cortejo.

| <b>Unidades de conducta</b> | <b>Definición</b>  |
|-----------------------------|--|
| Camina (CA)                 | El macho camina de un lado para otro en línea recta lejos de la hembra, moviendo alas y antenas, mientras la hembra está llamando.   |
| Acercamiento (Ac)           | El macho al caminar o volar se acerca a la hembra, moviendo raudamente sus alas, mientras la hembra está llamando.   |
| Primer contacto (PC)        | El macho camina y aletea muy rápido frente a la hembra (cabeza con cabeza) o por su lado, ya sea en la misma dirección o en sentido opuesto, mientras la hembra está llamando. |
| Posición de acople (PA)     | El macho se ubica por la parte posterior de la hembra en sentido opuesto. La hembra deja de llamar.  |
| Cópula (Co)                 | Las genitalias del macho y hembra se unen.   |
| Llamado (LI)                | Conducta sexual de la hembra para atraer al macho, liberando su feromona sexual, mediante movimientos y posturas características de los tortricidos.                           |
| Movimiento de abdomen (MAb) | La hembra cuando está llamando, mueve el abdomen en forma retráctil y/o circular, de forma más reiterativa con la presencia del macho  |
| Levantamiento de alas (LA)  | La hembra, levanta aún más las alas al acercarse el macho.   |
| Término del llamado (TLI)   | La hembra baja sus alas y deja de curvar su abdomen y retoma una postura de reposo.  |

Las secuencias de cortejo se dieron por iniciadas cuando el macho respondió al llamado de la hembra (LI), con caminatas y aleteo simultáneos (CA), acercándose a la hembra (Ac),

luego ocurre el primer contacto entre ambos (PC) para posteriormente ubicarse el macho en posición de acople (PA) en sentido opuesto a la hembra (cabezas orientadas en dirección opuesta) y, finalmente, las genitalias se acoplan (cópula) (Co). Las hembras que llaman, cuando el macho se les acerca levantan aún más las alas (LA), y algunas durante esta conducta mueven su abdomen (MAb) (figura 7).



**Figura 7.** Caracterización de las secuencias globales de la conducta de cortejo y cópula de *P. auraria*.

### 3.2. Análisis de las secuencias globales de la conducta de cortejo.

Para una mejor comprensión de la conducta del cortejo de *P. auraria* se analizaron las secuencias de pasos, abarcando aspectos tanto de las hembras como de los machos, y se verificó una asociación entre estos mediante la evaluación global de las secuencias obtenidas. Como el análisis de los supuestos de la prueba de Chi-Cuadrado dio valores esperados para el 86,6% de las celdas de la matriz fueron menores a 5, (para machos y hembras), el estadístico utilizado para evaluar la dependencia fue la prueba exacta de Fisher (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Tabla de contingencia de las transiciones de la conducta del cortejo en *P. auraria*.

| Paso previo |       | Paso siguiente     |                    |                    |                    |                    |        |                    |                    |                    |       |
|-------------|-------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
|             |       | Macho              |                    |                    |                    |                    | Hembra |                    |                    |                    | Total |
|             |       | CA                 | Ac                 | PC                 | PA                 | Co                 | Ll     | MAb                | LA                 | TLl                |       |
| Macho       | CA    | 0                  | 6 <sup>(+**)</sup> | 2 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0                  | 0      | 5 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0                  | 13    |
|             | Ac    | 0                  | 0                  | 3 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0                  | 0      | 0                  | 6 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 9     |
|             | PC    | 0                  | 0                  | 0                  | 5 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0      | 0                  | 0                  | 0                  | 5     |
|             | PA    | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 5 <sup>(+**)</sup> | 0      | 0                  | 0                  | 0                  | 5     |
| Hembra      | Ll    | 8 <sup>(+**)</sup> | 6 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0                  | 0                  | 0      | 5 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 0                  | 19    |
|             | MAb   | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 0      | 0                  | 3 <sup>(+**)</sup> | 0                  | 3     |
|             | LA    | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 0      | 0                  | 0                  | 6 <sup>(+**)</sup> | 6     |
|             | TLl   | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  | 5 <sup>(+**)</sup> | 0      | 0                  | 0                  | 0                  | 5     |
|             | Total | 8                  | 12                 | 5                  | 5                  | 10                 | 0      | 10                 | 9                  | 6                  | 65    |

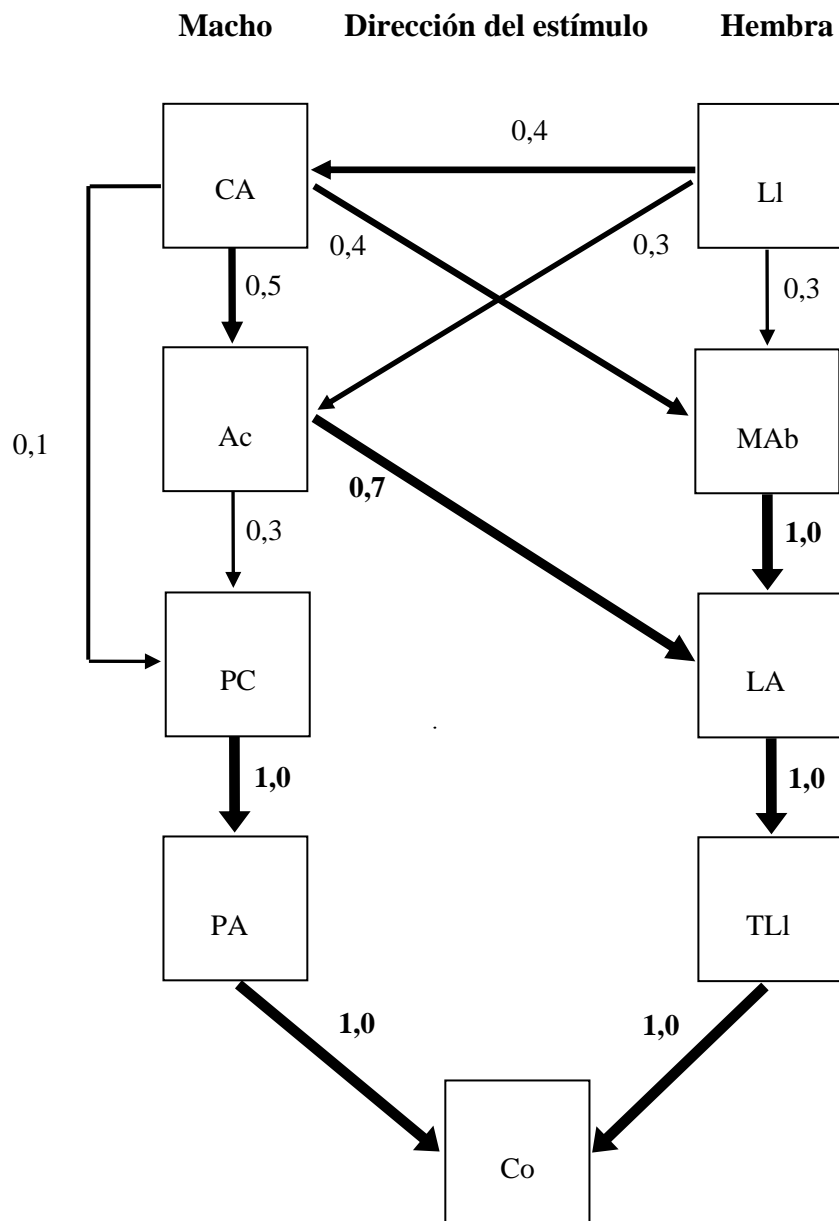
Prueba Exacta de Fisher: <0,001; Coeficiente de contingencia: 0,86 (macho) y 0,82 (hembra).

<sup>(+)</sup> = paso previo induce al siguiente; <sup>(-)</sup> = paso previo inhibe al siguiente.

Los asteriscos indican diferencias significativas: \*  $\alpha = 0,05$ ; \*\*  $\alpha = 0,01$ .

El análisis estadístico de esta tabla de contingencia indicó una dependencia de los pasos conductuales observados. Los coeficientes de contingencia de machos (0,86) y de hembras (0,82) demostraron una alta correlación de estas secuencias.

Posteriormente, a partir de las frecuencias de la tabla de contingencia (Cuadros 8) se desarrolló el etograma de esta conducta que se presenta en la Figura 8.



**Figura 8.** Etograma del comportamiento del cortejo en *P. auraria*, con las probabilidades de transición en cadenas de primer orden entre unidades de conducta de comportamiento. El grosor de la línea indica una mayor probabilidad de transición entre el acto precedente “i” y el siguiente “j”. El sentido de las flechas indica la dirección de los individuos entre pares de pasos.

Para esta secuencia conductual se puede observar una alta probabilidad de transiciones, que concuerdan con la matriz de transición, al igual que en el llamado.

Nuevamente, los valores absolutos del estadígrafo “Y” fueron mayores al valor crítico calculado ( $\alpha = 0,01$ ), lo que se demuestra igualmente que todas las transiciones de los pasos realizados por los machos y hembras fueron significativas (Apéndice 1).

Por otra parte, los índices de estereotipia de esta conducta, para machos y hembras, fueron 0,89 y 1,00, respectivamente, lo que indica que esta conducta es altamente estereotipada (Cuadros 9 y 10).

**Cuadro 9.** Índice de estereotipia de cada paso (SIi) e índice ponderado (SI) de la conducta del macho en el cortejo de *P. auraria*.

| Pasos        | SIi  | SI          |
|--------------|------|-------------|
| CA           | 0,71 | 0,27        |
| Ac           | 1,00 | 0,14        |
| PC           | 1,00 | 0,24        |
| PA           | 1,00 | 0,24        |
| <b>Total</b> |      | <b>0,89</b> |

**Cuadro 10.** Índice de estereotipia de cada paso (SIi) e índice ponderado (SI) de la conducta de la hembra en el cortejo de *P. auraria*.

| Pasos        | SIi  | SI          |
|--------------|------|-------------|
| LI           | 1,00 | 0,26        |
| MAb          | 1,00 | 0,16        |
| LA           | 1,00 | 0,32        |
| TLI          | 1,00 | 0,26        |
| <b>Total</b> |      | <b>1,00</b> |



## Discusión

### Conducta del llamado en *P. auraria*

La conducta de llamado se ha descrito en especies de tortricídeos como *Crociosema aporema* (Altesor *et al.*, 2010), donde la hembra eleva sus alas y curva el extremo abdominal hacia abajo. Lo mismo se ha observado en *Cydia molesta* (Baker y Cardé, 1979) y *Cydia pomonella* (Castrovilo y Cardé, 1980). En el tortricídeo *Adoxophyes* sp. se ha descrito la conducta de llamado, la que se reconoce fácilmente porque evertir su glándula feromonal y a la vez levanta sus alas y las hace vibrar. En *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) Charlton y Cardé (1990) mencionan que la hembra al estar llamando generalmente adopta una postura con la cabeza hacia arriba, elevan ligeramente las alas y emite la feromona sexual mientras prolonga y retrae la punta del abdomen, donde se encuentra la glándula feromonal. En *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae), el comportamiento de llamado presenta dos posturas, la típica curvatura del abdomen, y también el abdomen extendido horizontalmente, en ambas posturas exponiendo de igual manera la glándula feromonal (Ambrogi *et al.*, 2009). En el presente estudio, se observaron las posturas características descritas en varias especies de tortricídeos, y la hembra de *P. auraria* levantó sus alas y curvó su abdomen en algunos casos con movimientos circulares y/o retráctiles, que pueden deberse a que la glándula feromonal está internamente en el abdomen de la hembra (Altesor *et al.*, 2010), por lo que estos movimientos ayudarían a evertir la glándula feromonal.

El horario del llamado, se ha estudiado en varios tortricídeos, y en la mayoría ocurre en la escotofase. Por ejemplo, en *C. aporema* el horario del llamado para esta especie ocurrió en 90% en la séptima hora de la escotofase y duró un promedio de 13,6 minutos (Altesor *et al.*, 2010). Para *P. auraria*, el horario de la conducta del llamado fue mayoritariamente entre las 05:00 y 07:00 h (las últimas dos horas de la escotofase), con un amplio rango de duración (0,8 a 230 min.).

En la mayoría de las especies de tortricídeos, la conducta de llamado se presenta en los primeros días de la emergencia, al igual que lo observado en *P. auraria* en el presente estudio, debido a que en esos días las hembras alcanzan su nivel máximo de liberación de feromona (Weissling y Knight, 1996; Altesor *et al.*, 2010; Fernández, 2012).

El índice de estereotipia de 0,90, en la conducta de llamado en *P. auraria* se considera altamente estereotipado. En *L. dispar*, la conducta del llamado durante el cortejo también fue altamente estereotipada, con un valor de 1,00. Cardé y Haynes (2004), señalan que en polillas la postura del llamado es estereotipada.

El índice de estereotipia de *Callisphyris apicicornis* (Coleoptera: Cerambycidae), fue 0,83, lo que indica una conducta del llamado moderadamente estereotipada (Ferrera, 2009).

### **Conducta del vuelo de machos de *P. auraria* a fuentes feromonales**

El comportamiento de los insectos frente a la liberación de feromona o a la respuesta frente a ella está regulada por vía neural y hormonal. Así, una polilla hembra libera feromona en un tiempo determinado durante la escotofase, período que suele coincidir con el período de máxima respuesta del macho. Si un macho es sometido a una composición y concentración óptima de feromona fuera del período de emisión no se apreciará respuesta alguna en inducción de vuelo o ésta será muy disminuida (Acín, 2007). Distinto a lo observado en machos de *P. auraria* en campo, cuya respuesta a fuentes de feromona ocurrió en horas previas al horario del llamado en laboratorio.

En *C. aporema* se ha registrado el vuelo de los machos a fuentes feromonales en túnel de viento; las secuencias conductuales se dieron por iniciadas con el despegue, las respuestas a la feromona (incluyendo vuelo, dentro de la pluma de olor y/o vuelo con aleteo), y finalmente aterrizaje cerca (cm) de la fuente de olor (Altesor *et al.*, 2009). En *C. pomonella*, el vuelo del macho se desarrolló, en respuesta a fuentes de feromona en contra el viento (“up wind”), con un desplazamiento en forma zigzagueante dentro de la pluma de feromona (Beker, 1989; Fernández, 2012). En forma similar a lo observado en *P. auraria*, en condiciones de laboratorio (túnel de viento), se observó al macho volar en dirección a la fuente feromonal, presumiblemente dentro de la pluma de feromona. El vuelo fue tipo “Casting”, y disminuyó en amplitud al estar próximo a la fuente feromonal. Posteriormente aterrizó cerca de la fuente (cm), caminando y aleteando raudamente. En campo se observó la misma conducta que en laboratorio. En *C. aporema* el tiempo de los machos para iniciar el vuelo tuvo un rango de segundos a 3 minutos. El tiempo más corto correspondió a la respuesta a hembras vírgenes (2 segundos) (Altesor *et al.*, 2009). En *P. auraria* la duración del vuelo en laboratorio hacia la fuente feromonal fue de 2 a 30 segundos en 5 machos.

En otras familias de Lepidoptera, como en *Limantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae), el macho aletea mientras camina, y una vez que el encuentra la pluma de olor de la feromona de la hembra se orienta anemotáticamente contra el viento, hasta llegar, cerca de la hembra (Charlton y Cardé, 1990). Esta conducta también se observó en *P. auraria*, donde el macho camina y aletea al aterrizar, tanto en laboratorio (túnel de viento) como en el campo en trampas de feromona tipo delta.

El índice de estereotipia en el vuelo de machos de *P. auraria* hacia fuentes feromonales fue de 0,63, lo que se considera una secuencia levemente estereotipada. Debe tenerse presente que el número de secuencias utilizadas para el SI de esta conducta fue de 17 vuelos de machos, por lo que es preferible aumentar el número para futuros ensayos.

### **Conducta del cortejo en *P. auraria***

La caracterización del cortejo permite comprender las interacciones intraespecíficas y sirve para el desarrollo de estrategias de manejo de plagas, basadas en la modificación de su conducta sexual (Curkovic *et al.*, 2006).

Las secuencias del cortejo se han descrito para varias especies de tortricidos, entre ellas, *C. pomonella*, (Ferro *et al.*, 1975; Castrovillo y Cardé, 1980), *C. aporema* (Altesor *et al.*, 2010), *C. rosaceana* (Curkovic *et al.*, 2006), *C. fumiferana* (Palaniswamy *et al.*, 1979; Grant, 1987), y *P. pyrusana* (Curkovic *et al.*, 2006), y han sido muy similares. En general, una vez que el macho aterriza y se aproxima a la hembra (luego del llamado y vuelo orientado), la secuencia continúa con el macho que camina raudamente hacia la hembra, mientras dirige sus antenas hacia adelante y desarrolla un aleteo rápido permanente mientras camina. Estas secuencias de cortejo son muy similares a las observadas en *P. auraria* en donde el macho, luego de aterrizar cerca de la hembra (a pocos cm), hace caminatas y aleteos rápidos alrededor o cerca de la hembra, seguido del primer contacto, el que puede ser de frente (cabeza con cabeza) o de lado, con los cuerpos de hembra y macho en el mismo sentido u opuestos, para posteriormente ubicarse en posición de acople, en la que, el macho se coloca por la parte posterior de la hembra en dirección contraria y finalmente unen sus genitales.

Excepcionalmente, en el cortejo de *H. coffearia* Neitner (Shimizu y Tamaki, 1980), el macho camina con sus antenas dirigidas hacia atrás, en firme contacto con sus alas delanteras mientras que en las demás especies las antenas se extienden hacia adelante. En todas las especies con descripción detallada de esta etapa, los machos extienden sus pelos abdominales (“hair pencils”) antes del primer contacto, el que ocurre entre algún apéndice (antenas, patas) o la cabeza del macho, con distintas partes del cuerpo de la hembra un paso que puede servir para el reconocimiento específico (Baker *et al.*, 1981). Esta conducta no se produjo en *P. auraria*, debido a la insuficiente magnificación de los registros audiovisuales, en los que no se puede apreciar con claridad.

En *P. pyrusana*, macho y hembra contactan sus cabezas durante esta etapa. Una secuencia atípica ocurre en *C. molesta* donde luego del primer contacto, el macho permanece inmóvil mientras la hembra se voltea hacia él y lo contacta, antes de proseguir la secuencia (Baker y Cardé, 1979). En *P. auraria* observó el contacto cabeza-cabeza durante el primer contacto y en otras secuencias fue de lado en la misma dirección que la hembra o en sentido opuesto.

Además, en todas las especies reportadas, el macho intenta el acople, que frecuentemente implica una ubicación paralela al cuerpo de la hembra mientras curva el extremo posterior del abdomen, pone los pelos abdominales en forma perpendicular al eje de su cuerpo y expone parte de su genitalia. A menudo, estas secuencias terminan exitosamente (en cópula), pero hay informes de hembras que evitan y escapan del macho (Curkovic *et al.*, 2006). En *C. pomonella*, durante la cópula los individuos se encuentran unidos por el extremo distal del abdomen, con las cabezas dirigidas hacia lados opuestos y las alas de la hembra cubriendo el extremo abdominal del macho. De esta manera se mantienen unidos de 20 a 90 minutos (Fernández, 2012). En *P. auraria* el macho se ubica próximo a la parte posterior del abdomen de la hembra, con sus cabezas dirigidas en sentido contrario, y juntan luego las genitales. De los 8 parejas observada, 5 terminaron en cópula (62,5%), nivel muy superior a lo observado por Curkovic (2004) en *C. rosaseana* y *P. pyrusana*, donde las secuencias de cortejo exitosas fueron 34% y 30%, respectivamente. Secuencias de cortejo no exitosas se han descrito para *C. molesta* (Baker y Cardé, 1979), *C. fumiferana* (Palaniswamy *et al.*, 1979) y *C. pomonella* (Castrovilo y Carde, 1979).

Aparentemente cuando el macho en cortejo camina, aletea y realiza el primer contacto con la hembra, estas respuestas pre-programadas y estereotipadas, que no requerirían más que del estímulo inicial (feromona), como se observó en *P. pyrusana* y *C. rosaseana* (Curkovic, 2004). De las 3 secuencias no exitosas de *P. auraria*, en una de ellas el macho no se acercó caminando y aleteando hacia la hembra (Ac), sino que voló directamente hacia la hembra para hacer un primer contacto (PC), y se ubicó en posición de acople (PA), mientras que la hembra dejó de llamar y se alejó. En la segunda pareja en que no hubo cópula, el macho sí se acercó a la hembra (Ac), pero no hizo un primer contacto (PC), pero luego trató de tomar la posición de acoplamiento (PA), pero la hembra dejó de llamar y se alejó. Y en la tercera pareja el macho se acercó a la hembra mientras ésta llamaba, pero no hizo ningún paso posterior a esta conducta, por lo que la hembra, después de varios minutos de llamar, dejó de hacerlo y se alejó del macho.

El rango óptimo de temperatura para el apareamiento de *C. pomonella*, va de 12,5°C a 33,0°C (Fernández, 2012). Sin embargo, bajo condiciones desfavorables durante el período óptimo de cópula, viento o lluvia, los vuelos pueden posponerse (Fernández, 2012). Para *P. auraria*, la temperatura media al momento de la cópula fue 20,48°C.

Las secuencias de cortejo dentro de una especie son estereotipadas y ocurren en períodos breves (segundos), como en *C. molesta*, en que dura 1,5 segundos, y pueden ocurrir en varias oportunidades antes de lograr el acoplamiento (Baker y Cardé 1979). En *P. auraria* las secuencias de cortejo tuvieron una duración promedio de 38 segundos, con un rango de 11 segundos y 1,31 minutos.

Esta conducta de cortejo es muy similar a lo ocurrido en otras familias de Lepidoptera, como en el nóctuido *Spodoptera littoralis* Boisduval, donde los pasos conductuales hacia la feromona sintética fueron: inicio del vuelo, vuelo orientado hacia la fuente de feromona, acercamiento próximo a la fuente y contacto (Guerrero *et al.*, 2012).

La secuencia del cortejo de *L. dispar* ha sido descrita detalladamente por Charlton y Cardé (1990), quienes indican, que después del vuelo del macho en respuesta al llamado de la hembra, éste se le aproxima (en un radio de 5 cm alrededor de ella) y la contacta. El contacto inicial de macho con la hembra fue vía frontal en 73% de 33 machos, en menor porcentaje hubo un contacto con las antenas (24%) o el abdomen (3%). En respuesta a este contacto, la hembra retrae su glándula feromonal (esto no se observó en *P. auraria* por la calidad de las filmaciones) y pliega sus alas cercanas al cuerpo. Luego del contacto, el macho de *L. dispar* se mueve hacia adelante, paralelamente a la hembra, y se pone a su lado y comienza a flexionar su abdomen en 90° hacia ella, mientras expone sus pelos abdominales. En este punto la hembra normalmente comienza a inclinar su cuerpo y extiende las patas cerca del macho, y expone parcialmente la superficie ventral de su abdomen y provee el acceso al macho. El macho deja de aletear lentamente, luego posa su superficie ventral en la punta abdominal de la hembra con su genitalia, para contactar la apertura genital de la hembra. Luego, el macho deja de moverse y junta sus alas, dirige las antenas posterolateralmente y adopta la posición estacionaria de lado. En *P. auraria*, durante el primer contacto (PC) camina y aletea rápidamente, para posteriormente ubicarse en posición de acople (PA). En *L. dispar*, durante la cópula el macho toma la posición del

mismo lado de la hembra (los cuerpos se encuentran paralelos). En *P. auraria* los cuerpos permanecen alineados en sentido opuesto. La duración del cortejo fue de 41 segundos (rango de 6 - 169 segundos) y la mayoría de las secuencias ocurrió en menos de 30 segundos, con una duración total de la cópula de 40 a 70 min. En *P. auraria* la duración de la cópula fue de 36 a 110 minutos hasta el desacople.

Basado en estos resultados y las condiciones del presente estudio, se infiere que las respuestas conductuales durante el cortejo (desde el PC), serían iniciadas con la emisión de la feromona sexual de la hembra (llamado). Por lo tanto este comportamiento es compatible, por ejemplo, con una técnica atracticida basada en la feromona sexual, ya que es muy probable que el macho intente hacer contacto con la fuente feromonal (como se pudo apreciar en el campo) lo cual servirá como método de control para esta plaga.

Se ha señalado que “valores de SI cercanos a 0 implican que la conducta es muy variable y puede ser distribuida de manera equiprobable entre todos los comportamientos sucesivos”. Es decir, el paso de un acto “i” a otro “j”, presenta la misma probabilidad de transición que todos los otros posibles casos. Al mismo tiempo, valores de SI = 1 indican que el comportamiento del cortejo es muy estable (invariable) y siempre es precedido por un acto único, unidireccional y, por lo tanto, altamente estereotipado (Mori y Saito, 2005). Sin embargo, no existen valores de corte establecidos que definan un grado de estereotipia dentro de categorías (baja – media – alta) y que se utilicen universalmente (Ferrera, 2009). Se consideran como altamente estereotipadas las secuencias de comportamiento en que las frecuencias relativas tienden a 1, pero este índice no considera la ponderación de cada par de transiciones dentro de la secuencia, y tampoco se define el valor de corte que implique que los valores tiendan a “1” (Fagen y Young, 1978).

Las secuencias del cortejo y cópula de *C. rosaceana* y *P. pyrusana* son altamente estereotipadas, debido a que las probabilidades condicionales entre los pasos no alternativos son muy altas, en la mayoría de los casos son igual a 1, con el paso más bajo el “primer contacto a cabeza con cabeza” entre el macho y la hembra en *P. pyrusana* (Curkovic *et al*, 2006), resultado similar a lo ocurrido en el presente estudio con *P. auraria*.

En *L. dispar* la secuencia del cortejo fue moderadamente alta en el índice de estereotipia con un valor de 0,76. Sin embargo, las transiciones iniciales (desde que el macho aletea caminando y ocurre el primer contacto) fueron altamente estereotipadas con índices que excedieron de 0,92, mientras que las posteriores fueron en general menores (< 0,64) (Charlton y Cardé, 1990). Considerando esto, en *P. auraria* el SI de la conducta para el macho en el cortejo fue de 0,89 y para la hembra de 1,00, lo que indicaría que es una secuencia conductual altamente estereotipada. Debe tenerse presente que el número de secuencias de cortejo en este estudio fue bajo, por lo que se recomienda en futuros estudios aumentar tal número de parejas.

Desde una perspectiva aplicada, el conocimiento de estas conductas contribuye a comprender si ciertas tecnologías de manejo de plagas (por ejemplo, la confusión de cópula, atracticidas o autoconfusión) son viables de desarrollar para determinadas especies cuya conducta tienda a ser altamente estereotipada y mediada exclusivamente por estímulos

químicos (feromonas), sin necesidad de otras señales, y resultan promisorias para el desarrollo de herramientas alternativas de control.

## Conclusiones

- Los pasos conductuales consecutivos en el comportamiento sexual de *P. auraria* son dependientes.
- La conducta del llamado para *P. auraria*, ocurre mayoritariamente entre las 05:00 y 07:00 h, con una duración variable entre 0,80 a 230 min y es altamente estereotipada, con un SI de 0,90.
- La conducta de respuesta de aproximación y búsqueda en machos es levemente estereotipada, con un valor de 0,63.
- La conducta del cortejo es altamente estereotipada, con un SI de 0,89 y 1,00, para machos y hembras, respectivamente.
- En general, a pesar de las limitantes metodológicas del estudio, se concluye que el comportamiento sexual de *P. auraria* fue estereotipado.
- Finalmente, este estudio es un aporte como línea base conductual para desarrollar y evaluar métodos de control alternativos basados en la modificación de la conducta mediados por su feromona sexual, que resultan promisorios para el desarrollo de herramientas de manejo integrado de *P. auraria*.

### Literatura Citada

- Acin, P. 2007. Identificación de feromonas y proteínas implicadas en la percepción feromonal de lepidopteros plaga. Tesis Departamento de Química y Biología y Modelización Molecular de Instituto de Química avanzada de Cataluña. España. 237 p.
- Alexander, R.; D. Marshall, and J. Cooley. 1997. The evolution of mating. Systems in insects and arachnids. Cambridge University Press, New York, USA. pp 4-31.
- Altesor, P., C. Rossini, P. Zarbin, and A. González. 2009. Sex pheromone of the bud borer *Epinotia aporema*: Chemical identification and male behavioral response. Journal of Chemical Ecology 35: 349-354.
- Altesor, P., V. Horas, M. Arcia, C. Rossini, P. Zarbin, and A. González. 2010. Reproductive behaviour of *Crociosema (=Epinotia) aporema* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae): temporal pattern of female Calling and mating. Neotropical Entomology 39: 324-329.
- Altmann, J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. Behavior 49: 227-266.
- Álvarez, P. y R. González. 1982. Biología de la polilla enrolladora del peral, *Proeulia auraria* (Clarke). Revista Frutícola (Chile) 3: 75-80.
- Ambrogi, B., M. Fonseca, M. Coracini, and P. Zarbin. 2009. Calling behaviour and male response towards sex pheromone of poplar moth *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). Journal Pest Science 82: 55-60.
- Baker, T., and R. 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. Annals of the Entomological Society of America 72: 172-188.
- Baker, T., R. Nishida, and W. Roelofs. 1981. Close-range attraction of female Oriental fruit moths to herbal scent of male hairpencils. Science 214: 1359-1361.
- Baker, T. 1989. Pheromones and flight behavior. In: Insect flight. Capítulo 10. pp. 231-255.
- Cade W. 1985. Insect mating and courtship behavior. In: Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology. (eds.) G.A. Kerkut and L.I. Gilbert), Oxford: Pergamon Press. pp. 591-619.
- Campos, L., M. Faccin. N. Echeverría y L. Sazo. 1981. Distribución y ciclo evolutivo del tortrícido enrollador de la vid *Proeulia auraria* (Clarke). Agricultura Técnica 41: 246-256.



- Cardé, T., and K. Haynes. 2004. Structure of the pheromone communication channel in moths, p. 283-332. In: Cardé, R. T., and Millar J. G. (eds.) *Advances in insect chemical ecology*. Cambridge, Cambridge University Press, 341 p.
- Castrovilho, P., and R. Cardé. 1980. Male *codling moth* (*Laspeyresia pomonella*) orientation to visual cues in the presence of pheromones and sequences of courtship behaviors. *Annals of the Entomological Society of America* 73: 100-105.
- Cepeda, D. y G. Cubillos. 2011. Descripción del último estado larvario y recopilación de registros de hospederos, de siete especies de tortricidos de importancia económica en Chile (Lepidoptera: Tortricidae). *Gayana* 75: 14-42.
- Charlton, R. and R. Cardé. 1990. Behavioral interactions in the courtship of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 83: 89-96.
- Cichón, L., D. Fernández, D. Raffo y T. Ballivian. 2001. Técnica de la confusión sexual. Pautas para el uso correcto de la técnica de la confusión sexual en los Valles de Río Negro y Neuquén. Centro Regional Patagonia Norte. Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle (INTA), Argentina. 53 p.
- Curkovic, T. 2004. Behavioral responses of *Choristoneura rosaceana* (Harris) and *Pandemis pyrusana* kearfott (Lepidoptera: Tortricidae) males to attracticide sources. Thesis Doctor of Philosophy in Entomology. Washington State University, Department of Entomology. USA. 175 p.
- Curkovic, T. 2014. Nueva tecnología en base a feromona para el control de *Proeulia auraria*. *Redagícola Chile* 64: 66-67.
- Curkovic, T., J. Brunner, and P. Landolt. 2006. Courtship behavior in *Choristoneura rosaceana* and *Pandemis pyrusana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Annals of the Entomological Society of America* 99: 617-624.
- Curkovic, T., and J. Brunner. 2007. Short communication. Pheromone inhibitors for *Pandemis pyrusana* males (Lepidoptera: Tortricidae). *Spanish Journal of Agricultural Research* 5: 385-388.
- Espinoza, C. 2006. Comportamiento de forrajeo de *Vespula germanica* (F.) en laboratorio. Memoria Ingeniero Agrónomo, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad de Chile. Chile. 49 p.
- Faccin M. 1979. Feromona sexual del enrollador de la vid, *Proeulia auraria* (Clarke) (Lepidoptera, Tortricidae). Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. 64 p.

- Facundo, H., C. Linn, M. Villani, and W. 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 secuencias. In: Colgan, P. (Ed.), *Quantitative ethology*. Willey. New York, USA. pp. 100-107.
- Ferro, D., and R. Akre. 1975. Reproductive morphology and mechanics of mating of the Codling moth, *Laspeyresia pomonella*. *Annals of the Entomological Society of America* 68: 417-419.
- Ferrera, C. 2009. Caracterización del comportamiento de llamado y orientación hacia el compañero sexual en la sierra del manzano y asociación del llamado con variables climáticas y edad de las hembras. Tesis Magister en Ciencias Agropecuarias, Mención Sanidad Vegetal, Departamento de Sanidad Vegetal, Universidad de Chile. Chile. 84 p.
- Fernández, D. 2012. *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Aspectos de su taxonomía, comportamiento y monitoreo aplicados a programas de control en grandes áreas. Memoria Doctor Ingeniero Agrónomo. Universidad de Lleida. Lérida, España. 195 p.
- Finch, S. 1986. Assessing host-plant finding by insects. In: *Insect-plant interactions*. J.R. (eds.) Miller and T.A. Miller. Springer-Verlag, New York Inc, USA. pp. 23 - 63.
- Gemeno, C., J. Claramunt, and J. Dasca. 2005. Nocturnal calling behavior in mantids. *Journal of Insect Behavior* 18(3): 1572-8889.
- 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. Ediciones Ograma, Santiago, Chile. 310 p.
- González, R. 2003. Las Polillas de la fruta en Chile (Lepidoptera Tortricidae; Pyralidae). Serie Ciencias Agronómicas N° 9, Santiago, Chile. 188 p.
- Grant, C. 1987. Copulatory behavior of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): experimental analysis of the role of sex pheromone and associated stimuli. *Annals of the Entomological Society of America* 80: 78-88.
- Guerrero, A., A. Sans, and M. Riba. 2012. Disrupción de la comunicación química de insectos como estrategia en un control biorracional de plagas: 427-446. En: J.C. Rojas y E.A. Malo (eds.). *Temas Selectos en Ecología Química de Insectos*. Colegio de la Frontera Sur. México. 446 p.

- Haynes K., and M. Birch. 1984. Mate-locating and courtship behaviors of the artichoke plume moth, *Platyptilia carduidactyla* (Lepidoptera: Pterophoridae). *Environmental Entomology* 13(2): 399-408.
- Kennedy, J. 1977. Olfactory responses to distant plants and other odor sources. In: Shorey, H., and J. McKelvey, Jr., editions. *Chemical Control of Insect Behavior. Theory and Applications*. Willey-Interscience. pp. 67-91.
- 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.
- Mori, K., and Y. Saito. 2005. Communal relationships in a social spider mite, *Stigmaeopsis longus* (Acari: Tetranychidae): an equal share of labor and reproduction between nest mates. *Ethology* 112: 134-142.
- Palaniswamy, P., W. Seabrook and R. Ross. 1979. Precopulatory behavior of males and perception of a potential male pheromone in spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 544-551.
- Osorio-Osorio, R. y J. Cibrián-Tovar. 2000. Conducta de cortejo del barrenador de la caña de azúcar *Diatraea considerata* Heinrich (Lepidoptera: Pyralidae). *Agrociencia* 34: 619-626.
- Parra, A., A. Cossé, Y. Murata, J. Bento, E. Vilela, and W. Leal. 2006. Towards the identification and synthesis of the sex pheromone of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) *Neotropical Entomology* 35: 12-8.
- Razowski, J., and V. Pelz. 2010. Tortricidae from Chile (Lepidoptera: Tortricidae). *Revista de Lepidopterología*. 38: 5-55.
- Reyes-García L., Y. Cuevas, C. Ballesteros, T. Curkovic, C. Löfstedt, and J. Bergmann. 2014. A 4-component sex pheromone of the Chilean fruit leafroller *Proeulia auraria* (Clarke) (Lepidoptera: Tortricidae). *Ciencia e Investigación Agraria* 41(2): 187-196.
- Ripa, R. y P. Larral. 2008. Manejo de plagas en paltos y cítricos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Colección libros INIA N°23. 116 p.
- Shimizu, K., and Y. Tamaki. 1980. Releasers of male copulatory attempt in the smaller tea tortrix moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Applied Entomology and Zoology* 15: 140-150.
- Van der Geest, L., and H. Evenhuis. 1991. Tortricid pests their biology natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 808 p.

Veá, J. 1990. Variabilidad conductual y comportamiento adaptativo. *Revista de Psicología General y Aplicada* 43: 443-449.

Vickers, R.A., and G.H.I. Rothschild. 1991. Use of sex pheromone for control of codling moth. In: *Tortricid Pests: Their Biology, Natural Enemies and Control*. World Crop Pests, ed. by W. Helle, Elsevier, pp. 339-354.

Weissling, T., and A. Knight. 1996. Oviposition and calling behavior of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in the presence of codlemone. *Annals of the Entomological Society of America* 89(1): 142-147.

## APÉNDICE 1

### Resultados de análisis estadísticos

#### Estadígrafo “Y” de frecuencias observadas de los pasos conductuales del llamado en hembras vírgenes de *P. auraria*.

**Cuadro 1.** Valores de estadígrafo Y de frecuencias observadas de los pasos conductuales del llamado de *P. auraria*, contrastadas con el valor crítico al 1% de significancia (0,0714) (g.l. = 1).

| Celda (i,j) | Y     |
|-------------|-------|
| 1,2         | 10,48 |
| 1,3         | 0,00  |
| 2,1         | 0,00  |
| 2,3         | 8,48  |
| 2,6         | 3,01  |
| 3,4         | 8,48  |
| 3,5         | 0,00  |
| 4,5         | 10,20 |
| 5,2         | 0,00  |
| 5,6         | 0,00  |

#### Estadígrafo “Y” de frecuencias observadas de los pasos conductuales del vuelo en machos de *P. auraria* a fuentes feromonales.

**Cuadro 2.** Valores de estadígrafo Y de frecuencias observadas de los pasos conductuales del llamado de *P. auraria*, contrastadas con el valor crítico al 1% de significancia (0,16) (g.l. = 1).

| Celda (i,j) | Y     |
|-------------|-------|
| 1,2         | 0,63  |
| 1,3         | 0,65  |
| 1,4         | 0,42  |
| 2,4         | 0,06  |
| 2,5         | 0,14  |
| 3,4         | 0,06  |
| 3,5         | 0,14  |
| 4,3         | -0,04 |
| 4,5         | 0,47  |

**Estadígrafo “Y” de frecuencias observadas de los pasos conductuales del cortejo para machos de *P. auraria*.**

**Cuadro 3.** Valores de estadígrafo Y de frecuencias observadas de los pasos conductuales en machos *P. auraria* para el comportamiento de cortejo, contrastadas con el valor crítico al 1% de significancia (0,10) (g.l. = 1).

| Celda ( <i>i,j</i> ) | Y     |
|----------------------|-------|
| 1,2                  | 1,30  |
| 1,3                  | -0,11 |
| 2,3                  | 1,23  |
| 3,4                  | 1,50  |
| 4,5                  | 1,50  |

**Estadígrafo “Y” de frecuencias observadas de los pasos conductuales del cortejo para hembras de *P. auraria*.**

**Cuadro 4.** Valores de estadígrafo Y de frecuencias observadas de los pasos conductuales en hembras *P. auraria* para el comportamiento de cortejo, contrastadas con el valor crítico al 1% de significancia (0,10) (g.l. = 1).

| Celda ( <i>i,j</i> ) | Y    |
|----------------------|------|
| 1,2                  | 1,50 |
| 2,3                  | 1,50 |
| 3,4                  | 1,50 |
| 4,5                  | 1,50 |