



UNIVERSIDAD DE CHILE -FACULTAD DE CIENCIAS -ESCUELA DE
PREGRADO

“Efecto de la iluminación en el patrón respiratorio de reposo en
Astylus trifasciatus (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera: Melyridae):
Una aproximación experimental al efecto de la contaminación
lumínica en insectos.”

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los
requisitos para optar al Título de Bióloga con mención en medio ambiente.

SOFÍA RAQUEL VALENZUELA ZUCCAR

Director del Seminario de Título:

CLAUDIO PATRICIO VELOSO IRIARTE

Noviembre 2020
Santiago - Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TITULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la **Srta. Sofía Valenzuela Zuccar**

“Efecto de la iluminación en el patrón respiratorio de reposo en *Astylus trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleptera: Melyridae): Una aproximación experimental al efecto de la contaminación lumínica en insectos.”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Bióloga con mención en medio ambiente.

Director Seminario de Título: **Dr. Claudio Veloso**

Comisión Revisora y Evaluadora

Presidente Comisión: **Dr. Pablo Sabat (Fac. de Ciencias)**

Evaluador: **Dr. Cristian Villagra (UMCE)**

Santiago de Chile, 16 de noviembre de 2020.

BIOGRAFÍA



Sofía Raquel Valenzuela Zuccar nació en la ciudad de Santiago el domingo 24 de Abril del año 1994. Partio su educación a temprana edad a manos de su abuela con quien vivía (junto a su madre y su tía menor), factor que considera muy importante en su desarrollo intelectual y rendimiento escolar en años posteriores. Al nacimiento de su menor y única hermana, paso a vivir con su madre y padrastro. Hasta 2013 donde se mudo a vivir con su tía.

Tenia buenas calificaciones y buen comportamiento en el ambiente escolar, llegando a ser parte del centro de alumnos durante su 3er año medio en el colegio Ruben Dario, de donde egreso el año 2011. Posteriormente el año 2012 estaría ingresando a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, en la que continuo hasta cumplir su egreso el año 2018. Actualmente se encuentra desarrollando el presente Seminario de titulo con el que busca obtener Título de Bióloga con mención en medio ambiente.

*Le dedico el trabajo de este escrito a Edith,
te extraño y te amo mucho.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a mi tutor, Doc. Claudio Veloso, por su apoyo, conocimiento, paciencia y compromiso. Sobre todo, durante los agitados tiempos del estallido social donde me cubrió las espaldas durante la realización de los experimentos, y durante el desarrollo estadístico de este trabajo, que no era mi fuerte. A mi tía Irene por cubrirme bajo su ala cuando no tenía donde ir y cuidarme hasta el día de hoy, a mi abuela Edith, donde siempre encontré un lugar de cariño y calma para confortarme, y a César por acompañarme durante esta travesía.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA	i
BIOGRAFÍA	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis	9
Predicciones.....	9
Objetivo general	10
Objetivos específicos.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Captura y mantención de los animales	11
Tratamientos experimentales y experimentos	12
Respirometría	13
Análisis de los patrones de intercambio gaseoso y metabolismo	14
Rendimiento	17
Temperatura preferencial	18
Longevidad	18
Análisis estadísticos	19
RESULTADOS	20
Análisis de los patrones de intercambio gaseoso y metabolismo	20
Rendimiento	27
Temperatura preferencial	31

Longevidad	32
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIÓN	37
BIBLIOGRAFÍA	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Brillo del cielo nocturno en Chile continental.....	3
Figura 2: Brillo del cielo nocturno en Santiago, Chile	4
Figura 3: Emisión de CO ₂ mostrando intercambio gaseoso discontinuo (DGE)	8
Figura 4: Brillo del cielo nocturno en los puntos de captura de <i>Astylus trifasciatus</i>	11
Figura 5: Fases de un ciclo en DGE	15
Figura 6: Registro respirométrico total (12h).....	16
Figura 7: DGE total (12h).....	20
Figura 8: Ciclos totales registrados (12h).....	21
Figura 9: Duración fases C+F	22
Figura 10: Duración fase O.....	22
Figura 11: Duración total ciclo (C+F+O).....	23
Figura 12: Frecuencia ciclos	23
Figura 13: Emisión CO ₂ total	24
Figura 14: Emisión CO ₂ promedio	25
Figura 15: Emisión CO ₂ promedio en función de m_b	25
Figura 16: Emisión máxima CO ₂	26
Figura 17: Curva de rendimiento.....	27
Figura 18: CTmin	28
Figura 19: CTmax.....	28
Figura 20: T op	29
Figura 21: Tbr	29
Figura 22: Dist max.....	30
Figura 23: Temperatura preferencial	31
Figura 24: Longevidad	32

LISTA DE ABREVIATURAS

ALAN	Luz artificial durante la noche
CGE	Intercambio gaseoso cíclico
CoGE	Intercambio gaseoso continuo
DGE	Intercambio gaseoso discontinuo
M_b	Masa corporal
LO	Ciclo Luz/Oscuridad
LLL	Tratamiento de luz continúa medido en condición de luz
LLO	Tratamiento de luz continúa medido en condición de oscuridad
LOL	Tratamiento de LO medido en condición de luz
LOO	Tratamiento de LO medido en condición de oscuridad
CTmax	Temperatura crítica máxima
CTmin	Temperatura crítica mínima
T_o	Temperatura optima
T_{br}	Amplitud de rendimiento
Dist max	Distancia máxima

RESUMEN

Se ha reportado ampliamente que la contaminación lumínica es un factor problemático para el medio ambiente. Para insectos crepusculares y nocturnos se han reportado efectos negativos sobre su reproducción e historia de vida, aumento de su mortalidad, acompañado de disrupción o alteración en las dinámicas poblacionales y las redes tróficas donde están involucrados. Esto ha repercutido en la biodiversidad de estos insectos en zonas afectadas por este tipo de contaminación. Sin embargo, a pesar de que el exceso de luz también podría corresponder a una fuente de estrés, afectado la calidad y cantidad del reposo en distintas especies diurnas, poco se sabe sobre este tema, siendo posible sugerir la existencia de efectos negativos de esta contaminación en el descanso de animales de hábitos diurnos. En este estudio, se evaluaron las consecuencias fisiológicas de la exposición a luz artificial durante el periodo de reposo de *Astylus trifasciatus* (Coleoptera), un melrido diurno nativo de Chile central.

Individuos de *A. trifasciatus* fueron mantenidos en dos tratamientos experimentales: luz continua (24h), o ciclo de luz/oscuridad (14h:12h), para determinar si existen efectos a causa de la exposición continua a luz artificial durante su periodo de reposo sobre parámetros fisiológicos tales como: i) su metabolismo (producción de CO₂) en reposo durante la noche (tanto en condiciones de luz como de oscuridad), ii) su rendimiento (donde se registró la velocidad de caminata a temperaturas entre 5 a 40°C), ambos luego de una semana de exposición, iii) su temperatura preferencial (en un gradiente entre 10 a 50 °C ± 5°C), luego de dos semanas de exposición, y iv) la cantidad de días de sobrevivencia desde el inicio de los tratamientos (i.e longevidad). Contrario a lo esperado, no se encontraron efectos sobre los parámetros fisiológicos medidos. Sin embargo, la exposición continua de luz artificial durante el periodo de reposo de *A.*

trifasciatus afecto significativamente su longevidad, donde aquellos que se mantuvieron con un ciclo normal de luz/oscuridad vivieron más que aquellos expuestos a luz continua.

Por lo que se discute la relevancia de estos hallazgos bajo el marco del declive global de insectos, siendo importante analizar más ampliamente los efectos sobre la longevidad de los individuos mediante experimentos donde estos sean expuestos durante distintos periodos de tiempo a una perturbación lumínica, e incluso a distintos niveles de perturbación, o a individuos de poblaciones con distinto nivel de exposición en la naturaleza.

ABSTRACT

Light pollution has been widely reported as a problem factor for the environment. In nocturnal and crepuscular insects, negative effects have been reported on their reproduction and life history, increased mortality, accompanied by disruption or alteration in the population dynamics and the trophic networks where they are involved. This has had an impact on the biodiversity of these insects in areas affected by this type of pollution. However, despite the fact that excess light could also correspond to a source of stress, affecting the quality and quantity of rest in different diurnal species, little is known about this issue, and it is possible to suggest the existence of negative effects of this pollution in the rest of animals of diurnal habits. In this study, the physiological consequences of exposure to artificial light during the resting period of *Astylus trifasciatus* (Coleoptera), a diurnal melirid native to central Chile, were evaluated.

Individuals of *A. trifasciatus* were maintained in two experimental treatments: continuous light (24h), or light / dark cycle (14h: 12h), to determine if there are effects due to continuous exposure to artificial light on its rest period over physiological parameters such as: i) their metabolism (CO₂ production) at rest during the night (both in light and dark conditions), ii) their performance (where the walking speed was recorded at temperatures between 5 to 40 ° C), both after one week of exposure, iii) its preferential temperature (in a gradient between 10 to 50 ° C ± 5 ° C), after two weeks of exposure, and iv) the number of days of survival from the beginning of the treatments (i.e. longevity). Contrary to expectations, no effects were found on the physiological parameters measured. However, the continuous exposure to artificial light during the resting period of *A. trifasciatus* had a significant effect on its longevity, where those that were maintained with a normal light / dark cycle lived longer than those exposed to continuous light.

Therefore, the relevance of these findings under the framework of the global decline of insects is discussed, being important to analyze more widely the effects on the longevity of individuals through experiments where they are exposed for different periods of time to a light disturbance, and even to different levels of disturbance, or to individuals in populations with different levels of exposure in nature.

INTRODUCCIÓN

En el trabajo *The First Atlas of Artificial Night Sky Brightness* (Cinzano y col., 2001) se documenta que más del 60% de la población mundial vive bajo cielos nocturnos contaminados por luz artificial, la cual continuará incrementando alrededor del mundo. En los países de altos ingresos e ingresos sobre la media, la mayor parte de su población vive en áreas urbanas: un 80% y un 63%, respectivamente (United Nations Urbanization Prospects, 2014), donde la mayor parte de las fuentes de luz artificial están concentradas, principalmente, en campos deportivos, edificios comerciales e industriales y luminaria pública (Luginbuhl y col., 2009). Esta última ha sido una prioridad para los gobiernos y administraciones, para zonas urbanas y suburbanas, debido a que conlleva a la reducción del crimen -y miedo a este- junto a un incremento del uso peatonal de las calles después del ocaso (Painter, 1996), haciendo las calles más seguras para el uso de la población durante las 24h.

Como consecuencia del exceso de luz artificial asociado a un incremento del bienestar humano, se ha transformado el cielo nocturno en relación a su composición e intensidad de radiación lumínica (Kyba y col., 2011; Davies y col., 2013). Este fenómeno se conoce como ALAN por sus siglas en inglés (artificial light at night o luz artificial durante la noche), y uno de sus principales impactos es el aumento en el brillo del cielo nocturno debido a la luminosidad del mismo, i.e. “resplandor del cielo” (Cinzano y col., 2001). Este último surge de la luz dispersada por moléculas atmosféricas y aerosoles, tanto naturales como artificiales (Luginbuhl y col., 2014), seguido por el traspaso de la luz en el ambiente y el resplandor, lo que se traduce en más de un 23% del cielo nocturno terrestre contaminado por ALAN (Falchi y col., 2016).

En Chile, el 20,8 % de los cielos se reportaron como contaminados por luz entre los años 1996 y 1997 (Cinzano y col., 2001). Sin embargo, en “The new world atlas of artificial night sky brightness” (Falchi y col., 2016) este valor aumento a un 48,6% (Fig. 1), posicionándolo como uno de los 20 países más contaminados lumínicamente en el mundo (puesto 19°). Esta situación hace que su biodiversidad se encuentre probablemente expuesta y amenazada por la contaminación lumínica. Se estima que un 40% de la población se encuentra expuesta a niveles extremos de brillo, muy por sobre $3000\mu\text{cd}/\text{m}^2$, que corresponde al valor desde el cual el ojo humano ya no puede adaptarse a la luminosidad (Falchi y col., 2016). Solo como ejemplo, en la capital del país, Santiago de Chile, el brillo nocturno es más del doble que este límite (Fig. 2).

Existe consenso en que la contaminación lumínica es un factor problemático para el medio ambiente. La presencia de ALAN puede interrumpir la conectividad en los hábitats (Bennie y col., 2014; Bliss-Ketchum y col., 2016), modificar la abundancia y distribución de animales (Verheijhen, 1985; Longcore & Rich, 2004; Hölker y col., 2010a; Gaston & Bennie, 2014), alterar la conducta alimentaria de especies que requieren de la oscuridad para esta actividad (Rotics y col., 2011), desorientar animales que usan la luz natural del cielo nocturno como guía de orientación durante el vuelo (Tuxbury & Salmon, 2005; Kamrowski y col., 2014), elevar la tasa de mortalidad a consecuencia del comportamiento de “vuelo hacia la luz” (Longcore y col., 2008; Bocetti, 2011; Merkel & Johansen, 2011; Longcore y col., 2013) o por el aumento de exposición a depredadores (Santos y col., 2010; Bolton y col., 2017), influir sobre el comportamiento de apareamiento en animales (Baker & Richardson, 2006), o incluso alterar la fisiología de las plantas y afectar su polinización (Matzke, 1936; Neil & Wu, 2006; Bennie et al., 2015; MacGregor y col., 2015; Knop y col., 2017), entre muchos otros problemas.

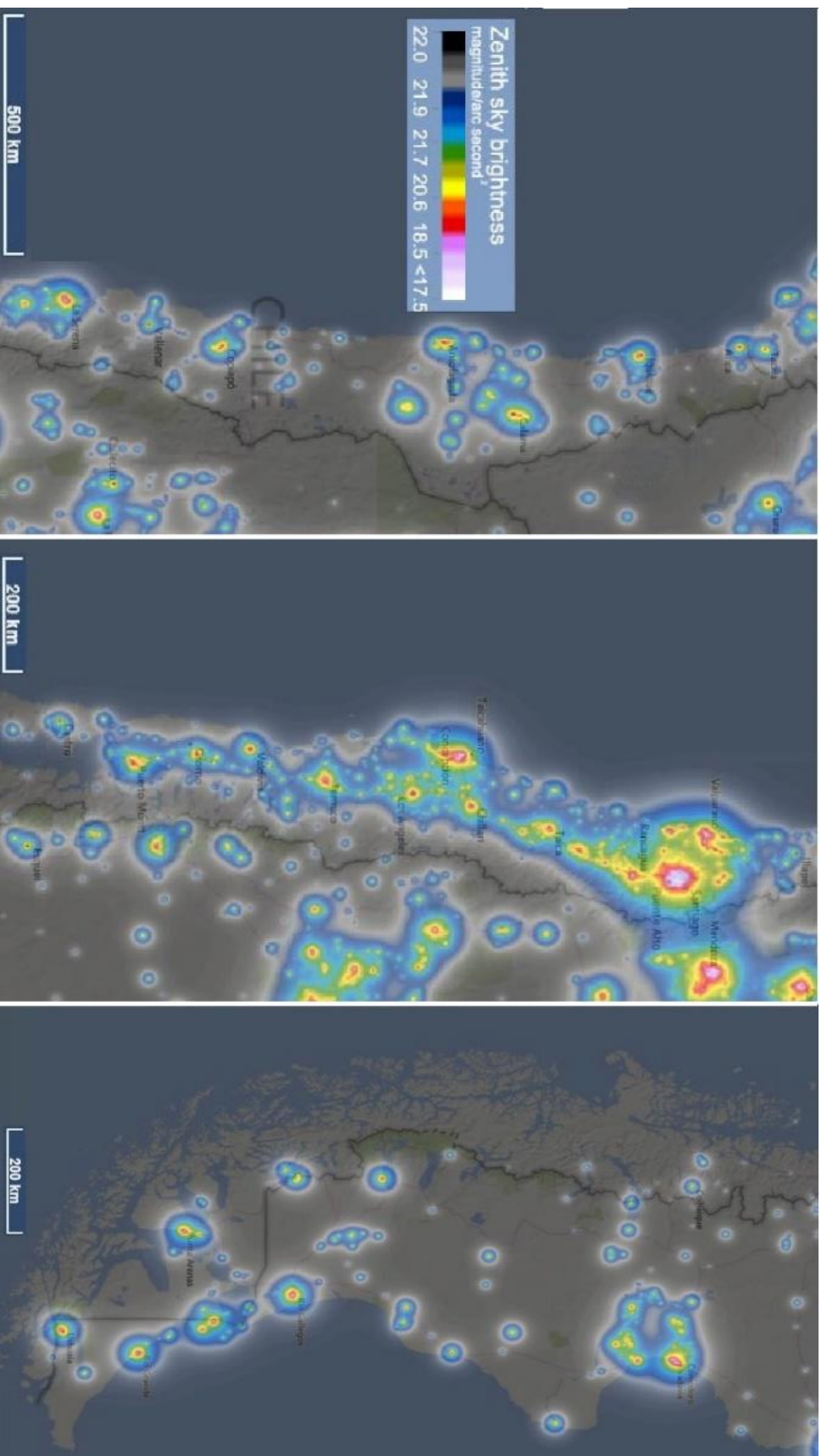


Figura 1. Brillo del cielo nocturno en Chile continental. a) 17° a 31° S, XV Región de Arica y Parinacota hasta la IV Región de Coquimbo; b) 31° a 43° S, IV Región de Coquimbo hasta la X Región de Los Lagos; y c) 43° a 55° S, Región de Los Lagos hasta la Región XII de Magallanes. La escala de color muestra el brillo del cielo en el cenit (mag./arc s²), desde el cielo nocturno más oscuro (negro) al más iluminado (blanco) (<https://www.lightpollutionmap.info/>, información de 2015 de Falchi y col., 2016).

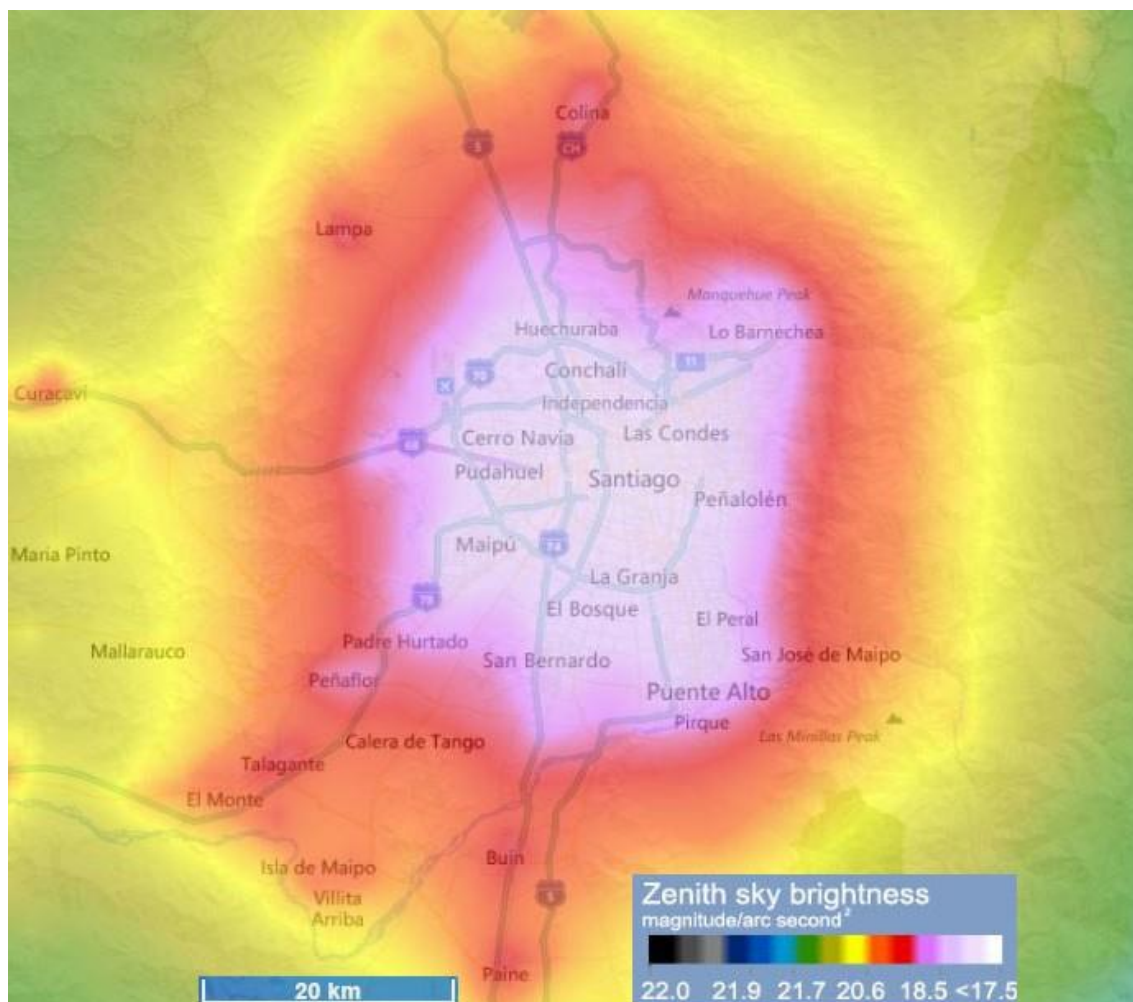


Figura 2. Brillo del cielo nocturno en Santiago, Chile. El punto más brillante es de $7990\mu\text{cd}/\text{m}^2$, siendo 46,7 veces la luz natural del cielo nocturno local, correspondiente al área de la Plaza de la Constitución ($33^\circ 26' 30'' \text{ S} / 70^\circ 39' 15'' \text{ W}$), en el centro de la ciudad. La escala de color muestra el brillo del cielo en el cenit (mag. /arc s^2), desde el cielo nocturno más oscuro (negro) al más iluminado (blanco). (<https://www.lightpollutionmap.info/>, información de 2015 de Falchi y col., 2016).

En resumen, estas alteraciones afectan procesos ecológicos tales como la depredación, competencia y uso de hábitat, modificando el tiempo que los organismos pasan en actividades tales como conducta alimentaria, de refugio o descansando (Kronfeld-Schor & Dayan, 2003; Gutman & Dayan, 2005; Bennie y col., 2014) debido a la reducción de espacios naturalmente oscuros (Vollsnes y col., 2009; Bradshaw & Holzapfel, 2010; Gaston y col., 2013). Esta disrupción en el ambiente fótico nocturno conlleva por tanto a cambios a nivel individual, poblacional y ecosistémico (para resúmenes ver Rich & Longcore, 2006; Navara & Nelson, 2007; Gaston y col., 2014, 2015; Jones y col., 2015; Tierney y col., 2017).

En Chile los efectos negativos de la contaminación lumínica son menos conocidos, y en el campo de la entomología en general se enfocan en insectos de hábitos nocturnos y crepusculares. Por ejemplo, se ha documentado que el comportamiento de vuelo hacia la luz aumenta directa e indirectamente la mortalidad en insectos ya que muchos mueren instantáneamente al entrar en contacto con la fuente de luz, en tanto otros son cazados o mueren por el vuelo exhaustivo al quedar atrapados volando a su alrededor debido a la atracción por esta (Eisenbeis, 2006). También se ha encontrado importantes efectos de ALAN en polillas, a las que inhibe la iniciación de la diapausa en pupas (van Geffen y col., 2014), reduce la producción de hormonas sexuales (van Geffen y col., 2015a) y apareamiento (van Geffen y col., 2015b), e interrumpe la alimentación (van Langevelde et al., 2017); en luciérnagas (Coleoptera: Lampyridae) reduce el comportamiento de cortejo y éxito de apareamiento (Firebaugh & Haynes, 2016); en moscas *Drosophila melanogaster*, Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae) disminuye la fecundidad y la supervivencia del adulto, prolonga el cortejo y altera los patrones de ovoposición (McLay y col., 2017, 2018); reduce la capacidad de regular la respuesta inmune en el grillo negro

australiano, *Teleogryllus commodus* Walker, 1869 (Orthoptera: Gryllidae) (Durrant y col., 2015); e incluso puede transformar a las hembras de áfido *Megoura viciae*, Buckton, 1876 (Hemiptera: Aphididae) de sexualmente activas a un modo asexual de reproducción, donde dan a luz crías vivas (clones) (Sanders et al., 2015). Se puede observar entonces, que la contaminación lumínica amenaza a los insectos reduciendo su biomasa total y tamaños poblacionales, cambiando la composición relativa de las poblaciones y comunidades, teniendo consecuencias en las redes tróficas donde están involucrados (Hölker, 2010b; Nankoo y col., 2019), siendo parte de las explicaciones subyacente al decline global de las poblaciones de insectos (Fox, 2012; Owens & Lewis, 2018; Bolliger y col., 2020; Boyes y col., 2020; Owens y col., 2020; Rydell y col., 2020). A pesar de lo anteriormente mencionado, poco se conoce de los efectos de ALAN en insectos diurnos. Existen sin embargo algunos estudios que indirectamente abordan el tema, principalmente enfocados en memoria y aprendizaje. Así, Zimmerman (2004), observa que moscas mutantes sin ojos presentan un mayor reposo, tanto en tiempo como en calidad, en total oscuridad que, al ser expuestas a luz artificial, y también existe evidencia que la privación de sueño afecta la consolidación de la memoria en moscas y abejas (Le Glou y col., 2012; Hussaini y col., 2009).

En base a estos antecedentes es posible suponer algunos efectos de ALAN en insectos diurnos, ya que el exceso de luz afecta la calidad y cantidad de reposo. Estudios tendientes a entender los efectos de la luminosidad en insectos diurnos podría generar entonces información importante en una era donde los insectos sufren una de las tasas de extinción más altas registradas (Sorg y col., 2013; Hallmann y col., 2017) y el potencial de un “Armagedón ecológico” a consecuencia de esto (Leather, 2018; Carrington, 2017), afectando los servicios ecosistémicos en que participan (Schowalter y col., 2018; Macgregor & Scott-Brown, 2020). En este trabajo se estudiaron los efectos que ALAN

puede tener sobre el metabolismo energético, rendimiento locomotor (utilizado como una aproximación a la adecuación biológica a nivel individual por medio de la velocidad de caminata; Bennett & Huey, 1990), y longevidad en insectos diurnos al perturbar el periodo de reposo.

Para insectos, en una especie o incluso en un mismo individuo, es posible identificar tres patrones de intercambio gaseoso diferentes: continuo, cíclico y discontinuo o DGE (de sus siglas en inglés, *Discontinuous gas Exchange*, Punt y col., 1957). Este último es clasificado como un rasgo fisiológico característico del estado de reposo, y presenta un patrón de tres fases claro y medible: 1) Fase abierta (O), donde una gran cantidad de CO₂ es liberado en poco tiempo a consecuencia de la apertura total de los espiráculos; 2) Fase cerrada (C), la cual está asociada a un cierre total de los espiráculos; y 3) Fase "Flutter" (F), donde se observa una apertura y cierre rápido y consecutivo de los espiráculos, generando una pequeña liberación de CO₂ (Thienel y col. 2015; Chown & Nicolson, 2004; Fig. 3), permitiendo describir detalladamente cambios en el patrón de intercambio gaseoso y por consecuencia en el metabolismo del insecto.

En este trabajo se propone estudiar este fenómeno en el pololo común, *Astylus trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera: Melyridae), un coleóptero melírido diurno nativo de Chile central que presenta un claro patrón de DGE durante los periodos de reposo (C. Veloso, comunicación personal), permitiendo una fácil evaluación de cambios metabólicos debido a perturbaciones a través de respirometría. Esta especie es el único representante del género *Astylus* (endémico de América, Champion, 1918) en Chile, pertenece a la familia Melyridae, correspondiente a coleópteros medianos que se alimentan principalmente de polen en la adultez (Willemstein, 1987). *Astylus trifasciatus* se distribuye principalmente entre las regiones de Valparaíso y Los Lagos (Solervicens

& Estrada, 1997; Estrada, 2002), pudiendo habitar alturas de 2000 m s.n.m. (C. Veloso comunicación personal), cuyas larvas habitan en sustratos (Solervicens & Estrada, 1997), exponiendo solo a los adultos a los efectos de la contaminación lumínica. Se le considera un polinizador nativo (Solervicens & Estrada, 1997), colocándole en un importante nivel ecológico y ecosistémico (Barriga, 1995; Ollerton, 2017)

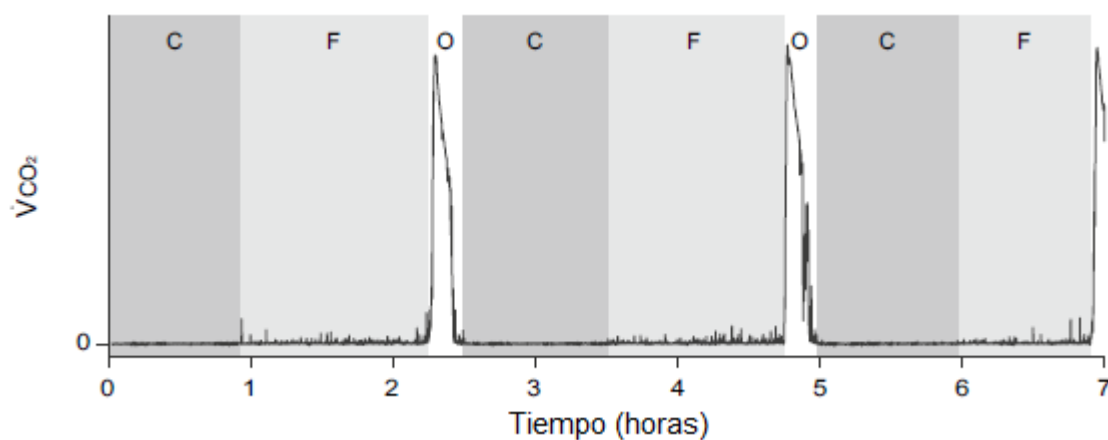


Figura 3. Emisión de CO_2 mostrando intercambio gaseoso discontinuo (DGE) de una pupa de la polilla *Samia cynthia* mantenida a 10°C . Las tres fases están indicadas por rectángulos gris oscuro, gris claro y blanco: cerrada (C), flutter (F), abierta (O), respectivamente. Modificado de Matthews y Terblanche (2015).

Debido a lo expuesto anteriormente, se plantea que la disrupción en el ambiente fótico nocturno podría llegar a perturbar el descanso de individuos diurnos como *A. trifasciatus* adultos y tener efectos sobre su organismo, lo que nos lleva a la Hipótesis planteada a continuación.

Hipótesis:

H₁: La exposición continua a luz artificial durante el periodo de reposo de *Astylus trifasciatus* afecta la fisiología de este insecto su estado adulto.

H₀: La exposición continua a luz artificial durante el periodo de reposo de *Astylus trifasciatus* no afecta la fisiología de este insecto su estado adulto

Predicciones:

P₁-Si la hipótesis planteada es correcta, este efecto se verá reflejado en un aumento en su metabolismo, alterando su patrón de intercambio gaseoso durante el reposo, aumentando las emisiones de CO₂, disminución de la duración de los ciclos respiratorios y aumentará su frecuencia, junto a una reducción en el tiempo en este estado.

P₂-Estos cambios fisiológicos deberían verse reflejados en el rendimiento, por lo que se espera que animales expuestos a contaminación lumínica bajen su velocidad máxima de caminata, aumenten su temperatura preferencial asociado a una mayor actividad, y disminuyan su longevidad en comparación individuos que son expuestos a ciclos normales de Luz/Oscuridad.

Objetivo general:

Estudiar el impacto de la contaminación lumínica durante la fase de reposo sobre la fisiología de *Astylus trifasciatus*

Objetivos específicos:

1-Analizar y comparar los patrones de intercambio gaseoso, curva de rendimiento, temperatura preferencial entre individuos de *Astylus trifasciatus*, provenientes de la zona central de Chile, expuestos a un régimen lumínico de 24h en comparación a un ciclo normal de Luz/Oscuridad.

2-Estudiar si la exposición a un régimen lumínico de 24h en comparación a un ciclo normal de Luz/Oscuridad tiene un impacto en la longevidad de individuos de *Astylus trifasciatus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura y mantención de los animales

Diecinueve individuos (16 hembras y 4 machos) de la especie *Astylus trifasciatus* fueron capturados en la cordillera de la costa en el valle central de Chile el 18 de Septiembre en la localidad de Olmué, sector Lo Narváez ($33^{\circ} 01' 09''$ S / $71^{\circ} 11' 08''$ O, altitud e 151 m.s.n.m.) y 38 individuos (36 hembras y 2 machos) el 6 de Octubre en la Cuesta la Dormida, ladera occidental ($33^{\circ} 04' 11''$ S / $70^{\circ} 58' 47''$ O, altitud 829 m.s.n.m.), entre las localidades de Olmué y Tiltil, V Región de Valparaíso (Fig. 3). En ambos puntos de muestreo el cielo nocturno observado es de clase 4, correspondiente a la transición rural/suburbana con baja contaminación lumínica (<https://www.lightpollutionmap.info/>, 2015 información de Falchi et al., 2016).

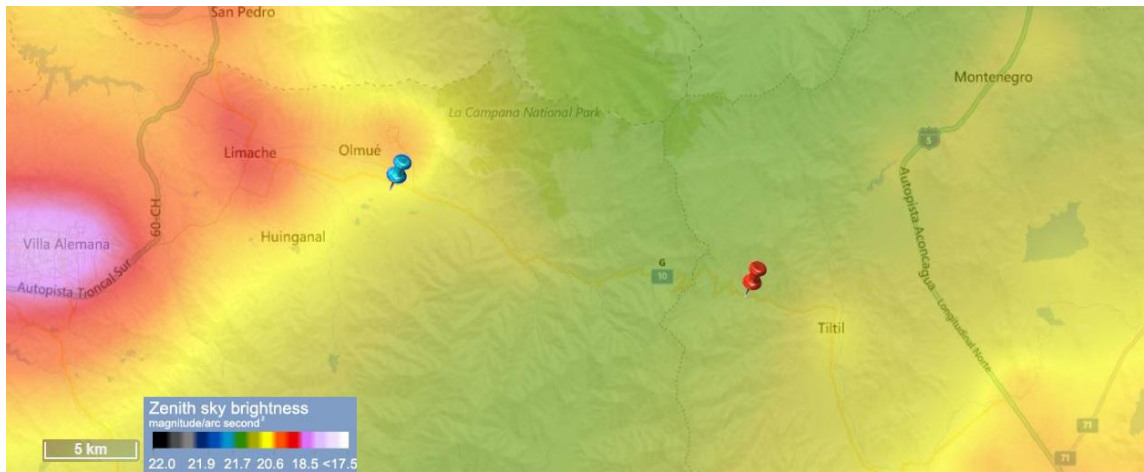


Figura 4. Brillo del cielo nocturno en los puntos de captura de *Astylus trifasciatus*. Localidad de Olmué en la marca azul y Cuesta la Dormida en la marca roja. La escala de color muestra el brillo del cielo en el cenit (mag./arc s²), desde el cielo nocturno más oscuro (negro) al más iluminado (blanco) (<https://www.lightpollutionmap.info/>, información de 2015 de Falchi y col., 2016)

Los individuos fueron recolectados por colecta activa y transportados al laboratorio de Ecofisiología de Invertebrados, Facultad de ciencias de la Universidad de Chile, en cajas plásticas con agujeros de ventilación. Fueron mantenidos en dos jaulas de tela de 30 cm³ separados por sexo, con fotoperiodo normal, cercanos a una ventana con una temperatura ambiental aproximada de 23±2 °C. Fueron alimentados con polen granulado comercial (marca Aura Vitalis) molido, agua fresca y una solución de sacarosa *ad libitum*, estos últimos dispuestos en placas Petri con papel absorbente para evitar que se ahogasen. Debido a la disparidad de sexos en los individuos colectados, los experimentos solo se realizaron con individuos hembra.

Tratamientos experimentales y experimentos

Para establecer los ciclos de temperatura ambiente de los tratamientos experimentales y experimentos de respirometría, se utilizó la información de la estación meteorológica más cercana al sitio de captura, correspondiente a la estación “La Platina”, ubicada en la comuna de La Pintana, Santiago. La base de datos climatológicos fue obtenida de forma online de AGROMET (www.agromet.inia.cl, visitado el 17 de julio de 2019), de la red agrometeorológica de INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias).

Para el rango de temperatura ambiental usado en los tratamientos se calculó el promedio del mínimo (para la noche) y el máximo (para el día) de los valores absolutos de temperatura del aire, entre los meses de septiembre y diciembre (correspondiente al periodo de realización de los experimentos), desde 2012 (primer año de información continua disponible), hasta 2018. Para establecer la temperatura de medición metabólica se calculó la temperatura media nocturna, entre las 20:00 y 8:00 hrs, para cada día entre el 1ero de septiembre y el 1ero de enero del año siguiente, entre los años 2012 y 2018.

Después de una semana de aclimatación a las condiciones del laboratorio, los animales fueron transferidos a cámaras de tratamiento, consistidas en sistemas con flujo de aire abiertos, a las cuales se les puede configurar un fotoperiodo y temperatura ambiental específica por cierta cantidad de tiempo, pudiendo simularse el día y la noche, con su respectiva temperatura ambiental, una para cada condición experimental: a) 24 h de luz continua (LL), o b) Un ciclo de 14:10 h de luz/oscuridad (LO), con un ciclo de temperatura ambiental entre los 10°C y 25°C, para la noche y el día respectivamente. Después de una semana de tratamiento los individuos fueron asignados a los experimentos: un grupo a respirometría para la medición de metabolismo en reposo, i.e. producción de CO₂ (n=32), y otro grupo al experimento de rendimiento (n=15), registrándose el peso de los individuos antes y después de cada experimento. Posteriormente los animales fueron mantenidos en su cámara de tratamiento asignada, y luego de otra semana se realizaron los experimentos de temperatura preferencial (n=37).

Respirometría:

Los experimentos de respirometría fueron realizados durante la noche (fase de reposo), una semana después del inicio de los tratamientos experimentales, entre las 6:00 p.m. y las 10 a.m., midiendo la masa corporal (m_b) de los individuos al ingresar y al salir de la cámara metabólica. El sistema de medición se puso en marcha una hora antes del inicio de los experimentos para limpiar los restos de CO₂ y agua dentro de los conductos del aparato y registrar la línea base. Para cada tratamiento (LL/LO) los individuos se dividieron en dos condiciones de medición: con luz artificial (LLL/LOL), o en oscuridad (LLO/LOO), a 15°C de temperatura ambiente.

Las mediciones de respirometría siguieron los protocolos propuestos para insectos por Chappell & Rogowitz (2000), Lighton & Turner (2004), y Nespolo & Franco (2007), corroborado por Thienel y col. (2015). Este consistió en un sistema abierto de flujo continuo (60 ml min^{-1}), donde, antes de entrar a la cámara metabólica, el aire es filtrado mediante columnas de hidróxido de bario (Baralyme®) y anhídrido de sulfato de calcio (Drierite®), retirando el CO_2 y agua, respectivamente. Luego el aire entra en una cámara metabólica de vidrio (15 mL), donde se encuentra el animal, dentro de un gabinete foto- y termo- regulado. Al salir de la cámara el aire se filtra con Drierite®, y luego pasara por el registrador de CO_2 : Sable CO_2 Systems International®, modelo FOXBOX.

Análisis de los patrones de intercambio gaseoso y metabolismo:

Se estudió la información obtenida entre las 8.00 p.m. and 8:00 a.m. para que los individuos tuviesen un mínimo de 2h de aclimatación a las condiciones experimentales. El desvío en la línea base de las mediciones fue corregido utilizando como 0 los valores obtenidos antes y después de que el individuo estuviese en la cámara metabólica o guiados por la fase C+F en DGE en caso de que existiese mucha desviación dentro de los mismos registros.

En estas 12 h de registró los patrones respiratorios fueron caracterizados como continuo (CoGE), cíclico (CGE) o discontinuo (DGE) por inspección visual, principalmente determinando si este era DGE o no al observar un patrón claro y periódico, donde las tres fases que lo caracterizan pueden ser observadas (C, F y O), y en consecuencia los valores de CO_2 liberado son 0 mL en la fase C y muy bajos y transientes en la fase F (Fig. 4).

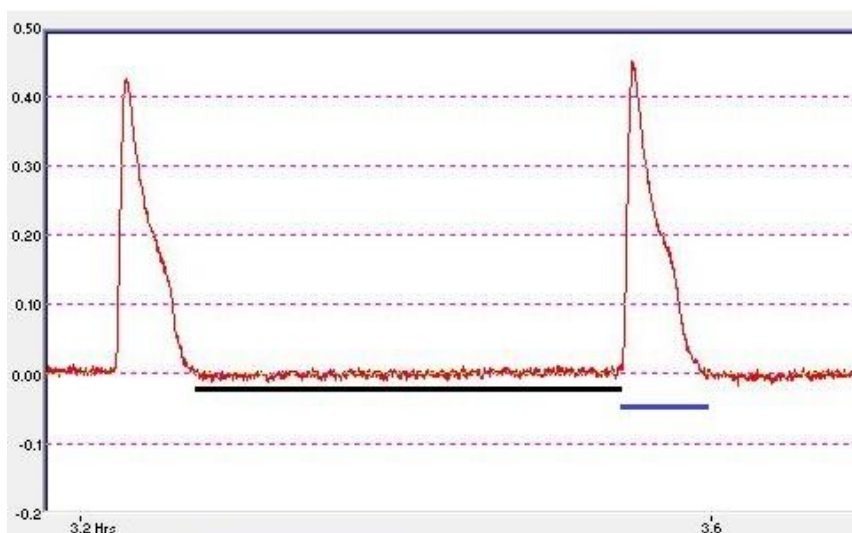


Figura 5. Fases de un ciclo en DGE. Registro espirométrico de *Astylus trifasciatus* en reposo, donde se muestra un ciclo respiratorio completo de DGE. Eje Y: volumen de CO₂ (mL) y eje X: tiempo (h). La línea roja corresponde al registro de la emisión de CO₂, la barra negra bajo esta indica la porción del ciclo correspondiente a las fases cerrada y “flutter” (C+F), y en azul la fase abierta (O).

Solo se analizaron los periodos en que se presentara DGE (característico de un estado de reposo, Fig. 5), determinándose el porcentaje de tiempo en que este se presentó con respecto a la medición total y numero de ciclos en ese tiempo. Para cada ciclo se calculó: la duración total y de las fases C+F y O. Se midió el volumen de CO₂ liberado en la fase O (área bajo la curva, mLCO₂); CO₂ total liberado en el ciclo (promedio de todas las emisiones durante el ciclo, mLCO₂/h); CO₂ Total CO₂ en función de m_b (mLCO₂/hg); y el máximo de CO₂ liberado durante la fase O (mLCO₂/h. Para estas mediciones se utilizó el software ExpeData (Sable Systems International®) versión 1.0.3.

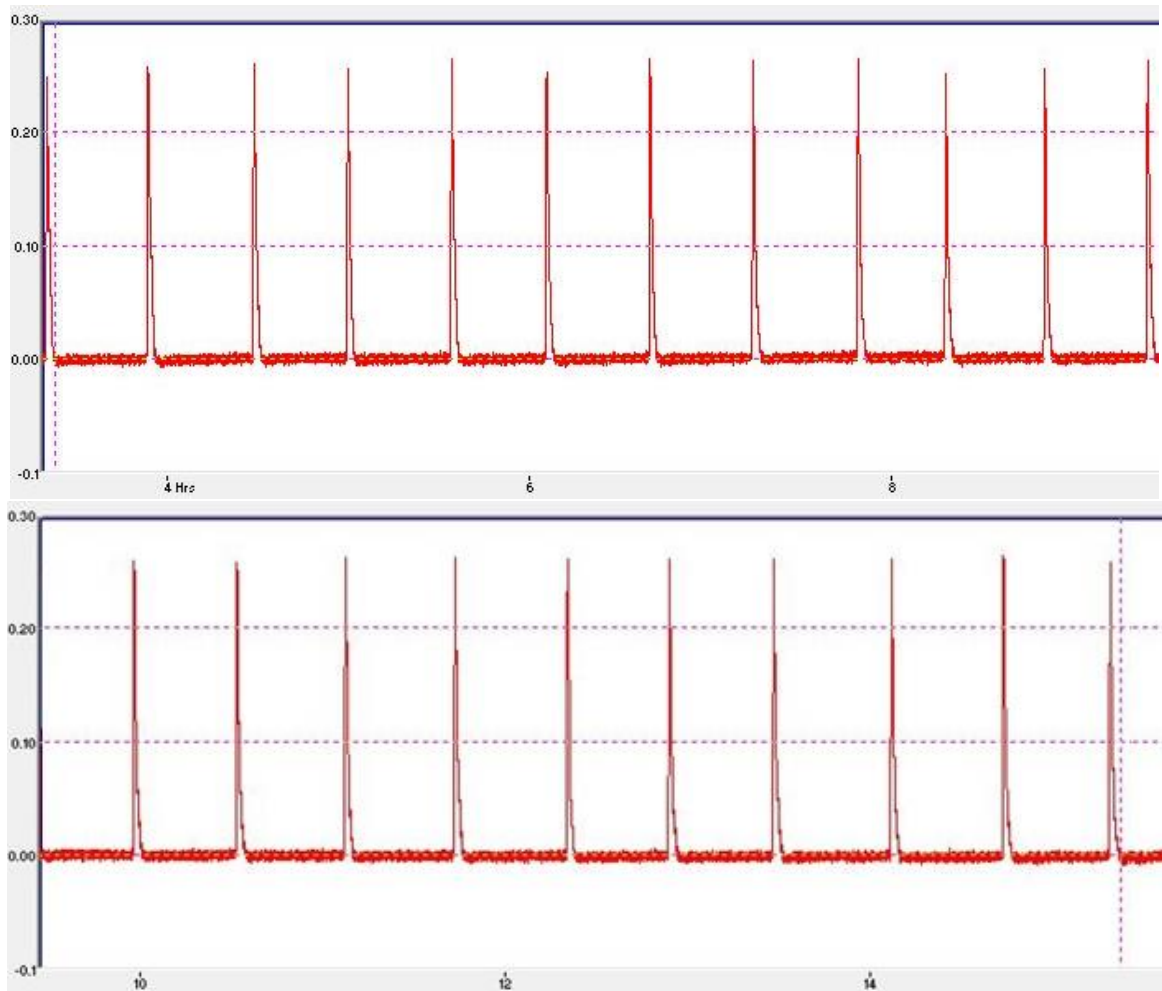


Figura 6. Registro respirométrico total (12h). Registro respirométrico de *Astylus trifasciatus* en reposo, donde se muestra el registro analizado de 12h de grabación, con DGE continuo. Eje Y: volumen de CO₂ (mL) y eje X: tiempo (h). La línea roja corresponde al registro de la emisión de CO₂, y la línea punteada vertical fucsia indica en inicio y el final del registro analizado.

Rendimiento:

Luego de una semana de aclimatación a los tratamientos experimentales se evaluó el rendimiento locomotor mediante un experimento de velocidad de caminata durante el día distintas temperaturas basado en el protocolo de Gilchrist (1996). Para ello se creó un sistema para caminata a partir del corte longitudinal de un tubo de PVC de 2m de largo y 10 cm de diámetro, forrado internamente con tela para facilitar la adhesión de los insectos y envuelto en una película plástica transparente para apreciar el desplazamiento de los individuos sin que estos pudiesen escapar. Además, se colocaron huinchas de medición (definición en mm) a ambos costados para registrar la distancia recorrida. A la mitad del tubo se colocó un sistema de rotación, para poder invertirlo en caso de que el insecto llegase al límite superior de este, y pudiese continuar su caminata, siguiendo su geotropismo negativo.

Cada individuo fue colocado en un frasco individual e introducido en un baño térmico durante 10 min, para luego ser rápidamente trasladado a la base del sistema de caminata, iniciándose la cuenta de tiempo con cronometro por 4 min, rotando el sistema de forma antihoraria cuando este llegaba al límite superior de 2m. Se siguió una secuencia térmica entre 5 y 40°C, aumentando de 5 en 5°C, para evitar daño fisiológico irreversible y cambios conductuales causados por temperaturas altas, con un descanso de mínimo de 15min entre mediciones, a temperatura ambiente de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ para minimizar efectos de aclimatación.

La curva de rendimiento (velocidad de caminata vs. temperatura) se realizó para cada individuo de manera independiente, ajustando los datos a una función polinomial de segundo orden para luego determinar la temperatura critica mínima (CTmin) y máxima

(CTmax), temperatura optima (To), amplitud de rendimiento (Tbr) y distancia máxima (Dist max), que corresponde al rendimiento máximo (Huey & Stevenson, 1979).

Temperatura preferencial

Los experimentos de temperatura preferencial fueron realizados entre 6 y 8 días después de los experimentos de rendimiento/respirometría. Para ello se generó un gradiente térmico entre los 10 a 50 °C \pm 5°C, utilizando bolsas de agua caliente y compresas congeladas, en un terrario de 50 x 20 cm y 20 cm de alto, con arena como sustrato, cubierto de una tela fina para facilitar la movilización de los individuos. Estos fueron colocados de manera aleatoria dentro del terrario en grupo de máximo 9 individuos, inicialmente con la luz de la habitación encendida, luego de una hora de aclimatación a las condiciones experimentales se revisó el gradiente térmico y la temperatura corporal de los individuos, y se apagaron las luces, quedando la habitación en total oscuridad. Al transcurso de otra hora se revisó por última vez el gradiente térmico, y se registró la temperatura corporal de los individuos en estado quiescente como temperatura preferencial de reposo. Todas las mediciones de temperatura se realizaron con un termómetro digital infrarrojo inalámbrico (marca EXTECH, modelo Dual laser 12", sensibilidad de 0,1°C).

Longevidad:

Se contaron los días de sobrevivencia en cautiverio desde el inicio de los tratamientos experimentales hasta la muerte de cada individuo. Se llevó un registro constante del peso cada dos a tres días desde la captura de los individuos para tener una aproximación de su condición fisiológica general.

Análisis estadísticos:

Los análisis estadísticos para los patrones de intercambio gaseoso y metabolismo se realizaron utilizando la prueba paramétrica ANCOVA (Sanders, 1930), con m_b como covariable, cuando la suposición de normalidad, homocedasticidad e independencia se cumplieron: pruebas de Shapiro-Wilk's (Shapiro & Wilk, 1965), Levene's (Levene, 1960) y Chi-cuadrado (Pearson, 1900), respectivamente. En caso de no obtener la normalidad de los datos se utilizó una prueba de permutaciones (Venkatraman & Begg, 1996). Para los otros experimentos se aplica la misma premisa anterior, y en caso de no conseguir la normalidad de los datos se indicará el uso de la prueba de T de Student (Gosset, 1908). En el caso de los análisis de patrón respiratorio y metabolismo, solo se utilizaron los cinco ciclos más largos consecutivos para cada individuo, considerándose el estado más profundo de reposo, exceptuando el número de ciclos y porcentaje de discontinuidad, correspondiente al total de la medición de 12h. Para todos los análisis estadísticos se empleó el software Statistica 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK), con un α de 0,05. Los gráficos fueron realizados en Microsoft Excel (office 365).

RESULTADOS

Análisis de los patrones de intercambio gaseoso y metabolismo:

Se logró registrar exitosamente periodos de DGE en todos los individuos evaluados ($N_{LLL}=9$; $N_{LLO}=9$; $N_{LOL}=7$; $N_{LOO}=7$) durante las 12h de grabación analizadas, independiente del tratamiento o condición experimental (Fig. 7). No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de tiempo en DGE para los distintos tratamientos experimentales (Prueba de permutaciones para el arco seno del porcentaje de DGE: $F=2,05$ y $p=0,112$), como tampoco para el numero de ciclos respiratorios registrados en las 12h ($F=1,40$ y $p=0,264$; Fig. 8).

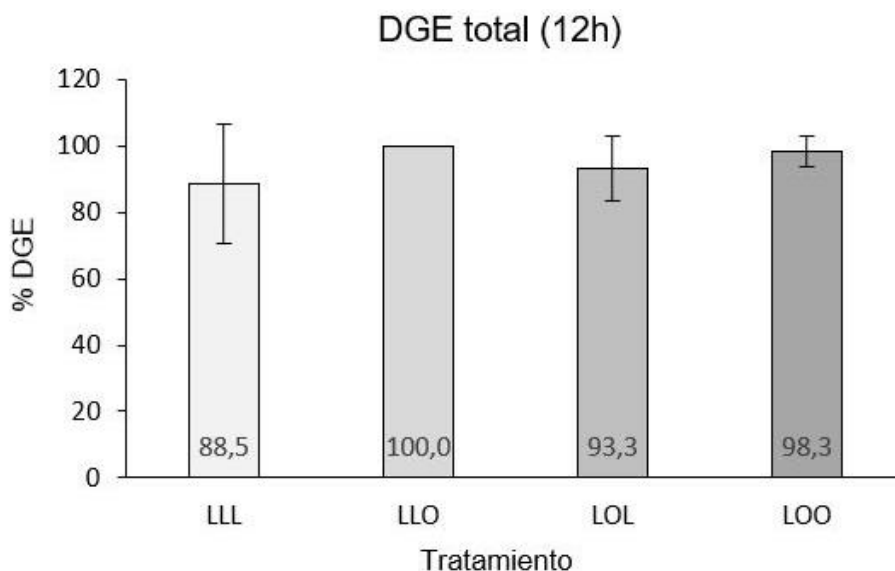


Figura 7. Porcentaje de tiempo en que se presentó DGE, dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

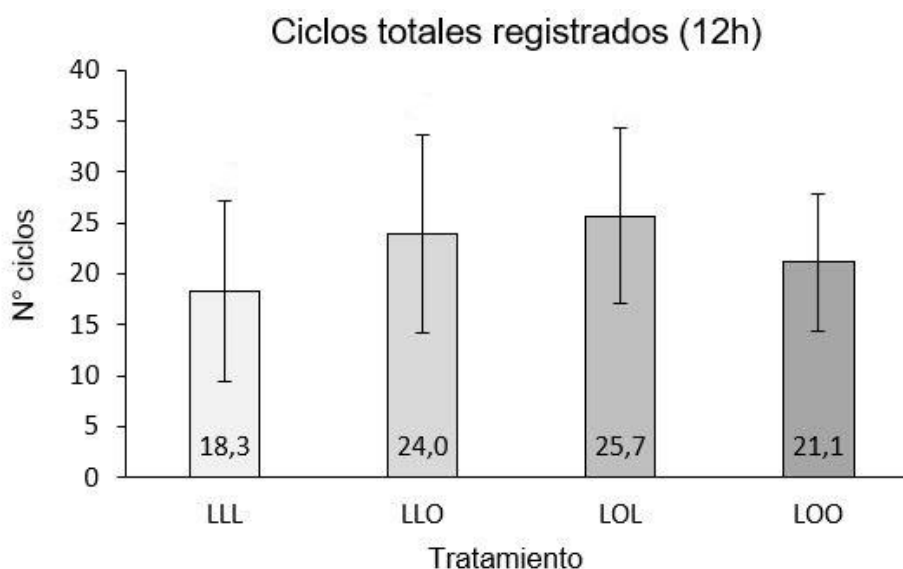


Figura 8. Número de ciclos respiratorios en DGE, dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

En la duración de los cinco ciclos analizados para las distintas fases del ciclo característico de DGE se obtuvo un promedio de 2227 ± 925 s para las fases C+F (Fig. 9), de 228 ± 37 s en la fase O (Fig. 10) y de 2434 ± 941 s para la duración total del ciclo C+F+O (Fig. 11), las cuales tampoco se vieron afectadas por los tratamientos ($F=1,44$ y $p=0,252$; $F=0,480$ y $p=0,699$; y $F=1,42$ y $p=0,259$, respectivamente). En conjunto, las fases C+F ocupan en promedio un $90,6 \pm 3,0\%$ del tiempo total del ciclo y una frecuencia promedio de $0,467 \pm 0,169$ mHz ($F=1,91$ y $p=0,332$; Fig. 12).

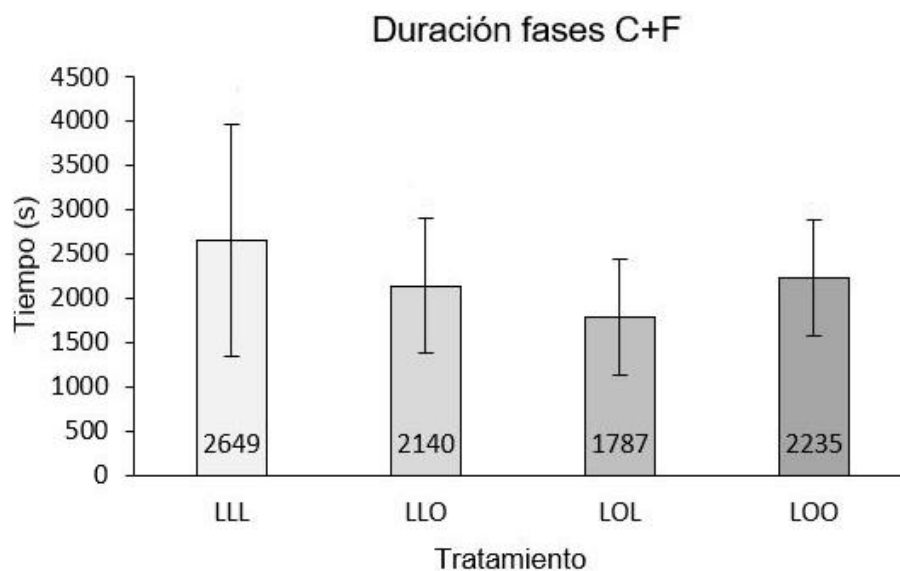


Figura 9. Gráfico Tiempo (s) de duración de las fases C+F del ciclo respiratorio en DGE, correspondientes al promedio de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

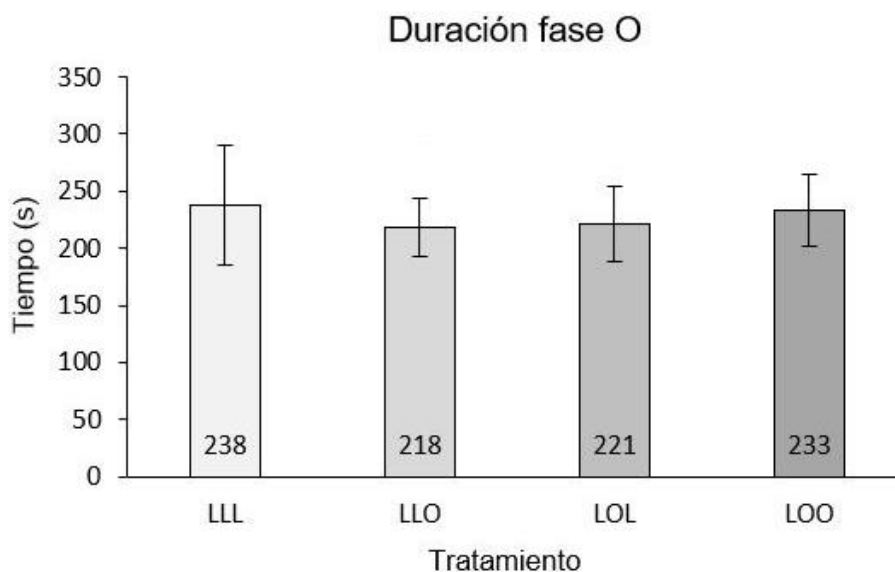


Figura 10. Tiempo (s) de duración de la fase O del ciclo respiratorio en DGE, correspondientes al promedio de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

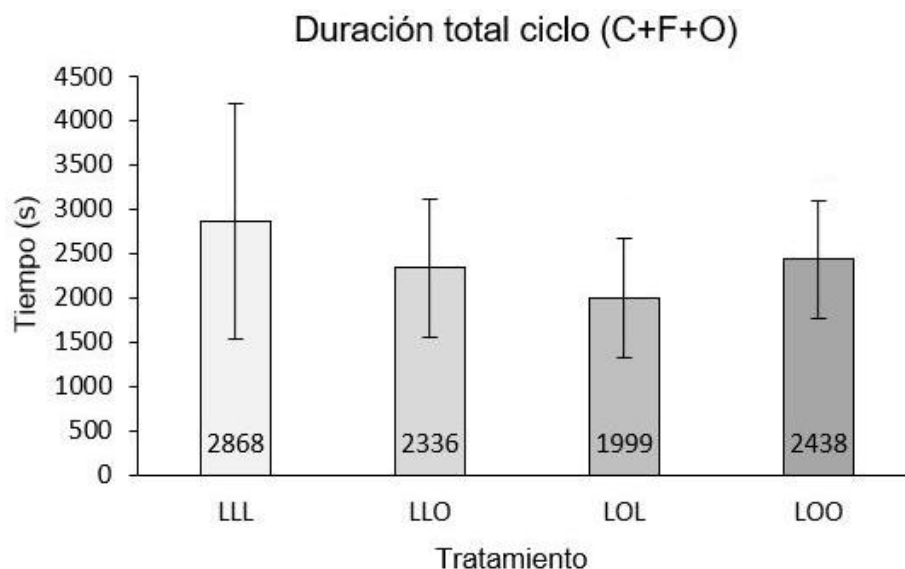


Figura 11. Tiempo (s) de duración total del ciclo respiratorio en DGE (fases C+F+O), correspondientes al promedio de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

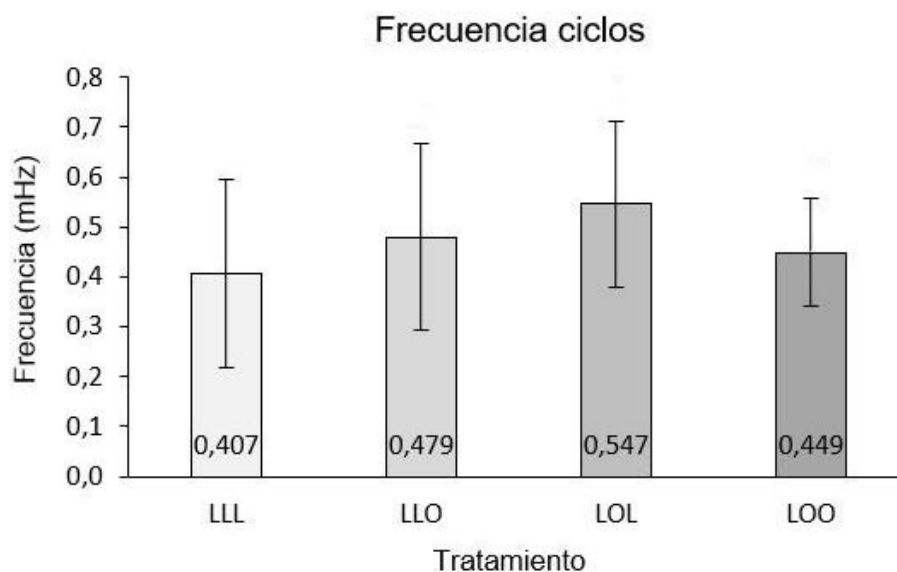


Figura 12. Frecuencia (mHz) de los ciclos respiratorios en DGE, correspondientes a los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

Con respecto al metabolismo, para los mismos cinco ciclos utilizados en la temporalidad, se obtuvo que la emisión total de CO₂ (la cual corresponde al volumen liberado durante la fase O; Fig. 13), fue de $26,6 \pm 6,3$ mlCO₂ en promedio para todos los individuos, con promedios similares entre condiciones experimentales ($F=0,773$ y $p=0,519$). En promedio $1,46 \pm 0,46$ mlCO₂/h $\times 10^{-2}$ fueron liberados por ciclo ($F=7,61$ y $p=0,526$; N.S., Fig. 14), y $4,98 \pm 1,54$ mlCO₂/hg $\times 10^{-2}$ calculando el promedio en función de la m_b ($F=0,764$ y $p=0,524$; Fig. 15). La emisión máxima de CO₂, correspondiente al máximo volumen de CO₂ emitido durante 5 s consecutivos en la fase O para cada uno de los ciclos analizados, fue de $0,367 \pm 0,074$ mlCO₂/h en promedio, también sin diferencias estadísticamente significativas entre las condiciones experimentales ($F=1,59$ y $p=0,215$; Fig. 16).

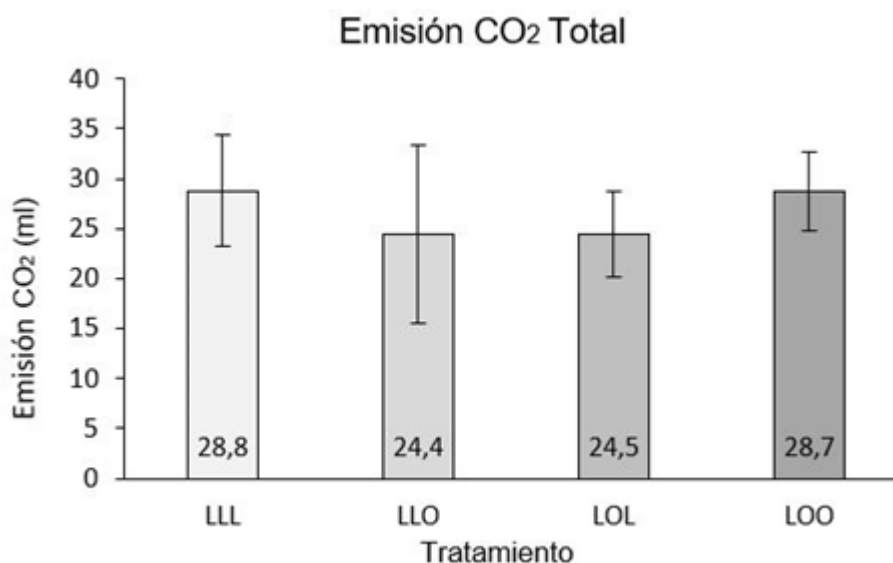


Figura 13. Volumen total emitido de CO₂ (ml), en cada uno de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

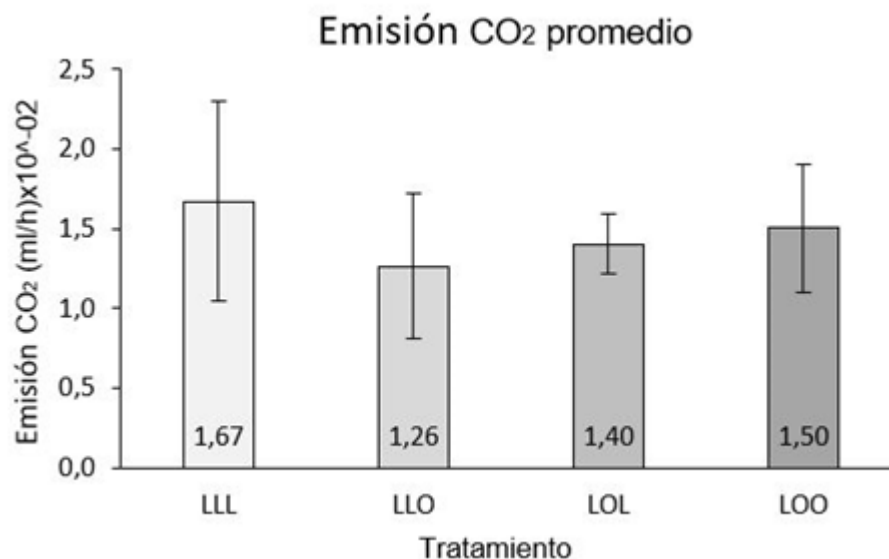


Figura 14. Volumen promedio emitido de CO₂ (mlCO₂/h x10⁻²) durante todo un ciclo, en cada uno de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

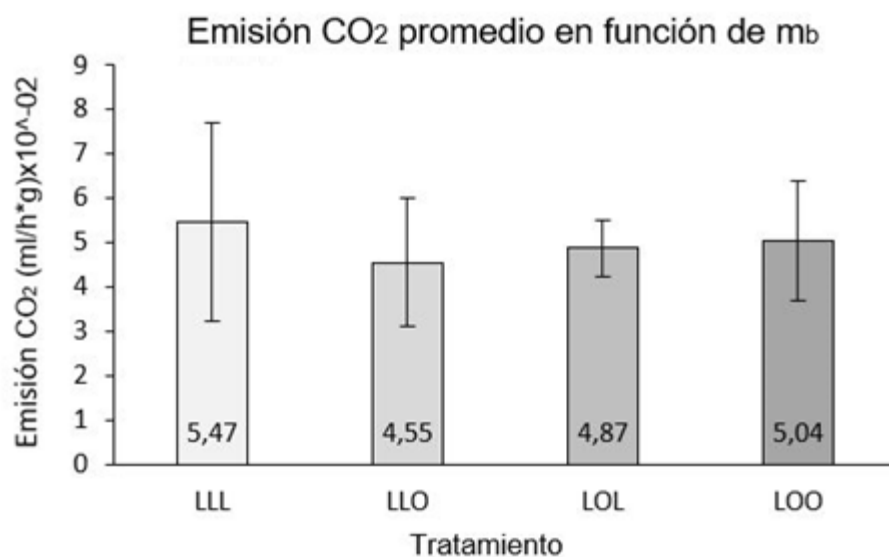


Figura 15. Volumen promedio emitido de CO₂ en función de la masa corporal (mlCO₂/hg x10⁻²) durante todo un ciclo, en cada uno de los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

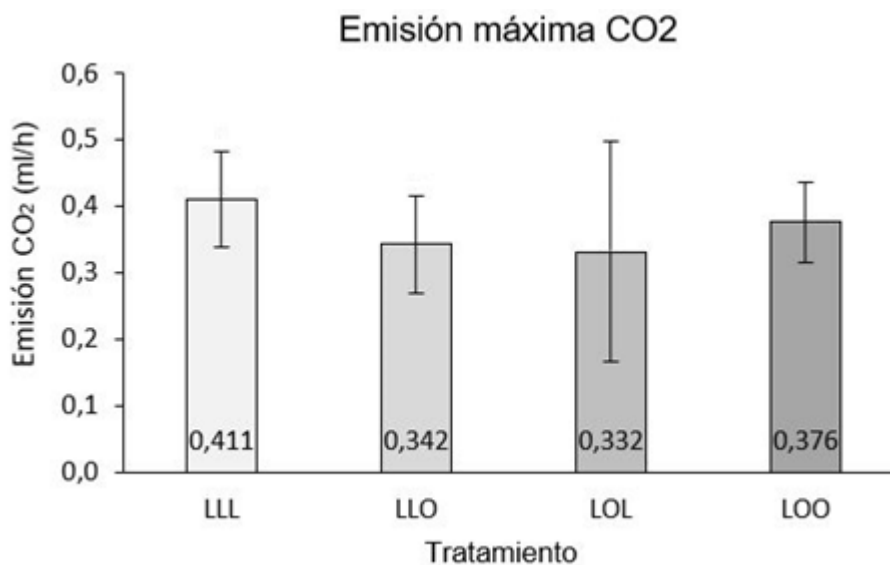


Figura 16. Volumen máximo emitido de CO₂ (ml/h) por 5s, en los 5 ciclos consecutivos más largos presentados dentro del total de 12h de registro respirométrico analizado, indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. Para los dos tratamientos (LL, luz continua y LO, ciclo luz oscuridad), en sus respectivas condiciones de medición: luz (LLL y LOL) u oscuridad (LLO y LOO).

Rendimiento:

Se logró construir exitosamente las curvas de rendimiento, mostrando el comportamiento parabólico esperado. En la Figura 17 se observan las curvas de rendimiento promedio obtenidas para cada tratamiento ($N_{LL}=7$, $N_{LO}=8$). Se obtuvieron los siguientes estadígrafos para cada parámetro evaluado: CTmin ($t=0,495$ y $p=0,629$; Fig. 18), CTmáx ($t=0,305$ y $p=0,762$; Fig. 19), Top ($t=0,273$ y $p=0,789$; Fig. 20), Tbr ($t=0,229$; $p=0,769$; Fig. 21), analizados estadísticamente con la prueba de T de Student, y Dist máx ($F=1,48$; $p=0,247$, Fig. 22), analizado por ANCOVA.

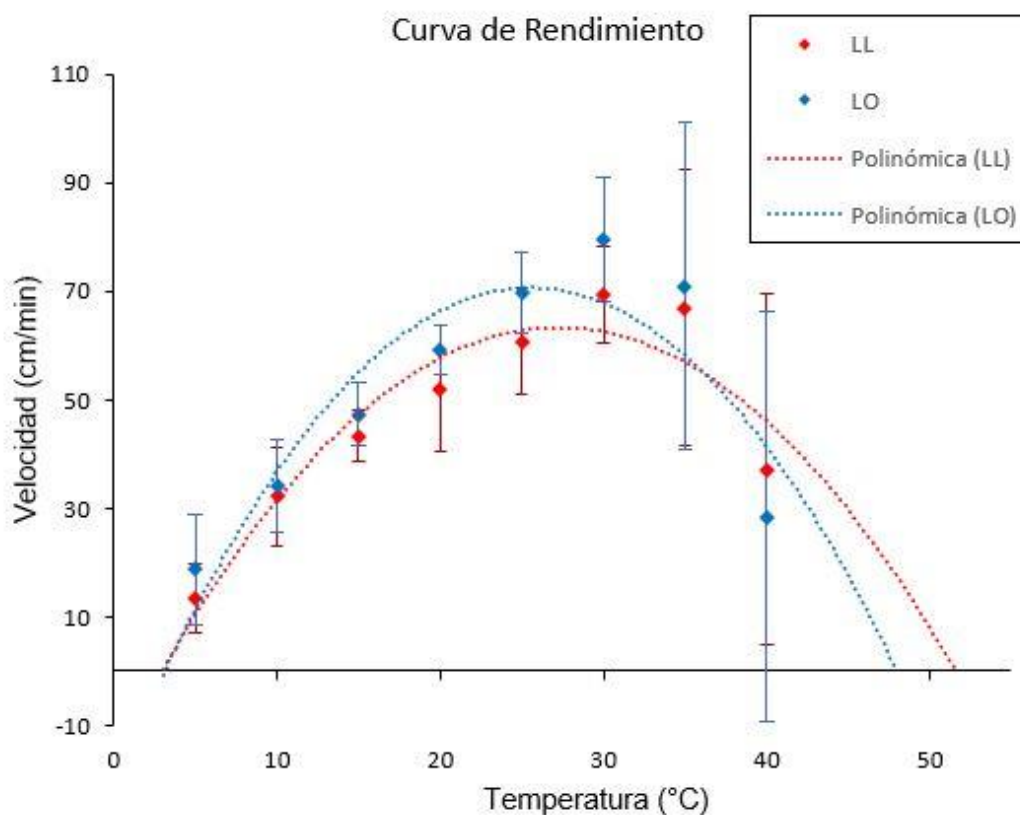


Figura 17. Velocidad promedio (cm/min) obtenido para cada tratamiento experimental, en función de la temperatura (°C). En rojo: luz continua (LL), y en azul ciclo luz/oscuridad (LO). Misma clave de color para representar las curvas de los polinomios de grado dos, en líneas punteadas. Cada punto está acompañado de su barra de desviación estándar.

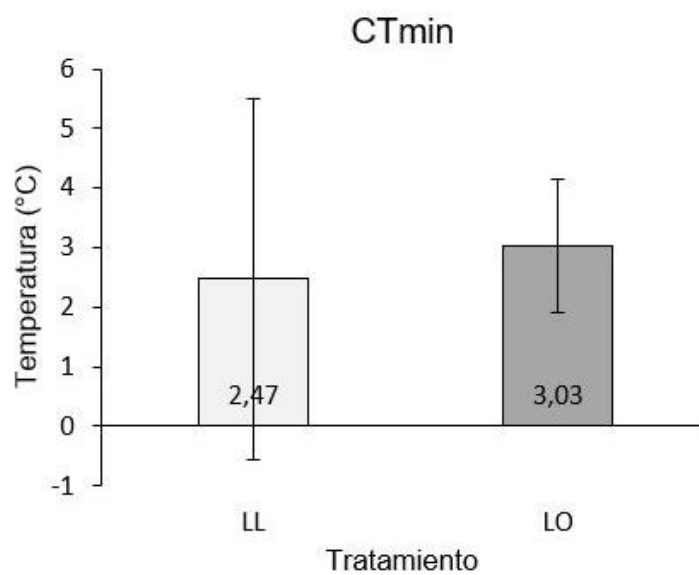


Figura 18. Temperatura crítica mínima, CTmin (°C), obtenida en función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar.

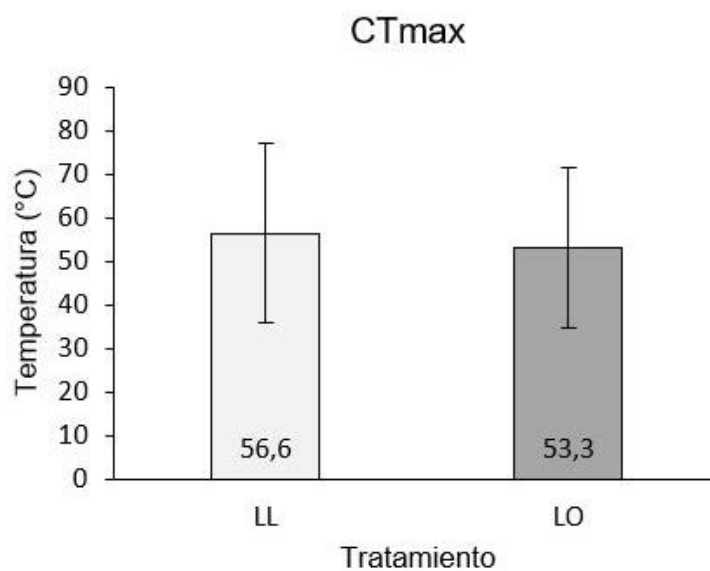


Figura 19. Temperatura crítica máxima, CTmax (°C), obtenida función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar. b

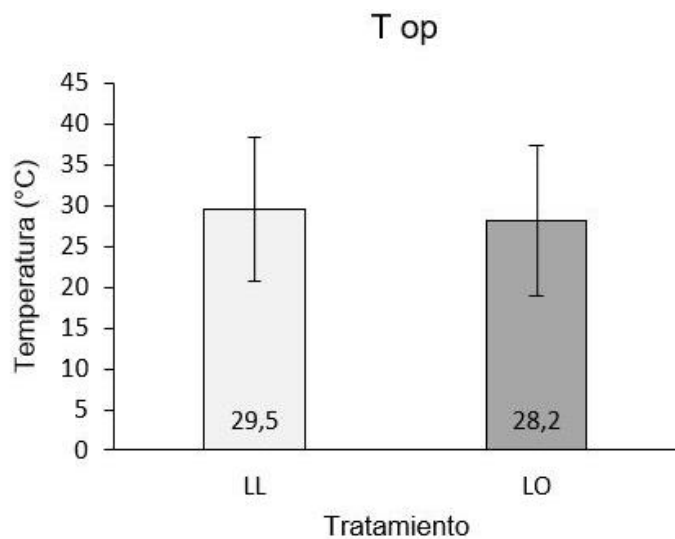


Figura 20. Temperatura optima, T op (°C), obtenida función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar.

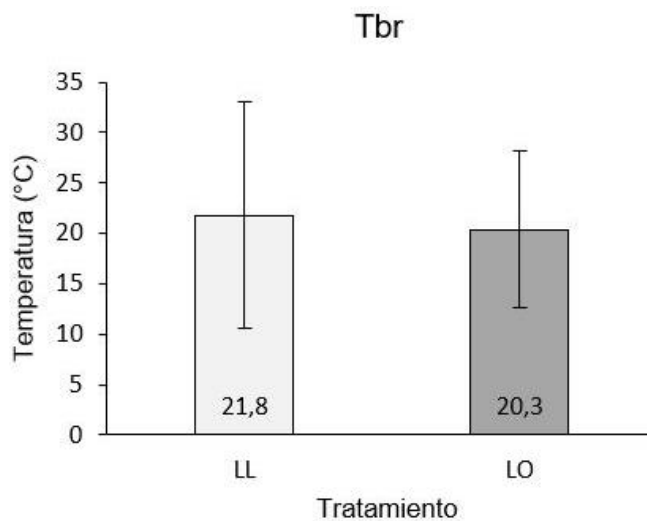


Figura 21. Amplitud de rendimiento, Tbr (°C), obtenida función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar.

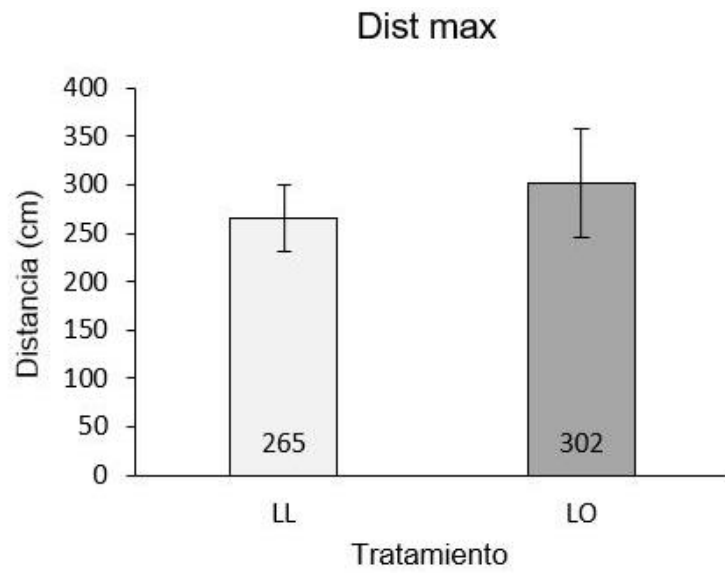


Figura 22. Distancia máxima recorrida en 4 minutos, Dist max (cm), por los individuos en función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Indicándose el promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar.

Temperatura preferencial:

Para el experimento de temperatura preferencial (Fig. 23) se obtuvo que, independiente del tratamiento, los individuos en promedio prefieren una temperatura de $34,65 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($N_{LL}=16$; $N_{LO}=21$; $DS_{LL}=4,94$; $DS_{LO}=5,72$; prueba de T de Student: $t=0,165$; $p=0,870$). Hubo individuos que incluso prefirieron temperaturas cercanas o superiores a los 40°C .

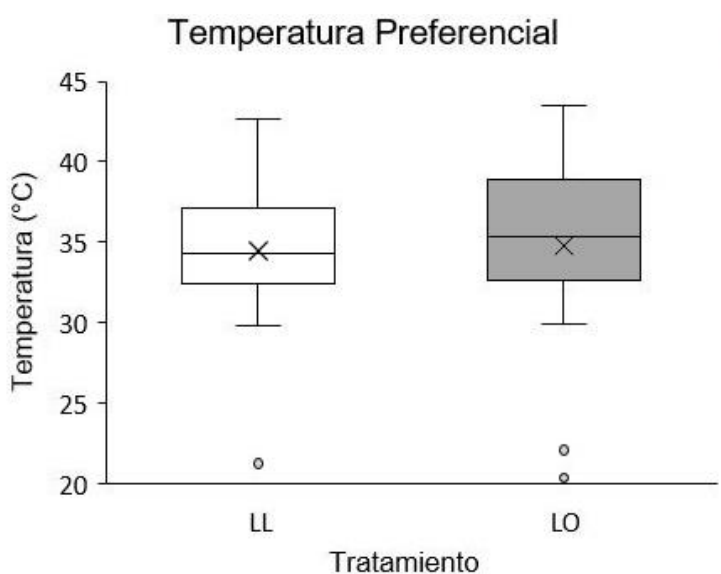


Figura 23. Gráfico de cajas y bigotes para la temperatura preferencial de *A. trifasciatus* luego de dos horas de reposo en un gradiente térmico, donde las líneas horizontales en las cajas y bigotes representan en inicio y final de los cuartiles, la x corresponde al promedio de los valores y los círculos a datos fuera del rango normal. En función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO).

Longevidad:

Con respecto a la longevidad, se encontró que los individuos mantenidos en condiciones de luz oscuridad vivieron significativamente más que aquellos expuestos a luz continua ($N_{LL}=24$; $N_{LO}=23$; $F=4,72$; $p= 0,0353$), en promedio unos 23 días más (Fig. 24). Siendo esta la última diferencia significativa entre tratamientos. También se obtuvo que para ambos tratamientos los individuos tuvieron una tasa de aumento promedio de peso de un 0,45 mg/día y 0,33 mg/día, para LL y LO respectivamente.

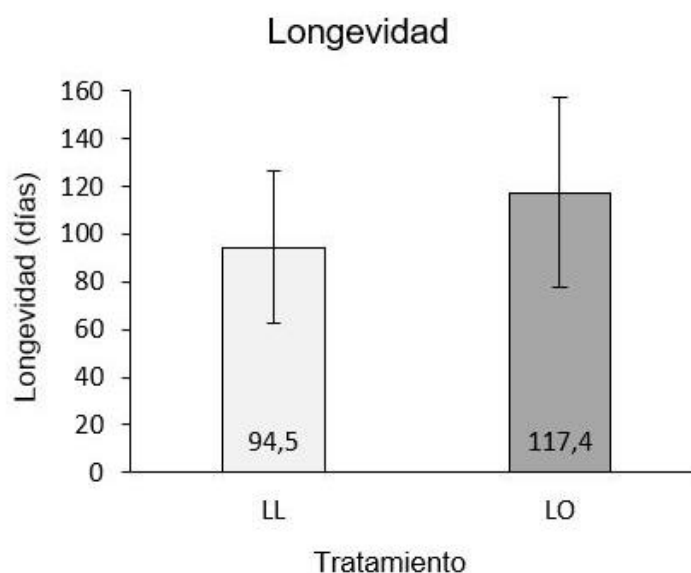


Figura 24. Longevidad (días) de *A. trifasciatus* en función de los tratamientos experimentales de “luz continua” (LL) y “ciclo luz/oscuridad” (LO). Se indica el valor promedio de la serie de datos en la base y la respectiva línea de desviación estándar.

DISCUSIÓN

El protocolo experimental de exposición a luz artificial continua no representa, aparentemente, un factor perturbador evidente de los patrones respiratorios y de emisión de CO₂ durante reposo, ni en el rendimiento o temperatura preferencial de individuos de *A. trifasciatus* capturados y mantenidos en cautiverio. Tampoco se presentaron efectos a corto plazo en aquellos individuos mantenidos con ciclos de LO expuestos a luz artificial durante los experimentos de respirometría. Por otro lado, se obtuvieron diferencias significativas en la longevidad de los individuos, lo que apuntaría a un efecto negativo acumulativo, que no fue percibido luego de solo una semana de tratamiento. Pudiendo existir consecuencias fisiológicas en el organismo de los individuos, posiblemente debido a los costos energéticos de sufrir un estímulo visual constante, o alteraciones de vías metabólicas, como podría ser la de la melatonina (Vivien-Roels & Pévet, 1993), directamente relacionada con el ciclo circadiano de luz/oscuridad, alteración en mecanismos oxidativos (Hockberger y col., 1999) o disminución de la respuesta inmune (Durrant y col., 2015) y sus consecuencias. Quizás en un análisis semanal de los parámetros fisiológicos evaluados hasta el fallecimiento de los individuos se podría haber obtenido alguna diferencia significativa entre los tratamientos, acompañada del resultado obtenido para la longevidad, hipotetizando principalmente cambios en el patrón respiratorio o en el metabolismo, suponiendo que el gasto energético dedicado en el experimento de velocidad de caminata no sea tan significativo, tal como se discute más adelante.

La mantención en condiciones de laboratorio permite homogeneizar los factores ambientales que pueden intervenir en los resultados de los experimentos, sin embargo, el tiempo de aclimatación más el de tratamiento lumínico corresponden a un extenso

periodo donde los individuos encontraron alimento y agua a libre disposición continuamente, evitando esfuerzos de forrajeo y la fatigosa tarea de volar, de alto costo energético, temperaturas ambientes estables y la ausencia de amenazas depredadoras, cuyos beneficios pueden observarse en el continuo aumento de peso para la mayor parte de los individuos. Pudiendo este aumento artificial en el bienestar de los individuos compensar o minimizar posibles efectos negativos de la exposición continua a luz artificial, como la falta de alteración del periodo de reposo, o capacidades físicas similares en el experimento de rendimiento, ya que ambos grupos provienen de un largo periodo de “sedentarismo”. Por lo que no sería razonable concluir que la misma falta de perturbación es aplicable a animales en condiciones de vida libre, para ello sería útil realizar los experimentos directamente en animales provenientes de poblaciones expuestas a distintos niveles de ALAN, quizás omitiendo incluso la semana en que estos fueron aclimatados al laboratorio, para evitar los efectos antes mencionados.

Sin embargo, tampoco se debe olvidar que naturalmente los insectos presentan mecanismos para lidiar con el exceso de luz ambiental, donde las células oculares al verse saturadas por aumentos en la intensidad de la luz presentan mecanismos para regular la cantidad de luz que alcanzan los fotorreceptores, por medio de la reubicación de los pigmentos y/o por medio de cambios estructurales que limitan la cantidad de luz que pasa entre los omatidios del ojo (Champman, 2013). Además, la actividad cerebral requiere grandes gastos energéticos, con un 20% del metabolismo en reposo dedicado solo al sistema visual (Lehmann & Schützner, 2010), lo que motiva la regulación de la información que ingresa por los canales visuales, por lo que, al disminuir la demanda metabólica, la actividad cerebral (propia de los ganglios ubicados en la cabeza) es reducida, y aparece la DGE a consecuencia de que el control del organismo se redirige

a los ganglios del tórax y el abdomen (Chown, 2011; Bustami & Hustert, 2000; Chown & Holter, 2000).

Con respecto a los resultados obtenidos para la temperatura preferencial, escapando de los efectos lumínicos, los altos valores de temperatura elegidos contrastan con los utilizados en el experimento de rendimiento, donde una exposición a 35°C y 40°C por 10 min afectaba la capacidad locomotora de los individuos, aumentando considerablemente la variabilidad en la reacción de estos, entre quedar quietos o caminar. En el terrario donde presentaban un gradiente térmico y libertad para moverse y regular su temperatura conductualmente, en ambos tratamientos la mitad de los individuos prefirieron temperaturas entre los 35°C y 45°C, lo que apoyaría el aumento de variabilidad en la capacidad locomotora en el experimento anterior, existiendo individuos con distintas tolerancias al calor, lo cual a su vez depende de las necesidades fisiológicas que estos tengan que los inciten a preferir esas temperaturas. Salta a la vista la mantención de dichas temperaturas seleccionadas por un periodo de dos horas. Puede ser que las condiciones experimentales, con una temperatura máxima de 25°C, por unas cuantas horas, no provee la cantidad de energía térmica ambiental que requiere su organismo ectotermo para satisfacer sus necesidades fisiológicas, ya que en la naturaleza pueden regular conductualmente su temperatura buscando entre los distintos microclimas del ambiente, por lo que podrían haber preferido satisfacer procesos fisiológicos que requieran de “altas temperaturas” al tener la oportunidad, ya que estas altas temperaturas preferidas contrastan con la temperatura optima de rendimiento obtenida cercana a los 30°C, sumado a que estas se mantuvieron su estado quiescente.

Hasta donde se tiene conocimiento este es el primer trabajo que asocia la contaminación lumínica con el patrón respiratorio de reposo en insectos, lo que imposibilita la comparación resultados de otros trabajos.

Con respecto al resultado principal obtenido, la diferencia de longevidad entre los tratamientos, si efectivamente se presentase este efecto en la naturaleza tendría consecuencias muy negativas para las poblaciones de *A. trifasciatus*, ya que al disminuir la longevidad se afectaría directamente el *fitness* de estos insectos al reducirse su ventana temporal reproductiva, junto con un menor tiempo de permanencia en el ambiente, implicando un decline en sus poblaciones y afectando los procesos ecosistémicos en los que están involucrados, como polinización o redes tróficas. Esto en el caso de que en el ambiente natural la sobrevida observada sea significativa, ya que, como se describió anteriormente, las condiciones de laboratorio son muy amenas para los individuos, donde estos incluso llegaron a presentar pérdidas de extremidades al aumentar su edad, sin afectar visiblemente su bienestar, cuando en la naturaleza la presencia de depredadores, escasez de recursos alimentarios o la falta de extremidades puede hacer que esta diferencia de sobrevida no sea significativa.

CONCLUSIÓN

Con respecto a la hipótesis postulada en este trabajo, la exposición continua a luz artificial durante el periodo de reposo de *Astylus trifasciatus* no mostró efectos significativos sobre los parámetros fisiológicos evaluados en comparación al grupo control, a excepción de la longevidad de los individuos, variable que está sujeta a un periodo más largo de exposición a las condiciones de tratamiento lumínico que aquellos evaluados experimentalmente luego de una o dos semanas de tratamiento.

Sería importante analizar más ampliamente los efectos sobre la longevidad de los individuos mediante experimentos donde estos sean expuestos durante distintos periodos de tiempo a una perturbación lumínica, e incluso a distintos niveles de perturbación, durante su periodo de reposo, junto con evaluar si la diferencia en longevidad es lo suficientemente significativa como para afectar el *fitness* de los animales, y por ultimo llevar esta interrogante al medio natural, evaluando la longevidad en poblaciones expuestas a distintos niveles de contaminación lumínica para determinar la relevancia de esta perturbación sobre ellos, y otros insectos diurnos en general, evaluando si es un factor que propicie el ya acentuado decline poblacional de estos.

Resulta interesante determinar los mecanismos y procesos detrás de los cambios provocados por la contaminación lumínica tanto a nivel fisiológico, etológico y poblacional, junto con sus consecuencias ecológicas y ecosistémicas. Esto podría ser aplicable para cualquier componente vivo del medio ambiente, sin embargo, vale la pena resaltar la importancia a nivel entomológico debido a su importancia como principales actores que mueven biomasa desde los sistemas limnológicos a los terrestres debido a su ciclo de vida anfíbio (Baxter y col., 2004; Paetzold y col., 2011; Kraus y col., 2014), junto a los vitales servicios ecosistémicos que brindan como polinizadores, detritívoros,

reguladores de plagas nocivas para el hombre (Kremen & Chaplin-Kramer, 2007; Cardenas y col., 2008; Yang & Gratton, 2014; Noriega y col., 2018; Schowalter y col., 2018), y los posibles deservicios como la zoonosis de enfermedades mortales y plagas (Jenkins, 1960; Drake & Wang, 2013; Gonzales y col., 2014; Sarwar, 2017), cuyo delicado equilibrio de ser alterado puede tener consecuencias irreversibles para el medio ambiente, la salud humana y seguridad alimenticia de las naciones.

Con respecto al caso de Chile central, independiente de los resultados obtenidos en este estudio, como *hot spot* de biodiversidad y con el conocimiento ya existente de los efectos nocivos de ALAN sobre los insectos en general, es razón suficiente para promover acciones y legislaciones que enfatizen el control y mitigación de la contaminación lumínica. El alto nivel de urbanización y cambio en el uso de suelo de esta zona ya son amenazas de por sí para las poblaciones de insectos y fauna en general, sin embargo, la luz emitida desde las urbes y zonas rurales se esparce a través del ambiente, donde incluso las barreras naturales como las estructuras cordilleranas naturales están contaminadas por ALAN (Fig. 1), siendo un peligro para la conservación de insectos en esta región, y Chile en general.

BIBLIOGRAFÍA

- Baker, B.J., y Richardson, J.M.L. 2006. The effect of artificial light on male breeding-season behaviour in green frogs, *Rana clamitans melanota*. Can. J. Zool. **84**: 1528-1532.
- Barriga S, Maria Carolina (1995) Efecto en la polinizacion y fructificacion y comportamiento alimenticio de *Astylus trifasciatus* Guer. (Coleoptera: Dasytidae) sobre grosellero negro (*Ribes nigrum* L.). Tesis (Ing Agr). Universidad Austral de Chile. Fac. de Ciencias Agrarias. 18837 En la Biblioteca Central del INIA B275 1995. Valdivia.1995.85 p.
- Baxter, C.V., Fausch, K.D., Murakami, M., y Chapman, P.L. 2004. Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. Ecology. **85**: 2656–2663.
- Bennett, A.F y Huey, R.B.1990. Studying the evolution of physiological performance. Oxford Surv. Evol. Biol. **7**: 251-284.
- Bennie, J.J. Davies, T.W. Cruse, D. Inger, R. y Gaston, K.J. 2015. Cascading effects of artificial light at night: resource-mediated control of herbivores in a grassland ecosystem. Phil. Trans. R. Soc. B. **370**: 20140131.
- Bennie, J.J. Duffy, J.P. Inger, R. y Gaston, K.J. 2014. Biogeography of time partitioning in mammals. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **111**: 13727-13732.
- Bliss-Ketchum, L.L. de Rivera, C.E. Turner, B.C. y Weisbaum, D.M. 2016. The effect of artificial light on wildlife use of a passage structure. Biol. Conserv. **199**: 25-28.
- Bocetti, C.I. 2011. Cruise ships as a source of svian mortality during fall migration. Wilson J. Ornithol. **123**: 176-178.
- Bolton, D. Mayer-Pinto, M. Clark, G.F. Dafforn, K.A. Brassil, W.A. Becker, A. y Johnston, E.L. 2017. Coastal urban lighting has ecological consequences for multiple trophic levels under the sea. Sci. Total Envi. **576**: 1-9.

- Bolliger, J., Hennet, T., Wermelinger, B., Bösch, R., Pazur, R., Blum, S., Haller, J., y Obrist, M. K. 2020. Effects of traffic-regulated street lighting on nocturnal insect abundance and bat activity. *BAAE*. **47**: 44–56.
- Boyes, D.H., Evans, D.M., Fox, R., Parsons, M.S., y Pocock, M.J.O. 2020. Is light pollution driving moth population declines? A review of causal mechanisms across the life cycle. *Insect Conserv. Divers.*
- Bradshaw, W.E. y Holzapfel, C.M. 2010. Light, time, and the physiology of biotic response to rapid climate change in animals. *Annu. Rev. Physiol.* **72**: 147-166.
- Bustami, H.P. y Hustert, R. 2000. Typical ventilatory pattern of the intact locust is produced by the isolated CNS. *Journal of Insect Physiology*. **46**: 1285-1293.
- Cardenas, R., Sandoval, C.M., Rodriguez-Morales, A.J., y Vivas, P. 2008. Zoonoses and Climate Variability. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1149**: 326–330.
- Carrington, D. Warning of 'ecological Armageddon' after dramatic plunge in insect numbers. *The Guardian*, 18 octubre 2017. Visto el 3 de junio de 2019:
<https://www.theguardian.com/environment/2017/oct/18/warning-of-ecological-armageddon-after-dramatic-plunge-in-insect-numbers>
- Champion, G. C. 1918. XXXII.—Notes on various species of the American genus *Astylus*, Cast., with descriptions of their sexual characters (Coleoptera). *Ann. Mag. Nat. Hist.* **2**: 337-367.
- Chapman, R. F. 2013. The insects: structure and function. S.J. Simpson y A.E. Douglas (eds.). 5ta ed., pp. 723-724. Cambridge University Press, New York.
- Chappell, M.A. y Rogowitz, G.L. 2000. Mass, temperature and metabolic effects on discontinuous gas exchange cycles in Eucalyptus-boring beetles (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Exp. Biology*. **203**: 3809-382.

- Chown, S.L. 2011. Discontinuous gas exchange: new perspectives on evolutionary origins and ecological implications. *Functional Ecology*. **25**: 1163-1168.
- Chown, S.L. y Holter, P. 2000. Discontinuous gas exchange cycles in *Aphodius fossor* (Scarabaeidae): a test of hypotheses concerning origins and mechanisms. *J. Exp. Biology*. **203**: 397-403.
- Chown, S.L. y Nicolson, S.W. 2004. Insect physiological ecology: mechanisms and patterns. pp 63-65. Oxford University Press, Oxford.
- Cinzano, P. Falchi, F. y Elvidge, C.D. 2001. The first world atlas of the artificial night sky brightness. *Mon. Not. Roy. Astron. Soc.* **328**: 689-707.
- Davies, T. W. Bennie, J. Inger, R. Hempel De Ibarra, N. y Gaston, K.J. 2013. Artificial light pollution: are shifting spectral signatures changing the balance of species interactions? *Glob. Change Biol.* **19**: 1417-1423.
- Derrickson, K.C. 1988. Variation in repertoire presentation in northern mockingbirds. *The Condor*. **90**: 592-606.
- Dominoni, D.M. Goymann, W. Helm, B. y Partecke, J. 2013b. Urban-like night illumination reduces melatonin release in European blackbirds (*Turdus merula*): implications of city life for biological time-keeping of songbirds. *Front. Zool.* **10**: 1-11.
- Dominoni, D.M. Helm, B. Lehmann, M. Dowse, H.B. y Partecke, J. 2013a. Clocks for the city: circadian differences between forest and city songbirds. *Proc. R. Soc. B.* **280**: e20130593.
- Drake, V.A. y Wang, H. 2013. Recognition and characterization of migratory movements of Australian plague locusts, *Chortoicetes terminifera*, with an insect monitoring radar. *J. Appl. Remote Sens.* **7**: 075095.

- Durrant, J. Michaelides, E.B. Rupasinghe, T. Tull, D. Green, M.P. y Jones, T.M. 2015. Constant illumination reduces circulating melatonin and impairs immune function in the cricket *Teleogryllus commodus*. *Peer J.* **3**: e1075.
- Eisenbeis G. 2006. Artificial night lighting and insects: attraction of insects to streetlamps in a rural setting in Germany. *Ecological Consequences of Artificial Night Lighting*, pp. 281–304. C. Rich y T. Longcore (eds.). Island Press, Washington.
- Estrada, P. 2002. El género *Astylus* en Chile: re-descripción de *Astylus Trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera-Melyridae). *AEC.* **26**: 51-58.
- Falchi, F. Cinzano, P. Duriscoe, D. Kyba, C. Elvidge, C.D. y Baug, K. 2016. The new world atlas of artificial night sky brightness. *Sci. Adv.* **2**: e1600377.
- Firebaugh, A. y Haynes, K.J. 2016. Experimental tests of light-pollution impacts on nocturnal insect courtship and dispersal. *Oecologia*, **182**: 1203–1211.
- Fox, R. 2012. The decline of moths in Great Britain: a review of possible causes. *Insect Conserv. Divers.* **6**: 5–19
- Gaston, K. J. Visser, M. E. y Holker, F. 2015. The biological impacts of artificial light at night: The research challenge. *Phil. Trans. R. Soc. B.* **370**: 1-6.
- Gaston, K.J. Bennie, J. Davies, T.W. y Hopkins, J. 2013. The ecological impacts of nighttime light pollution: a mechanistic appraisal. *Biol. Rev.* **88**: 912-927.
- Gaston, K.J. y Bennie, J. 2014. Demographic effects of artificial nighttime lighting on animal populations. *Environ. Rev.* **22**: 323-330.
- Gaston, K.J., Duffy, J.P., Gaston, S. Bennie, J. y Davies, T.W. 2014. Human alteration of natural light cycles: causes and ecological consequences. *Oecologia.* **176**: 917–931.
- Gilchrist G. W. 1996. A quantitative genetic analysis of thermal sensitivity in the locomotor performance curve of *Aphidius ervi*. *Evolution.* **50**: 1560-1572.

- Gonzalez, M., Schandy, J., Wainstein, N., Barboni, L., Gomez, A., y Croce, C. 2014, mayo. Wireless image-sensor network application for population monitoring of lepidopterous insects pest (moths) in fruit crops. 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings. 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC).
- Gosset, W. S. 1908. The probable error of a mean. *Biometrika*. **6**: 1-25. Originalmente publicado bajo el seudónimo de "Student".
- Gutman, R. Dayan, T. 2005. Temporal partitioning: an experiment with two species of spiny mice. *Ecology*. **86**: 164-173.
- Hallmann, C.A. Sorg, M. Jongejans, E. Siepel, H. Hofland, N. Schwan, H. Stenmans, W. Müller, A. Sumser, H. Hörren, T. Goulson, D. y de Kroon, H. 2017. More than 75% decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS ONE*. **12**: e185809.
- Hockberger, P.E., Skimina, T.A., Centonze, V.E., Lavin, C., Chu, S., Dadras, S., Reddy, J.K., y White, J.G. 1999. Activation of flavin-containing oxidases underlies light-induced production of H₂O₂ in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **96**: 6255–6260.
- Hölker, F. Moss, T. Griefahn, B. Kloas, W. Voigt, C.C. Henckel, D. Hänel, A. y col. 2010b. The dark side of light: a transdisciplinary research agenda for light pollution policy. *Ecol. Soc.* **15**: e13.
- Hölker, F. Wolter, C. Perkin, E.K. y Tockner, K. 2010a. Light pollution as a biodiversity threat. *Trends Ecol. Evol.* **25**: 681-682.
- Huey, R. B. y Stevenson, R. D. 1979. Integrating Thermal Physiology and Ecology of Ectotherms: A Discussion of Approaches. *Am. Zool.* **19**: 357–366.
- Hussaini, S.A. Bogusch, L. Landgraf, T. y Menzel, R. 2009. Sleep deprivation affects extinction but not acquisition memory in honeybees. *Learn. Mem.* **16**: 698-705.
- Jenkins, C.F.H. 1960. Insects and mites found attacking cereal crops in Western Australia.

- J. Dept. Agr. Western Australia, Series 4. **1**: 481-489.
- Jones, T.M. Durrant, J. Michaelides, E.B. y Green, M.P. 2015. Melatonin: a possible link between the presence of artificial light at night and reductions in biological fitness. *Philos. Trans. R. Soc. B.* **370**: e20140122.
- Kamrowski, R.L. Limpus, C. Jones, R. Anderson, S. y Hamann, M. 2014. Temporal changes in artificial light exposure of marine turtle nesting areas, *Glob. Chang. Biol.* **20**: 2437-2449.
- Kempenaers, B. Borgström, P. Loës, P. Schlicht, E. y Valcu, M. 2010. Artificial night lighting affects dawn song, extra-pair siring success, and lay date in songbirds. *Curr. Biol.* **20**: 1735-1739.
- Knop, E., Zoller, L., Ryser, R., Gerpe, C., Hörler, M., y Fontaine, C. 2017. Artificial light at night as a new threat to pollination. *Nature.* **548**: 206–209.
- Kraus, J.M., Schmidt, T.S., Walters, D.M., Wanty, R.B., Zuellig, R.E., y Wolf., R.E. 2014. Cross-ecosystem impacts of stream pollution reduce resource and contaminant flux to riparian food webs. *ESA.* **24**: 235-243.
- Kremen, C. y Chaplin-Kramer, R. 2007. 15 Insects as providers of ecosystem services: crop pollination and pest control. En Royal Entomological Society, *Insect Conservation Biology: Proceedings of the Royal Entomological Society's 23rd Symposium.* pp 349-382. Wallingford, UK Cambridge, MA: CABI.
- Kronfeld-Schor, N. y Dayan, T. 2003. Partitioning of time as an ecological resource. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **34**: 153-181.
- Kyba, C.M. Ruhtz, T. Fischer, J. y Hölker, F. 2011. Cloud coverage acts as an amplifier for ecological light pollution in urban ecosystems. *PLoS ONE*. **6**: e17307.

- Le Glou, E. Seugnet, L. Shaw, P.J. Preat, T. y Goguel, V. 2012. Circadian modulation of consolidated memory retrieval following sleep deprivation in *Drosophila*. *SRS*. **35**: 1377-1384.
- Leather S.R. 2018. "Ecological Armageddon" – more evidence for the drastic decline in insect numbers. *Ann. Appl. Biol.* **172**: 1-3.
- Lehmann, F.O. y Schützner, P. 2010. The respiratory basis of locomotion in *Drosophila*. *Journal of Insect Physiology*. **56**: 543-550.
- Levene, H. 1960. Robust tests for equality of variances. Olkin I, ed. *Contributions to Probability and Statistics*. Stanford University Press, Stanford, CA. 278–292.
- Lighton, J.R.B. y Turner R.J. 2004. Thermolimit respirometry: an objective assessment of critical thermal maxima in two sympatric desert harvester ants, *Pogonomyrmex rugosus* and *P. californicus*. *J. Exp. Biology*. **207**: 1903-1913.
- Longcore, T. Rich, C. Mineau, P. MacDonald, B. Bert, D.G. Sullivan, L.M. y col. 2013. Avian mortality at communication towers in the United States and Canada: which species, how many, and where? *Biol. Conserv.* **158**: 410-419.
- Longcore, T. Rich, C. y Gauthreaux Jr, S.A. 2008. Height, guy wires, and steady-burning lights increase hazard of communication towers to nocturnal migrants: a review and meta-analysis. *The Auk* .**125**: 486-493.
- Longcore, T. y Rich, C. 2004. Ecological light pollution. *Front. Ecol. Environ.* **2**: 191-198.
- Luginbuhl, C. B. Wesley Lockwood, G. Davis, D. R. Pick, K. y Selders, J. 2009. From the ground up I: light pollution sources in Flagstaff, Arizona. *PASP*. **121**: 185-203.
- Luginbuhl, C.B. Boley, P.A. y Davis, D.R. 2014. The impact of light source spectral power distribution on sky glow. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* **139**: 21-26.
- MacGregor, C. J., Pocock, M. J. O., Fox, R., y Evans, D. M. 2015. Pollination by nocturnal Lepidoptera, and the effects of light pollution: a review. *Ecol. Entomol.* **40**: 187–198.

- Macgregor, C.J., y Scott-Brown, A.S. 2020. Nocturnal pollination: an overlooked ecosystem service vulnerable to environmental change. *Emerg. Top. Life Sci.* **4**: 19–32.
- Marais, E. Klok, C.J. Terblanche, J.S. y Chown, S.L. 2005. Insect gas exchange patterns: a phylogenetic perspective. *J. Exp. Biology.* **208**: 4495-4507.
- Matthews, P. G. D., y Terblanche, J. S. 2015. Evolution of the Mechanisms Underlying Insect Respiratory Gas Exchange. *Adv. In Insect Phys.* **49**: 1-24.
- Matzke, E.B. 1936. The effect of streetlights in delaying leaf-fall in certain trees. *Am. J. Bot.* **23**: 446-452.
- McLay, L.K. Green, M.P. y Jones, T.M. 2017. Chronic exposure to dim artificial light at night decreases fecundity and adult survival in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* **100**: 15-20.
- McLay, L.K. Nagarajan-Radha, V. Green, M.P. y Jones, T.M. 2018. Dim artificial light at night affects mating, reproductive output, and reactive oxygen species in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Zool. Part A.* **329**: 419-428.
- Merkel, F.R. y Johansen, K.L. 2011. Light-induced bird strikes on vessels in South- west Greenland. *Mar. Pollut. Bull.* **62**: 2330-2336.
- Nankoo, S., Raymond, S., y Galvez-Cloutier, R. 2019. The impact of the Jacques Cartier bridge illumination on the food chain: from insects to predators. *Community Ecol.* **20**: 172–180.
- Navara, K.J. y Nelson, R.J. 2007. The dark side of light at night: physiological, epidemiological, and ecological consequences. *J. Pineal. Res.* **43**: 215-224.
- Negro, J.J. Bustamante, J. Melguizo, C. Ruiz, J.L. y Grande, J.M. 2000. Nocturnal activity of lesser kestrels under artificial lighting conditions in Seville, Spain. *J. Raptor Res.* **34**: 327-329.

- Neil, K. y Wu, J. 2006. Effects of urbanization on plant flowering phenology: a review. *Urban Ecosyst.* **9**: 243-257.
- Nespolo, R.F. y Franco, M. 2007. Whole-animal metabolic rate is a repeatable trait: a meta-analysis. *J. Exp. Biology.* **210**: 2000-2005.
- Noriega, J.A., Hortal, J., Azcárate, F.M., Berg, M.P., Bonada, N., Briones, M.J.I., Del Toro, I., y col. 2018. Research trends in ecosystem services provided by insects. *Basic Appl. Ecol.* **26**: 8–23.
- Ollerton, J. 2017. Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **48**: 353–376.
- Owens, A.C.S., Cochard, P., Durrant, J., Farnworth, B., Perkin, E.K., y Seymoure, B. 2020. Light pollution is a driver of insect declines. *Biol. Conserv.* **241**: 108259.
- Owens, A.C.S., y Lewis, S.M. 2018. The impact of artificial light at night on nocturnal insects: A review and synthesis. *Ecol. Evol.* **8**: 11337–11358.
- Paetzold, A., Smith, M., Warren, P.H., y Maltby, L. 2011. Environmental impact propagated by cross-system subsidy: chronic stream pollution controls riparian spider populations. *Ecology.* **92**: 1711–1716.
- Painter, K. 1996. The influence of street lighting improvements on crime, fear and pedestrian street use, after dark. *Landscape Urban Plan.* **35**: 193-201.
- Pearson, K. 1900. On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *Phil. Mag.* **50**: 157–172.
- Punt, A., Parser, W.J. y Kuchlein, J. 1957. Oxigen uptake in insects with cyclic CO₂realise. *Biol. Bull.* **112**:108-119.
- Rich, C. y Longcore, T. 2006. *Ecological Consequences of Artificial Night Lighting.* Island Press.

- Rotics, S. Dayan, T. y Kronfeld-Schor, N. 2011. Effect of artificial night lighting on temporally partitioned spiny mice. *J. Mammal.* **92**: 159-168.
- Rydell, J., Elfström, M., Eklöf, J., y Sánchez-Navarro, S. 2020. Dramatic decline of northern bat *Eptesicus nilssonii* in Sweden over 30 years. *R. Soc. Open Sci.* **7**: 191754.
- Sanders, D. Kehoe, R. Tiley, K. Bennie, J. Cruse, D. Davies, T.W. y col. 2015. Artificial nighttime light changes aphid-parasitoid population dynamics. *Sci. Rep.* **5**: 7.
- Sanders, H. G. 1930. A note on the value of uniformity trials for subsequent experiments. *J. Agric. Sci.* **20**: 63-73.
- Santos, C.D. Miranda, A.C. Granadeiro, J.P. Lourenco, P.M. Saraiva, S. y Palmeirim, J.M. 2010. Effects of artificial illumination on the nocturnal foraging of waders. *Acta Oecolo.* **36**: 166-172.
- Sarwar, M. 2017. Insect-Borne zoonotic diseases representing significant public health threats and ways for their avoidance. *Public Health Prev. Med.* **3**: 1-9.
- Schowalter, T.D. Noriega, J.A. y Tschardt T. 2018. Insect effects on ecosystem services – introduction. *Basic Appl. Ecol.* **26**: 1-7.
- Shapiro, S. S., y Wilk, M. B. 1965. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika.* **52**: 591-611.
- Solervicens, J. y Estrada P. 1997. Ciclo de vida y descripción de los estados inmaduros de "Astylus Trifasciatus" Guérin, 1844(Coleoptera: Melyridae). *AEC.* **21**: 81-88.
- Sorg, M. Schwan, H. Stenmans, W y Müller A. 2013. Ermittlung der Biomassen flugaktiver Insekten im Naturschutzgebiet Orbroicher Bruch mit Malaise Fallen in den Jahren 1989 und 2013. *Mitteilungen aus dem Entomologischen Verein Krefeld.* **1**: 1-5.
- Steinmeyer, C. Schielzeth, H. Mueller, J. C. y Kempnaers, B. 2010. Variation in sleep behaviour in free-living blue tits, *Cyanistes caeruleus*: effects of sex, age and environment. *Anim. Behav.* **80**: 853–864.

- Thienel, M., Canals, M., Bozinovic, F., y Veloso, C. 2015. The effects of temperature on the gas exchange cycle in *Agathemera crassa*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* **183**: 126-130.
- Tierney, S.M. Friedrich, M. Humphreys, W.F. Jones, T.M. Warrant, E.J. y Wcislo W.T. 2017. Consequences of evolutionary transitions in changing photic environments. *Aust. J. Entomol.* **56**: 23-46.
- Tobler, I. y Borbely, A.A. 1985, Effect of rest deprivation on motor activity of fish. *J. Comp. Physiol. A.* **157**: 817-822
- Tuxbury, S.M. y Salmon, M. 2005. Competitive interactions between artificial lighting and natural cues during seafinding by hatchling marine turtles. *Biol. Conserv.* **121**: 311-316.
- United Nations. 2014. World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, Highlights. Department of Economic and Social Affairs. Population Division, United Nations.
- van Geffen, K.G. Groot, A.T. Van Grunsven, R.H.A. Donners, M. Berendse, F. y Veenendaal, E.M. 2015a. Artificial night lighting disrupts sex pheromone in a noctuid moth. *Ecol. Entomol.* **40**: 401-408.
- van Geffen, K.G. Van Eck, E. De Boer, R. A. Van Grunsven, R.H.A. Salis, L. Berendse, F. y col. (2015b). Artificial light at night inhibits mating in a Geometrid moth. *Insect Conserv. Divers.* **8**: 282-287.
- van Geffen, K.G. van Grunsven, R.H.A. van Ruijven, J. Berendse, F. y Veenendaal, E.M. 2014. Artificial light at night causes diapause inhibition and sex-specific life history changes in a moth. *Ecol. Evol.* **4**: 2082-2089.
- van Langevelde, F. van Grunsven, R.H.A. Veenendaal, E.M. y Fijen T.P.M. 2017. Artificial night lighting inhibits feeding in moths. *Biol. Lett.* **13**: e20160874.
- Venkatraman, E. S. y Begg, C. B. 1996. A distributionfree procedure for comparing receiver operating characteristic curves from a paired experiment. *Biometrika.* **83**: 835-848.

- Verheijhen, F.J. 1985. Photopollution: artificial light optic spatial control systems fail to cope with incidents, causations, remedies. *Exp. Biol.* **44**: 1-18.
- Vivien-Roels, B., & Pévet, P. 1993. Melatonin: presence and formation in invertebrates. *Experientia.* **49**: 642–647.
- Vollsnes, A.V. Eriksen, A.B. Otterholt, E. Kvaal, K. Oxaal, U. y Futsaether, C.M. 2009. Visible foliar injury and infrared imaging show that daylength affects short-term recovery after ozone stress in *Trifolium subterraneum*. *J. Exp. Bot.* **60**: 3677-3686.
- Willemstein, S.C. 1987. An evolutionary basis for pollination ecology. p. 425. Leiden University Press, Leiden.
- Yang, L.H., y Gratton, C. 2014. Insects as drivers of ecosystem processes. *Curr. Opin. Insect. Sci.* **2**: 26–32.
- Yokogawa, T. Marin, W. Faraco, J. Pézeron, G. Appelbaum, L. Zhang, J. Rosa, F. y col. 2007. Characterization of Sleep in Zebrafish and Insomnia in Hypocretin Receptor Mutants. *PLoS Biol.* **5**: e277
- Zimmerman, J. E. Mackiewicz, M. Galante, R. J. Zhang, L. Cater, J., Zoh, C. y col. 2004. Glycogen in the brain of *Drosophila melanogaster*: diurnal rhythm and the effect of rest deprivation. *J. Neurochem.* **88**: 32-40.