

UCH-FC
B. Ambiental
U 455
C1



UNIVERSIDAD DE CHILE-FACULTAD DE CIENCIAS-ESCUELA DE PREGRADO

**“ALOMETRÍA RESPIRATORIA ONTOGENÉTICA DEL
CICLO RESPIRATORIO DISCONTINUO EN EL FÁSMIDO
ALTOANDINO *Agathemera crassa*”**

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

MICHAEL ANTONIO VENEGAS PONCE

Director del Seminario de Título:
Dr. Claudio Veloso Iriarte

Marzo 2015
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 el Sr Michael Antonio Venegas Ponce

“ALOMETRÍA RESPIRATORIA ONTOGENÉTICA DEL CICLO RESPIRATORIO DISCONTINUO EN EL FÁSMIDO ALTOANDINO *Agathemera crassa*”

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

Dr. Claudio Veloso Iriarte:
Director Seminario de Título

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Claudio Veloso Iriarte', written over a horizontal line.

Comisión Revisora y Evaluadora

Dr. Pablo Sabat Kirkwood:
Presidente Comisión

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Pablo Sabat Kirkwood', written over a horizontal line.

Dr. Michel Sallaberry Ayerza
Evaluador

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Michel Sallaberry Ayerza', written over a horizontal line.



Santiago de Chile, Marzo 2015

BIOGRAFÍA



Michael Antonio Venegas Ponce nació el 24 de Diciembre de 1988 en la comuna de La Cisterna, Santiago. Sus padres son Antonio Venegas Sánchez y Ema Ponce Valdebenito, además tiene cuatro hermanos. A los cuatro años su familia migra a la ciudad de Melipilla en donde realiza la enseñanza básica y media. En el año 2009 entra a la carrera de Biología ambiental con mención en medio ambiente en la Universidad de Chile y egresa de esta el año 2014. Se casa en Enero de 2015 con Ignacia Sotelo Vargas y se van a vivir a la comuna de Santiago. Hoy en día trabaja en CEDREM Consultores como especialista en Fauna Terrestre.

*A mi preciosa esposa Ignacia Sotelo
a quien amo con todo mí ser*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios primeramente porque sin Él nada soy. Además por darme la sabiduría necesaria para sobreponerme a cada obstáculo que se levantó durante el desarrollo de esta carrera, Agradezco a mi esposa Ignacia Sotelo, quien me motivó en cada momento con una palabra de amor. Agradezco a mis padres Antonio Venegas y Ema Ponce y a mis hermanos que me apoyaron en todo momento sin esperar nada a cambio.

Además agradezco al Dr. Claudio Veloso, quien me enseñó pacientemente cuando no entendía nada de lo que hablaba, y me apoyó en todo este proceso. ¡Gracias profe por confiar en mí!

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Intercambio gaseoso.....	2
1.1.1 Estructuras del intercambio gaseoso.....	2
1.1.2 El intercambio de gases y la tasa metabólica en reposo.....	2
1.1.3 Patrones del intercambio gaseoso.....	3
1.1.4 Intercambio gaseoso discontinuo (IGD).....	5
1.1.5 Fase Cerrada, "Flutter" y Abierta.....	5
1.1.6 Origen del ciclo IGD.....	6
1.2 Alometría.....	7
1.2.1 Historia del término alometría y el crecimiento relativo.....	8
1.2.2 Ampliar el concepto de Alometría.....	9
1.3 Hipótesis.....	10
1.4 Objetivos.....	10
1.4.1 Objetivo general.....	10
1.4.2 Objetivos específicos.....	10
2. METODOLOGÍA.....	11
2.1 Modelo de estudio.....	11
2.2 Captura y mantención.....	11
2.3 Respirometría.....	12
2.4 Determinación del ciclo IGD.....	13
2.5 Componentes evaluados.....	13
2.6 Alometría y análisis estadístico.....	13
3. RESULTADOS.....	15
3.1 Presencia del ciclo IGD con respecto a la masa corporal.....	15
3.2 Relación porcentual de la duración de cada fase del ciclo IGD con respecto a la masa corporal.....	15
3.3 Alometría asociada al intercambio gaseoso.....	16
3.3.1 Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO ₂ y la masa corporal.....	16
3.3.2 Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO ₂ masa específica y la masa corporal.....	18
3.3.3 Relaciones alométricas entre el volumen de CO ₂ emitido y la masa corporal.....	19
3.4 Alometría asociada a los componentes temporales.....	20
3.4.1 Relaciones alométricas entre la duración de cada fase y la masa corporal.....	20
3.4.2 Relaciones alométricas entre la duración de cada fase del ciclo IGD y la duración total.....	22

3.5 Alometría asociada a los componentes estructurales.....	23
3.5.1 <i>Relaciones alométricas entre los componentes estructurales del ciclo IGD y la masa corporal.....</i>	<i>23</i>
4. DISCUSIÓN.....	28
4.1 Contribución al estudio del ciclo IGD.....	28
4.2 Efecto de la masa corporal en el ciclo IGD.....	28
4.3 Aproximación alométrica.....	30
4.3.1 <i>Tasa de producción de CO₂.....</i>	<i>30</i>
4.3.2 <i>Tasa de producción de CO₂ masa específica.....</i>	<i>31</i>
4.3.3 <i>Volumen de CO₂ emitido.....</i>	<i>32</i>
4.3.4 <i>Temporalidad.....</i>	<i>32</i>
5. BIBLIOGRAFÍA.....	34

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resultados para los diferentes grupos de individuos en el total del ciclo IGD y en cada una de sus fases.....25

Tabla 2: Resultados de las relaciones alométricas en toda la ontogenia de *Agathemera crassa*, en el total del ciclo IGD y en cada una de sus fases.....26

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Los diferentes patrones de intercambio gaseoso en insectos. **A)** Patrón de intercambio gaseoso continuo. **B)** Patrón de intercambio gaseoso cíclico. **C)** Patrón de intercambio gaseoso discontinuo. **D)** Las diferentes fases en el patrón de intercambio gaseoso discontinuo, la fase cerrada, "flutter" y abierta (Chown et al. 2005).....4
- Figura 2.** Presencia del ciclo IGD con respecto a la masa corporal. Se indica un n=19 para animales con masa <2 g, un n=18 para animales con masa entre 2 y 4 g y un n=20 para animales con masa >4 g.....15
- Figura 3.** Relación porcentual de la duración de cada fase del ciclo IGD con respecto a la masa corporal. En la barra blanca se indican los animales con masas <2 g, en la barra gris se indican los animales con masas entre 2 y 4 g, y finalmente en la barra negra los animales con masas >4 g. Además se muestra el error estándar en cada grupo señalado.....16
- Figura 4.** Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO₂ y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Isométrico), **B:** Fase C (Alometría negativa), **C:** Fase F (Alometría Negativa), **D:** Fase O (Alometría Positiva).....17
- Figura 5.** Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO₂ masa específica y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Alometría negativa), **B:** Fase C (Isometría), **C:** Fase F (Alometría Negativa), **D:** Fase O.....19
- Figura 6.** Relaciones alométricas entre el volumen de CO₂ emitido y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Alometría positiva), **B:** Fase C (Isometría), **C:** Fase F (Alometría positiva), **D:** Fase O (Alometría positiva).....20
- Figura 7:** Relaciones alométricas la duración del ciclo IGD y masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Isometría), **B:** Fase C (Alometría negativa), **C:** Fase F (Alometría positiva), **D:** Fase O (Alometría negativa).....21
- Figura 8:** Relaciones alométricas la duración cada fase del ciclo IGD y la duración total de este. **A:** Fase C (Alometría positiva), **B:** Fase F (Alometría positiva), **C:** Fase O (Alometría negativa).....23
- Figura 9:** Relaciones alométricas de los componentes estructurales del ciclo IGD y la masa corporal. **A:** Periodo (Alometría negativa), **B:** Frecuencia (Alometría negativa), **C:** Amplitud (Alometría negativa).....24

Figura 10: Variación del ciclo IGD en *Agathemera crassa* al aumentar la masa corporal. **A:** Hembra 0,800 g.; **B:** Macho 2,884 g.; **C:** Hembra 8,002 g. A mayor masa se observa una disminución de la frecuencia y un aumento de la amplitud del ciclo IGD.....27

Figura 11: Variación en la duración de la fase F, en la cual se aprecia que esta puede mostrar una diferencia de hasta 300% en el mismo animal.....30

INDICE DE ABREVIATURAS

g :	gramos
°C:	Grados Celsius
ml :	mililitros
hrs:	horas
m s.n.m. :	Metros sobre el nivel del mar
CO ₂ :	Dióxido de carbono
O ₂ :	Oxígeno
H ₂ O :	Agua
DE :	desviación estándar
Log ₁₀ :	Logaritmo en base 10
IGCO :	Intercambio de gases continuo
IGC :	Intercambio de gases cíclico
IGD :	Intercambio de gases discontinuo
C :	Fase cerrada del ciclo de Intercambio gaseoso discontinuo
F :	Fase "Flutter" del ciclo de Intercambio gaseoso discontinuo
O :	Fase abierta del ciclo de Intercambio gaseoso discontinuo
SNC :	Sistema nervioso central
kPa :	Kilopascal
pO ₂ :	Presión de oxígeno

RESUMEN

Muchos insectos en reposo pueden presentar un intercambio de gases discontinuo (IGD), el que se caracteriza por presentar picos de producción de CO₂ intercalados por periodos de nulo intercambio gaseoso. En este patrón respiratorio es posible distinguir tres fases, las que están asociadas a la apertura y cierre de los espiráculos: La fase C (*cerrada*), la que es generada por el cierre total de los espiráculos impidiendo el intercambio gaseoso entre el entorno y el individuo; la fase F (*flutter*), en donde existe una leve liberación de CO₂ producto de la apertura intermitente de los espiráculos; y la fase O (*abierta*), la que corresponde al *peak* de liberación de CO₂ generado por la apertura total de los espiráculos. Se describen las fases del ciclo IGD en función de la masa corporal utilizando un respirómetro de flujo continuo a 15 °C en todas las etapas de desarrollo de *Agathemera crassa*, obteniendo que los animales independiente de esta permanecen un mayor porcentaje en fase F (>56%). Por otro lado el intercambio gaseoso, la temporalidad del ciclo y su estructura, dependen de la masa corporal, existiendo isometría en la tasa de producción de CO₂ al considerar el total del ciclo. El aumento del metabolismo tiene directa relación con el estado reproductivo, presencia de huevos en hembras o estado parasitario, lo anterior podría afectar los resultados obtenidos, dado que esto impide el reposo absoluto de los animales, y como consecuencia no presentarían el ciclo respiratorio IGD. Una importante contribución de este estudio, es que el ciclo IGD se exhibe en todos los estados de vida de *Agathemera crassa* y la presente investigación es la primera en documentarlo para un fásmino.

ABSTRACT

Many insects at rest may have a discontinuous gas exchange (IGD), which is characterized by production of CO₂ peaks interspersed with periods of zero gas exchange. This breathing pattern is possible to distinguish three phases, which are associated with the opening and closing of the spiracles: Phase C (closed), which is generated by the complete closure of the spiracles preventing gas exchange between the surroundings and individual; Step F (flutter), where there is a slight release of CO₂ product of intermittent opening of the spiracles; and phase O (open), which corresponds to the peak release of CO₂ generated by the full opening of the spiracles. IGD cycle phases depending on the body mass using a continuous flow respirometer at 15 ° C in all stages of development are described *Agathemera crassa*, obtaining that this independent animals remain under a higher percentage F (> 56%). Furthermore gas exchange, temporality cycle and structure, depend on body mass, there isometry in the rate of production of CO₂ when considering the total cycle. The increased metabolism is directly related to reproductive status, presence of eggs in females or parasitic state, this could affect the results, as this prevents absolute rest of the animals, and consequently would not present the respiratory cycle IGD. An important contribution of this study is that the IGD cycle is exhibited in all states of life *Agathemera crassa* and the present investigation is the first to document it for a phasmid.

1. INTRODUCCIÓN

En respuesta a condiciones ambientales adversas, los insectos pueden migrar en busca de microclimas más aptos para su desarrollo (Chown & Nicolson 2004). Cuando esta respuesta conductual es insuficiente, los insectos pueden evadir estas condiciones adversas a través de modificaciones fisiológicas durante sus períodos activos y/o de dormancia (Danks 2002, 2007). En este contexto, la tasa metabólica en insectos depende del tamaño corporal, de la temperatura ambiental y del estado fisiológico de estos (tales como la deshidratación y la alimentación), y es sensible a los cambios tanto a corto como a largo plazo de acuerdo a las presiones parciales de oxígeno y dióxido de carbono (Chown & Nicolson 2004). Estos cambios fisiológicos no son simples respuestas pasivas a los cambios del entorno, sino que incluyen una modulación activa de la tasa metabólica, a veces a través de la plasticidad fenotípica, y a menudo a través de un cambio evolutivo (Chown & Nicolson 2004).

Dado que el metabolismo de los insectos durante los períodos de reposo y actividad es generalmente aeróbico (Chown & Nicolson 2004), es posible determinar la tasa metabólica de un animal mediante la medición del consumo de oxígeno y/o de la liberación de CO₂ asociados a los procesos oxidativos de los sustratos (Schmidt-Nielsen 1997, Chown & Nicolson 2004). En este contexto, es importante distinguir entre el catabolismo oxidativo como un proceso a nivel celular (respiración) y el intercambio gaseoso como la transferencia física de gases entre la atmósfera y los tejidos/hemolinfa (Lighton 1994).

1.1 Intercambio Gaseoso

1.1.1 Estructuras del intercambio gaseoso

En una gran cantidad de pequeños artrópodos (como algunos colémbolos y ácaros) y en huevos de insectos, el intercambio de gases se produce por difusión a través de la cutícula, y por espacios aéreos respectivamente. Sin embargo, en la mayoría de los artrópodos hay estructuras de intercambio de gases especializados, y ninguna de estas es más conocida que el sistema traqueal de los insectos (Chown & Nicolson 2004). Este sistema interno de tubos incluye las tráqueas principales, que a menudo se ensanchan, especialmente en los insectos adultos, para formar sacos de aire que lo transportan desde los espiráculos a este sistema y posteriormente a todo el cuerpo (Chown & Nicolson 2004). Estos tubos traqueales se dividen en ramas más finas, con la conservación del área transversal en algunos casos, pero aparentemente no en otros (Buck 1962; Locke 2001), formando las traqueolas. Estas últimas son tubos finos que terminan ciegamente, los cuales son muy sensibles a la demanda de oxígeno (Jarecki et al. 1999) y están íntimamente asociados a los tejidos.

1.1.2 El intercambio de gases y la tasa metabólica en reposo

Tras el análisis teórico realizado por Krogh, y la subsiguiente confirmación de Weis - Fogh (Miller 1974), se dice que la difusión podría satisfacer los requerimientos del intercambio gaseoso en insectos pequeños e insectos de mayor tamaño en reposo, por lo que se afirma que la difusión es el único medio por el cual los insectos intercambian gases en este estado. De hecho, esta idea sigue impregnando los debates modernos (West et al. 1997), a pesar del hecho que la ventilación, ya sea por bombeo abdominal o por movimientos de otras estructuras, se ha sospechado desde 1645, y ha sido

confirmada por la observación y el uso de métodos experimentales modernos por lo menos desde la década de 1960 (Schneiderman & Williams 1955; Miller 1981). Incluso la ventilación por medio de la expansión y contracción traqueal, que fue propuesta como un nuevo e importante descubrimiento (Westneat et al. 2003) ha sido conocida desde la década de 1930 (Herford 1938). Sin embargo, los patrones del intercambio gaseoso y sus mecanismos en insectos ya han sido revisados en muchas ocasiones (Miller 1974, 1981; Kaars 1981; Wasserthal 1996), y la importancia tanto de la difusión como la convección para el intercambio de gases en reposo hoy en día están muy bien descritos (Chown & Nicolson 2004).

Dentro de una especie particular, las tasas metabólicas en reposo pueden variar en el transcurso de su desarrollo (Clarke 1957), durante la diapausa (Denlinger et al. 1972), en el transcurso de un día (Crozier 1979; Takahashi-Del-Bianco et al. 1992), entre las estaciones del año (Davis et al. 2000), y además como consecuencia de los cambios en la temperatura, la disponibilidad de agua, y el tamaño corporal. Esta última variante es la más interesante desde el punto de vista ecológico, y en consecuencia ha sido la fuente de mayor controversia (Chown & Nicolson 2004).

1.1.3 Patrones del intercambio gaseoso

En reposo los insectos muestran tres patrones respiratorios. En primer lugar el intercambio de gases continuo, (IGCO) (Fig. 1A) el cual tiene lugar mediante movimientos ventilatorios que promueven la difusión y/o convección de los gases, y en donde los espiráculos se mantienen abiertos constantemente (Chown & Nicolson 2004). El intercambio de gases cíclico (IGC) (Fig. 1B) el que consta de una producción constante de CO₂ con pequeñas variaciones. Este patrón respiratorio se caracteriza

por presentar picos periódicos de producción de CO_2 , seguidos de valles de baja liberación de este compuesto (Chown & Nicolson 2004).

Y finalmente, el intercambio de gases discontinuo (IGD) (Fig. 1C), el que se caracteriza por presentar picos de producción de CO_2 intercalados por períodos de nulo intercambio gaseoso (cierre total de espiráculos). En este último patrón respiratorio es posible distinguir tres fases (Fig. 1D), las que están asociadas a la apertura y cierre de los espiráculos (Chown & Nicolson 2004): La fase C (*cerrada*), la que es generada por el cierre total de los espiráculos impidiendo el intercambio gaseoso entre el entorno y el individuo (Fig. 1D); La fase F (*flutter*), en donde existe una leve liberación de CO_2 producto de la apertura intermitente de los espiráculos (Fig. 1D); y la fase O (*Abierta*), la que corresponde al pico de liberación de CO_2 generado por la apertura total de los espiráculos (Fig. 1D) (Chown & Nicolson 2004).

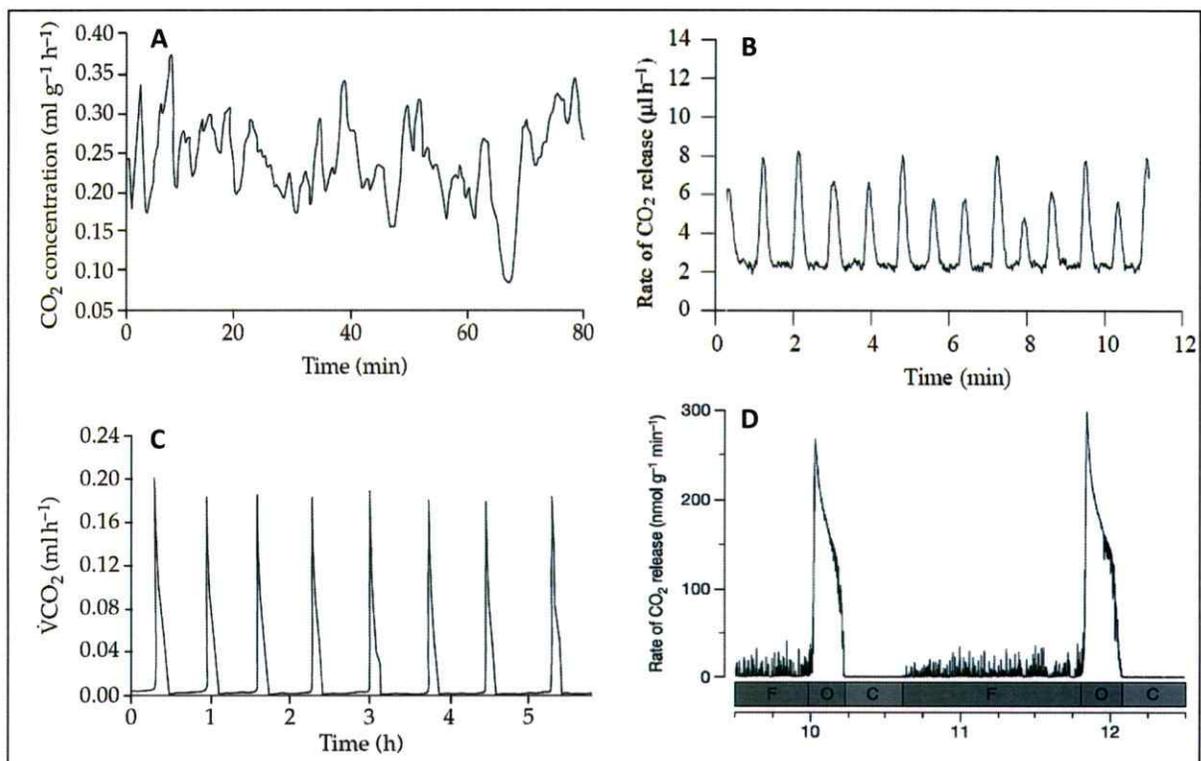


Figura 1: Los diferentes patrones de intercambio gaseoso en insectos. **A)** Patrón de intercambio gaseoso continuo. **B)** Patrón de intercambio gaseoso cíclico. **C)** Patrón de intercambio gaseoso discontinuo. **D)** Las diferentes fases en el patrón de intercambio gaseoso discontinuo, la fase cerrada, "flutter" y abierta. (Chown et al. 2005).

1.1.4 Intercambio gaseoso discontinuo (IGD)

El ciclo de intercambio gaseoso discontinuo (IGD) es uno de los patrones de intercambio gaseoso más llamativo mostrado por los insectos (Chown & Nicolson 2004). El ciclo IGD fue originalmente descrito para insectos adultos (Punt et al. 1957; Wilkins 1960), pero fue la investigación de los ciclos IGD para pupas en diapausa de saturniidae realizada por Schneiderman y sus colegas (Schneiderman 1960; Levy & Schneiderman 1966a, b; Schneiderman & Schechter 1966) la que dio lugar a una amplia comprensión tanto de la estructura como de los mecanismos que subyacen al ciclo. Posteriormente, el ciclo IGD se ha documentado en una amplia variedad de insectos adultos y pupas, aunque los mecanismos y control de los mismos muestran una considerable variación entre las especies. Hasta la fecha, el intercambio de gases discontinuo ha sido encontrado en cucarachas (Kestler 1985; Marais & Chown 2003), saltamontes (Harrison 1997; Rourke 2000; Snelling et al. 2012), hemípteros (Punt 1950), escarabajos de varias familias (Lighton 1991a; Davis et al. 1999; Bosch et al. 2000; Chappell & Rogowitz 2000), lepidópteros (Levy & Schneiderman 1966b), asílidos (Lighton 1998), avispas (Lighton 1998), hormigas (Lighton 1996; Vogt & Appel 2000) y fásmidos (Thienel 2012). Por otra parte, se conoce que la convergencia en el patrón respiratorio discontinuo no implica necesariamente que el mismo mecanismo subyacente sea responsable de ello (Lighton 1998; Lighton & Joos 2002).

1.1.5 Fase Cerrada, "Flutter" y Abierta

Durante la fase C los espiráculos se encuentran completamente cerrados, por lo que no existe intercambio gaseoso a través de ellos. El O₂ en el espacio endotraqueal es agotado por la respiración y el CO₂ es almacenado temporalmente en la hemolinfa,

esto conduce a una lenta disminución de la presión de O_2 endotraqueal hasta los 5 kPa aproximadamente. La baja presión de O_2 sirve como punto de referencia para el sistema nervioso central (SNC), el cual induce a los espiráculos a su abertura y cierra en una rápida sucesión, iniciándose así la fase F.

La respiración mediante convección durante la fase F, reduce el movimiento hacia el exterior de CO_2 y H_2O , y se piensa que es uno de las principales responsables de la conservación del agua. Sin embargo, en algunas especies de hormigas y tenebriónidos, el intercambio de gases durante la fase F es principalmente por medio de difusión (Lighton 1988b; Lighton & Garrigan 1995), lo que reduce su potencial de ahorro de agua.

Durante esta fase, la pO_2 se mantiene en 5 kPa aproximadamente y el gradiente de presión parcial es suficiente para garantizar la demanda de oxígeno en los tejidos. El dióxido de carbono sigue acumulándose durante esta fase, hasta alcanzar un valor aproximado de 3-6 kPa, dependiendo de la especie (Brockway & Schneiderman 1967; Burkett & Schneiderman 1974; Harrison et al. 1995; Lighton 1996). Esta presión parcial de CO_2 afecta a los espiráculos, tanto directa como indirectamente, induciendo su completa abertura, dando lugar a la salida simultánea de CO_2 y H_2O , y a la entrada de oxígeno, lo que se conoce como fase O. Durante la fase O, el intercambio gaseoso puede tener lugar predominantemente por difusión (Levy & Schneiderman 1966a; Lighton 1994) o por la ventilación, como consecuencia de los movimientos ventilatorios activos (Lighton 1988b; Lighton & Lovegrove 1990; Harrison 1997).

1.1.6 Origen del ciclo IGD

Se han propuesto al menos cinco hipótesis para explicar el origen del intercambio gaseoso discontinuo: (1) Hipótesis Hídrica, la que indica que el IGD representan una

adaptación a ambientes xéricos, limitando, de esta forma, la pérdida de agua evaporativa; (2) Hipótesis Ctónica-hídrica, la cual plantea que el IGD representa una adaptación a ambientes hipóxicos/hipercápnicos, limitando al mismo tiempo la pérdida de agua evaporativa; (3) Hipótesis de daño oxidativo, cuya estrategia plantea que el IGD reducen el daño oxidativo durante los períodos de baja demanda de oxígeno; (4) Hipótesis de propiedad emergente, la cual señala que el IGD representan un epifenómeno no-adaptativo que surge de la interacción entre dos sistemas de retroalimentación que regulan el intercambio gaseoso con una demanda mínima; y (5) Hipótesis de protección ante invasores, en la que el IGD son una adaptación que incrementa la frecuencia de cierre de los espiráculos para disminuir así el riesgo de infestación por parásitos (Chown et al. 2006). Sin embargo, la mayoría de los debates se han centrado en las dos primeras hipótesis (Chown & Nicolson 2004, Gibbs & Johnson 2004, Marais et al. 2005, Nespolo et al. 2007).

1.2 Alometría

Alometría, en su sentido más amplio, describe cómo las características de los seres vivos cambian con respecto al tamaño (Gayon 2000). El término originalmente se refirió a la relación de escala entre el tamaño de una parte del cuerpo y el tamaño del cuerpo como un todo, ya que ambos crecen durante el desarrollo (Huxley y Tessier 1936). Sin embargo, más recientemente, el significado del término alometría se ha modificado y ampliado para referirse a las relaciones de escala biológica en general, ya sea por las características morfológicas (e.g.: la relación entre el tamaño de las patas y el tamaño corporal) (Huxley y Tessier 1936), rasgos fisiológicos (e.g.: la relación entre la tasa metabólica y el tamaño corporal) (Kleiber 1932) o rasgos ecológicos (e.g.: la relación entre el tamaño del ala y el rendimiento del vuelo) (Calder 1984). El estudio de la

alometría se centra principalmente en los mecanismos funcionales que generan estas relaciones de escala, cómo afectan a la ecología y la forma en que estos influyen en la evolución (Shingleton 2010).

1.2.1 Historia del término alometría y el Crecimiento Relativo

El término alometría fue acuñado por Julian Huxley y Georges Tessier en 1936 (Huxley y Tessier 1936), trabajando en el fenómeno de crecimiento relativo. Huxley había estado estudiando la gran tenaza del cangrejo violinista (*Uca pugnax*), puesto que le interesaba explicar cómo este lograba producir un rasgo tan exagerado (Huxley 1924). Se midió el tamaño corporal y el tamaño de los cangrejos en diferentes etapas de su desarrollo, y el resultado fue una relación curva, que se linealizaba cuando los datos fueron graficados en una escala log-log. Aún más interesante fue la pendiente de esta recta, la cual resultó ser mayor a 1, interpretándose que para cualquier unidad de incremento en el tamaño del cuerpo a través del tiempo existía un aumento proporcionalmente mayor en el tamaño de la tenaza. Así Huxley dedujo que el exagerado crecimiento de la tenaza del cangrejo violinista, se debía a que esta crecía a un ritmo más rápido que el resto del cuerpo (Shingleton 2010).

En un intento por unificar estos estudios en un concepto coherente y para evitar confusiones, Huxley trabajó con Georges Tessier para proponer una terminología que describiese estas relaciones de escala, concluyendo que estas relaciones podrían ser descritas usando la ecuación lineal simple:

$$\log y = b \log x + \alpha \log$$

donde x es el tamaño del cuerpo, y es el tamaño del órgano, $\log \alpha$ es la intersección de la línea en el eje y , y b es la pendiente de la línea, también conocida como el coeficiente alométrico (West 1997). Cuando el órgano tiene una tasa de crecimiento mayor que el cuerpo en su conjunto, $b > 1$, y se llama alometría positiva. Cuando el órgano tiene una tasa de crecimiento más baja que el cuerpo en su conjunto, $b < 1$, y se llama alometría negativa. Cuando un órgano crece al mismo ritmo que el resto del cuerpo, $b = 1$, y se llama isometría. Tal órgano mantiene un tamaño constante durante todo el desarrollo (West 1997, Shingleton 2010).

1.2.2 Ampliar el concepto de Alometría

Huxley y Tessier estaban principalmente interesados en la relación entre un órgano y el tamaño del cuerpo a lo largo del desarrollo (Huxley y Tessier 1936). Sin embargo, otros investigadores reconocieron que muchos de los rasgos fisiológicos (por ejemplo, la tasa metabólica) (Kleiber 1932, Cheverud 1970) y los rasgos ecológicos (por ejemplo, velocidad de funcionamiento) también aumentan con el tamaño corporal. Además, se observó este escalamiento incluso cuando la variación de estos rasgos y el tamaño corporal no eran una consecuencia de la progresión en el desarrollo (Cheverud 1970). Debido a esto, el término alometría se ha utilizado para describir los diferentes tipos de variación biológica (Cheverud 1970). Cuando X e Y son características medidas en el mismo individuo a través de su desarrollo, la relación se denomina alometría ontogénica (Gould 1966, Cheverud 1970, Miller 1973). Cuando se miden en diferentes individuos para la misma etapa de desarrollo dentro de una población o especie se denomina alometría estática (Cheverud 1970, Gayon 2000). Y Cuando se miden en diferentes especies se denomina alometría evolutiva (Cheverud 1970, West 1997).

1.3 Hipótesis

Dado que los ciclos respiratorios en insectos representan la mayor proporción del intercambio de gases durante la fase de reposo se espera que tanto los componentes temporales (duración de cada fase del ciclo), los componentes estructurales (periodicidad, frecuencia y amplitud), y los valores asociados directamente al intercambio gaseoso (e.g.: tasa de producción de CO₂ y/o volumen de CO₂) se relacionen alométricamente con la masa corporal.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Analizar el intercambio gaseoso en el fásmidio altoandino *Agathemera crassa* y sus relaciones alométricas con respecto a la masa corporal, poniendo especial énfasis en las tres fases del ciclo respiratorio discontinuo.

1.4.2 Objetivos específicos

- a) Determinar si existe relación entre la presencia del ciclo respiratorio discontinuo y la masa corporal.
- b) Analizar las relaciones alométricas existente entre la tasa de producción de CO₂, el volumen de CO₂ emitido y la duración de cada fase, con respecto a la masa corporal.
- c) Determinar cada fase del ciclo respiratorio y analizar los aspectos relacionados a su estructura (amplitud, frecuencia y periodo) en un gradiente de masas corporales.
- d) Comparar los resultados obtenidos con otros taxones ya documentados.

2. METODOLOGÍA

2.1. Modelo de estudio

Agathemera crassa Blanchard, 1851 (Phasmatodea: Agathemeridae) es un fásrido que habita ambientes cordilleranos de Chile central, desde el río Aconcagua (Región de Valparaíso) hasta las Termas del Flaco (Región del Lib. Bdo. O'Higgins), por sobre la línea de bosques hasta los 3000 m s.n.m., aproximadamente (Camousseight 1995, Vera et al. 2012). Este presenta un ciclo de vida hemimetábolo y puede ser encontrado en solitario, en pareja o en grupos con proporciones de sexo y de tamaño corporal variables, bajo y entre rocas, las que generalmente se ubican cercanas a su alimento principal, *Acaena* sp.. Los datos obtenidos hasta la fecha permiten proponer a *Agathemera crassa* como una especie de hábitos nocturnos, que presenta un pico de actividad durante el período de oscuridad (Camousseight 1995, C. Veloso, comunicación personal).

Machos y hembras poseen un marcado dimorfismo sexual en cuanto a tamaño corporal, alcanzando una masa de 4 g y 13 g, respectivamente (Thienel 2010).

Agathemera crassa es el único fásrido en que se ha documentado el patrón de intercambio gaseoso discontinuo (Thienel 2012), y en la actualidad no se ha registrado otro insecto con mayor masa que lo posea.

2.2. Captura y Mantención

Durante los meses de Abril y Septiembre de 2013, se capturó un total de 57 individuos en un gradiente de masa corporal, es decir, desde estadíos tempranos de desarrollo hasta el estado adulto. La captura se realizó en la localidad altoandina de Farellones (33° 22' S 70° 17' O, 2400 m s.n.m.), Región Metropolitana, Chile central. Esta localidad presenta un clima mediterráneo con precipitaciones invernales de nieve y una

estación seca de cuatro a cinco meses. Su temperatura diaria mínima puede bajar levemente los 0 °C en época invernal y su temperatura diaria máxima puede alcanzar los 35°C en la estación seca.

Una vez trasladados los animales al laboratorio y durante toda su permanencia, estos fueron dispuestos en cajas plásticas separadas por sexo, dentro de cámaras termo-reguladas con foto-períodos diarios de L:O de 12:12 hrs. y con un ciclo térmico de 15:5 °C, y alimentados con una dieta *ad libitum* de *Acaena splendens*, su alimento natural.

2.3. Respirimetría

El respirómetro utilizado fue similar al de otros autores (e.g. Chown & Holter 2000, Davis et al. 1999, Duncan & Byrne 2000, Chappell & Rogowitz 2000, Lighton & Turner 2004, Nespolo et al. 2007, Snelling et al. 2012), el que consiste en un sistema abierto de flujo continuo (200 ml min⁻¹), con aire al cual se le removi6 el CO₂ y el vapor de agua presentes, utilizando columnas de cal de hidróxido de bario (Baralyme®) y sulfato de calcio anhídrido (Drierita®), respectivamente. En este estado, el aire ingresa a la cámara metabólica de vidrio (aquella que contiene el animal), la que se encuentra dentro de la cámara termo- y foto-regulada. Posteriormente, el aire fluye a través de un analizador de vapor de agua Sable Systems International® (Las Vegas, Nevada, EEUU), modelo RH-300, luego del cual el aire se filtra nuevamente por Drierita®, para luego pasar por el analizador de CO₂ Sable Systems International®, modelo FOXBOX. Finalmente, a través de la interfase UI2 de la misma marca anterior, los datos son exportados al computador, en donde son analizados mediante el software ExpeData (Sable Systems International®) versión 1.0.3. Tanto al inicio como al término de la medición, se realizó una línea de base de 15 min para estabilizar los niveles de los gases del sistema.

Las mediciones tuvieron una duración de 24 hrs, con el fin de registrar el mayor número de ciclos IGD realizados por el animal en reposo a una temperatura de 15°C, con un foto-período L:O de 12:12 hrs.

Los individuos fueron agrupados de acuerdo a su masa corporal en tres grupos diferentes, individuos con masa <2 g, individuos con masa entre 2 y 4 g e individuos con masa >4 g, la cual fue registrada con una balanza digital de precisión $\pm 0,01$ g.

2.4. Determinación del ciclo IGD

La determinación del patrón de intercambio gaseoso discontinuo se identificó mediante la presencia de las tres fases que lo conforman; la fase C, la fase F y la fase O, el cual realiza el animal únicamente en periodo de reposo.

2.5. Componentes evaluados

Los componentes evaluados del ciclo IGD fueron básicamente los asociados al intercambio gaseoso (tasa de producción de CO₂ y volumen de CO₂ emitido), los asociados a su temporalidad (tiempo total del ciclo y de cada una de sus fases) y los asociados a su estructura (periodo, frecuencia y amplitud), los cuales fueron obtenidos en su totalidad del software ExpeData (Sable Systems International®) versión 1.0.3.

2.6. Alometría y análisis estadístico

Se calculó la media aritmética \pm DE de cada uno de los componentes descritos anteriormente en todos los animales medidos, esta se calculó para el total del ciclo IGD y para cada una de sus fases.

Se transformaron los datos obtenidos a Log₁₀ y se realizaron gráficas de cada uno de los componentes en relación a la masa corporal de los animales. Todas las gráficas



fueron elaboradas en el software STATISTICA versión 10.0 (StatSoft). Luego se realizaron regresiones lineales en cada uno de los análisis, obteniendo una ecuación lineal de los datos con su respectivo R^2 . En todos los análisis se trabajó con un nivel de significancia del 0,05%.

Los exponentes alométricos se compararon mediante una Prueba de t, con la cual se analizó si los exponentes obtenidos en las ecuaciones diferían del esperado por isometría, de acuerdo a esto se clasificaron los resultados en: relaciones alométricas negativas, relaciones isométricas y relaciones alométricas positivas, según corresponda. En este análisis se trabajó igualmente con un nivel de significancia del 0,05%.

3. RESULTADOS

3.1 Presencia del ciclo IGD con respecto a la masa corporal

De los 57 animales utilizados para respirometría, 19 corresponden a animales con masas < 2 g (33,33%), 18 a animales con masas entre 2 y 4 g (31,58%) y 20 a animales con masas > 4 g (35,09%). De estos 57 animales, 24 exhibieron el ciclo IGD en periodo de reposo (42,11%), los cuales son el foco de la presente investigación, y cubren un rango de masa que va desde los 0,452 a los 9,199 g.

La presencia del ciclo IGD en cada grupo fue de un 52,63% en animales con masa < 2 g, un 55,56% en animales con masa entre 2 y 4 g y un 20% en animales con masa >4 g (Fig. 2).

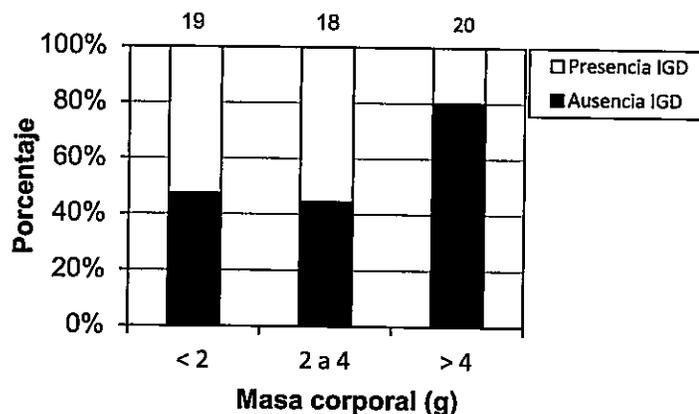


Figura 2. Presencia del ciclo IGD con respecto a la masa corporal. Se indica un n=19 para animales con masa <2 g, un n=18 para animales con masa entre 2 y 4 g y un n=20 para animales con masa >4 g.

3.2 Relación porcentual de la duración de cada fase del ciclo IGD con respecto a la masa corporal

Independiente de la masa corporal, los animales permanecen un mayor porcentaje del ciclo IGD en fase F (mayor a un 56%)(Fig. 3), seguido de la fase O (entre un 18% y un 26%) y la fase C (bajo un 18,1%) (Fig. 3). Los animales con masa <2 g son los que presentan un mayor porcentaje de permanencia en la fase O, pero poseen el menor

porcentaje en la fase F, mientras que los animales con masa entre 2 y 4 g presentan un porcentaje de permanencia intermedio tanto en la fase F como en la fase O. Finalmente los animales con masa > 4 g presentan el mayor porcentaje de permanencia en la fase F, y el menor porcentaje de permanencia en la fase O. (Fig. 3)

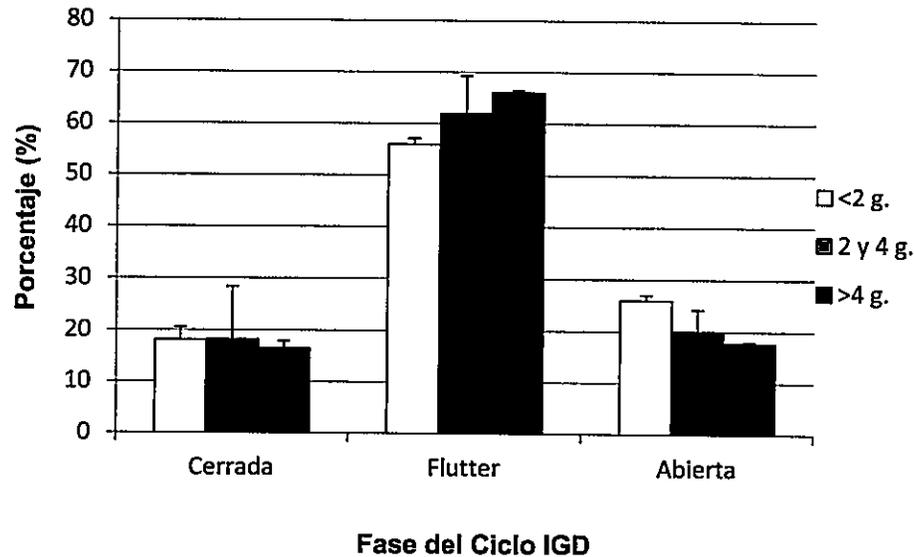


Figura 3. Relación porcentual de la duración de cada fase del ciclo IGD con respecto a la masa corporal. En la barra blanca se indican los animales con masas <2 g, en la barra gris se indican los animales con masas entre 2 y 4 g, y finalmente en la barra negra los animales con masas >4 g. Además se muestra el error estándar en cada grupo señalado.

3.3 Alometría Asociada al intercambio gaseoso

3.3.1 Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO₂ y la masa corporal

La tasa de producción de CO₂ de *A. crassa* en reposo es dependiente de la masa corporal en todas las fases del ciclo IGD ($p < 0,05$) (Fig. 4). Los exponentes alométricos obtenidos son $0,805 \pm 0,069$ para el total del ciclo IGD, $0,769 \pm 0,096$ para la fase C, $0,793 \pm 0,085$ para la fase F y $0,931 \pm 0,074$ para la fase O (Fig. 4). Al comparar los distintos exponentes alométricos obtenidos en el análisis, con el propuesto por Lighton & Fielden para metabolismo de insectos y arañas en reposo (0,825), obtenemos que la tasa de producción de CO₂ para el total del ciclo IGD posee una

relación isométrica con respecto a la masa corporal (Prueba de t: $t_{(23)}=1,409$; $p>0,05$). En las distintas fases vemos que existe una relación alométrica negativa para la fase C (Prueba de t: $t_{(23)}=2,853$; $p<0,05$), una relación alométrica negativa para la fase F (Prueba de t: $t_{(23)}=1,832$; $p<0,05$) y una relación alométrica positiva para la fase O (Prueba de t: $t_{(23)}=7,017$; $p<0,05$). Los resultados indican que la masa corporal explica casi en su totalidad la tasa de producción de CO_2 en todos las fases del ciclo IGD ($r^2>0,75$) (Fig. 4).

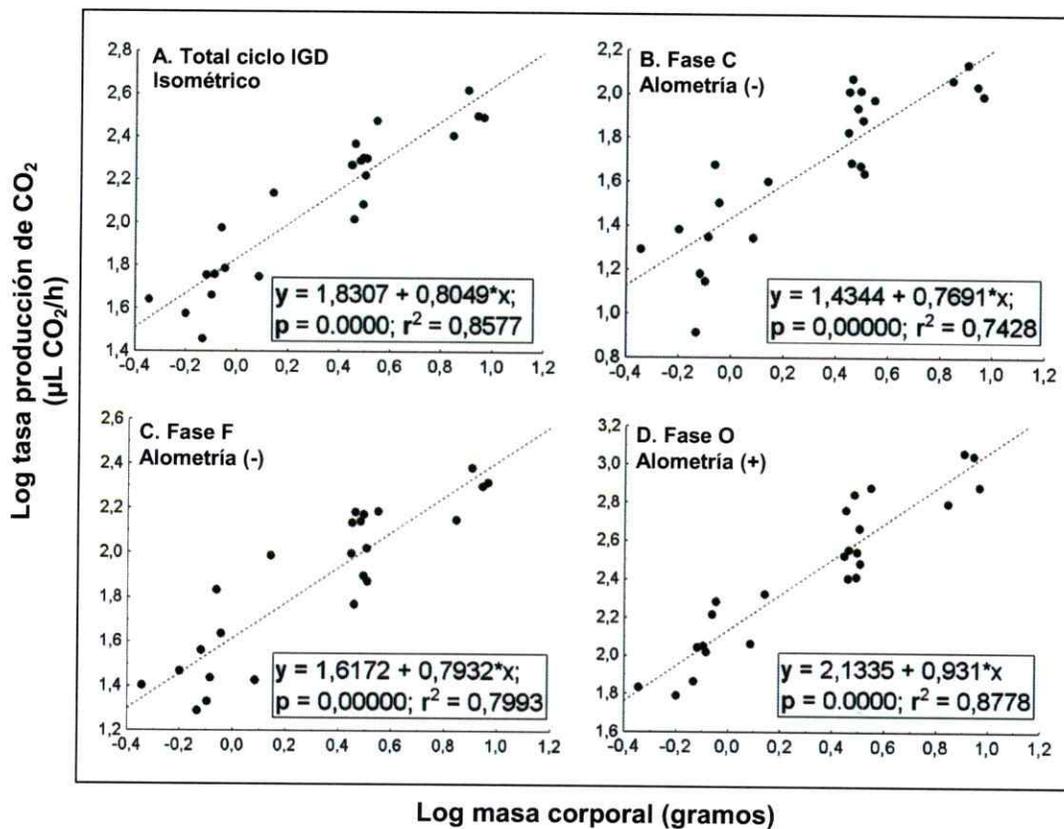


Figura 4. Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO_2 y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Isométrico), **B:** Fase C (Alometría negativa), **C:** Fase F (Alometría Negativa), **D:** Fase O (Alometría Positiva).

3.3.2 Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO₂ masa específica y la masa corporal

La tasa de producción de CO₂ masa específica de *A. crassa* en reposo es dependiente de la masa corporal en todas las fases del ciclo IGD ($p < 0,05$), a excepción de la fase O, donde no hay evidencias de una correlación de esta con la masa corporal ($p = 0,362$) (Fig. 5). Los exponentes alométricos obtenidos son $-0,195 \pm 0,070$ para la producción total del ciclo IGD con respecto a la masa corporal, $-0,231 \pm 0,097$ para la fase C, $-0,207 \pm 0,084$ para la fase F y $-0,069 \pm 0,074$ para la fase O (Fig. 5). Al comparar los exponentes alométricos obtenidos en el análisis, con el esperado por isometría ($-0,25$), tenemos que la tasa de producción de CO₂ masa específica posee una relación alométrica negativa con la masa corporal (Prueba de t: $t_{(23)} = 3,849$; $p < 0,05$), una relación isométrica en la fase C (Prueba de t: $t_{(23)} = 1,010$; $p > 0,05$) y una relación alométrica negativa en la fase F (Prueba de t: $t_{(23)} = 2,916$; $p < 0,05$). Los resultados indican que la masa corporal explica en un bajo porcentaje la tasa de producción de CO₂ masa específica ($r^2 < 0,30$) (Fig. 5).

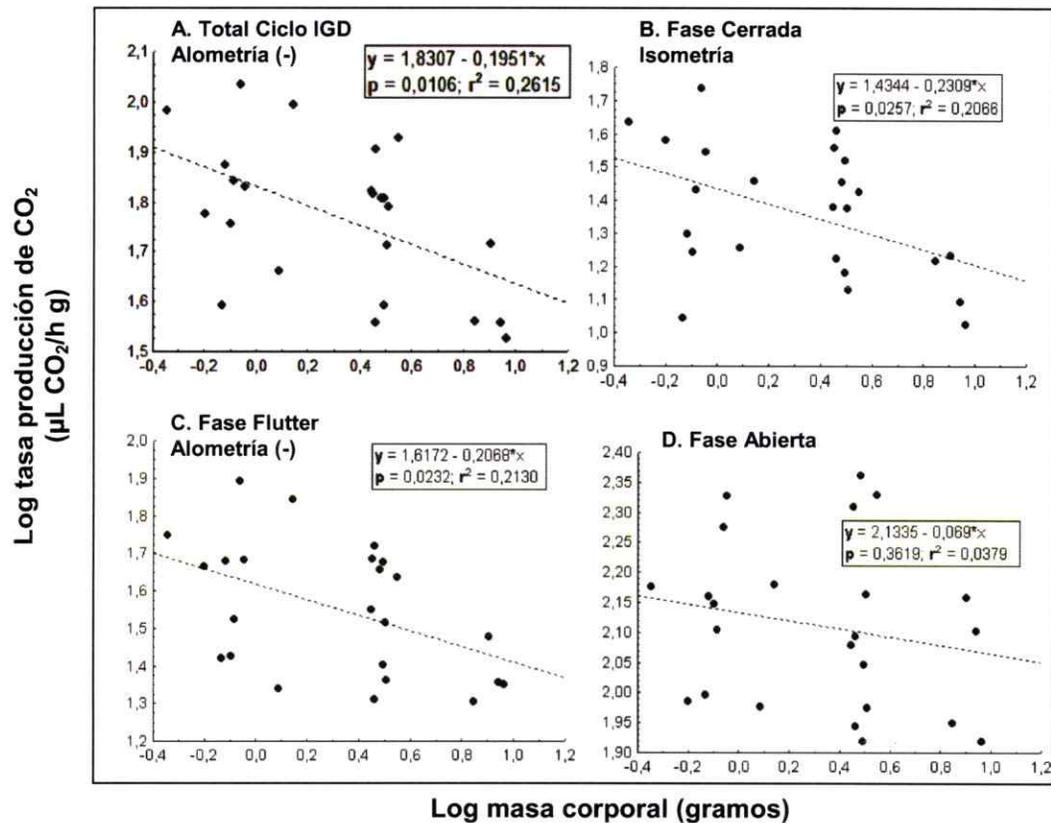


Figura 5. Relaciones alométricas entre la tasa de producción de CO₂ masa específica y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Alometría negativa), **B:** Fase C (Isometría), **C:** Fase F (Alometría Negativa), **D:** Fase O.

3.3.3 Relaciones Alométricas entre el Volumen de CO₂ emitido y la masa corporal

El volumen de CO₂ emitido por *A. crassa* en reposo es dependiente de la masa corporal en todas las fases del ciclo IGD ($p < 0,05$) (Fig. 6). Los exponentes alométricos obtenidos en el análisis son $1,060 \pm 0,125$ para el total del ciclo IGD, $1,037 \pm 0,144$ para la fase C, $1,171 \pm 0,228$ para la fase F y $1,065 \pm 0,085$ para la fase O (Fig. 6). Al comparar los exponentes alométricos obtenidos, con el esperado por isometría (1), observamos que existe una relación alométrica positiva para el volumen total de CO₂ emitido con respecto a la masa corporal (Prueba de t: $t_{(23)} = 2,353$; $p < 0,05$), una relación isométrica en la fase C (Prueba de t: $t_{(23)} = 1,266$; $p > 0,05$), una relación alométrica positiva en la fase F (Prueba de t: $t_{(23)} = 3,674$; $p < 0,05$) y una relación

alométrica positiva en la fase O (Prueba de t: $t_{(23)}=3,746$; $p<0,05$). Los resultados indican que tanto para la fase C como para la fase O, la masa corporal explica casi en su totalidad el volumen de CO₂ emitido por los animales ($r^2>0,70$), mientras que para la fase F se obtiene una menor correlación ($r^2=0,54$) (Fig. 6).

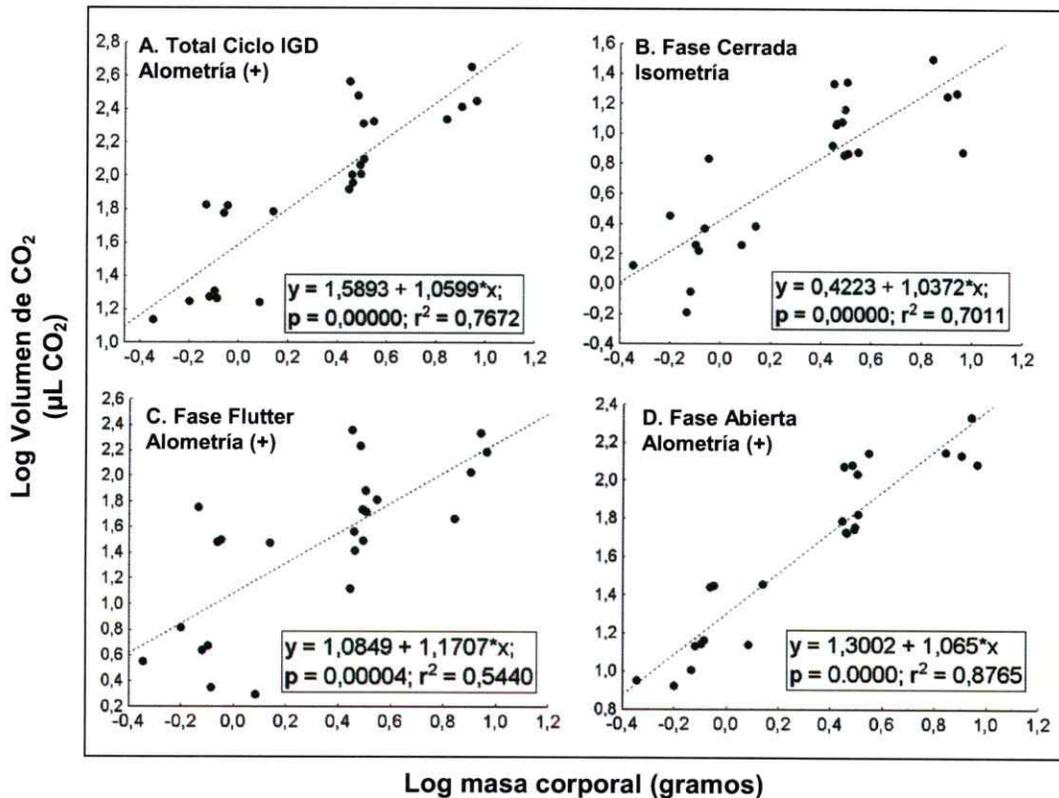


Figura 6. Relaciones alométricas entre la el volumen de CO₂ emitido y la masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Alometría positiva), **B:** Fase C (Isometría), **C:** Fase F (Alometría positiva), **D:** Fase O (Alometría positiva)

3.4 Alometría asociada a los componentes temporales

3.4.1 Relaciones alométricas entre la duración de cada fase y la masa corporal

La duración del total del ciclo IGD y la duración de las fases que lo componen, son dependientes de la masa corporal ($p<0,05$) (Fig. 7). Los exponentes alométricos obtenidos en el análisis son $0,346\pm 0,107$ para la duración total del ciclo IGD,

0,285±0,105 para la fase C, 0,464±0,173 para la fase F y 0,141±0,044 para la fase O (Fig. 7). Al comparar los exponentes alométricos con el esperado por isometría (1/3), observamos que existe una relación isométrica entre la duración total del ciclo IGD la masa corporal (Prueba de t: $t_{(23)}=0,577$; $p>0,05$), una relación alométrica negativa para la fase C (Prueba de t: $t_{(23)}=2,249$; $p<0,05$), una relación alométrica positiva para la fase F (Prueba de t: $t_{(23)}=3,714$; $p<0,05$) y una relación alométrica negativa para la fase O (Prueba de t: $t_{(23)}=21,433$; $p<0,05$). Los resultados indican que la masa corporal explica en un bajo porcentaje la duración total del ciclo IGD y la duración de cada una de sus fases ($r^2<0,35$) (Fig. 7).

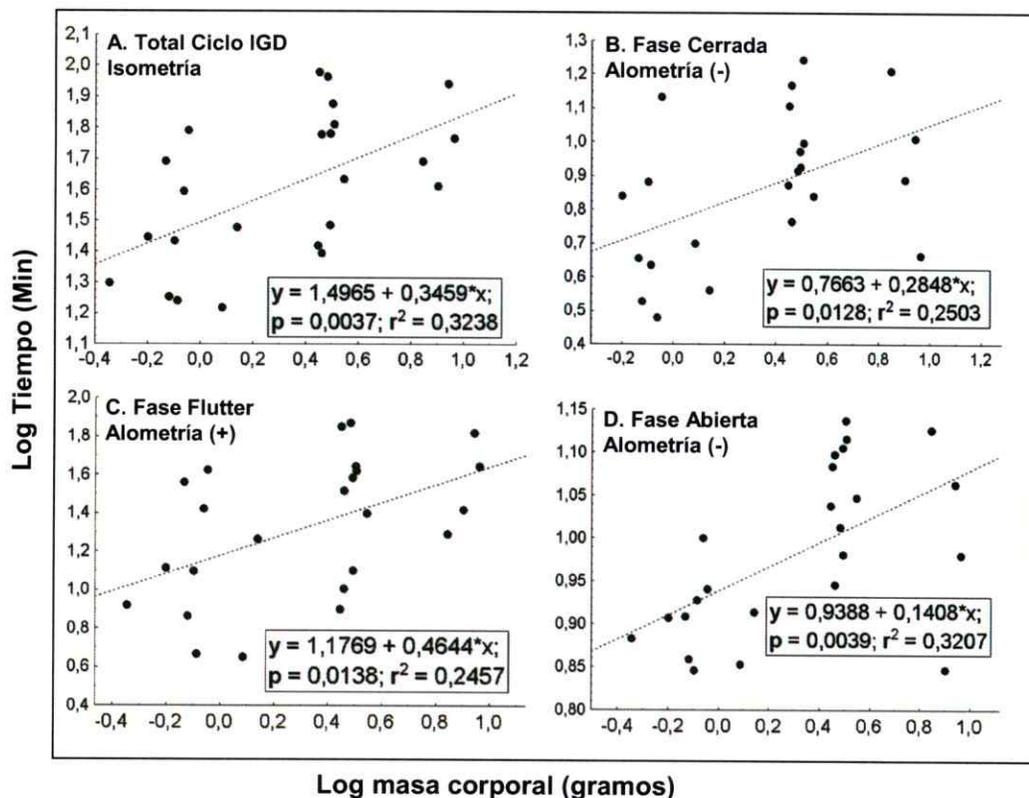


Figura 7: Relaciones alométricas la duración del ciclo IGD y masa corporal. **A:** Total ciclo IGD (Isometría), **B:** Fase C (Alometría negativa), **C:** Fase F (Alometría positiva), **D:** Fase O (Alometría negativa)

3.4.2 Relaciones alométricas entre la duración de cada fase del ciclo IGD y la duración total

La duración de cada fase del ciclo IGD es dependiente de la duración total de este en todos los casos ($p < 0,05$) (Fig. 8). Los exponente alométricos obtenidos para cada fase son $0,608 \pm 0,152$ para la fase C, $1,503 \pm 0,073$ para la fase F y $0,286 \pm 0,062$ para la fase O (Fig. 8). Al comparar los exponentes alométricos con el esperado por isometría (1), observamos que existe una relación alométrica negativa entre la duración de la fase C y la duración total del ciclo IGD (Prueba de t: $t_{(23)} = 12,645$; $p < 0,05$), una relación alométrica positiva para la duración de la fase F (Prueba de t: $t_{(23)} = 33,756$; $p < 0,05$) y una alometría negativa para la duración de la fase O (Prueba de t: $t_{(23)} = 56,410$; $p < 0,05$). Se observa que la duración total del ciclo IGD explica casi en su totalidad la duración de la fase F ($r^2 = 0,95$), mientras que para las fases cerrada y abierta explica en un menor porcentaje ($r^2 < 0,50$) (Fig. 8).

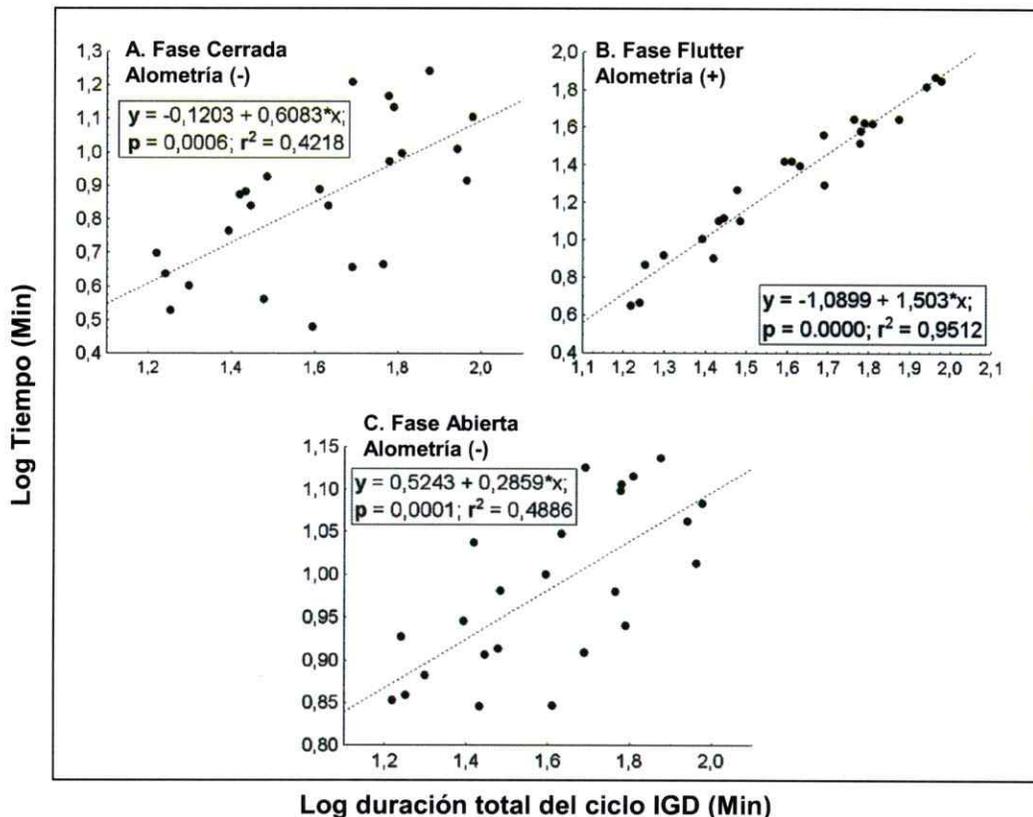


Figura 8: Relaciones alométricas la duración cada fase del ciclo IGD y la duración total de este. **A:** Fase C (Alometría positiva), **B:** Fase F (Alometría positiva), **C:** Fase O (Alometría negativa).

3.5 Alometría asociada a los componentes estructurales

3.5.1 Relaciones alométricas entre los componentes estructurales del ciclo IGD y la masa corporal

Tanto el periodo, como la frecuencia y la amplitud del ciclo IGD son dependientes de la masa corporal ($p < 0,05$) (Fig. 9). Los exponentes alométricos resultantes en cada uno de los casos son $0,283 \pm 0,101$ para el periodo, $-0,283 \pm 0,101$ para la frecuencia y $0,944 \pm 0,086$ para la amplitud (Fig. 9). Al compara los exponentes alométricos con los esperados por isometría (Periodo=0,33; Frecuencia=0,33; Amplitud=1), observamos que existe una relación alométrica negativa entre el periodo del ciclo IGD y la masa

corporal (prueba de t: $t_{(23)}=2,425$; $p<0,05$), una relación alométrica negativa para la frecuencia (prueba de t: $t_{(23)}=2,425$; $p<0,05$) y una relación alométrica negativa para la amplitud (prueba de t: $t_{(23)}=3,184$; $p<0,05$). La masa corporal explica casi en la totalidad la amplitud del ciclo IGD ($r^2=0,85$), mientras que el periodo y la frecuencia son explicados en un bajo porcentaje por la masa corporal de los animales ($r^2<0,3$) (Fig. 9).

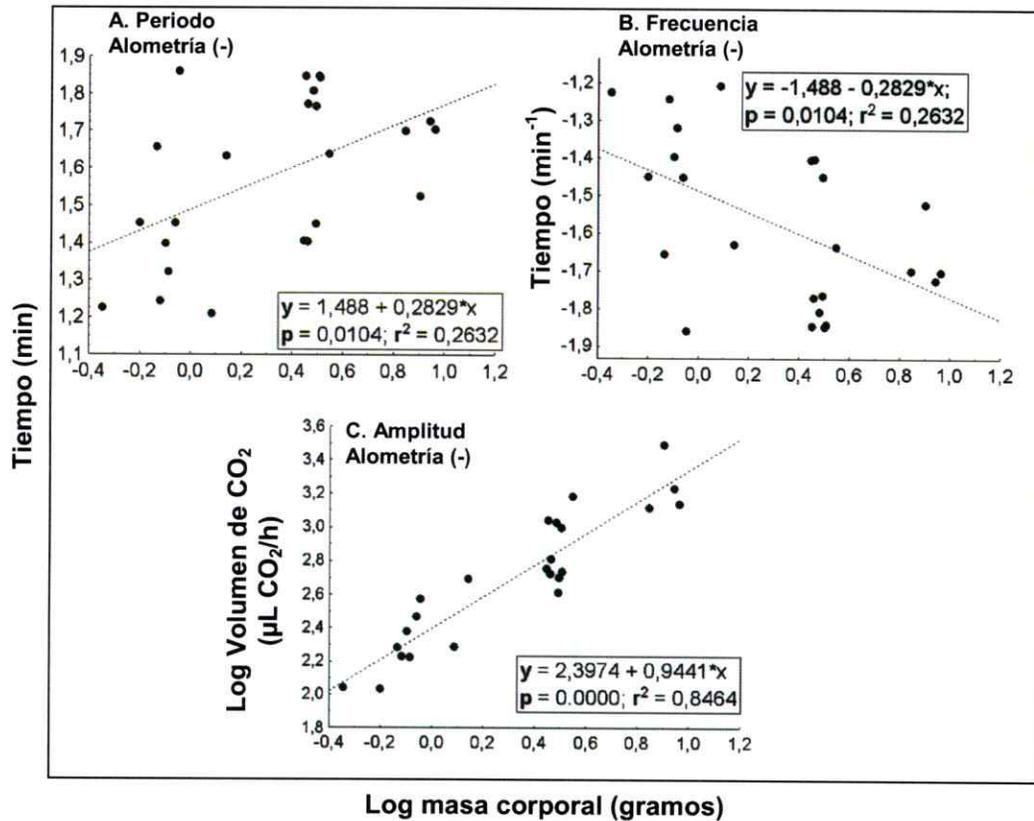


Figura 9: Relaciones alométricas de los componentes estructurales del ciclo IGD y la masa corporal. **A:** Periodo (Alometría negativa), **B:** Frecuencia (Alometría negativa), **C:** Amplitud (Alometría negativa)

Tabla 1: Resultados para los diferentes grupos de individuos en el total del ciclo IGD y en cada una de sus fases

	<2 g (n=10)		2 y 4 g (n=10)		>4 g (n=4)	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Mb (g)	0,858	0,269	3,061	0,222	8,237	0,962
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹)	61,683	31,587	188,83	54,401	324,275	67,398
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹ g ⁻¹)	71,643	23,077	61,427	15,633	39,566	8,437
VCO ₂ (μL CO ₂)	35,906	23,598	170,006	98,159	300,708	101,903
Duración total IGD (min)	30,661	15,065	57,102	25,746	58,866	20,27
Periodo (min)	31,337	17,646	51,414	19,082	46,758	9,007
Frecuencia (min ⁻¹)	0,039	0,017	0,023	0,011	0,022	0,005
Amplitud ml CO ₂ h ⁻¹)	0,233	0,122	0,788	0,363	1,869	0,843
Fase C						
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹)	24,392	12,0593	78,535	26,446	114,707	16,624
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹ g ⁻¹)	29,327	13,460	25,806	9,0863	14,164	3,149
VCO ₂ (μL CO ₂)	2,242	1,723	12,329	5,539	18,685	9,669
Duración (min)	5,591	3,174	10,087	3,717	9,67	4,893
Fase F						
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹)	39,3245	51,386	114,461	181,449	196,855	259,153
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹ g ⁻¹)	45,399	18,814	37,443	11,619	23,861	4,299
VCO ₂ (μL CO ₂)	16,998	18,558	74,819	69,032	129,506	71,689
Duración (min)	17,296	13,362	35,532	23,151	38,829	20,634
Fase O						
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹)	120,813	51,386	435,221	181,449	911,339	259,153
Tasa Emisión CO ₂ (μL CO ₂ h ⁻¹ g ⁻¹)	140,456	38,952	141,405	54,925	110,618	29,398
VCO ₂ (μL CO ₂)	16,665	8,0407	82,858	33,697	149,753	42,014
Duración (min)	8,046	0,894	11,482	1,598	10,367	2,72

Tabla 2: Resultados de las relaciones alométricas en toda la ontogenia de *Agathemera crassa*, en el total del ciclo IGD y en cada una de sus fases.

* Exponente alométrico esperado según Lighton & Fielden, 1995.

**Exponente alométrico esperado por Isometría.

	Ecuación Lineal	R ²	p Correlación	Exponente Alométrico Obtenido	Exponente Alométrico Esperado	p Prueba de t	Relación
Producción							
CO₂/Masa Corporal							
Total Ciclo IGD	y=0,805x+1,831	0,858	<0,00001	0,805±0,069	0,825*	>0,05	Isométrica
Fase C	y=0,769x+1,434	0,743	<0,00001	0,769±0,096	0,825*	<0,05	Alométrica (-)
Fase F	y=0,793x+1,617	0,799	<0,00001	0,793±0,085	0,825*	<0,05	Alométrica (-)
Fase O	y=0,931x+2,134	0,878	<0,00001	0,931±0,074	0,825*	<0,05	Alométrica (+)
Producción CO₂ masa específica/ Masa Corporal							
Total Ciclo IGD	y=-0,195x+1,83	0,262	<0,05	-0,195±0,070	-0,25**	<0,05	Alométrica (-)
Fase C	y=-0,231x+1,43	0,207	<0,05	-0,231±0,097	-0,25**	>0,05	Isométrica
Fase F	y=-0,207x+1,62	0,213	<0,05	-0,207±0,084	-0,25**	<0,05	Alométrica (-)
Fase O	y=-0,069x+2,13	0,038	>0,05	-0,069±0,074	-0,25**	-	-
Volumen CO₂/Masa Corporal							
Total Ciclo IGD	y=1,060x+1,589	0,767	<0,00001	1,060±0,125	1**	<0,05	Alométrica (+)
Fase C	y=1,037x+0,422	0,701	<0,00001	1,037 ±0,144	1**	>0,05	Isométrica
Fase F	y=1,171x+1,085	0,544	<0,0001	1,171±0,228	1**	<0,05	Alométrica (+)
Fase O	y=1,065x+1,300	0,877	<0,00001	1,065±0,085	1**	<0,05	Alométrica (+)
Duración							
Fase/Masa Corporal							
Total Ciclo IGD	y=0,346x+1,497	0,324	<0,05	0,346±0,107	0,33**	>0,05	Isométrica
Fase C	y=0,285+0,766	0,25	<0,05	0,285±0,105	0,33**	<0,05	Alométrica (-)
Fase F	y=0,464x+1,177	0,246	<0,05	0,464±0,173	0,33**	<0,05	Alométrica (+)
Fase O	y=0,141+0,939	0,321	<0,05	0,141±0,044	0,33**	<0,05	Alométrica (-)
Duración							
Fase/Duración Total							
Fase C	y=0,608x-0,120	0,422	<0,001	0,608±0,152	1**	<0,05	Alométrica (-)
Fase F	y=1,503x-1,090	0,951	<0,00001	1,503±0,073	1**	<0,05	Alométrica (+)
Fase O	y=0,286x+0,524	0,489	<0,001	0,286±0,062	1**	<0,05	Alométrica (-)
Periodo /Masa Corporal							
	y=0,283x+1,488	0,263	<0,05	0,283±0,101	0,33**	<0,05	Alométrica (-)
Frecuencia /Masa Corporal							
	y=-0,283x-1,488	0,263	<0,05	-0,283±0,101	0,33**	<0,05	Alométrica (-)
Amplitud /Masa Corporal							
	y=0,944x+2,397	0,846	<0,00001	0,944±0,086	1**	<0,05	Alométrica (-)

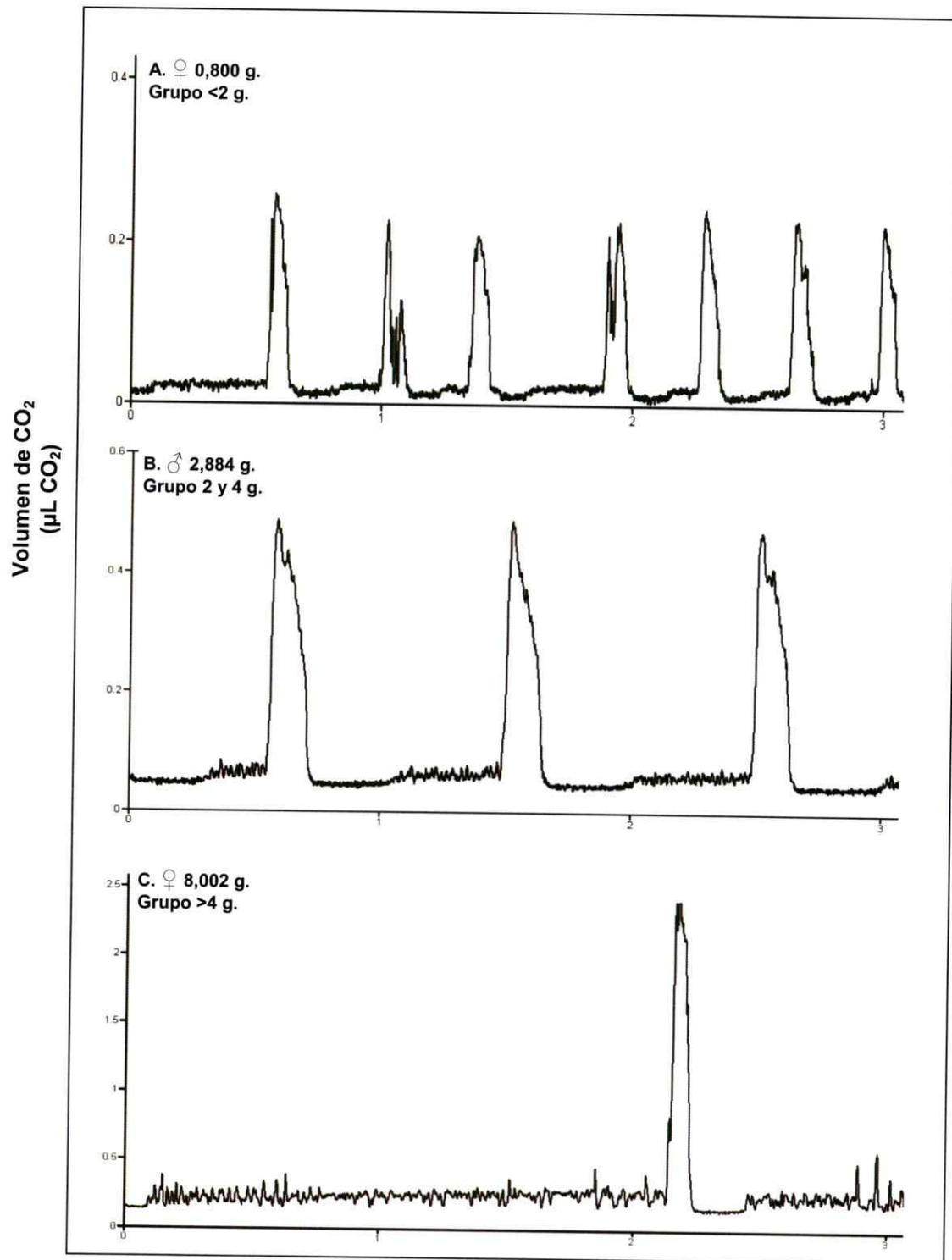


Figura 10: Variación del ciclo IGD en *Agathemera crassa* al aumentar la masa corporal. **A:** Hembra 0,800 g.; **B:** Macho 2,884 g.; **C:** Hembra 8,002 g. A mayor masa se observa una disminución de la frecuencia y un aumento de la amplitud del ciclo IGD.

4. DISCUSIÓN

4.1 Contribución al estudio del ciclo IGD

Una importante contribución de este estudio, es que el patrón respiratorio discontinuo se exhibe en todos los estados de vida de *Agathemera crassa*, desde los 0,45 g (primeros estados de vida), hasta los 9,20 g (individuos adultos) (La Figura 10 muestra los patrones de intercambio gaseoso discontinuo en los diferentes grupos). Esto solo se ha documentado en Snelling et al. (2012) para el ortóptero *Locustra migratoria*, pero la presente investigación es la primera en documentarlo para un fásmido.

Otra importante contribución es que casi la totalidad de las investigaciones realizadas en este ámbito, han sido en insectos holometábolos, y las escasas investigaciones publicadas a la fecha para hemimetábolos, solo trabajan con individuos adultos (a excepción de Snelling et al. (2012), por lo que esta investigación es una contribución a los primeros hallazgos de la presencia del ciclo IGD en el desarrollo total de una especie.

4.2 Efecto de la masa corporal en el ciclo IGD

Existe una presencia similar del ciclo IGD en individuos con masas <2 g e individuos con masas entre 2 y 4 g, un 52,63% y un 55,56%, respectivamente. Lo cual no se evidencia en individuos con masas >4 g (solo el 20% presentó el ciclo), estos son animales en estado adulto, principalmente hembras, que pudieron presentar un aumento de su metabolismo debido a la posible presencia de huevos en su interior, lo cual se evidenció de manera directa en algunos individuos durante su permanencia en el laboratorio, en consecuencia, este permanente estado de actividad dificultaría la realización del ciclo IGD, puesto que este solo se presenta en estado de reposo.

La presencia del ciclo IGD también se pudo ver afectada por el alto grado de infestación por parásitos que presentaban los animales, puesto que se evidenció la

salida de larvas desde el interior de los individuos tanto antes, durante como después de las mediciones realizadas, estas larvas son larvas de tercer instar del tachínido parasitoide *Phasmovora phsmophagae* que emergen del hospedero para pupar (Thienel 2010, Reyes 2013), lo cual pudo afectar directamente el metabolismo de algunos animales, impidiendo que entraran en estado de reposo y por ende la realización del ciclo IGD. Se conoce que este parasitoidismo afecta a todos los estados en el desarrollo de *Agathemera crassa* (Reyes 2013), pero se desconoce si este afectaría en igual magnitud a todos los estados, de ser cierta esta afirmación los resultados también se verían sesgados por esta condición de parasitismo, al impedir la entrada a un estado de reposo.

Al presentarse el ciclo IGD, se observa que en todos los estados de desarrollo de *Agathemera crassa* existe una mayor permanencia de los individuos en la fase F, llegando a valores en tiempo mayores al doble que los de la fase O y mayores al triple que los de la fase C. Varios estudios han sugerido que las diferencias en las duraciones proporcionales del ciclo IGD (especialmente para la duración de la fase F), podrían reflejar adaptaciones del ciclo IGD a diversas condiciones ambientales, en particular a la disponibilidad de agua (Lighton 1990 ; Davis et al, 1999; Bosch et al. 2000; Duncan et al 2002a, Lighton et al., 1993a). Puesto que si el intercambio de gases es predominantemente por convección, la difusión de agua hacia el exterior se reduce al mínimo y por ende el aumento de la permanencia en la fase F dará lugar a una mejor conservación de agua (Kestler 1985).

A pesar de la mayor permanencia en fase F por todos los individuos, se observa que ésta presenta cierta inestabilidad en su duración tanto entre individuos del mismo grupo, como en el mismo individuo (Figura 11) (Tabla 1), llegando a ser mayores al 300% en algunos casos. Para esto no encontramos explicación en las publicaciones

hasta la fecha, por lo que *Agathemera crassa* podría ser un buen sujeto de estudio para realizar las primeras indagaciones de esta anomalía en futuras investigaciones.

De acuerdo al porcentaje de permanencia en cada fase del ciclo IGD (Figura 3), se podría señalar que para los distintos grupos no se aprecian diferencias en el porcentaje de permanencia en la fase C, mientras que para la fase F los individuos al aumentar su masa corporal permanecerían un mayor porcentaje en esta, lo contrario ocurriría para la fase O.

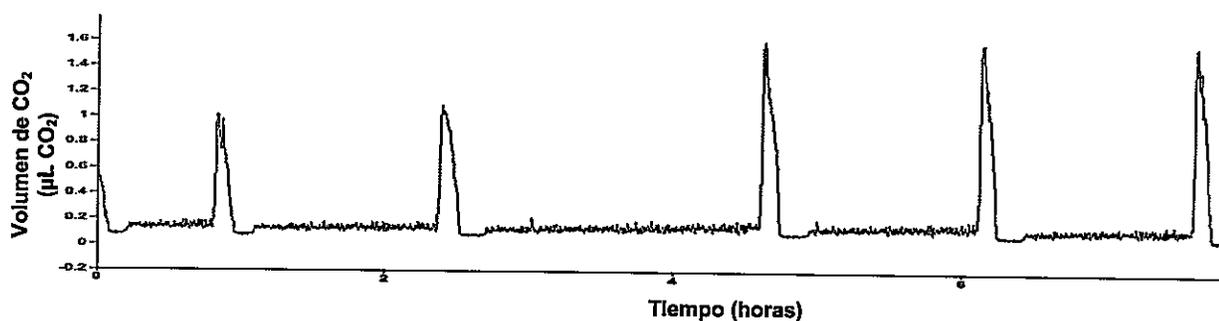


Figura 11: Variación en la duración de la fase F, en la cual se aprecia que esta puede mostrar una diferencia de hasta 300% en el mismo animal

4.3 Aproximación alométrica

4.3.1. Tasa de producción de CO₂

Utilizando una aproximación alométrica, se encuentra que la producción total de CO₂ en el ciclo IGD es isométrica con la masa corporal ($p < 0,00001$), lo que no ocurre para las diferentes fases por separado. En la fase C y F se observa una alometría negativa, por lo que individuos más pequeños presentan una tasa de producción de CO₂ proporcionalmente mayor en comparación a los adultos. Lo contrario ocurre en la fase abierta, donde se observa una alometría positiva. Estos resultados pueden variar su interpretación debido al exponente alométrico esperado que se utilice, en esta investigación se utilizó el propuesto por Lighton & Fielden (1995) (0,825), pero existen

otros como el propuesto por Kleiber (0,75) o el esperado por relación superficie volumen (0,67). Gessaman (1987) menciona que la producción de CO₂ es especie específico y depende de la metodología utilizada, debido a esto creemos que el análisis realizado por Lighton & Fielden (1995) es el más adecuado para nuestro trabajo, debido a que está orientado a insectos y no a todos los taxas. El exponente alométrico obtenido por Snelling et al. (2012), se asemeja más al propuesto por Lighton & Fielden (1995), al igual que en esta investigación.

4.3.2. Tasa de producción de CO₂ masa específica

En la relación alométrica entre la tasa de producción de CO₂ masa específica y la masa corporal, en general se observan exponentes menores al esperado (alometría negativa), similares resultados se observan en Snelling et al. (2012) para *Locustra migratoria*, esto implica que existe una baja diferencia proporcional del metabolismo por gramo de individuos pequeños en comparación a los adultos. Solo la fase cerrada muestra una relación isométrica, por lo que no hay diferencias proporcionales entre la producción de CO₂ masa específica en individuos pequeños y adultos, esto es esperable puesto que en la fase cerrada el intercambio gaseoso se lleva a cabo solamente por difusión entre el exoesqueleto del animal y el medio que lo rodea, lo que baja la probabilidad de interferencia de cualquier variable que pueda influir en el metabolismo del individuo en esta fase. Además se observa que la fase abierta no evidencia una relación alométrica, por lo que individuos pequeños no presentarían diferencias en la producción de CO₂ masa específico a lo largo de su desarrollo.

4.3.3. Volumen de CO₂ emitido

En general el volumen de CO₂ emitido es proporcionalmente mayor en individuos adultos que en pequeños (alometría positiva), a excepción de la fase cerrada, en la cual se observa que existe una isometría, lo cual es esperable debido al mismo motivo que en el caso anterior, el intercambio gaseoso en esta fase se realiza básicamente por difusión entre el exoesqueleto del animal y el medio que lo rodea, por lo que el volumen de CO₂ emitido será proporcional a la relación superficie volumen total del cuerpo que presenta el individuo.

4.3.4. Temporalidad

La temporalidad total del ciclo IGD y de sus fases, no se explica en un gran porcentaje por la masa corporal ($r^2 < 0,35$), por lo que es posible que otras variables estén influyendo en su temporalidad, tal como pueden ser la presión atmosférica (Davis et al. 1999, Snelling et al. 2012), la temperatura (Davis et al. 1999, Snellig et al. 2012, Thienel 2012), el sexo (Thienel 2012) entre otros factores que no han sido documentados (estacionalidad, estados de reproducción, parasitismo).

En referencia a la duración total del ciclo IGD, vemos que existe una isometría entre las variables relacionadas, por lo que no existen diferencias proporcionales en la duración total del ciclo a lo largo de todo el desarrollo de los animales. Al relacionar la temporalidad de las fases con el total del ciclo IGD, se observa que la duración de la fase F se ve explicado casi en su totalidad por la duración total del ciclo IGD ($r=0,95$), lo que se debe a que casi la totalidad de la duración del ciclo IGD está dada por la fase F, así se estaría graficando una variable consigo misma, lo que daría respuesta a este alto porcentaje de correlación entre las variables (Figura 8).

Al observar las relaciones alométricas entre los componentes estructurales del ciclo IGD y la masa corporal, obtenemos que tanto para la frecuencia como para el periodo existe una baja correlación entre estas variables y la masa corporal ($r=0,26$), lo contrario ocurre con la amplitud, donde la masa corporal explica casi en la totalidad nuestro modelo ($r=0,94$). La frecuencia del ciclo IGD obtenida en nuestros resultados, es muy similar a la ya documentada en otros estudios ($-0,25$) (Terblanche et al. 2008, Snelling et al. 2012), lo que indica que *Agathemera crassa* no se desvía significativamente de la frecuencia del ciclo IGD más común en insectos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- BOSH, M., CHOWN, S.L. & SCHOLTZ, C. (2000) Discontinuous gas exchange and water loss in the keratin beetle *Omorgus radula*: further evidence against the water conservation hypothesis? *Physiological Entomology* 25: 309-314.
- BROCKWAY, A.P. AND SCHNEIDERMAN, H.A. (1967) Straingauge transducer studies on intratracheal pressure and pupal length during discontinuous respiration in diapausing silkworm pupae. *Journal of Insect Physiology* 13, 1413-1451.
- BUCK, J. AND KEISTER, M. (1955) Cyclic CO₂ release in diapausing *Agapema* pupae. *Biological Bulletin* 109, 144-163.
- BURKETT, B.N. AND SCHNEIDERMAN, H.A. (1974) Roles of oxygen and carbón dioxide in the control of spiracular function in cecropia pupae. *Biological Bulletin* 147, 274-293.
- CALDER, W. A. *Size, Function and Life History*. Cambridge, MA: Harvard University Press, 1984.
- CAMOUSSEIGHT, A. (1995) Revisión Taxonómica del Género *Agathemera* (Phasmatodea: Pseudophasmatidae) en Chile. *Revista Chilena de Entomología* 22: 35 - 53.
- CHAPPELL, M.A. & ROGOWITZ, G.L. (2000) Mass, temperature and metabolic effects on discontinuous gas exchange cycles in eucalyptus-boring beetles (Coleoptera: Creambycidae). *The Journal of Experimental Biology* 203: 3809 - 3820.
- CHEVERUD, J. M. Relationships among ontogenetic, static, and evolutionary allometry. *American Journal of Physiological Anthropology* 59, 139-149 (1970).

- CHOWN, S.L., GIBBS, A.G., HETZ, S.K., KLOK, C.J., LIGHTON, J.R.B. & MARAIS, E. (2006) Discontinuous gas exchange in insects: a clarification of hypothesis and approaches. *Physiological and Biochemical Zoology* 79: 333 – 343.
- CHOWN, S.L. & HOLTER, P. (2000) Discontinuous gas exchange cycles in *Aphodius fossor* (Scarabaeidae): a Prueba of hypotheses concerning origins and mechanisms. *The Journal of Experimental Biology* 203: 397–403.
- CHOWN, S.L. & NICOLSON, S. W. (2004) Insect Physiological Ecology. Mechanisms and Patterns. *Oxford University Press*. 243 pp.
- CLARKE, K.U. (1957) The relationship of oxygen consumption to age and weight during the post-embryonic growth of *Locusta migratoria* L. *Journal of Experimental Biology* 34, 29–41.
- COOPER, S. *Animal Life in the Sea and on the Land: A Zoology for Young People*. New York, NY: Harper & Brother, 1890.
- CROZIER, A.J.G. (1979) Diel oxygen uptake rhythms in diapausing pupae of *Pieris brassicae* and *Papilio machaon*. *Journal of Insect Physiology* 25, 647–652.
- DANKS, H.V. (2002) Modifications of adverse conditions by insects. *Oikos* 99: 10 – 24.
- DANKS, H.V. (2007) The elements of seasonal adaptations in insects. *Can. Entomol.* 139: 1-44
- DAVIS, A.L.V., CHOWN, S.L., MCGEOCH, M.A., AND SCHOLTZ, C.H. (2000) A comparative analysis of metabolic rate in six Scarabaeus species (Coleoptera: Scarabaeidae) from southern Africa: further caveats when inferring adaptation. *Journal of Insect Physiology* 46, 553–562.

- DAVIS, A.L., CHOWN, S.L. & SCHOLTZ, C.H. (1999) Discontinuous gas-exchange cycles in *Scarabaeus* dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae): mass-scaling and temperature dependence. *Physiological and Biochemical Zoology* 72(5): 555-565.
- DENLINGER, D.L., WILLIS, J.H., AND FRAENKEL, G. (1972) Rates and cycles of oxygen consumption during pupal diapause in *Sarcophaga* flesh flies. *Journal of Insect Physiology* 18, 871–882.
- DUNCAN, F. D. AND BYRNE, M. J. (2000). Discontinuous gas exchange in dung beetles: patterns and ecological implications. *Oecologia* 122,452 -458.
- GAYON, J. History of the concept of allometry. *American Zoologist* 40, 748-758 (2000).
- GIBBS, A.G. & JOHNSON, R.A. (2004) The role of discontinuous gas exchange in insects: the chthonic hypothesis does not hold water. *The Journal of Experimental Biology* 207: 3477-3482.
- GOULD, S. J. Allometry and Size in Ontogeny and Phylogeny (1966). *Biological Review of the Cambridge Philosophical Society* 41, 587.
- HARRISON, J.F. (1997) Ventilatory mechanism and control in grasshoppers. *American Zoologist* 37, 73–81.
- HARRISON, J.F., HADLEY, N.F., AND QUINLAN, M.C. (1995) Acid–base status and spiracular control during discontinuous ventilation in grasshoppers. *Journal of Experimental Biology* 198, 1755–1763.
- HERFORD, G.M. (1938) Tracheal pulsation in the flea. *Journal of Experimental Biology* 15, 327–338.
- HUXLEY, J.S. Constant differential growth-ratios and their significance. *Nature* 114, 895-896 (1924).

- HUXLEY, J. S., & TEISSIER, G. (1936). Terminology of relative growth. *Nature*, 137 (3471), 780-781.
- JARECKI, J., JOHNSON, E., AND KRASNOW, M.A. (1999) Oxygen regulation of airway branching in *Drosophila* is mediated by Branchless FGF. *Cell* 99, 211–220.
- KAARS, C. (1981) Insects—spiracle control. In *Locomotion and Energetics in Arthropods* (eds. C.F. Herreid and C.R. Fourtner), 337–366. Plenum Press, New York.
- KESTLER, P. (1985) Respiration and respiratory water loss. In *Environmental Physiology and Biochemistry of Insects* (ed. K.H. Hoffmann), 137–183. Springer, Berlin.
- LEVY, R.I. AND SCHNEIDERMAN, H.A. (1966a) Discontinuous respiration in insects—II. The direct measurement and significance of changes in tracheal gas composition during the respiratory cycle of silkworm pupae. *Journal of Insect Physiology* 12, 83–104.
- LEVY, R.I. AND SCHNEIDERMAN, H.A. (1966b) Discontinuous respiration in insects—III. The effect of temperatura and ambient oxygen tension on the gaseous composition of the tracheal system of silkworm pupae. *Journal of Insect Physiology* 12, 105–121.
- LIGHTON, J.R.B. (1988b) Simultaneous measurement of oxygen uptake and carbon dioxide emission during discontinuous ventilation in the tok-tok beetle, *Psammodes striatus*. *Journal of Insect Physiology* 34, 361–367.
- LIGHTON, J.R.B. (1990) Slow discontinuous ventilation in the Namib dune-sea ant *Camponotus detritus* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Experimental Biology* 151, 71–82.

- LIGHTON, J.R.B. (1991a) Ventilation in Namib desert tenebrionid beetles: mass scaling and evidence of a novel quantized flutter-phase. *Journal of Experimental Biology* 159, 249–268.
- LIGHTON, J.R.B. (1994) Discontinuous ventilation in terrestrial insects. *Physiological Zoology* 67: 142 – 162.
- LIGHTON, J.R.B. (1996) Discontinuous gas exchange in insects. *Annual Review of Entomology* 41: 309 – 324.
- LIGHTON, J.R.B. (1998) Notes from underground: towards ultimate hypotheses of cyclic, discontinuous gasexchange in tracheate arthropods. *American Zoologist* 38, 483–491.
- LIGHTON, J.R.B. AND FIELDEN, L.J. (1995) Mass scaling of standard metabolism in ticks: a valid case of low metabolic rates in sit-and-wait strategists. *Physiological Zoology* 68, 43–62.
- LIGHTON, J.R.B., FUKUSHI, T., AND WEHNER, R. (1993a) Ventilation in *Cataglyphis bicolor*: regulation of carbón dioxide release from the thoracic and abdominal spiracles. *Journal of Insect Physiology* 39, 687–699.
- LIGHTON, J.R.B. AND GARRIGAN, D. (1995) Ant breathing: Pruebaing regulation and mechanism hypotheses with hypoxia. *Journal of Experimental Biology* 198, 1613–1620.
- LIGHTON, J.R.B. AND JOOS, B. (2002) Discontinuous gas exchange in the pseudoscorpion *Garypus californicus* is regulated by hypoxia, not hypercapnia. *Physiological and Biochemical Zoology* 75, 345–349.

- LIGHTON, J.R.B. AND LOVEGROVE, B.G. (1990) A temperature-induced switch from diffusive to convective ventilation in the honeybee. *Journal of Experimental Biology* 154, 509–516.
- LIGHTON, J.R.B. & TURNER, R. (2004) Thermolimit respirometry: an objective assessment of critical thermal maxima in two desert harvester ants, *Pogonomyrmex rugosus* and *P. californicus*. *The Journal of Experimental Biology* 207: 1903 – 1913.
- LOCKE, M. (2001) The Wigglesworth Lecture: insects for studying fundamental problems in biology. *Journal of Insect Physiology* 47, 495–507.
- MARASIS, E. AND CHOWN, S.L. (2003) Repeatability of standard metabolic rate and gas exchange characteristics in a highly variable cockroach, *Perisphaeria* sp. *Journal of Experimental Biology* 206, 4565–4574.
- MARASIS, E., KLOK, C.J., TERBLANCHE, J.S. & CHOWN, S.L. (2005) Insect gas exchange patterns: a phylogenetic perspective. *The Journal of Experimental Biology* 208: 4507 – 4516.
- MILLER, D. Growth in *Uca*, 1. Ontogeny of asymmetry in *Uca pugilator* (Bosc)(Decapoda, Ocypodidae). *Crustaceana*, 119-131 (1973).
- MILLER, P.L. (1974) Respiration—aerial gas transport. In *Physiology of Insecta*, Volume VI (ed. M. Rockstein), 345–402. Academic Press, New York.
- MILLER, P.L. (1981) Ventilation in active and inactive insects. In *Locomotion and Energetics in Arthropods* (eds. C.F. Herreid and C.R. Fourtner), 367–390. Plenum Press, New York
- NESPOLO, R.F., ARTACHO, P. & CASTAÑEDA, L.E. (2007) Cyclic gas-exchange in the Chilean red cricket: inter-individual variation and thermal dependence. *The Journal of Experimental Biology* 210: 668 – 675.

- PUNT, A. (1950) The respiration of insects. *Physiologia Comparata et Oecologia* 2, 59–74.
- PUNT, A., PARSER, W.J., AND KUCHLEIN, J. (1957) Oxygen uptake in insects with cyclic CO₂ release. *Biological Bulletin* 112, 108–119.
- REYES, F (2013) Análisis del patrón de emergencia de la mosca Parasitroide Phasmophaga (Phasmovora) Phasmophagae (díptera: tachinidae) en su hospedero Agathemera Crassa (Phasmatodea: Agathemeridae): efecto del tamaño corporal, sexo y estacionalidad. Seminario de Título de Pre-grado. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- ROURKE, B.C. (2000) Geographic and altitudinal variation in water balance and metabolic rate in a California grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Journal of Experimental Biology* 203, 2699–2712.
- SHINGLETON, A. (2010) Allometry: The Study of Biological Scaling. *Nature Education Knowledge* 3(10):2
- SCHMIDT-NIELSEN, K. (1997) *Animal Physiology. Adaptations and Environment.* Cambridge University Press, 5ta. Edición. 612 pp.
- SCHNEIDERMAN, H.A. (1960) Discontinuous respiration in insects: role of the spiracles. *Biological Bulletin* 119, 494–528.
- SCHNEIDERMAN, H.A. AND SCHECHTER, A.N. (1966) Discontinuous respiration in insects—V. Pressure and volume changes in the tracheal system of silkworm pupae. *Journal of Insect Physiology* 12, 1143–1170.
- SCHNEIDERMAN, H.A. AND WILLIAMS, C.M. (1955) An experimental analysis of the discontinuous respiration of the cecropia silkworm. *Biological Bulletin* 109, 123–143.

- SNELLING, E. P., MATTHEWS, P. G., & SEYMOUR, R. S. (2012). Allometric scaling of discontinuous gas exchange patterns in the locust *Locusta migratoria* throughout ontogeny. *The Journal of experimental biology*, 215(19), 3388-3393.
- TAKAHASHI-DEL-BIANCO, M., BENEDITO-SILVA, A.A., HEBLING, M.J.A., MARQUES, N., AND MARQUES, M.D. (1992) Circadian oscillatory patterns of oxygen uptake in individual workers of the ant *Camponotus rufipes*. *Physiological Entomology* 17, 377–383.
- TERBLANCHE, J. S., WHITE, C. R., BLACKBURN, T. M., MARAIS, E. AND CHOWN, S. L. (2008). Scaling of gas exchange cycle frequency in insects. *Biol. Lett.* 4, 127-129.
- THIENEL, M. (2010) Carga parasitaria aparente de los machos de *Agathemera crassa* (Phasmatodea: Agathemeridae): ¿implicancias en la selección sexual? Seminario de Título de Pre-grado en Biología con mención en Medio Ambiente. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- THIENEL (2012) Análisis de los patrones de intercambio gaseosos y de pérdida de agua evaporativa a través de un gradiente térmico en el fásmidio altoandino *Agathemera crassa* (phasmatodea). Tesis de Magister. Facultad de Ciencias, Universidad de Chile
- VERA, A., PASTENES, L., VELOSO, C. & MÉNDEZ, M. (2012) Phylogenetic relationships in the genus *Agathemera* (Insecta: Phasmatodea) inferred from the genes *16S*, *COI* and *H3*. *Zoological Journal of the Linnean Society* 165: 63-72.
- VOGT, J.T. AND APPEL, A.G. (2000) Discontinuous gas exchange in the fire ant, *Solenopsis invicta* Buren: caste differences and temperature effects. *Journal of Insect Physiology* 46, 403–416.

- WASSERTHAL, L.T. (1996) Interaction of circulation and tracheal ventilation in holometabolous insects. *Advances in Insect Physiology* 26, 297–351
- WEST, G.B., BROWN, J.H., AND ENQUIST, B.J. (1997) A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* 276, 122–126.
- WESTNEAT, M.W., BETZ, O., BLOB, R.W., FEZZAA, K., COOPER, W.J., AND LEE, W.-K. (2003) Tracheal respiration in insects visualized with synchrotron x-ray imaging. *Science* 299, 558–560.
- WILKINS, M.B. (1960) A temperature-dependent endogenous rhythm in the rate of carbon dioxide output of *Periplaneta americana*. *Nature* 185, 481–482.