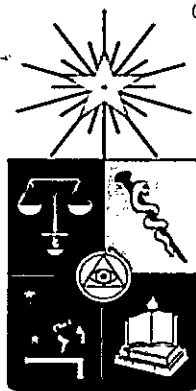


UGH-FC
B. Ausubel
T693
C-1



Universidad de Chile

Facultad de Ciencias

Escuela de Pregrado

Inestabilidad del desarrollo en soldados de *Neotermes chilensis* (Blattodea: Kalotermitidae) durante competencia intraespecífica

Seminario de título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente

Bárbara Torres Guzmán

Director:

Dr. Hermann Niemeyer Marich

Co-director:

Dr. Daniel Aguilera Olivares

Santiago de Chile, Marzo 2019

INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias de Universidad de Chile que el Seminario de título presentado por Bárbara Torres Guzmán:

Inestabilidad del desarrollo en soldados de *Neotermes chilensis* (Blattodea: Kalotermitidae)
durante competencia intraespecífica

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

Dr. Hermann Niemeyer Marich
Director Seminario de Título

Dr. Daniel Aguilera Olivares
Co-director Seminario de Título

Comisión Revisora y Evaluadora
Carezza Botto Mahan
Claudio Veloso Iriarte

Presidente de la Comisión
Carezza Botto Mahan

Evaluador
Claudio Veloso Iriarte

Santiago de Chile, Marzo 2019

El camino sigue y sigue

desde la puerta.

El camino ha ido muy lejos,

y si es posible he de seguirlo

recorriéndolo con pie decidido

hasta llegar a un camino más ancho

donde se encuentran senderos y cursos.

¿Y de ahí adónde iré? No podría decirlo.

John Ronald Reuel Tolkien

DEDICATORIA

"No hay plazo que no se cumpla ni deuda que no se pague" es una de mis frases célebres favoritas, pese a lo mala que soy para cumplir plazos. Contra todo pronóstico logré terminar esta tesis, después de un montón de crisis de la más diversa índole, por lo que esta va dedicada al caprichoso destino, que nos pone en situaciones que a veces ni imaginamos. Así también se la dedico a las personas presentes en mi vida, que de una u otra manera me empujaron hasta llegar acá.

RESUMEN BIOGRÁFICO



Nacida a mediados de la década de los ochenta, un caluroso día de primavera en Santiago de Chile. Desde pequeña manifestó interés por la ciencia, aunque en ese entonces soñaba con la astronomía o paleontología, pero pronto descubriría que los cálculos no eran lo suyo y que no existía la carrera de paleontología en Chile. Su infancia fue feliz, pese a ser hija única y crecer rodeada de adultos. Cuando alcanzo la adolescencia y paso a la enseñanza media se cambió de ciudad, llegando a vivir a un pueblito cercano a Chillán llamado Bulnes, que es conocido por registrar las temperaturas máximas en los veranos. Como no era buena madrugando y su asistencia era bastante mala, sus padres decidieron que se fuese internada en el liceo de niñas Marta Brunet de Chillan, por lo que paso sus cuatro años de enseñanza media dentro de las frías paredes de su viejo liceo donde tuvo un montón de absurdas aventuras, allí descubrió su amor por la biología.

Después de egresar de 4to medio, entro en oscuro periodo marcado por la desorientación, fracasos y enfermedades. Fueron duros años, de los que pensó que no saldría viva, pero de alguna forma se las arregló para ingresar a biología ambiental en la universidad de Chile y desde ahí empezar a arreglar su camino. Le fue difícil, el fantasma de fracasos académicos pasados se asomaba constantemente, pero pudo superarlo y egresar de la carrera. Pero no bastaba con egresar, hay que titularse, por lo que se embarcó en una tesis que parecía eterna (culpa de ella y no de la tesis) pero que al fin vio la luz pese a todas las dificultades que aparecieron en el camino.

En el presente, Bárbara se encuentra "hecha bolita" porque no sabe cómo será la vida después de la tesis y está asustada por el futuro incierto que se le viene encima, pero lo que sea que venga debe afrontarlo, de todas maneras siempre encuentra la forma.

AGRADECIMIENTOS

Creo que me faltaría vida para agradecer a todos quienes me apoyaron de una u otra manera en este proceso, que fue duro, a veces agobiante, y que en algún momento vi imposible terminar.

Comienzo por darle gracias (totales) a mis padres, quienes han sido pacientes y apañadores hasta más allá de lo imaginado (¡no me han echado de la casa!), me han apoyado en todo pese a que no siempre he sabido responderles de la manera que merecen, y no han perdido la fe en mi pese a que yo misma lo hice muchas veces.

Merece un agradecimiento especial Daniel, quien fue mi principal guía en este proceso y gracias a él este trabajo tomó forma y logró salir adelante; también gracias por su infinita paciencia para una persona con déficit atencional y poca tolerancia a la frustración como yo. He repetido muchas veces la palabra gracias, él ya sabe que suelo redundar, je, pero es que en serio, muchas gracias por todo, Dany.

También quiero agradecer a Hermann por su también infinita paciencia y acertados aportes, además por recibirme en el Laboratorio de Química Ecológica, y tener siempre una gran disposición pese a lo ocupado que siempre está.

Y ahora el agradecimiento más "especial" dirigido a la persona que me pidió una mención honrosa en este lugar, y sí que hizo mérito para ganársela, molestándome constantemente en redes sociales. Sí, José Rizo Massu, me refiero a ti, tus memes me ayudaron por agotamiento; y también mención especial a la Camila, quien se sumó al bullying los últimos meses.

Mil gracias también a mi pareja por su apoyo y tolerancia en todo momento, y por no sumarse al bullying de José y Camila, y también invitarme cerveza y papas fritas cuando me sentía agobiada y/o deprimida por no acabar esto.

Y también gracias a los que se me quedan en el tintero; amigos que me daban ánimo/molestaban, las personas del laboratorio por su siempre buena onda, el resto de termi-team que no me hacia bullying, el personal de Secretaría de Estudios y Escuela de Pregrado, que siempre me ayudó, familiares que siempre preguntaban si ya tenía el título o cuánto me faltaba y a mi gata Mishka por hacerme compañía en el momento que estoy escribiendo esto.

ÍNDICE DE MATERIAS

DEDICATORIA.....	4
Resumen biográfico.....	5
Agradecimientos.....	6
Índice de materias.....	7
Índice de figuras y tablas.....	8
I. RESUMEN.....	9
Abstract.....	11
II. INTRODUCCIÓN.....	13
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	23
Hipótesis.....	23
Objetivo General.....	23
Objetivos Específicos.....	23
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
Especie y SITIO de COLECTA.....	24
Medición de rasgos en soldados.....	26
Tamaño corporal.....	29
Asimetría fluctuante.....	30
V. RESULTADOS.....	34
Tamaño corporal.....	34
Asimetría Fluctuante.....	37
VI. DISCUSIÓN.....	43
VII. CONCLUSIONES.....	49
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Distribución de medidas en el lado derecho (D) e izquierdo (I) en organismos bilaterales	15
Figura 2: Ciclo de vida general de una termita.....	19
Figura 3: Individuos de <i>N. chilensis</i> pertenecientes a distintas castas.....	22
Figura 4: <i>Puya berteroniana</i> en Cuesta Las Chilcas.....	24
Figura 5: Mapa del sector Cuesta Las chilcas, Región de Valparaíso, donde se manipularon y recolectaron los escapos.....	25
Figura 6: Rasgos de soldados de <i>N. chilensis</i> utilizados para analizar el tamaño corporal.....	28
Figura 7: Rasgos (Prom \pm EE) medidos en soldados provenientes de escapos unicolumnales y multicolumnales, y analizados con MANOVA.....	36
Figura 8: Histogramas de frecuencias de distribución de la diferencia D-I de los caracteres medidos para asimetría fluctuante para soldados de escapos unicolumnales y multicolumnales.....	40
Figura 9: Índices de asimetría fluctuante AF1 y AF11 medidos en dos rasgos de soldados de <i>N. chilensis</i> provenientes de escapos unicolumnales y multicolumnales.....	41
Tabla 1: Rasgos utilizados para el estudio de tamaño corporal y asimetría fluctuante en soldados de <i>N. chilensis</i> . Se informan además sus respectivos aumentos con los cuales fueron fotografiados	27
Tabla 2: Correlaciones lineales entre la covariable y los caracteres estudiados.....	30
Tabla 3: Resultados para cada rasgo del análisis multivariado (MANOVA).....	35
Tabla 4: Pruebas de normalidad, centralidad alrededor de cero, descarte de asimetría direccional y error de medida (ANOVA de 2 vías) y dependencia del tamaño del rasgo de la distribución de frecuencias D-I (Regresión) en soldados provenientes de escapos unicolumnales (U) y multicolumnales (M).....	37
Tabla 5: Tamaños de muestras (N) y tamaños de rasgo promedio para cuatro caracteres medidos en soldados unicolumnales y multicolumnales de <i>N. chilensis</i>	39
Tabla 6: t-test de AF1 (para ambos rasgos) y AF11 (sumatoria de rasgos) que muestra la significancia de la diferencia entre los grupos de colonialidad para los dos rasgos que cumplieron con las condiciones de asimetría fluctuante.....	42
Tabla 7: Prueba de F de los índices AF5 calculados para cada rasgo entre los individuos unicolumnales y multicolumnales.....	42

I. RESUMEN	
------------	--

Cuando existen condiciones estresantes en el medio ambiente, como el riesgo de competencia, los organismos pueden presentar inestabilidad durante su desarrollo. Una forma de cuantificarlo es a través de la asimetría fluctuante, que consiste en medir las desviaciones aleatorias entre lados idealmente simétricos de un individuo. Otra forma de cuantificar esta inestabilidad es a través de la variación del tamaño de los individuos de una población, o bien de algunos de sus caracteres. En este trabajo, he estudiado ambos fenómenos utilizando como modelo de estudio *Neotermes chilensis*, una termita endémica de Chile. En ella se ha observado que la proporción de soldados en sus colonias aumenta frente al riesgo de ser invadidas; este estrés podría tener efectos sobre su grado de simetría y su tamaño corporal. Los individuos de *N. chilensis* fueron recolectados desde escapos de *Puya berteroniana* en la Cuesta Las Chilcas, Región de Valparaíso. Los escapos fueron trasladados al laboratorio y disecados distinguiendo entre escapos unicoloniales y multicoloniales. Se extrajeron los soldados, dado que son los principales responsables de la defensa de la colonia, es decir, en ellos recae mayormente el estrés asociado a la probabilidad de invasión. Realicé un análisis morfológico en ellos, midiendo la longitud, anchura e índice de simetría de diversas estructuras corporales, comparando entre individuos provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales.

Los resultados evidenciaron que existen diferencias significativas de tamaño entre grupos unicoloniales y multicoloniales en cinco rasgos: longitud del pronoto, longitud del metanoto,

anchura de la cabeza 2 (medido donde inicia la mandíbula), distancia interdental entre los dos primeros dientes de la mandíbula derecha y área de la mandíbula derecha, siendo estos mayores en los soldados de escapos multicoloniales. Sin embargo, las diferencias de asimetría fueron más sutiles, estando presentes sólo en un rasgo (anchura del fémur) utilizando el índice de asimetría fluctuante AF1.

Estas diferencias se asociarían al estrés causado por la potencial competencia por el recurso del sustrato en los escapos multicoloniales, dado que los caracteres donde existe diferencia significativa están en su mayoría relacionados con la defensa. En la misma línea, dado que es una respuesta en condiciones de estrés, se esperaba que los soldados de escapos multicoloniales fuesen más asimétricos; sin embargo, sólo uno de los índices de asimetría detectó diferencia significativa en un rasgo, lo que puede significar que las condiciones distintas en que vivían las termitas no son suficientes para causar "ruido" en el desarrollo de los soldados.

PALABRAS CLAVE: Soldados, asimetría fluctuante, diferencia de tamaño, nidos unicoloniales, nidos multicoloniales, MANOVA, prueba de t

ABSTRACT	
-----------------	--

When exposed to stressing environmental conditions such as the risk of competition, organisms may show developmental instability. Fluctuating asymmetry is a way to quantify it, which consists in measuring random deviations between ideally symmetric sides. Another way used is measuring size variations of individuals within a population, or differences produced in some of its features. In this work, I have studied both phenomena in the Chilean one-piece nesting endemic termite, *Neotermes chilensis*, where the proportion of soldiers within colonies increases when there is a risk of being invaded. Such risk is enhanced when nearby colonies are present in their nesting substrate. This stressful condition may affect their degree of symmetry and their body size. Individuals of *N. chilensis* were collected from the dry stems of *Puya berteroniana* in Cuesta Las Chiucas, Región de Valparaíso. The dry stems were transported to the laboratory and dissected, distinguishing between unicolonial and multicolonial stems. The soldiers were extracted, given that they are the caste mainly responsible for colony defense, and hence subject to the stress of possible competition. I performed a morphological analysis on soldiers by measuring the length, width and index of symmetry of several body structures and comparing between individuals from unicolonial and multicolonial dry stems.

The results showed significant differences in size between both groups in five traits (pronotum length, metanotus length, head width 2 (measured where the mandible starts), interdental distance between the first two teeth of the right mandible and area of the right mandible), all of them being larger in soldiers from multicolonial scapes. However, the differences in

asymmetry were subtler, being present only in one trait (width of femur) using the fluctuating asymmetry index AF1.

These differences were attributed to the stress caused by the potential competition for resources in multicolonial scapes, since the traits which showed significant differences were mostly related to defense. In the same vein, given that it is a response to stressful conditions, it was expected that soldiers from multicolonial scapes would be more asymmetric; however, only one trait showed significant differences between both kind of soldiers, which may mean that the conditions were not stressful enough to affect the development of soldiers.

KEY WORDS: *Neotermes chilensis*, termites, soldier, fluctuating asymmetry, size difference, unicolonial nests, multicolonial nests, MANOVA, t-test

II. INTRODUCCIÓN

La simetría es una relación geométrica equitativa entre distintos puntos de un organismo u objeto (Weyl, 2015). La simetría puede ser de varios tipos según las características físicas del organismo: i) *simetría esférica*, se encuentra en organismos como las algas del género *Volvox*, donde todo plano que pase por el centro de su cuerpo dividirá al organismo en dos mitades idénticas; ii) *simetría radial*, es la disposición de secciones iguales del cuerpo alrededor de un eje central. De acuerdo al número de secciones en las cuales puede ser dividido un organismo, la simetría radial puede ser: a) radial primaria, presente en organismos cilíndricos conformado por una cantidad indefinida de secciones iguales, como por ejemplo en los cnidarios en etapa pólipo, ctenóforos y algunas esponjas (Morris, 1993); b) birradial, es la simetría en la que sólo existen dos planos (ecuatorial y tentacular) que pueden dividir el cuerpo en mitades similares, y se encuentra presente en algunos cnidarios en etapa medusa (Bridge *et al.*, 1995) o c) pentarradial, divide al cuerpo a través de cinco planos de simetría, y se encuentra exclusivamente en equinodermos (Ubaghs, 1975); y finalmente iii) *simetría bilateral*, en la cual un único plano, el plano sagital, divide el cuerpo de un organismo en dos mitades especularmente idénticas (Weyl, 2015). La simetría bilateral es la más común, estando presente en 98% de las especies (Collins, 1998).

La forma del histograma de distribución de frecuencias de la diferencia entre los lados derecho e izquierdo (D e I) en organismos con simetría bilateral, permite definir distintos tipos de asimetría (Palmer, 1994): i) *Antisimetría*: diferencias morfológicas significativas entre caracteres pareados o lados de un carácter; el lado con el carácter de mayor magnitud varía

al azar entre individuos. Se detecta mediante pruebas estadísticas aplicadas a la distribución de (D-I) que evalúan las desviaciones de la normalidad hacia la platicurtosis (donde el pico es más ancho y achatado, y las colas son más cortas - Fig. 1A) o hacia la bimodalidad (donde se observan dos picos separados por un valle - Fig. 1B), siendo la media de (D-I) generalmente cero; ii) *Asimetría direccional*: diferencias significativas entre lados, pero el lado con el carácter de mayor magnitud es siempre el mismo. Los valores de (D-I) presentan una distribución normal alrededor de una media que está significativamente sesgada hacia valores positivos o negativos (Fig. 1C) y iii) *Asimetría fluctuante*: no hay una tendencia a que el carácter de un lado tenga mayor magnitud que el del opuesto; la media de (D-I) es cero y la variación de dicha diferencia se distribuye normalmente alrededor de dicho valor (Fig. 1D). Es importante destacar que, en una población con simetría perfecta en el rasgo medido, este estaría representado por un único punto sobre el valor cero, ya que todos los individuos presentarían esta diferencia entre izquierda y derecha.

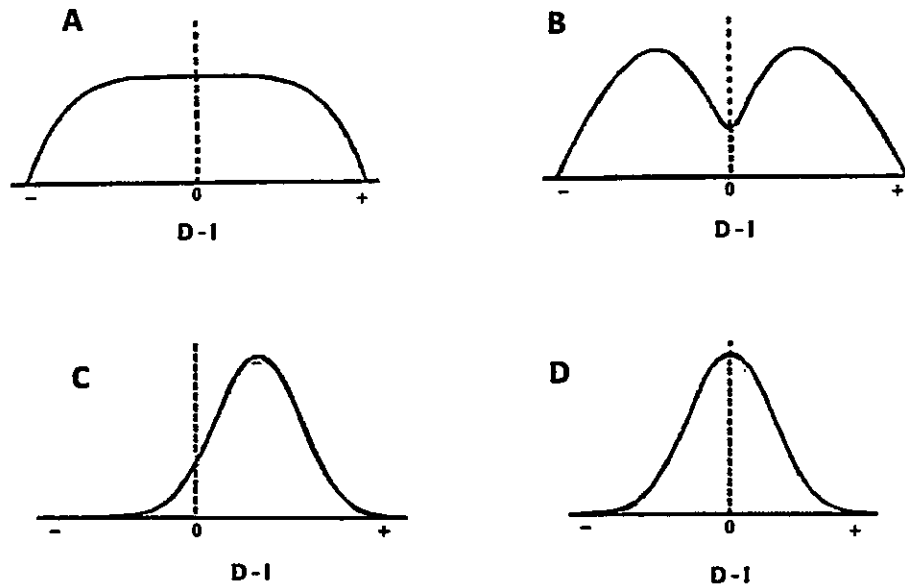


Figura 1: Distribución de medidas en el lado derecho (D) e izquierdo (I) en organismos bilaterales: A) Antisimetría (distribución platicúrtica), B) Antisimetría (distribución bimodal), C) Asimetría direccional y D) Asimetría fluctuante. (Cuervo JJ, 2000)

La acción de genes o grupos de genes que controlan el desarrollo de órganos pares dan como resultado la simetría bilateral en metazoos, de modo que las diferencias entre el lado derecho e izquierdo de un carácter reflejarían las propiedades intrínsecas del genoma relacionadas con su capacidad para resistir las alteraciones ambientales que ocurren durante la ontogenia del individuo (Labrie *et al.*, 2003; Leamy y Klingenberg, 2005). Así, los factores ambientales podrían afectar diferencialmente el desarrollo del lado izquierdo y derecho de un organismo produciendo individuos que se alejan de la simetría perfecta (Auffray *et al.*, 1996; Klingenberg, 2003; Van Dongen, 2006). Más aún, en ambientes alterados los animales pueden presentar diferentes modalidades de asimetría (Benítez *et al.*, 2008). En efecto, durante el proceso natural del desarrollo de un organismo, generalmente existen pequeñas

perturbaciones al nivel celular (ruido del desarrollo - Polak, 2003). Debido a que estas perturbaciones se producen en una pequeña parte del organismo, se espera que los efectos se acumulen de forma independiente en el lado izquierdo y derecho (Klingenberg, 2003). Así, la asimetría visible y cuantificable de ambos lados de las estructuras morfológicas sería la expresión de las perturbaciones que se han acumulado durante el desarrollo. Estas perturbaciones en el desarrollo pueden deberse a la interacción entre el estrés ambiental y la composición genética de cada uno de los individuos (Palmer, 1994; Leamy, 1984). Por estas razones, la asimetría fluctuante puede utilizarse como herramienta para estimar la estabilidad en el desarrollo (Palmer y Strobeck, 1986; Palmer, 1994; Clarke, 1998; Pither y Taylor, 2000). El estudio de la asimetría fluctuante, por su simplicidad de manejo y rapidez en la obtención de resultados, se ha convertido en un foco de interés para la biología. Así, la mayoría de los estudios en ecología, biología evolutiva y genética, entre otros, utilizan asimetría fluctuante como medida directa del estrés del desarrollo (Klingenberg, 2003).

La simetría no es la única característica del desarrollo de un individuo que es afectada por las perturbaciones ambientales. Otra variable sensible al estrés ambiental en una población es la variación del tamaño de los individuos (Smock, 1980). Fenómenos como la escasez de recursos, la competencia y/o depredación, entre otros, pueden causar una selección disruptiva o direccional, siendo beneficiados individuos de mayor y/o menor tamaño, en comparación a condiciones normales con individuos sometidos a bajos niveles de estrés (Smock, 1980).

Los insectos sociales pueden formar grandes colonias con una estructura de nido protegido que mitiga los cambios ambientales externos, lo que resulta en condiciones homeostáticas dentro del nido (Wood y Cowie, 1988). Esta característica es la clave en su capacidad de adaptarse a una gran variedad de contextos ecológicos (Jones y Oldroyd, 2006). Sin embargo, vivir protegidos dentro de un nido no los excluye de la competencia por recursos, tanto con individuos conespecíficos como interespecíficos, sobre todo si son colonias pequeñas y/o incipientes (Nutting, 1969; Oster y Wilson, 1978), generando situaciones de estrés que pudiesen repercutir en el desarrollo de los miembros de la colonia. Los estudios sobre la inestabilidad en el desarrollo en los insectos sociales están en su mayoría restringidos a los efectos de la ploidía, endogamia, heterocigosidad e hibridación (Brückner, 1976; Ross y Robertson, 1990; Clarke *et al.*, 1992); sin embargo, los estudios que aborden el efecto de la competencia sobre la estabilidad del desarrollo en insectos sociales, son escasos.

Las termitas son consideradas cucarachas eusociales que viven en colonias y pertenecen al orden Blattodea con unas 3000 especies distribuidas en siete familias (Inward *et al.*, 2007; Eggleton, 2011). Se diferencian morfológica y funcionalmente en tres castas principales: reproductores primarios, obreras (o pseudo-obreras) y soldados (Fig 3); ellos cumplen labores de reproducción, construcción del nido y cuidado de crías, y defensa de la colonia, respectivamente (Noirot y Darlington, 2000). Han sido descritas tres categorías de termitas según su conducta de nidificación y forrajeo (Eggleton y Tayasu, 2001): i) *nidificadoras de múltiples piezas*, que anidan y forrajean en sustratos diferentes, ii) *nidificadoras de una pieza*, que anidan y forrajean en un mismo trozo de madera, y iii) *nidificadoras de piezas*

intermedias, que anidan y forrajean en un mismo sustrato pero tienen la capacidad de moverse a otro sustrato cuando el recurso se torna escaso. El ciclo de vida de una colonia (Fig. 2) es similar en todas las familias: durante un período del año, en cada colonia se producen individuos alados de ambos sexos (Aguilera-Olivares *et al.*, 2015), los que abandonan el nido, se posan sobre la tierra o sobre un pedazo de madera, pierden las alas y comienzan la búsqueda de pareja a través de un paseo nupcial denominado “tándem” con la hembra como guía (Costa-Leonardo *et al.*, 2009). Posteriormente construyen una cámara nupcial, se aparean y luego la hembra oviposita los primeros huevos fundando así una nueva colonia. Desde ese momento ambos individuos conforman la pareja real (rey y reina), siendo ellos los primeros en encargarse de alimentar a la primera progenie que dará origen a obreras o pseudo-obreras. La diferencia entre estos últimos radica en que las pseudo-obreras son capaces de diferenciarse en soldados, alados (futuros reproductores primarios) o mantenerse como pseudo-obreras según necesidad de la colonia, mientras que las obreras permanecen como tales durante toda su vida (Eggleton, 2011).

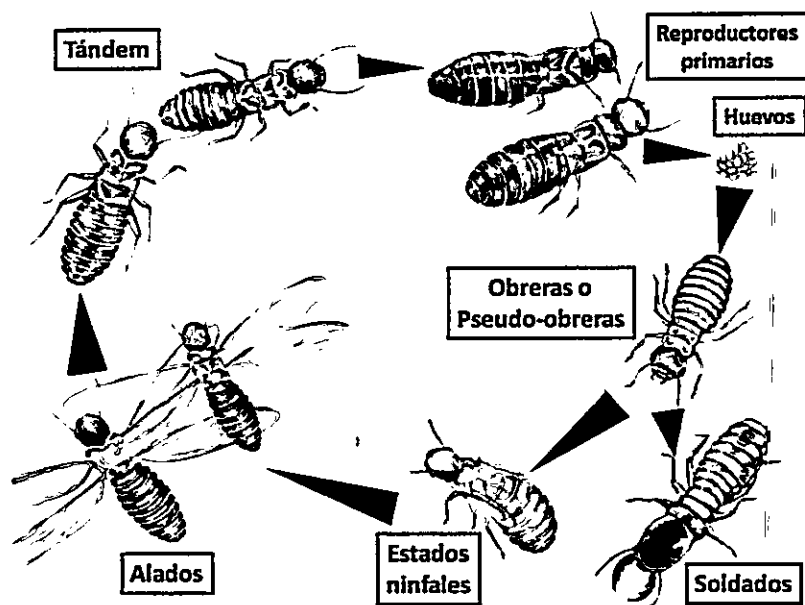


Figura 2: Ciclo de vida general de una termita. Se muestra a una pseudo-obrera dando origen a un soldado o a un alado, o permaneciendo como pseudo-obrera. Existen especies que, en vez de pseudo-obreras, tienen obreras que vienen determinadas en etapas tempranas del desarrollo.

El éxito de una colonia depende de la capacidad de sus miembros para defender las fuentes de alimento y el nido. Cuando las condiciones ambientales cambian, los organismos y/o las poblaciones sufren modificaciones que les permiten resistir la presión de dichas variaciones (Falconer y Mackay, 1996); una de esas condiciones puede ser la presencia de un competidor. Las estrategias defensivas de las termitas descansan principalmente sobre los soldados, aunque se ha observado en algunas especies que las obreras contribuyen de manera importante en la defensa del nido (Bordereau *et al.*, 1997). Las respuestas agresivas de los soldados frente a individuos de otras colonias varían según la especie y la temporada; estas diferencias están vinculadas con la historia de la especie y las condiciones climáticas en su área de distribución (Clément, 1986). Los soldados son una casta altamente

especializada que muestra características particulares en la cabeza, mandíbulas y la presencia de glándulas defensivas (Deligne *et al.*, 1981; Prestwich, 1984). De este modo, los soldados pueden utilizar una defensa mecánica (utilizando sus mandíbulas), química (a través de secreciones de sus glándulas) o mixta (Prestwich, 1984; Šobotník *et al.*, 2010). La diferenciación morfológica de los soldados no tiene equivalente en otros insectos sociales y parece haber evolucionado sólo una vez en las termitas (Lefeuvre y Bordereau, 1984).

La producción y mantención de los soldados representa un alto costo energético para la colonia, ya que son totalmente dependientes de las obreras o pseudo-obreras en su alimentación, de modo tal que se estima que deben existir unas cinco obreras o pseudo-obreras por cada soldado para su mantención adecuada (Grassé, 1939; Noirot, 1989). Se conocen dos niveles de regulación interna de la proporción de soldados en una colonia: i) la regulación endocrina individual, donde la hormona juvenil juega un papel en la regulación del desarrollo del soldado (Mao *et al.*, 2005; Park y Raina, 2004; Chouvenc *et al.*, 2015) y ii) la regulación social, donde cruzado un umbral en la proporción de soldados se produce una inhibición en la producción de nuevos soldados (Miller, 1942; Springhetti, 1973; Bordereau y Han, 1986; Su y La Fage, 1986; Park y Raina, 2005; Mao y Henderson, 2010). Factores ambientales como la temperatura, la presencia de depredadores y/o competidores, o la escasez de forraje pueden también influir en la proporción de soldados (Waller y La Fage, 1988; Liu *et al.*, 2005; Korb *et al.*, 2003). Adicionalmente, estos factores también podrían generar un estrés en el desarrollo de los soldados, lo que podría verse reflejado en anomalías en su tamaño y/o asimetría fluctuante.

En Chile se han descrito cinco especies de termitas; una de ellas es *Neotermes chilensis* (Blattodea: Kalotermitidae), nidificadora de una pieza, endémica de Chile y distribuida entre la Región de Atacama y la Región del Libertador Bernardo O'Higgins (Artigas, 1994; Ripa y Luppichini, 2004). Su sustrato de nidificación es madera seca y entre sus hospederos nativos se encuentra *Puya berteroniana* (Bromeliaceae), cuyo escapo (tallo de la inflorescencia) seco a menudo alberga una (escapo unicolonial) o más colonias (escapo multicolonial). Aguilera-Olivares *et al.* (2017) demostraron que la proporción de soldados en las colonias de *N. chilensis* aumentaba frente al riesgo de ser invadidas en dos posibles escenarios: i) por una pareja de de-alados (reproductores alados), buscando un sustrato para fundar una nueva colonia; y ii) cuando existían colonias vecinas dentro del mismo sustrato. También observaron que las colonias de escapos unicoloniales contenían generalmente un mayor número de individuos. Por otra parte, en insectos sociales las colonias más numerosas suelen ser más exitosas dado que el mayor número de individuos da mayor estabilidad al nido, es decir, mejores condiciones hemostáticas para resistir los cambios ambientales y por ende mejorar la probabilidad de sobrevivencia de la colonia (Hughes *et al.*, 2008). Este conjunto de resultados permite inferir que las condiciones dentro de los escapos unicoloniales serían más estables que en escapos multicoloniales; esto redundaría en mejores condiciones para el desarrollo de los soldados, lo que se vería reflejado en su mayor tamaño final. Por su parte, las colonias de escapos multicoloniales son más pequeñas y estarían sometidas a mayores riesgos, como el de competencia por recursos con las colonias vecinas. En esta situación, es de suponer que las colonias producirían más soldados a partir de pseudo-obreras en un periodo dado de tiempo, lo que repercutiría negativamente en su tamaño.

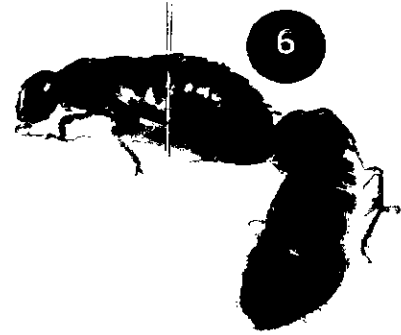


Figura 3: Individuos de *N. chilensis* pertenecientes a distintas castas: 1) alados, 2) soldados, 3) pseudo-obreras).4) ninfa ojos negros, 5) juvenil, y 6) reproductores.

En este trabajo se utilizarán soldados de *N. chilensis* para evaluar el efecto de la presencia de colonias vecinas dentro de un mismo escapo de *P. berteroniana*, sobre el tamaño y la simetría de soldados, como síntomas de un desarrollo inestable provocado por estrés ambiental (competencia por recursos).

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.

HIPÓTESIS

Dado que el aumento en la producción de soldados está relacionado con el riesgo de invasión de la colonia, el desarrollo de los soldados puede verse afectado con la presencia de colonias vecinas, generando así variaciones de tamaño y desviaciones de la simetría en soldados provenientes de colonias en escapos multicoloniales en comparación con unicoloniales.

- **Predicción 1:** Existirá variación de tamaño entre los soldados provenientes de colonias unicoloniales y multicoloniales debido a la competencia por recursos que afecta a estos últimos.
- **Predicción 2:** Existirán diferencias en el grado de simetría entre soldados de colonias provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales, siendo el índice de asimetría fluctuante mayor en soldados provenientes de escapos multicoloniales que de unicoloniales.

OBJETIVO GENERAL

- Estudiar el efecto del estrés generado por la presencia de colonias vecinas en un mismo trozo de madera sobre el tamaño y las desviaciones de la simetría en soldados de *N. chilensis*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar las diferencias de tamaño en soldados provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales.

- Cuantificar la asimetría fluctuante en estructuras morfológicas de soldados provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
---------------------------------	--

ESPECIE Y SITIO DE COLECTA	
-----------------------------------	--

El modelo de estudio fue *N. chilensis* cuyo sustrato de nidificación eran tallos de inflorescencia (escapos) secos de *P. berteroniana* (Fig. 4). Esta es una especie nativa de Chile comúnmente llamada "puya" o "chagual" que presenta inflorescencias en espiga que pueden alcanzar dos metros de altura, con flores verde azulosas.



Figura 4: *Puya berteroniana* en Cuesta Las Chilcas, Región de Valparaíso.

El sitio de recolección fue Cuesta Las Chilcas (32° 52'S; 70° 52'W) en la Región de Valparaíso (Fig. 5). La vegetación que se encuentra en esta zona es del tipo matorral y bosque espinoso. Las especies representativas son espino (*Acacia caven*), algarrobo

(*Prosopis chilensis*), chagual (*P. berteroniana*), palhuén (*Adesmia arborea*), y especies acompañantes como colliguay (*Colliguaja odorifera*) y quisco (*Trichocereus chiloensis*) (Gajardo, 1994).

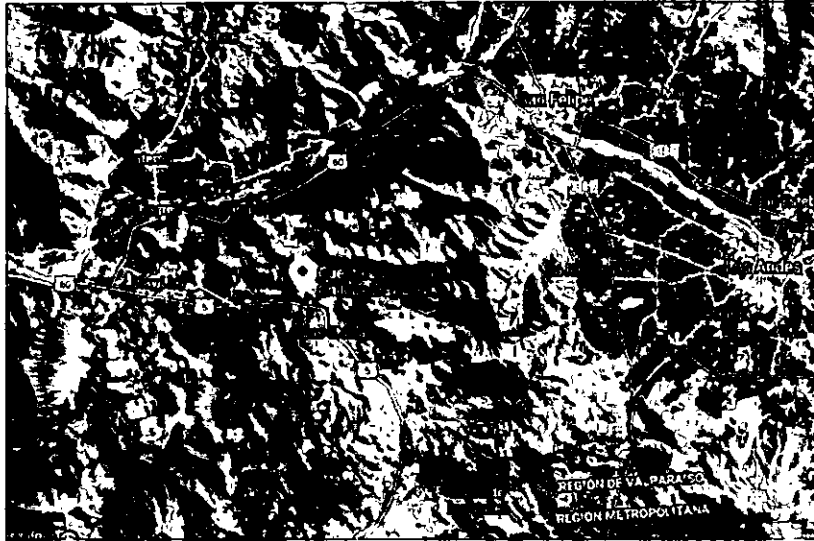


Figura 5: Mapa del sector Cuesta Las chilcas, Región de Valparaíso, donde se manipularon y recolectaron los escapos.

En el mes de diciembre de 2014, se extrajo un total de 24 escapos secos de *P. berteroniana*, los que fueron trasladados al laboratorio en Santiago en forma individual dentro de bolsas de tul con el fin de evitar la pérdida de individuos. Una vez en el laboratorio se mantuvieron en oscuridad en una sala de crianza a 16°C. De estos escapos, 14 resultaron ser unicelulares y 10 multicelulares ($2,22 \pm 2,21$ colonias por escapo, mín= 1; máx= 8). Los escapos fueron disecados y de cada uno se extrajeron entre 3 y 5 soldados que fueron almacenados individualmente en alcohol al 70% v/v en tubos Eppendorf®. Se extrajeron 31 soldados

provenientes de escapos unicoloniales y 23 soldados provenientes de escapos multicoloniales.

MEDICIÓN DE RASGOS EN SOLDADOS

Debido a que los soldados son individuos cuyo tórax y abdomen no están quitinizados, sus dimensiones son sensibles a su grado de hidratación, por lo cual no es posible obtener una medida confiable de su longitud total. En consecuencia, no fue posible corregir cada rasgo medido por el tamaño corporal del individuo en cuestión. Se midieron veinte caracteres quitinizados (en duplicado) para obtener una mejor aproximación del tamaño total del individuo (Tabla 1). Por otro lado, se midieron 4 pares de caracteres [en triplicado y cada medición fue realizada en días distintos con el fin de evitar sesgos dados por una medición previa (Palmer, 1994)] hipotéticamente simétricos para realizar el estudio de asimetría fluctuante, los cuales presentan cambios significativos al pasar de un estadio a otro (Koshikawa *et al.*, 2002, 2003; Muller y Korb, 2008). Del mismo modo, se excluyeron las mandíbulas al ser intrínsecamente asimétricas (Tabla 1). Para la medición de los rasgos se utilizó un estéreo-microscopio tri-ocular Olympus® Modelo SZ61, con una cámara integrada Mshot 30. Las mediciones de los rasgos fueron realizadas con el programa Mshot Digital Imaging System (Micro-shot Technology Co. 2010) a partir de las fotografías tomadas. En la Figura 6 se ilustran todos los rasgos medidos.

Tabla 1: Rasgos utilizados para el estudio de tamaño corporal y asimetría fluctuante en soldados de *N. chilensis*. Se informan además los respectivos aumentos con los cuales fueron fotografiados

Análisis	Rasgo	Abreviación	Aumento
Tamaño corporal	Longitud cabeza	LC	10,5x
	Anchura máxima de cabeza	AC	15x
	Anchura de cabeza en origen de mandíbulas	AC2	15x
	Altura cabeza	AltC	18x
	Longitud pronoto	LP	18x
	Longitud mesonoto	LM	18x
	Longitud metanoto	LMt	18x
	Longitud mandíbula derecha	LMd	30x
	Longitud mandíbula izquierda	LMI	30x
	Distancia interdental 1-2 mandíbula derecha,	DI12d	30x
	Distancia interdental 1-2 mandíbula izquierda	DI12i	30x
	Longitud posmentum	LPm	22,5x
	Anchura posmentum	APm	22,5x
	Área cabeza	ArC	15x
	Área mandíbula derecha	ArMd	30x
	Área mandíbula izquierda	ArMi	30x
	Perímetro mandíbula derecha	PMd	30x
	Perímetro mandíbula izquierda	PMi	30x
Perímetro cabeza	PC	15x	
Asimetría fluctuante	Longitud fémur de patas protorácicas	Lf.	30x
	Anchura fémur de patas protorácicas	Af	30x
	Longitud tibia de patas protorácicas	Lt	30x
	Perímetro fémur patas protorácicas	Pf	30x

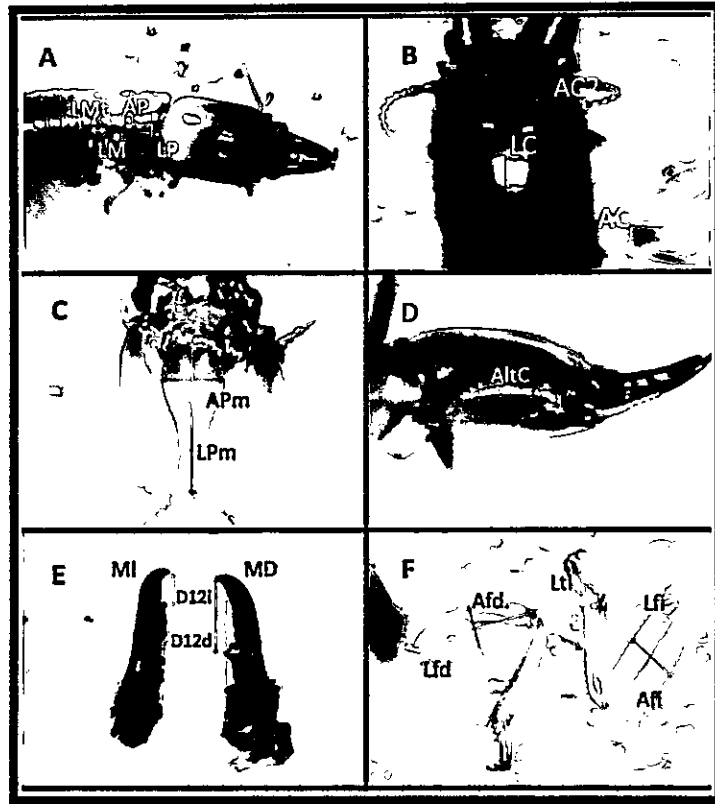


Figura 6: Rasgos de soldados de *N. chilensis* utilizados para analizar el tamaño corporal. A) Vista superior del cuerpo de un soldado que muestra la medición de los segmentos del tórax. B) Vista superior de la cabeza de un soldado que muestra la longitud, la anchura 1 y la anchura 2 de la cabeza. C) Vista superior de la parte anterior de la cabeza que muestra las medidas del postmentum. D) Vista lateral de la cabeza que muestra la altura de la cabeza. E) Vista superior de las mandíbulas izquierda y derecha que muestra la longitud de la mandíbula y el espacio entre dientes 1 y 2. F) Vista superior de las patas protorácicas que muestra las mediciones que en ellas se hicieron. No se muestran las mediciones de áreas y perímetros medidos. En estas imágenes se utilizaron las abreviaturas de la Tabla 1 y los aumentos respectivos también se indican en la misma tabla.

TAMAÑO CORPORAL

Cada uno de los rasgos que representan el tamaño corporal (Tabla 1) fue medido dos veces; el promedio entre estas dos medidas fue utilizado en los análisis. Para evaluar la significancia de las diferencias de tamaño entre soldados provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales se realizó un Análisis de Varianza Multivariado de una vía (MANOVA; por sus siglas en inglés) con los veinte rasgos medidos como variables dependientes. Los datos cumplieron con los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia. Los análisis fueron realizados con el programa STATISTICA v7.0 (Stat Soft Inc., 2004).

Dado que en otras especies de termitas se ha observado que la estabilidad del desarrollo de soldados se ve afectada por el tamaño de la colonia (Chouvenc *et al.*, 2014), se evaluó el número total de individuos de cada colonia como medida cuantitativa de su tamaño para ser utilizada como covariable en un MANCOVA (Análisis de Covarianza Multivariado de una vía; por sus siglas en inglés). Sin embargo, a pesar de que la covariable es cuantitativa, biológicamente relevante y fue medida antes de aplicar el tratamiento, esta no está linealmente relacionada con todos los rasgos medidos, de forma tal que no puede ser utilizada en un MANCOVA (Tabla 2).

Tabla 2: Correlaciones lineales entre la covariable y los caracteres estudiados, utilizando correlaciones de Pearson.

Carácter	Coefficiente de correlación	P
Área cabeza	0,366	0,008
Área Mandíbula derecha	0,116	0,424
Área Mandíbula izquierda	0,169	0,241
Perímetro cabeza	0,349	0,013
Perímetro Mi	0,149	0,309
Perímetro Md	-0,0124	0,932
Longitud cabeza	0,29	0,041
Anchura pronoto	0,488	< 0,001
Anchura cabeza 1	0,357	0,011
Longitud posmentum	0,019	0,893
Longitud mandíbula derecha	0,182	0,205
Longitud mandíbula izquierda	0,142	0,325
Anchura cabeza 2	0,24	0,049
Altura cabeza	0,069	0,634
Longitud pronoto	0,299	0,035
Espacio interdental 1-2 derecho	0,243	0,049
Anchura posmentum	0,282	0,047
Espacio interdental 1-2 izquierdo	0,092	0,522
Longitud mesonoto	0,243	0,047
Longitud metanoto	0,18	0,211

ASIMETRÍA FLUCTUANTE

Cada uno de los cuatro rasgos señalados en la Tabla 1 fue medido en triplicado, para después promediar estas mediciones, de acuerdo a Palmer (1994). Existen numerosos

índices para medir asimetría fluctuante (Palmer, 1994). Sin embargo, antes de usarlos se debe descartar la presencia de asimetría direccional y antisimetría, y luego realizar algunas pruebas que permitan elegir el índice adecuado a la muestra (Møller y Swaddle, 1997). Las pruebas realizadas con la diferencia entre las medias del lado derecho y del lado izquierdo (D-I) fueron las siguientes (Palmer y Strobeck, 1992):

- **Prueba de normalidad:** con la corrección de Lilliefors, los datos deben ser normales como uno de los requisitos para realizar un análisis de asimetría fluctuante.
- **Prueba de centralidad:** para la distribución de D-I alrededor de cero a través de la prueba t de Student de una muestra. La no significancia descarta asimetría direccional.
- **ANOVA de 2 vías:** se realiza para determinar si la variación entre lados es significativamente mayor al error de medición, lo que se demuestra cuando la diferencia entre réplicas es mayor a la diferencia entre individuos. Se utiliza el individuo y el lado (derecho o izquierdo) como factores y la medida del carácter correspondiente con sus réplicas como variable dependiente. Una interacción significativa entre estos factores da cuenta que la variación entre individuos es mayor que dentro de individuos (error de medición), por lo tanto, se puede proceder a las pruebas de asimetría fluctuante.
- **Regresión:** Prueba para comprobar si existe dependencia de la asimetría fluctuante con el tamaño del carácter. La regresión se realizó entre (D - I) de cada carácter y el tamaño de este. Resultados no significativos descartan esta dependencia

Se realizó también estadística descriptiva de $(D - l)$ para los cuatro rasgos anteriormente señalados en ambos tipos de colonialidad, con el fin de caracterizar la distribución de los datos y observar la existencia de asimetría (distribución platicúrtica o bimodal) según los valores de curtosis (Tabla 3). Cuando el coeficiente de curtosis (K) es $K > 0$ la distribución leptocúrtica, si $K = 0$ es distribución mesocúrtica y si $K < 0$ se trata de una distribución platicúrtica. Cabe señalar que difícilmente un valor de K será cero, por lo cual se acepta que la valores que van entre $\pm 0,5$ corresponden a distribución mesocúrtica.

Se utilizaron los siguientes índices para medir asimetría fluctuante (Palmer, 1994):

1. **AF1** = Promedio $|D-l|$
2. **AF5** = $\sum(D - l)^2/N$
3. **AF11** = $\sum|D_i - l_i|$ para varios rasgos medidos en un mismo individuo.

donde: D_i : Medida del rasgo i derecho.

l_i : Medida del rasgo i izquierdo.

Estos índices entregan el grado de asimetría fluctuante de cada individuo, sin tener en consideración el tamaño del carácter. Los índices de asimetría fluctante fueron comparados entre soldados provenientes de escapos multicoloniales y unicoloniales utilizando la prueba t -test para los índices AF1 y AF11 y la prueba F de Fisher para el índice AF5; el valor de F se calculó con la razón entre AF5 unicolonial y AF5 multicolonial, dejando como numerador al mayor de estos valores. Los grados de libertad se calcularon de la siguiente manera:

$$gl_1 = (t - 1) \quad gl_2 = t(n - 1)$$

donde:

t= tratamientos

n= número total de muestras

Se evaluó utilizar el tamaño de la colonia como covariable tal como en la comparación de tamaño corporal, pero esta vez en un ANCOVA. Sin embargo, los índices de asimetría tampoco satisficieron el supuesto de relación lineal, como se indica a continuación con los índices de correlación de Pearson: AF1 con rasgo anchura fémur ($r = -0,119$; $P = 0,379$) y con rasgo longitud de tibia ($r = 0,052$; $P = 0,698$), y AF11 ($r = 0,069$; $P = 0,610$). En consecuencia, no fue posible realizar un ANCOVA y se prefirió una prueba de t.

Los análisis estadísticos previos a los índices de asimetría y los correspondientes a los de los índices AF1 y AF11 fueron realizados en el programa Sigma Plot v12.0 (Systat Software, 2011) mientras que el análisis del índice AF5 se realizó manualmente utilizando tablas de contingencia de Fisher. Para la estadística descriptiva se utilizó STATISTICA v7.0 (Stat Soft Inc, 2004).

V. RESULTADOS

TAMAÑO CORPORAL

El resultado del MANOVA mostró que los soldados provenientes de escapos multicoloniales no fueron de tamaño significativamente distinto que los soldados provenientes de escapos unicoloniales ($F_{20,29} = 1,70$; $P = 0,093$). Por otra parte, en el análisis univariado, donde se evalúa cada carácter por separado, se observaron diferencias significativas en cinco de los 20 rasgos estudiados, siendo estos de mayor tamaño en soldados provenientes de escapos multicoloniales (Tabla 2 y Fig. 7). Cabe destacar que de los 15 rasgos que no mostraron diferencias significativas en el análisis univariado, catorce tendieron a ser mayores también en soldados multicoloniales (Fig. 7).

Tabla 3: Resultados para cada rasgo del análisis multivariado (MANOVA). Las tres primeras mediciones corresponden a áreas y las siguientes a longitudes. Valores de P significativos son destacados en negrita.

Carácter	gl ₁	gl ₂	F _{56,1}	P
Área cabeza	56	1	2,388	0,128
Área mandíbula derecha	56	1	4,669	0,035
Área mandíbula izquierda	56	1	2,088	0,154
Perímetro cabeza	56	1	2,92	0,094
Perímetro mandíbula izquierda	56	1	0,008	0,930
Perímetro mandíbula derecha	56	1	0,051	0,821
Longitud cabeza	56	1	2,23	0,141
Anchura pronoto	56	1	1,897	0,174
Anchura cabeza 1	56	1	0,781	0,381
Longitud postmentum	56	1	3,813	0,056
Longitud mandíbula derecha	56	1	1,448	0,234
Longitud mandíbula izquierda	56	1	0,151	0,699
Anchura cabeza 2	56	1	6,516	0,013
Altura cabeza	56	1	0,437	0,511
Longitud pronoto	56	1	7,870	0,007
Espacio interdental 1-2 derecha	56	1	7,48	0,008
Anchura postmentum	56	1	1,041	0,312
Espacio interdental 1-2 izquierda	56	1	0,757	0,388
Longitud mesonoto	56	1	3,588	0,064
Longitud metanoto	56	1	6,258	0,015

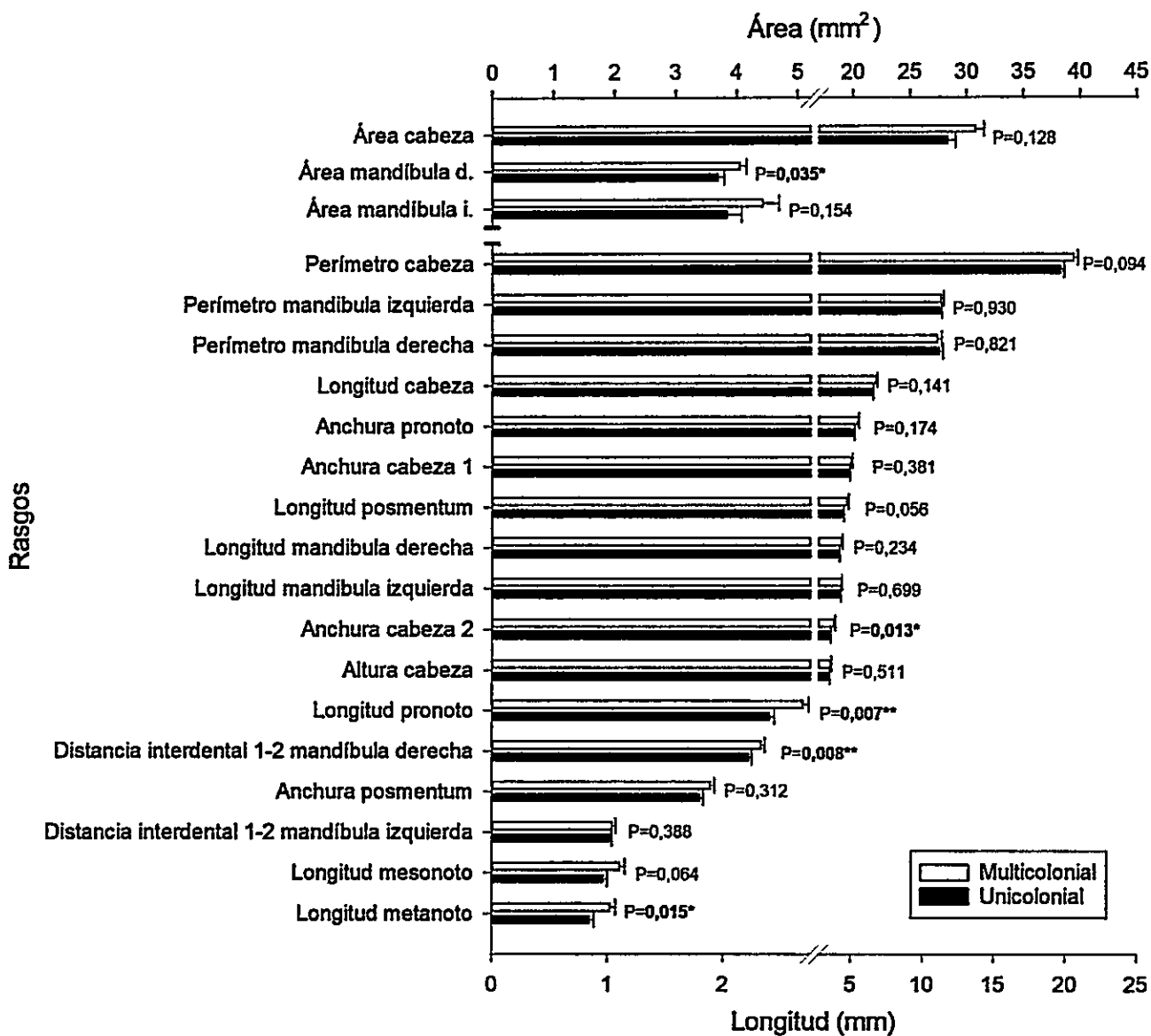


Figura 7: Rasgos (Prom \pm EE) medidos en soldados provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales, y analizados con MANOVA.

ASIMETRÍA FLUCTUANTE

Los análisis realizados para la distribución de frecuencias D-I mostraron que no hay asimetría direccional (prueba de centralidad y ANOVA de dos vías; Tabla 4), ni error de medida (ANOVA de dos vías; Tabla 4) para los cuatro rasgos analizados. Adicionalmente, la prueba de normalidad indicó que la distribución de frecuencias D-I es normal para todos los rasgos excepto para longitud y perímetro de fémur en soldados provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4: Pruebas de normalidad, centralidad alrededor de cero, descarte de asimetría direccional y error de medida (ANOVA de 2 vías) donde P_1 = Individuo, P_2 = Lado y P_3 = (Lado x Individuo) y dependencia del tamaño del rasgo de la distribución de frecuencias D-I (Regresión) en soldados provenientes de escapos unicoloniales (U) y multicoloniales (M).

Carácter	Tipo de escapo	Normalidad	Centralidad	ANOVA de 2 vías	Regresión $ D-I =A+(m*\text{carácter})$
Longitud fémur	U	$P=0,006$	$P=0,16$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$A=2,85$ $m=0,26$ $P=0,61$
	M	$P > 0,2$	$P=0,79$	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,168$ $p_3 < 0,001$	$A=3,02$ $m=1,05$ $P=0,61$
Anchura fémur	U	$P > 0,2$	$P=0,85$	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,519$ $p_3 < 0,001$	$A=2,85$ $m=0,57$ $P=0,58$
	M	$P > 0,2$	$P=0,83$	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,125$ $p_3 < 0,001$	$A=3,03$ $m=1,69$ $P=0,30$
Longitud tibia	U	$P > 0,2$	$P=0,85$	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,013$ $p_3 < 0,001$	$A=2,97$ $m=0,21$ $P=0,66$
	M	$P > 0,2$	$P=0,67$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$A=2,98$ $m=0,65$ $P=0,41$
Perímetro fémur	U	$P > 0,2$	$P=0,55$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$A=2,80$ $m=0,35$ $P=0,30$
	M	$P=0,002$	$P=0,75$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	$A=3,05$ $m=0,81$ $P=0,15$

Debido a que los rasgos "longitud de fémur unicolonial" y "perímetro de fémur multicolonial" mostraron desviaciones significativas de la normalidad estos fueron excluidos del análisis de asimetría fluctuante. Los valores no significativos de regresión mostraron que no hay dependencia entre la asimetría fluctuante y el tamaño del carácter, mientras que el ANOVA de dos vías descartó la asimetría direccional y errores significativos de medición ($P_3 < 0,001$ para todos los caracteres). Finalmente, las pruebas anteriores junto a los resultados de la Tabla 5 y la Figura 8 muestran que los datos de dos rasgos (anchura fémur y longitud tibia) cumplen las condiciones para el análisis de asimetría fluctuante, ya que se ajustan a una distribución normal (no se observa bimodalidad ni platicurtosis característica de la antisimetría) y están centradas en cero.

Tabla 5: Tamaños de muestras (N) y tamaños de rasgo promedio para cuatro caracteres medidos en soldados unicoloniales y multicoloniales de *N. chilensis*. Adicionalmente se muestran los valores de promedio, error estándar (EE), sesgo y curtosis para la distribución de frecuencias de D-I, los cuales indican que no existe antisimetría.

Tipo de escapo	Caracteres	N	(D+I)/2				(D-I)			
			Prom	EE	Sesgo	Curtosis	Prom	EE	Sesgo	Curtosis
Unicolonial	Longitud fémur	31	2,994	0,039	1,068	6,05	0,017	0,025	0,809	
	Anchura fémur	31	1,233	0,022	0,756	4,13	0,009	-0,002	0,809	
	Longitud tibia	31	2,402	0,030	0,519	1,27	0,023	-0,004	0,809	
	Perímetro fémur	31	7,105	0,091	0,488	1,12	0,034	0,021	0,809	
Multicolonial	Longitud fémur	23	2,909	0,080	0,518	0,61	0,013	-0,003	0,887	
	Anchura fémur	23	1,225	0,039	0,064	-1,06	0,016	0,003	0,902	
	Longitud tibia	23	2,350	0,063	1,562	4,51	0,028	0,012	0,887	
	Perímetro fémur	23	6,989	0,180	1,212	1,23	0,043	0,014	0,902	

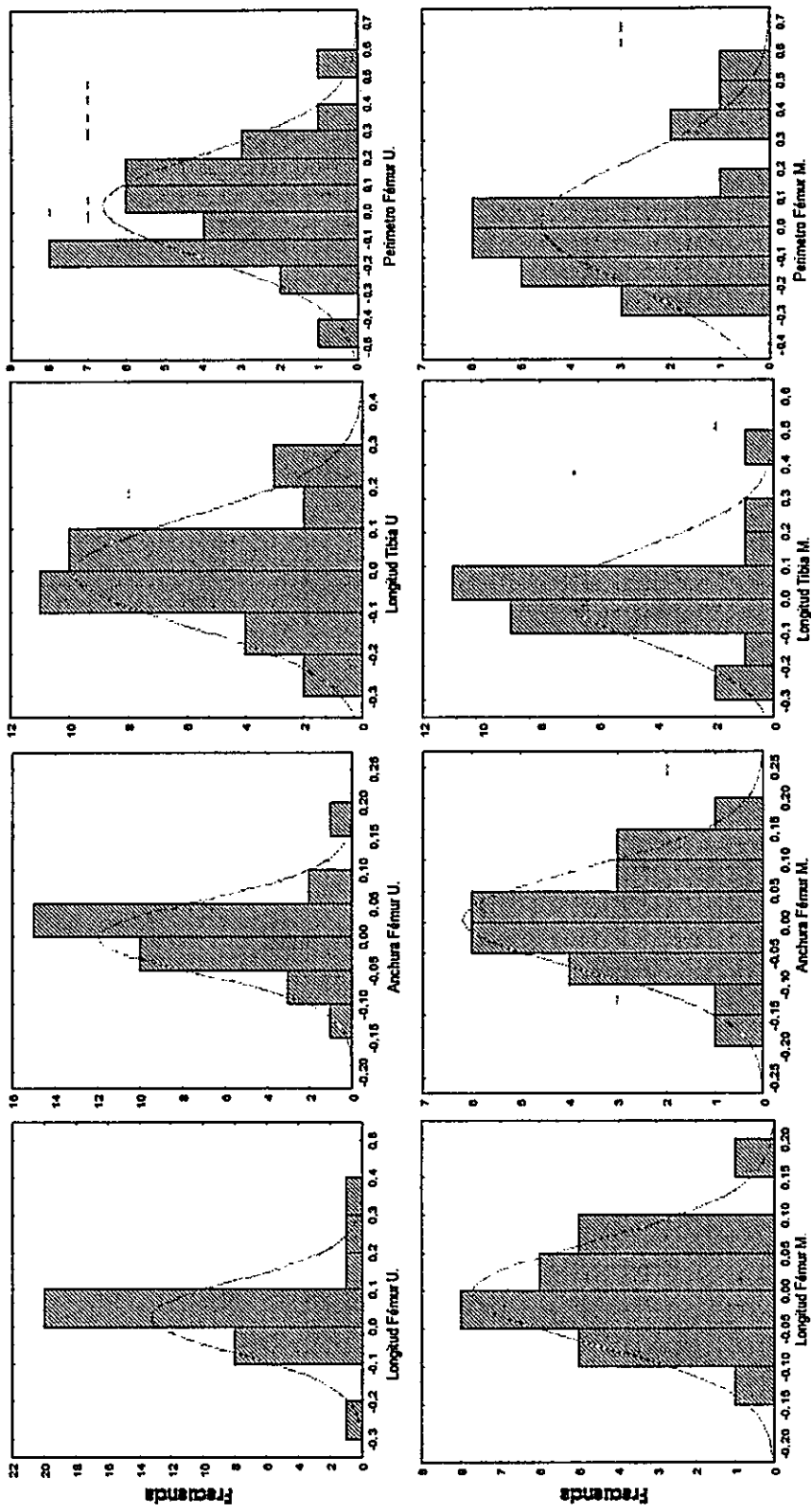


Figura 8: Histogramas de frecuencias de distribución de la diferencia D-I de los caracteres medidos para asimetría fluctuante (longitud fémur, anchura fémur, longitud tibia y perímetro fémur) para soldados de escapos unicoloniales (panel superior) y multicoloniales (panel inferior). En el eje x se encuentran los valores de la diferencia D-I de cada carácter, mientras que en el eje y sus frecuencias. En rojo se muestra la curva de distribución de los datos.

Dadas las características de los datos y del estudio (independencia del tamaño del rasgo con la asimetría, número de individuos y tipo de comparación) se seleccionaron tres de los índices de asimetría fluctuante sugeridos por Palmer (1994): AF1, AF5 y AF11. De estos índices, calculados para los dos rasgos que cumplieron las características para el análisis de asimetría fluctuante, sólo AF1 mostró diferencias significativas y lo hizo en el rasgo "Anchura fémur" (Tabla 6) siendo este rasgo mayor en soldados provenientes de escapos multicoloniales que de unicoloniales (Fig. 9); mientras que en AF5 (Tabla 7) y AF11 (Tabla 6 y Fig. 9) no se detectaron diferencias significativas.

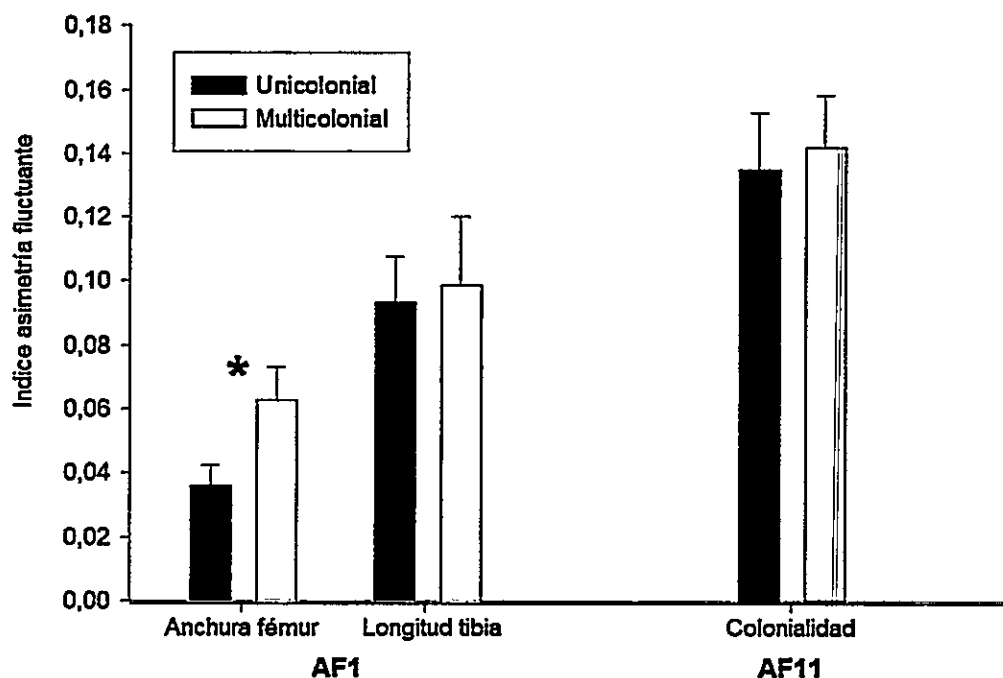


Figura 9: Índices de asimetría fluctuante AF1 y AF11 medidos en dos rasgos de soldados de *N. chilensis* provenientes de escapos unicoloniales y multicoloniales. *: $P < 0,05$

Tabla 6: resultados de la prueba de t de AF1 (para cada rasgo) y de AF11 (sumatoria de rasgos) que muestra la significancia de la diferencia entre los grupos de colonialidad para los dos rasgos que cumplieron con las condiciones de asimetría fluctuante. Valores de P significativos son destacados en negrita.

Carácter	gl	t ₅₅	P
Anchura fémur	55	-2,113	0,039
Longitud tibia	55	1,833	0,073
AF11	55	-0,323	0,748

Tabla 7: Prueba de F de los índices AF5 calculados para cada rasgo entre los individuos unicoloniales y multicoloniales.

Carácter	F _{1,160}	gl ₁	gl ₂	P
Anchura fémur	2,25	1	160	0,137
Longitud tibia	1,68	1	160	0,198

VI. DISCUSIÓN

En una colonia de termitas, los soldados son individuos encargados casi exclusivamente de su defensa y su presencia tiene un efecto positivo sobre la supervivencia de la colonia (Delinge *et al.*, 1981). Una situación análoga ocurre, por ejemplo, en colonias de áfidos (Foster y Rhoden, 1998) y de hormigas (Hasegawa y Taniguchi, 1993). Debido a sus adaptaciones para la defensa (grandes mandíbulas en las familias más basales - Lellis y Everaerts, 1993; Koshikawa *et al.*, 2002 - y gran desarrollo de la glándula frontal que produce sustancias tóxicas de defensa con mandíbulas vestigiales en las familias más apicales en la filogenia - Prestwich, 1984), los soldados de las termitas no pueden alimentarse por sí solos y deben ser alimentados por las pseudo-obreras u obreras, lo que implica un gran costo energético para la colonia y explicaría las bajas proporciones de soldados que generalmente se observa en sus colonias (Haverty, 1977).

Estudios sobre la diferenciación de castas en termitas han mostrado que en promedio una pseudo-obrera tarda unos dos meses en convertirse en un soldado funcional, existiendo tan solo un estadio de pre-soldado entre la pseudo-obrera y el soldado (Eggleton, 2011). En estudios previos realizados en *N. chilensis*, se demostró que la proporción de soldados aumenta en colonias cuando existe la presencia de una colonia vecina dentro del mismo sustrato de nidificación y también durante el período de enjambrazón, es decir cuando una colonia se ve expuesta al riesgo de invasión de su sustrato por individuos de otras colonias en el mismo escape y por las parejas fundadoras de nuevas colonias (Aguilera-Olivares *et al.*, 2017). Estos datos sugieren que existiría la posibilidad de que condiciones ambientales

estresantes, como la presencia de colonias vecinas, que representaría una competencia directa por el sustrato, conduzcan a la producción de soldados.

Por otra parte, se ha observado que el tamaño de un individuo puede ser afectado por el estrés ambiental al que es sometido (Creighton, 2005). Nuestros resultados muestran que el 25% de los rasgos medidos en los soldados provenientes de escapos multicoloniales son significativamente más grandes que aquellos de soldados provenientes de escapos unicoloniales; esto, en conjunto con los resultados del estudio de Aguilera-Olivares *et al.* (2017), sugieren la percepción de alguna señal que produce un estrés a nivel de colonia y que gatilla un efecto en la tasa de producción y el tamaño de los soldados. Es destacable que varios de los rasgos con diferencias significativas están directamente relacionados con la función de defensa del soldado (anchura de la cabeza 2, área de la mandíbula y distancia interdental 12 derecha). Esto podría sugerir que una colonia que se encuentra en peligro de invasión, desarrollará soldados con rasgos asociados a defensa aumentados. Estos resultados concuerdan con el mecanismo de defensa dominante en termitas basales, la "phragmosis", en el cual los soldados utilizan sus cabezas para bloquear la entrada al nido (Deligne *et al.*, 1981); además, en *N. chilensis* usan sus mandíbulas para morder a sus enemigos (Aguilera-Olivares *et al.*, 2016a,b). También es razonable pensar que los soldados de mayor tamaño sean más aptos para la defensa en enfrentamientos con depredadores o competidores (Deligne *et al.*, 1981; Muller y Korb, 2008).

Dado que *N. chilensis* es nidificadora de una pieza y por lo tanto ningún integrante de la colonia abandona el nido (salvo los alados cuando salen a fundar nuevas colonias), sus

miembros podrían percatarse de la existencia de colonias vecinas mediante señales vibroacústicas propagadas a través del sustrato que comparten y serían capaces de diferenciarlas de las emitidas por su propia colonia mediante el reconocimiento del tipo de vibración (Evans *et al.*, 2007, 2009; Hunt y Richard, 2013; Hager y Kirchner, 2014). También podrían estar involucradas señales químicas, ya que estudios recientes en *N. chilensis* describieron la mayor agresividad de los soldados hacia no compañeros de nido que hacia compañeros de nido, demostrándose que dicho reconocimiento de compañeros de nido se basaba en señales químicas, particularmente los hidrocarburos cuticulares (Aguilera-Olivares *et al.*, 2016a,b). Sin embargo, esto sólo sería posible por contacto directo ya que los compuestos cuticulares no son volátiles, por lo que no permean al ambiente. En otras palabras, sólo en el caso de que dos nidos llegasen a converger, los soldados serían capaces de diferenciar a los individuos ajenos a su colonia e intentarían eliminar a los invasores.

Por otro lado, la asimetría de rasgos bilaterales es reconocida como una estimación de la dificultad de los organismos para mantener su desarrollo normal cuando son sometidos a perturbaciones de origen ambiental, es decir, como un reflejo de la inestabilidad del desarrollo (Palmer y Strobeck, 1992; Lens *et al.*, 1999). La asimetría fluctuante ha sido empleada frecuentemente como una medida de la adecuación biológica, expresada en términos de supervivencia y éxito reproductivo (Graham *et al.*, 2000). El estudio de la asimetría fluctuante en *N. chilensis* mostró que sólo el índice AF1 es sensible hacia la detección de grados de asimetría y lo hace en el rasgo "anchura de fémur". Este rasgo está también relacionado con la función de defensa en soldados, ya que para bloquear la entrada

del nido con su cabeza (*phragmosis*) o repeler el ataque de un intruso con las mandíbulas, es primordial mantener una posición estable, de lo que se desprende que unas patas asimétricas en su anchura podrían resultar menos efectivas al momento de defender la colonia debido a una menor estabilidad sobre el sustrato. El índice AF5, menos sensible a diferencias entre las muestras (Palmer 1994), no mostró diferencia significativa entre soldados provenientes de escapos unicolumnales y multicolumnales en ninguno de los caracteres medidos; así mismo, el índice AF11, que involucra el conjunto de todos los caracteres medidos, tampoco presentó diferencias significativas entre soldados provenientes de ambos tipos de escapos, lo que quizás indique que la adecuación biológica de las colonias permite el desarrollo estable de los soldados pese a las condiciones de competencia por recursos.

El hecho que de los cuatro rasgos estudiados, sólo dos reunieran las condiciones para evaluar asimetría fluctuante, y de éstos, sólo uno mostrara diferencias significativas, puede deberse a que la competencia intraespecífica no sea un factor suficientemente fuerte como para provocar desviaciones de la simetría durante el desarrollo de pseudo-obreras a soldados, que otros rasgos más sensibles a las perturbaciones ambientales no hayan sido incorporados en este estudio o que el tamaño del rasgo sea más sensible al estrés que la asimetría fluctuante. Otra posibilidad es que el número de réplicas haya sido insuficiente como para detectar diferencias de asimetría que pueden ser pequeñas entre individuos uni y multicolumnales. Pese a la no significancia de la mayoría de las comparaciones con los índices, estas fueron coherentes entre si ya que los promedios fueron siempre mayores en individuos provenientes de escapos multicolumnales.

Se sugirió que el tamaño de la colonia podría influir sobre el nivel de estrés y en consecuencia, sobre el fenotipo (tamaño y simetría) de los soldados. Ya que la inversión en soldados conlleva un gran costo (Chouvenc *et al.*, 2014), el efecto sería mayor en colonias pequeñas, por su reducida capacidad de crianza y acceso a recursos. También estas colonias serían más vulnerables a los cambios del medio, así como también a invasiones y depredadores (Nutting, 1969). Más aún, la literatura sugería que el tamaño de colonia es un factor importante para el desarrollo de la casta defensiva (Chouvenc *et al.*, 2014). Sin embargo, el número de individuos como una medida del tamaño de la colonia no fue una covariable estadísticamente adecuada para ser utilizada en un MANCOVA. Un motivo posible es que las colonias de *N. chilensis* en escapos de *P. berteroniana* son muy pequeñas en comparación a especies de termitas subterráneas, utilizadas en estudios previos (Chouvenc *et al.*, 2014), por lo que el efecto en un amplio rango de tamaños de colonias se vería disminuido en esta especie de termita.

Durante el desarrollo de esta investigación se presentaron algunas limitaciones, tales como el conocimiento parcial que se tenía de algunos procesos de la colonización de los escapos, y la imposibilidad de cuantificar variables que pudieron ser significativas, por ejemplo, la cantidad de recurso disponible, la distribución de colonias dentro de cada escafo y el número de individuos en cada una de ellas. Trabajos futuros podrían relacionar el número de colonias, el número de individuos de éstas y la proporción de soldados con la cantidad de recurso disponible (escafo remanente), así como también con la posible secuencia de colonización del escafo a través del tiempo y la posición relativa de las colonias dentro de

éste. Adicionalmente, se podría tomar en cuenta la presencia de otras especies en los escapos como una variable más dentro de los estudios. Por otra parte, para robustecer el análisis de asimetría fluctuante, se podría evaluar un mayor número de rasgos que hipotéticamente sean simétricos, optimizar el protocolo de medición para incrementar la fiabilidad de los datos, además de aumentar y balancear el número de muestras estudiadas. Finalmente, se podrían hacer experimentos controlados de laboratorio donde se varíe el tamaño y el número de colonias que comparten un sustrato de volumen conocido para determinar y controlar los factores que más contribuyen al fenómeno que aquí se ha explorado.

VII. CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió el efecto de la presencia de colonias vecinas, que representan potenciales amenazas de invasión a una colonia, sobre el desarrollo de soldados de la termita nidificadora de una pieza *N. chilensis* habitando escapos de *P. berteroniana*. Los resultados muestran que los soldados en escapos multicoloniales son significativamente más grandes que los soldados en escapos unicoloniales en cinco de los veinte rasgos medidos, mientras que en el resto de los rasgos se mantiene esta tendencia aunque no es significativa. Estos rasgos con diferencias significativas están asociados principalmente con la defensa, de modo que estas diferencias estarían asociadas al estrés que puede causar el riesgo de invasión. Por otro lado, sólo dos de los cuatro rasgos medidos cumplen con las condiciones para un análisis de asimetría fluctuante, de los cuales anchura de fémur mostró diferencias significativas para uno de los índices de esta propiedad. Esto puede indicar que no todos los rasgos medidos fueron los adecuados, que el número de réplicas no fue suficiente o bien que, a causa de la adecuación biológica de las colonias, el estrés al que están sometidos los soldados de escapos multicoloniales no es suficiente para evidenciar asimetría fluctuante. A pesar de que este trabajo podría ganar robustez si se eligiera una mayor amplitud de rasgos en el caso de asimetría fluctuante y un mayor tamaño muestral, los resultados sugieren que el estrés generado por una colonia vecina afecta el desarrollo de los soldados en *N. chilensis*.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera-Olivares D, Flores-Prado L, Véliz D, Niemeyer HM. 2015. Mechanisms of inbreeding avoidance in the one-piece drywood termite *Neotermes chilensis*. *Insectes Soc.* 62: 237-245.
- Aguilera-Olivares D, Rizo JF, Burgos-Lefimil C, Flores-Prado L, Niemeyer HM. 2016a. Nestmate recognition in defense against nest invasion by conspecifics during swarming in a one-piece nesting termite. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 89: 11.
- Aguilera-Olivares D, Burgos-Lefimil C, Melendez W, Flores-Prado L, Niemeyer HM. 2016b. Chemical basis of nestmate recognition in a defense context in a one-piece nesting termite. *Chemoecology* 26: 163–172.
- Aguilera-Olivares D, Palma-Onetto V, Flores-Prado L, Zapata V, Niemeyer HM. 2017. X-ray computed tomography reveals distal factors affecting soldier differentiation in a one-piece nesting termite. *Entomol. Exp. Appl.* 163: 26-34.
- Artigas J. 1994. *Entomología Económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (Nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos)*. 2 vol. Ediciones Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- Auffray JC, Alibert P, Renaud S, Orth A, Bonhomme F. 1996. Fluctuating asymmetry in *Musculus* subspecific hybridization: traditional and Procrustes comparative approach. En: Marcus LF, Corti M, Loy A, Naylor GJP, Slice DE (eds), *Advances in Morphometrics*, Plenum Press: New York, USA. pp. 275-283.

- Benítez H, Briones R, Jerez V. 2008. Asimetría Fluctuante en dos poblaciones de *Ceroglossus chilensis* (Coleoptera: Carabidae) en el agroecosistema *Pinus radiata*, Región del Biobío. *Gayana* 72: 131-139.
- Bordereau C, Robert A, Van Tuyen V, Peppuy A. 1997. Suicidal defensive behaviour by frontal gland dehiscence in *Globitermes sulphureus* Haviland soldiers (Isoptera). *Insectes Soc.* 44: 289-297.
- Bordereau C, Han SH. 1986. Stimulatory influence of the queen and king on soldier differentiation in the higher termites *Nasutitermes lujae* and *Cubitermes fungifaber*. *Insectes Soc.* 33: 296-305.
- Bridge D, Cunningham CW, DeSalle R, Buss LW. 1995. Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence. *Mol. Biol. Evol.* 12: 679-689.
- Brückner D. 1976. The influence of genetic variability on wing symmetry in honeybees (*Apis mellifera*). *Evolution* 30: 100-108.
- Chouvenc T, Basille M, Li HF, Su NY. 2014. Developmental instability in incipient colonies of social insects. *PloS one*, 9(11): e113949.
- Chouvenc T, Basille M, Su NY. 2015. The production of soldiers and the maintenance of caste proportions delay the growth of termite incipient colonies. *Insectes Soc.* 62: 23-29.
- Clarke GM, Oldroyd BP, Hunt P. 1992. The genetic basis of developmental stability in *Apis mellifera*: Heterozygosity versus genic balance. *Evolution* 46: 753-762.
- Clarke GM. 1998. The genetic basis of developmental stability. IV Individual and population asymmetry parameters. *Heredity* 80: 553-561.
- Clément JL. 1986. Open and closed societies in *Reticulitermes termites* (Isoptera, Rhinotermitidae): and seasonal variations. *Sociobiology* 11: 311-323.

- Collins AG. 1998. Evaluating multiple alternative hypotheses for the origin of Bilateria: an analysis of 18S rRNA molecular evidence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95:15458-15463.
- Costa-Leonardo AM, Casarin FE, Lima JT. 2009. Chemical communication in Isoptera. *Neotrop. Entomol.* 38: 1-6.
- Creighton JC. 2005. Population density, body size, and phenotypic plasticity of brood size in a burying beetle. *Behav. Ecol.* 16: 1031-1036.
- Cuervo JJ. 2000. El estudio de la asimetría fluctuante. *Temas actuales en etología. Etología.* 18: 27-60.
- Deligne J, Quennedey A, Blum MS. 1981. The enemies and defense mechanisms of termites. En: Hermann HR (ed.) *Social Insects. Vol. 2. Academic, New York, USA.* pp. 1-76.
- Eggleton P. 2011. An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. En: Bignell DE, Roisin Y, Lo N (eds.), *Biology of Termites: A Modern Synthesis, Springer: New York, USA.* pp. 1-26.
- Eggleton P, Tayasu I. 2001. Feeding groups, life types and the global ecology of termites. *Ecol. Res.* 16: 941-960.
- Evans TA, Inta R, Lenz M. 2007. Foraging vibration signals attract foragers and identify food size in the drywood termite, *Cryptotermes secundus*. *Insect. Soc.* 54: 374-382.
- Evans TA, Inta R, Lai JC, Prueger S, Foo NW, Fu EWE, Lenz M. 2009. Termites eavesdrop to avoid competitors. *Proc. Roy Soc. B* 276: 4035-4041.
- Falconer DS, Mackay TF. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics.* 4th edition, Longman Burnt Mill, UK. pp 41-88.
- Foster WA, Rhoden PK. 1998. Soldiers effectively defend aphid colonies against predators in the field. *Anim. Behav.* 55: 761-765.

- Gajardo R. 1994. La vegetación natural de Chile: clasificación y distribución geográfica. Editorial Universitaria, Chile.
- Graham SL, Klistorner AI, Grigg JR, Billson FA. 2000. Objective VEP perimetry in glaucoma: asymmetry analysis to identify early deficits. *J. Glaucoma* 9: 10-19.
- Grassé PP. 1939. Comportement et particularités physiologiques des soldats de termites. *Bull. Soc. Zool. Fr.* 64: 1-262
- Hager FA, Kirchner WH. 2014. Directional vibration sensing in the termite *Macrotermes natalensis*. *J. Exp. Biol.* 217: 2526-2530.
- Hasegawa M, Taniguchi Y. 1993. Visual prey discrimination of queen and worker ants by a generalist lizard. *J. Ethol.* 11: 55-62.
- Haverty MI. 1977. The proportion of soldiers in termite colonies: a list and a bibliography. *Sociobiology* 2: 199-216.
- Hughes DP, Pierce NE, Boomsma JJ. 2008. Social insect symbionts: evolution in homeostatic fortresses. *Trends Ecol. Evol.* 23: 672-677.
- Hunt JH, Richard FJ. 2013. Intracolony vibroacoustic communication in social insects. *Insectes Soc.* 60: 403-417.
- Inward D, Beccaloni G, Eggleton P. 2007. Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. *Biol. Lett.* 3: 331-335.
- Jones JC, Oldroyd BP. 2006. Nest thermoregulation in social insects. *Adv. Insect Physiol.* 33: 153-191.
- Klingenberg CP. 2003. Developmental instability as a research tool: using patterns of fluctuating asymmetry to infer the developmental origins of morphological integration. *En*

- M. Polak (ed.) Developmental instability: causes and consequences. Oxford University Press. New York, USA. pp. 427-442.
- Korb J, Roux EA, Lenz M. 2003. Proximate factors influencing soldier development in the basal termite *Cryptotermes secundus* (Hill). *Insectes Soc.* 50: 299-303
- Koshikawa S, Matsumoto T, Miura T. 2002. Morphometric changes during soldier differentiation of the damp-wood termite *Hodotermopsis japonica* (Isoptera: Termopsidae). *Insectes Soc.* 49: 245-250.
- Koshikawa S, Matsumoto T, Miura T. 2003. Mandibular morphogenesis during soldier differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjoestedti* (Isoptera: Termopsidae). *Naturwissenschaften* 90: 180-184.
- Labrie G, Prince C, Bergeron JM. 2003. Abundance and developmental stability of *Pterostichus melanarius* (Coleoptera: Carabidae) in organic and integrated pest management orchards of Quebec, Canada. *Environ. Entomol.* 32: 123-132.
- Leamy LJ, Klingenberg CP. 2005. The genetics and evolution of fluctuating asymmetry. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 36: 1-21.
- Leamy L. 1984. Orphometric studies in inbred and hybrid house mice V. Directional and fluctuating asymmetry. *Am. Nat.* 123: 579-593.
- Lefeuvre P, Bordereau C. 1984. Soldier formation regulated by a primer pheromone from the soldier frontal gland in a higher termite, *Nasutitermes lujae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 7665-7668.
- Lelis AT, Everaerts C. 1993. Effects of juvenile hormone analogues upon soldier differentiation in the termite *Reticulitermes santonensis* (Rhinotermitidae, Heterotermitinae). *J. Morphol.* 217: 239-261.

- Lens L, van Dongen S, Wilder CM, Brooks TM, Matthysen E. 1999. Fluctuating asymmetry increases with habitat disturbance in seven bird species of a fragmented afroropical forest. *Proc. Roy. Soc. B-Biol. Sci.* 266: 1241-1246.
- Liu Y, Henderson G, Mao L, Laine RA. 2005. Seasonal variation of juvenile hormone titers of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus* (Rhinotermitidae). *Environ. Entomol.* 34: 557-562.
- Mao L, Henderson G, Liu Y, Laine RA. 2005. Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) soldiers regulate juvenile hormone levels and caste differentiation in workers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 98: 340-345.
- Mao L, Henderson G. 2010. Group size effect on worker juvenile hormone titers and soldier differentiation in Formosan subterranean termite. *J. Insect Physiol.* 56: 725-730.
- Miller EM. 1942. The problem of castes and caste differentiation in *Protrhinotermes simplex* (Hagen). *Bull. Univ. Miami* 15: 3-27.
- Micro-shot technology Co, 2010. Mshot digital imaging system. <http://www.m-shot.com>.
- Møller AP, Swaddle JP. 1997. *Asymmetry, Developmental Stability and Evolution*. Oxford University Press, UK.
- Morris PJ. 1993. The developmental role of the extracellular matrix suggests a monophyletic origin of the kingdom Animalia. *Evolution* 47: 152-165.
- Muller H, Korb J. 2008. Male or female soldiers? An evaluation of several factors which may influence soldier sex ratio in lower termites. *Insectes Soc.* 55: 213-219.
- Noirot C. 1989. Social structure in termite societies. *Ethol. Ecol. Evol.* 1: 1-17.

- Noirot C, Darlington JP. 2000. Termite nests: architecture, regulation and defence. En: Abe Y, Bignell DE, Higashi T. (Eds.). *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Springer Netherlands. pp.121-139.
- Nutting WL. 1969. Flight and colony foundation. En: Krishna K, Weesner FM (eds). *Biology of Termites*, vol.1, Academic Press; New York. pp. 233-282.
- Oster GF, Wilson EO. 1978. *Caste and Ecology in the Social Insects*. Princeton University Press, USA.
- Palmer AR. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a Primer. En: Markow TA (ed.). *Developmental Instability: its Origins and Evolutionary Implications*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp. 335-364.
- Palmer AR, Strobeck C. 1986. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 391-421.
- Palmer AR, Strobeck C. 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zool. Fenn.* 191: 57-72.
- Park YI, Raina AK. 2004. Juvenile hormone III titers and regulation of soldier caste in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Insect Physiol.* 50: 561-566.
- Park YI, Raina AK. 2005. Regulation of juvenile hormone titers by soldiers in the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. *J. Insect Physiol.* 51: 385-391.
- Pither J, Taylor PD. 2000. Directional and fluctuating asymmetry in the black-winged damselfly *Calopteryx maculata* (Beauvois) (Odonata: Calopterygidae). *Can. J. Zool.* 78: 1740-1748.

- Polak M. 2003. *Developmental Instability: Causes and Consequences*. Oxford University Press, New York. USA.
- Prestwich GD. 1984. Defense mechanisms of termites. *Annu. Rev. Entomol.* 29: 201-232.
- Ripa R, Luppichini P. 2004. Especies de termites de importancia económica presentes en Chile. En: Ripa R. Luppichini P. (eds.) *Termitas y Otros Insectos Xilófagos en Chile: Especies, Biología y Manejo*. Colección libros INIA. Santiago, Chile pp. 73-105.
- Ross KG, Robertson JL. 1990. Developmental stability, heterozygosity, and fitness in two introduced fire ants (*Solenopsis invicta* and *Solenopsis richteri*) and their hybrid. *Heredity* 64: 93-103.
- Smock LA. 1980. Relationships between body size and biomass of aquatic insects. *Freshwater Biol.* 10: 375-383.
- Šobotník J, Jirosova A, Hanus R. 2010. Chemical warfare in termites. *J. Insect Physiol.* 56: 1012-1021.
- Springhetti A. 1973. Group effects in the differentiation of the soldiers of *Kaloterme flavicollis* Fabr. (Isoptera). *Insectes Soc.* 20: 333-342.
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.
- Su NY, La Fage JP. 1986. Effects of starvation on survival and maintenance of soldier proportion in laboratory groups of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 312-316.
- Systat software. 2011. SigmaPlot (San Jose California USA.) version 12. www.systatsoftware.com.
- Ubaghs G. 1975. Early paleozoic echinoderms. *Annu. Rev. Earth Pl. Sci.* 3: 79-98.

Van Dongen SV. 2006. Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: Past, present and future. *J. Evol. Biol.* 19: 1727-1743.

Waller DA, La Fage JP. 1988. Environmental influence on soldier differentiation in *Coptotermes formosanus* Shiraki (Rhinotermitidae). *Insectes Soc.* 35: 144-152.

Weyl H. 2015. *Symmetry*. Princeton University Press, New Jersey, USA.

Wood TG, Cowie RH. 1988. Assessment of on-farm losses in cereals in Africa due to soil insects. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 9: 709-716.