

UCH-FC
D. Ambiental
T 431
C. 1

UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS - ESCUELA DE PREGRADO



CARGA PARASITARIA APARENTE DE LOS MACHOS DE *Agathemera crassa* (PHASMATODEA: AGATHEMERIDAE): ¿IMPLICANCIAS EN LA SELECCIÓN SEXUAL?

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Bióloga Ambiental

MARIANA BEATRIZ THIENEL DE LA FUENTE



Director de Seminario de Título: Dr. Claudio Patricio Veloso Iriarte

Agosto de 2010

Santiago de Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TITULO

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

MARIANA BEATRIZ THIENEL DE LA FUENTE

CARGA PARASITARIA APARENTE DE LOS MACHOS DE *Agathemera crassa* (PHASMATODEA: AGATHEMERIDAE): ¿IMPLICANCIAS EN LA SELECCIÓN SEXUAL?

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. Claudio Veloso Iriarte
Director Seminario de Título

Firma manuscrita en tinta azul de Claudio Veloso Iriarte, sobre una línea horizontal.

Comisión de Evaluación

Dr. Hugo Torres Contreras
Presidente Comisión

Firma manuscrita en tinta azul de Hugo Torres Contreras, sobre una línea horizontal.
Firma manuscrita en tinta azul de Rodrigo Vásquez Salfate, sobre una línea horizontal.

Dr. Rodrigo Vásquez Salfate
Evaluador



Santiago de Chile, Agosto de 2010



Mariana Beatriz Thienel de la Fuente nació el 21 de Agosto de 1984, en Santiago de Chile. Sus inicios académicos tuvieron lugar en el Liceo Experimental Manuel de Salas, en donde su marcada pasión hacia la observación de la naturaleza la condujo por el maravilloso y continuamente sorprendente camino de la ciencia, específicamente hacia la biología. Consecutivamente, en 2004 Mariana ingresó a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile a estudiar la carrera de Biología Ambiental, en donde, dada su gran afición a la fauna nativa, se destacó como ayudante del curso Zoología de Campo. Por otra parte, realizó investigaciones vinculadas a la ecofisiología animal, utilizando como modelo de estudio al fásmid *Agathemera crassa*, siempre con la tutela del Dr. Claudio Veloso. Actualmente, Mariana continúa por la vía investigativa de la ciencia, con el afán de seguir descubriendo aspectos avanzados de su gran pasión: la vida.



*A mis padres, Beatriz y Marcelo,
y a mis hermanos, Sebastián y Pablo.*



AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer muy sinceramente, en primer lugar, a mi tutor el Dr. Claudio Veloso, quien ha sido un constante apoyo en mi formación profesional y un permanente incentivo hacia mi superación personal, durante no sólo el desarrollo de este Seminario, sino que también a lo largo de gran parte de la carrera.

Agradezco también al Dr. Hugo Torres y al Dr. Rodrigo Vásquez por sus valiosos aportes y sugerencias en el perfeccionamiento de este trabajo, y además, al alumno Claudio Reyes por colaborar en las salidas a terreno.

Gratifico del mismo modo, a mis nunca bien ponderados camaradas y a mis "comadres de la U", quienes de alguna u otra manera demostraron interés en mi trabajo y en su proceso de desarrollo, en especial a Gaspar Salazar por su ayuda en la realización del DVD adjunto.

Finalmente, y no por eso menos importante, agradezco enormemente el incondicional apoyo de toda mi familia, sin el cual el cumplimiento de mis metas no sería posible.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto Fondecyt 1080072.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

LISTA DE TABLAS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Marco conceptual.....	1
1.2. Hipótesis.....	10
1.3. Objetivos.....	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
2.1. Captura y mantención de los animales.....	12
2.2. Experimentos de conducta.....	13
2.3. Experimentos de cópula.....	15
2.4. Observaciones en terreno.....	16
2.5. Análisis estadístico.....	16
3. RESULTADOS.....	19
3.1. Experimentos de conducta.....	19
3.2. Experimentos de cópula.....	28
3.3. Observaciones en terreno.....	33
3.4. Carga parasitaria aparente según largo corporal.....	43
4. DISCUSIÓN.....	45
4.1. Selectividad de la hembra relativa a la carga parasitaria aparente del macho.....	46
4.2. Éxitos de apareamiento.....	48
4.3. Otros aspectos relativos al comportamiento reproductivo.....	52
4.4. Carga parasitaria aparente según largo corporal.....	61
5. CONCLUSIONES.....	63
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXO.....	72



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Registro de individuos utilizados en los experimentos de conducta de apareamiento de <i>Agathemera crassa</i> . Mb= masa corporal; Lc=largo corporal; CPA= carga parasitaria aparente. F= hembra; M ^(o) = macho con menor CPA; M ^(oo) = macho con mayor CPA.....	14
Tabla 2. Registro de variables en terreno de parejas en cópula. BR= bajo roca; BM= bajo madera; SS= sobre suelo; SR= sobre roca; SV= sobre vegetación (e.g. <i>A. splendens</i>). LC= largo corporal; CPA= carga parasitaria aparente. Los individuos marcados gris claro y oscuro, corresponden a parejas en cópula dentro de un sector. Sectores 1-5: Farellones 23-12-09; 6-9: Farellones 30-12-09; 10-14: Farellones 05-01-10; 11-19: Lagunillas 11-01-10.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS



- Figura 1.** Relación entre los meses de medición y la duración de las conductas individuales de desplazamiento y reposo de *A. crassa* ($\bar{X} \pm EE$). H= hembra; M^(o)= macho con menor nivel de CPA; M^(oo)= macho con mayor nivel CPA..... 21
- Figura 2.** Relación entre los meses de medición y la duración ($\bar{X} \pm EE$) de las respuestas pasivas y/o evasivas de la hembra hacia ambos machos. Barras oscuras= macho con menor nivel de CPA; barras blancas= macho con mayor nivel de CPA..... 23
- Figura 3.** Proceso de apareamiento de *Agathemera crassa*. El macho es aquel individuo marcado con un punto blanco. (A) Encuentro de la hembra con el macho. (B) El macho inicia el proceso de apareamiento subiéndose sobre el dorso de la hembra. (C) El macho se posiciona en el mismo sentido del cuerpo de la hembra. (D) Con sus patas, el macho se aferra sobre el tórax y el abdomen de la hembra y, con su genitalia curvada hacia su derecha, éste comienza a intentar conectarse a la vulva, produciéndose un primer "enganche". (E-F-G-H) Inmediatamente después de éste, el macho inicia una vuelta levógira en 360°. (I) Finalmente, el macho se aferra nuevamente al dorso de la hembra con sus patas delanteras y medias, mientras que con las traseras se apoya sobre la superficie..... 26
- Figura 4.** (a) Parejas en cópula de *A. crassa*. Los machos son aquellos individuos de menor tamaño. Nótese que la cópula siempre ocurre por el costado izquierdo de la hembra. (b) Acople de las genitalias..... 27
- Figura 5.** Duración ($\bar{X} \pm EE$) del proceso de fijación de la cópula en relación al nivel de CPA de los machos de *A. crassa*. M^(o)= macho con menor CPA; M^(oo)= macho con mayor CPA..... 27

Figura 6. Conductas durante el apareamiento de <i>A. crassa</i> . (a) Ambos machos combatiendo con sus patas; (b) desplazamiento del macho copulador hacia un costado; (c) el macho no copulador se encuentra sobre el macho copulador con su genitalia conectada en él; (d) el macho no copulador se encuentra entre la pareja en cópula con su genitalia conectada en el abdomen de la hembra.....	29
Figura 7. Necrofilia en <i>A. crassa</i> . Ambas hembras están muertas.....	30
Figura 8. Duración del período de pre-cópula ($\bar{X} \pm EE$) de <i>A. crassa</i> en función de (a) los meses de medición y (b) del nivel de CPA de los machos.....	31
Figura 9. Porcentaje de cópulas producidas y no producidas en <i>A. crassa</i> , respecto al total de experimentos realizados en Noviembre ($n=10$) y Diciembre ($n=12$).....	32
Figura 10. Porcentaje de cópulas producidas y no producidas según el nivel de CPA de los machos de <i>A. crassa</i> . $M^{(o)}$ = machos con menor nivel de CPA; $M^{(oo)}$ = machos con alto nivel de CPA.....	33
Figura 11. Porcentaje del éxito de apareamiento de <i>A. crassa</i> según el nivel de CPA de los machos en noviembre y diciembre. $M^{(o)}$ = machos con baja CPA; $M^{(oo)}$ = machos con alta CPA.....	34
Figura 12. CPA de machos de <i>A. crassa</i> copuladores y no copuladores (media $\pm EE$).....	35
Figura 13. Masa corporal de machos de <i>A. crassa</i> copuladores y no copuladores (media $\pm EE$).....	36
Figura 14. Relación entre la CPA de los machos de <i>A. crassa</i> y la duración de la cópula ($y = 0,3137x + 11,476$; $R^2 = 0,062$).....	37
Figura 15. Duración de la cópula de <i>A. crassa</i> según el nivel de CPA de los machos ($\bar{X} \pm EE$). $M^{(o)}$ = bajo nivel de CPA; $M^{(oo)}$ = alto nivel de CPA.....	38



- Figura 16.** Relación entre la masa corporal (a) y el largo del fémur (b) de los machos de *A. crassa*, y la duración de la cópula (Masa corporal: $y=10,249x - 17,045$; $R^2=0,3099$. Largo del fémur: $y=7,2538x - 51,882$; $R^2=0,3806$)..... 39
- Figura 17.** Relación entre el largo corporal y la CPA de machos y hembras de *A. crassa* durante el mes de Diciembre ($y = 2,6878x - 4,3888$; $R^2 = 0,110$)..... 44
- Figura 18.** CPA de individuos juveniles y adultos de *A. crassa* según su largo corporal en condiciones de terreno durante los meses de diciembre y enero. ($y = 1,9838x - 6,3433$; $R^2=0,120$)..... 44

LISTA DE ABREVIATURAS

CPA: Carga parasitaria aparente

M(°): Macho con menor CPA

M(°°): Macho con mayor CPA

EE: Error estándar

g: Gramos

mm: Milímetros

cm: Centímetros

°C: Grados celcius

Min: Minutos

Mb: Masa corporal

Lc: Largo corporal

RESUMEN

Tanto la selección intersexual como la intrasexual son presiones que actúan a nivel pre- y post-copulatorio, y ambas tienen como objeto promover la evolución de propiedades fenotípicas que incrementen el éxito reproductivo.

El objetivo de este trabajo fue determinar qué mecanismo de selección sexual posee el fásmidio altoandino *Agathemera crassa*, utilizando la carga parasitaria aparente (CPA) de los machos como carácter conspicuo, el cual se asociaría con un menor éxito de apareamiento de los machos. Además, se evaluó el efecto de la masa corporal de los machos sobre diferentes aspectos del comportamiento reproductivo de la especie.

Los resultados sugieren que serían los machos quienes seleccionan a su pareja mediante combates entre ellos; sin embargo, esta conducta no excluyó que se presentaran apareamientos oportunistas.

Se observó que la CPA de los machos no produce un desmedro de su estado fisiológico y, por ende, en su éxito de apareamiento. Esto se debería principalmente al control que ejercería el hospedero sobre el parasitoide al escoger ambientes sub-óptimos para su desarrollo. Sin embargo, no es posible descartar que existan efectos silentes sobre la calidad y la cantidad espermática.

Por otra parte, los resultados sugieren que los machos que logran copular poseen, en promedio, una mayor masa corporal en relación a aquellos que no lo hacen, siendo éste un carácter que podría ser favorecido por selección sexual mediante la competencia intra-machos.

ABSTRACT

Both intersexual and intrasexual selection are pressures operating at pre-and post-copulatory level, and both aim to promote the evolution of phenotypic properties that increase breeding success.

The aim of this study was to determine what type of sexual selection has the high Andean phasid *Agathemera crassa*, using the apparent parasite load (APL) of males as conspicuous feature, which is associated with a lower success of males. Furthermore, it was assessed the males body mass effect on different aspects of the species reproductive behavior.

The results suggest that it would be males who select their partner through fighting between them; however, this behavior didn't exclude the presence of opportunist matings.

It was observed that APL of males doesn't produce a detriment of their physiological state and thus, in their mating success. Mainly, this should be to the control that would exercise the host on the parasitoid, choosing sub-optimal environments for its development. However, it isn't possible to discard that silent effects may be acting on sperm quality and quantity.

Moreover, the results suggest that males who get to copulate have, on average, more body mass in relation to those who do not, being this a character that could be favored by sexual selection through the intra-males competition.

1 INTRODUCCIÓN

1.1. Marco conceptual

Según Darwin (1859), la selección sexual se distingue claramente de la selección natural en que la primera favorece rasgos que aumentan el éxito reproductivo de los individuos, y su resultado no es la muerte de los competidores que pierden, sino que es la baja probabilidad de dejar descendencia. Por su parte, la selección natural favorece aspectos que benefician la viabilidad de los individuos, dependiendo crucialmente de la lucha por la existencia. Estas aproximaciones han dado origen a una importante avenida de investigación en biología evolutiva, la que no ha estado exenta de controversia. Sin embargo, tanto la selección natural como la sexual actúan de forma similar y es posible considerar a la última como un tipo particular de la primera (Cordero 1999).

La teoría de selección sexual puede ser analizada bajo dos visiones contrastantes en cuanto al agente seleccionador. Por un lado, los machos, a través de una competencia por interferencia tanto pre- como post-copulatoria, acceden al recurso hembra, teniendo éstas un rol pasivo, lo que es considerado como selección intrasexual (Andersson 1994). En la competencia pre-copulatoria, intervienen las capacidades de los individuos para acceder a sus potenciales parejas, tales como su habilidad para localizarlas y la agresividad en la defensa de pareja y territorio, entre otras. Asimismo, la competencia post-copulatoria está dada por el acceso a los óvulos

por parte de los machos, y en donde tiene cabida la ocultación y protección de la pareja, y la habilidad tanto para encontrar y tomar posesión de parejas en cópula con otro individuo, como también para desplazar espermáticamente a otros competidores (Thornhill & Alcock 2001).

La segunda presión de selección que actúa sobre la elección de un compañero sexual se refiere a la ejercida por las hembras (a través de señales proporcionadas por los machos), las que serían capaces de elegir individuos con alguna característica que indique calidad, y serían los machos quienes tendrían un rol pasivo, a lo que se le denomina selección intersexual o epigámica (Andersson 1994, Thornhill & Alcock 2001). Esta selección favorece la discriminación de parejas por parte del sexo seleccionador, en donde las capacidades para rechazar miembros de otras especies crípticas y para seleccionar una pareja con características deseadas y con recursos o servicios útiles son de vital importancia (Thornhill & Alcock 2001). Además, la selección intersexual está asociada al desarrollo de atributos que hacen al sexo opuesto atractivo para el sexo discriminador, como caracteres morfológicos exacerbados en el sexo pasivo (Thornhill & Alcock 2001).

De acuerdo a Andersson (1994), cualquier característica que confiera ventaja a los machos en la competencia, por ejemplo, un mayor tamaño corporal, o bien, que sea preferida por las hembras, será positivamente seleccionada incluso si ésta tiene un efecto negativo sobre la sobrevivencia de los machos. Sin embargo, para que ocurra selección es necesario que los efectos negativos sobre la sobrevivencia sean menores que los efectos positivos sobre la reproducción. En este sentido, la selección natural y sexual podrían actuar de forma opuesta sobre los mismos caracteres, a lo que Darwin

sugirió que la selección natural pone límite al desarrollo de los caracteres conspicuos favorecidos por la selección sexual. Así, la selección sexual se debería a la existencia de varianza en el éxito copulativo de los individuos, mientras que la selección natural sería consecuencia de la varianza en otros componentes de la adecuación biológica (Wade & Arnold 1980). No obstante, los rasgos seleccionados tanto por selección natural como sexual, tienen efectos evolutivos a través de los éxitos reproductivos diferenciales de los individuos que los poseen. Ambas promueven la evolución de propiedades fenotípicas que tienden a incrementar el éxito reproductivo y la propagación genética de los individuos, por lo que actualmente no se hace una distinción entre ambas fuerzas selectivas (Thornhill & Alcock 2001).

La ventaja de la característica seleccionada supone beneficios tales como una mayor sobrevivencia y un mayor éxito de apareamiento (es decir, una mayor adecuación biológica), ya que las hembras tendrían preferencia por estos caracteres, en el caso de que sea la hembra la que seleccione. De esta manera, los rasgos particulares de los machos se vuelven blancos de selección por parte de las hembras, debido a que tales características indican una alta viabilidad heredable. En este sentido, un macho cuya condición fisiológica y nutrición le permiten exhibir un desarrollo completo de sus caracteres sexuales secundarios, especialmente aquellos relacionados con el comportamiento sexual, es probable que sea genéticamente adecuado (Andersson 1994). Asimismo, machos con altas capacidades fisiológicas y de desempeño de todo su organismo (e.g. conductual, locomotor), a menudo presentan una ventaja sobre machos con pobres capacidades durante las peleas de combate entre ellos (Lailvaux & Irschick 2006), lo que repercute trascendentalmente en su éxito reproductivo.

De acuerdo al Principio de Bateman (Bateman 1948, citado en Thornhill & Alcock 2001, Simmons 2001 y Cordero 1999), el éxito reproductivo de los machos dependerá del número de apareamientos que realicen, mientras que el de las hembras estará limitado por el número de hijos que produzcan. De esta manera, los machos poseen una mayor varianza en su éxito reproductivo en comparación a las hembras, las que son el sexo limitante. Esto se debe, en primer lugar, a que sólo algunos machos tendrán éxito y se aparearán, incluso con varias hembras, mientras que otros no lo harán. Por el contrario, la mayoría de las hembras se apareará con uno o dos machos disponibles (Cordero 1999, Thornhill & Alcock 2001). En segundo lugar, el éxito reproductivo de los machos está limitado por la habilidad de éstos para atraer a las hembras hacia la cópula, mientras que la eficiencia de éstas no depende de su capacidad para "persuadir" a los machos para copular con ellas. Por último lugar, el número de descendencia que produce un macho está positivamente relacionado con el número de apareamientos realizados, mientras que para las hembras, su descendencia es la misma si es que se aparee con uno o varios machos (Thornhill & Alcock 2001).

Tamaño corporal y selección sexual

El tamaño corporal es la diferencia más conspicua entre machos y hembras en muchos animales (Andersson 1994) y *per se*, puede ser importante en la selección de pareja por parte de la hembra, por lo que es un rasgo comúnmente favorecido por la selección pre-copulatoria. En artrópodos, la diferencia de tamaños corporales a favor de las hembras (es decir, hembras más grandes) constituye una regla (Andersson 1994). La producción de huevos se incrementa con el tamaño corporal, debido a que

hembras más grandes tendrán mayor capacidad interna para acumular reservas o producir los huevos. Por otro lado, el menor tamaño de los machos hace que se vuelvan adultos antes que las hembras (Bedford 1978), lo que les confiere ventajas tales como una maduración sexual temprana en relación a un macho de mayor tamaño (Andersson 1994).

En la gran mayoría de los insectos, es común que los machos de mayor tamaño tengan un mayor éxito en los combates macho-macho por las hembras que aquellos de menor envergadura (Hanks et al. 1996, Blanckenhorn et al. 1998, Thornhill & Alcock 2001, Cordero et al. 2002, Serrano-Meneses et al. 2007), sin embargo, este carácter no asegura un mayor éxito de apareamiento (Goldsmith et al. 1996, Danielsson 2001, Simmons et al. 2000, Peckarsky et al. 2002). Se ha observado que en fásmidos con un marcado dimorfismo sexual sobre el tamaño corporal, puede existir un beneficio para ambos sexos, debido a que durante el apareamiento, el macho debe sostenerse sobre el abdomen de la hembra, por lo que un menor tamaño del macho puede permitirle a la hembra una mayor movilidad y/o almacenar energía para destinarla a la reproducción (Bedford 1978, Sivinski 1978, Magginis et al. 2008).

Caracteres sexuales secundarios y selección sexual

Una de las principales avenidas de investigación de la teoría de selección sexual es explicar la presencia de caracteres sexuales secundarios conspicuos como el tamaño corporal (Andersson 1994), considerando que éste puede ser una importante señal de condición fisiológica o habilidad competitiva, y que además, puede ser percibida y seleccionada por el sexo opuesto. Por otro lado, existen muchos caracteres

sexuales secundarios presentes tanto en hembras como en machos, los que comúnmente están asociados a competencia intrasexual por oportunidades reproductivas y/o en la atracción de parejas (Clutton-Brock 2009).

El grado en el cual machos y hembras buscan y detectan parejas se corresponde con un elaborado sistema locomotor y/o complejos mecanismos sensoriales (Thornhill & Alcock 2001). En este contexto, la longitud de las extremidades en invertebrados, por ejemplo, puede jugar un rol central como elemento de competencia intrasexual. De esta forma, patas más largas o fuertes pueden ser asociadas a una mayor habilidad competitiva (Sivinski 1978).

En algunos fásquidos, los machos poseen estructuras femorales que son utilizadas como armas durante los combates entre ellos (Sivinski 1978, Thornhill & Alcock 2001, Gullan & Cranston 2005, Magginis et al. 2008). En dicho comportamiento, los machos grandes monopolizan a las hembras, combatiendo entre ellos con sus patas y, a la vez, tratando de sostenerse del abdomen de la hembra en competencia mediante estructuras terminales en forma de tenazas (*clusters*) (Sivinski 1978, Thornhill & Alcock 2001, Gullan & Cranston 2005).

Carga parasitaria y selección de pareja

Los parásitos son conocidos por alterar tanto la conducta, como la fisiología y morfología de los hospederos (Gross 1993, Müller & Schmid-Hempel 1993, Müller 1994, Roy et al. 1996, Thomas et al. 1998a, Adamo 2002, Thomas et al. 2005, Lefrève et al. 2008, Leung & Poulin 2008, Coats et al. 2009, Libersat et al. 2009). Estas

alteraciones pueden hacer más conspicuos para los depredadores a los animales parasitados en relación a los animales no parasitados. La alteración de la conducta incluye cambios en la elección de diferentes microhábitat, ítems dietarios, desplegar un estatus social diferente, cambios en la habilidad competitiva, en la atracción de parejas y en los niveles de actividad en relación a animales no parasitados (Kelly et al. 2001, Keymer & Read 1991 citado en Dunn 2005, Libersat et al. 2009). En contraste a los ectoparásitos, los endoparásitos poseen una mayor influencia en las alteraciones conductuales del hospedero, debido a que están en estrecha interacción con los sistemas inmunológico y endocrino (Beckage 1985). Ambos sistemas, intervienen en la defensa, regulación y control de los parásitos (Libersat et al. 2009). En este contexto, la carga parasitaria tradicionalmente ha sido considerada como un costo que afecta la función de los organismos en las poblaciones, comunidades o ecosistemas (Hamilton & Zuk 1982, Thomas et al. 1998b, Thomas et al. 1999, Poulin 2007, Lefèvre et al. 2009), alterando así la mantención, la sobrevivencia y/o la reproducción del individuo parasitado, es decir, su adecuación biológica. Animales con una mayor carga parasitaria necesariamente tendrán que pagar los costos, ya sea conductuales, fisiológicos o ecológicos, asociados a la mantención de los parásitos. En este sentido, los recursos destinados para reproducción del hospedero se desvían hacia el desarrollo del parásito, lo que puede reducir la fecundidad del insecto afectado (Simmons 2001, Hurts et al. 2005). Así, la carga parasitaria puede ser vista como un handicap al momento de buscar pareja, o ser seleccionado por el sexo opuesto. A largo plazo, todos estos cambios tendrán consecuencias sobre aquellos procesos evolutivos como la selección natural y/o sexual.

Comúnmente, el parasitismo reduce tanto la cantidad y calidad de los espermios (Simmons 2001) como también el éxito y vigorosidad del apareamiento (Dunn 2005). Por ejemplo, se ha observado que en coleópteros parasitados por platelmintos del tipo *Taenia sp*, existe una menor vigorosidad en la inseminación de las hembras por los machos en relación a machos no infectados. De esta forma, se encontró que existe una suerte de discriminación por parte de las hembras hacia los machos parasitados, indicando que esa reducción en el éxito reproductivo de los organismos es producto del parasitismo en lugar de una estrategia de evasión del hospedero (Pai & Yan 2003, citado en Dunn 2005).

Modelo de estudio

Agathemera crassa (Blanchard 1851) es un fásmido que habita principalmente ambientes cordilleranos sobre la línea de bosques en Chile central hasta los 3000 m s.n.m. (Camousseight 1995), entre el Río Aconcagua y las Termas del Flaco. Puede ser encontrado en refugios en forma solitaria, en parejas o en grupo, conformando grupos con proporción de sexos y tamaños corporales variables. Machos y hembras presentan un marcado dimorfismo sexual en cuanto a tamaño corporal (Camousseight 1995) y ambos son parasitados por el díptero *Phasmovora phasmophagae* (Tachinidae) (Cortés 1968), un parasitoide koinovionte, con niveles de incidencia que pueden llegar al 100% (C. Veloso, comunicación personal). Este taquírido, al ser clasificado como koinobionte, permite la normal alimentación y crecimiento de su hospedero mientras se desarrolla dentro de él (Stireman et al. 2006).

Los machos adultos presentan una masa corporal que no supera los 3 g y las hembras llegan a pesar hasta 13 g. Los tres pares de patas son proporcionalmente más largas en los machos adultos que en las hembras adultas y presentan alometría positiva, es decir, son más largas que lo esperado isométricamente para su tamaño corporal (C. Veloso, comunicación personal).

Los parasitoides abandonan el cuerpo del hospedero, sin matarlo, y es posible observar las cicatrices dejadas por las larvas. La carga parasitaria que soportan los hospederos puede ir desde cero hasta más de 30 parasitoides en distintos estadios de desarrollo (C. Veloso, comunicación personal). El número de perforaciones sería un indicador del número de parasitoides emergidos del hospedero entre dos mudas lo que en este trabajo se define como carga parasitaria aparente (CPA), la cual puede ser considerada una variable indicadora del estado fisiológico del hospedero.

La cópula entre los fásmidos ocurre entre primavera y verano. Como en la mayoría de las especies de Phasmatodea, la cópula se inicia cuando el macho se monta dorsalmente sobre la hembra, agarrándose de ella con sus tarsos. Luego, el abdomen del macho se curva y lo posiciona bajo y alrededor del de la hembra para conectar su genitalia con la de ella mediante dos sistemas de fijación (Gangrade 1963, Bedford 1978 y Sivinski 1978). Primero, utiliza un sistema de tenazas que adhieren su abdomen con el de la hembra y posteriormente introduce un gancho queratinizado que aumenta la fijación (Camousseight 1995). Un macho puede mantenerse por varios días adherido a la hembra, y es muy difícil intentar su separación en forma mecánica (C. Veloso, comunicación personal).

En base a estos antecedentes, surge la interrogante respecto a la intensidad de los mecanismos de selección sexual que podrían estar actuando sobre la evolución del comportamiento reproductivo de *A. crassa*, y de cómo dichos mecanismos pueden verse influenciados por el grado de parasitoidismo de los machos.

1.2. Hipótesis

En función de lo planteado anteriormente, se sometió a prueba la siguiente hipótesis:

“Si el número de perforaciones en el exoesqueleto (CPA) es un indicador del estado fisiológico en que se encuentra el macho, entonces, machos con una menor CPA deberían presentar un mayor éxito de apareamiento, ya sea por selección por parte de la hembra, o bien, por presentar un mayor desempeño fisiológico y conductual”.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Este seminario de título se centró en analizar si existe una conducta de selección de pareja en el insecto *Agathemera crassa* (Phasmatodea: Agathemeridae), y de existir, analizar si ésta es mediada por la hembra o por el macho, utilizando como elementos de diferenciación la carga parasitaria aparente (CPA) y la masa corporal del macho.

1.3.2. Objetivos específicos

- a. Determinar si existe selección activa de pareja por parte de las hembras de *A. crassa* asociada al nivel de parasitoidismo aparente del macho, o bien, si esta variable juega algún rol en aspectos de competencia intra-machos.
- b. Identificar la conducta sexual de *A. crassa* en función de la carga parasitaria aparente y de la masa corporal de los machos, observando el comportamiento de los individuos antes y durante el apareamiento, y registrando la duración tanto del período de pre-cópula como el de cópula.
- c. Evaluar el éxito de cópula de los machos según su masa corporal, determinando además si existe selección activa de pareja por parte de las hembras de *A. crassa* asociada a esta variable, o bien, si ésta juega algún rol en aspectos de competencia intra-machos.
- d. Determinar en terreno el tamaño y tipo de refugio de los grupos en donde se encuentren parejas en cópula de *A. crassa*, como también el tamaño corporal (largo corporal) y el número de perforaciones de los individuos que los componen.
- e. Determinar si existe una asociación entre la carga parasitaria aparente de machos y hembras de *A. crassa* y su tamaño corporal, considerando como variable morfométrica al largo de los individuos.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Captura y mantención de los animales

Se realizaron dos salidas de colecta de *A. crassa* en la localidad de Lagunillas (33°25' S 71°28' W, 2400 m s.n.m.), Región Metropolitana. La primera se llevó a cabo durante la segunda semana de noviembre de 2009, en donde fueron colectados 10 hembras adultas y 20 machos adultos. La segunda se efectuó un mes después, durante diciembre de 2009, en donde fueron colectados 12 hembras adultas y 24 machos adultos. En total, se capturaron 22 hembras adultas y 44 machos adultos.

Una vez trasladados al laboratorio, a todos los animales se les registró su masa y largo corporal (desde la parte frontal de la cabeza hasta el final del abdomen), y su carga parasitaria aparente (CPA: n° de perforaciones provocadas por la emergencia del parasitoide). Las medidas de masa corporal fueron obtenidas utilizando balanzas digitales con una precisión de $\pm 0,01$ g. Las medidas de longitud corporal fueron registradas utilizando un pie de metro digital con una precisión de $\pm 0,01$ mm. El número de perforaciones fue obtenido a través de un conteo a simple vista, el cual varió entre un mínimo de 0 y un máximo de 26 perforaciones en los machos, con un promedio \pm EE¹ de $7,4 \pm 1,0$ perforaciones, y entre 0 y 38 perforaciones en las hembras, con un promedio de $12,7 \pm 2,1$ perforaciones.

¹ Todos los promedios que se muestran en este trabajo presentan asociados un error estándar (EE).

Durante toda la permanencia en el laboratorio, los animales fueron mantenidos en cámaras termorreguladas con ciclos diarios de luz y temperatura (16 horas de luz a 20°C y 8 horas de oscuridad a 5°C) y con una dieta exclusiva y *ad libitum* de *Acaena splendens* (su alimento natural). Los animales se conservaron en cajas individualmente separadas hasta el momento de ser sometidos a experimentación, lo que se realizó durante su primera semana de permanencia en el laboratorio.

2.2. Experimentos de conducta

La arena experimental consistió en un contenedor circular de plástico de 40 cm de diámetro por 20 cm de alto. Ésta se mantuvo iluminada con una lámpara de luz roja de 40 Watts (condición de oscuridad) y sobre ella (la arena) se dispuso una cámara videograbadora digital Sony Handycam DSR-SX40. No se suministró alimento durante la grabación. La arena se instaló dentro de una habitación aclimatada a 20°C y aislada de ruidos ambientales.

En cada experimento, se enfrentó una hembra a dos machos con carga parasitaria diferencial ($\Delta > 5$ perforaciones) (ver Tabla 1). Para su identificación, ambos machos fueron marcados con esmalte para uñas de color blanco. El macho con menor CPA fue marcado con un punto blanco sobre su mesonoto y, el macho con mayor CPA, con dos puntos. Cada grabación tuvo una duración total de 75 minutos, cuyo primeros 15 fueron de aclimatación de los individuos, en donde se mantuvo a la hembra al centro del contenedor, entre ambos machos y dentro de una cubierta de plástico transparente y perforada, con el fin de permitir el contacto visual y olfativo, respectivamente.

Tabla 1. Registro de individuos utilizados en los experimentos de conducta de apareamiento de *Agathemera crassa*. Mb= masa corporal; Lc=largo corporal; CPA= carga parasitaria aparente. F= hembra; M(°)= macho con menor CPA; M(°°)= macho con mayor CPA.

Exp N°	Sexo	Mb (g)	Lc (cm)	CPA (N°)
1	F	6,91	6,87	0
	M(°)	2,93	5,28	0
	M(°°)	2,49	5,58	7
2	F	7,34	8	1
	M(°)	2,87	5,06	1
	M(°°)	2,43	4,91	11
3	F	8,01	7,98	11
	M(°)	2,8	6,29	0
	M(°°)	2,76	5,54	5
4	F	6,77	6,42	0
	M(°)	3,02	6,07	0
	M(°°)	2,48	5,62	10
5	F	6,56	6,96	4
	M(°)	3,15	6,28	0
	M(°°)	2,74	5,33	7
6	F	7,22	7,19	13
	M(°)	2,58	5,49	2
	M(°°)	2,51	5,46	12
7	F	6,31	6,65	1
	M(°)	3,23	5,71	2
	M(°°)	2,55	5,74	11
8	F	8,23	7,8	16
	M(°)	2,76	5,36	2
	M(°°)	2,7	5,99	11

Exp N°	Sexo	Mb (g)	Lc (cm)	CPA (N°)
9	F	5,5	6,7	6
	M(°)	2,4	5,4	1
	M(°°)	2,5	6	10
10	F	5,5	7,8	10
	M(°)	2,5	5,3	3
	M(°°)	2,5	6	8
11	F	9,4	8,1	3
	M(°)	2,9	5,4	1
	M(°°)	2,9	6,1	26
12	F	8,1	8	17
	M(°)	2,7	5,4	1
	M(°°)	2,7	5,5	18
13	F	5,6	6,4	38
	M(°)	2,9	5,3	3
	M(°°)	2,9	5,6	14
14	F	8,3	7,2	21
	M(°)	3	5,6	4
	M(°°)	2,9	5,2	17
15	F	5,5	6,5	23
	M(°)	2,9	5,2	5
	M(°°)	2,7	5,2	16
16	F	5,5	7,8	8
	M(°)	2,6	4,7	2
	M(°°)	2,5	5,3	13

Exp N°	Sexo	Mb (g)	Lc (cm)	CPA (N°)
17	F	5,93	8,1	20
	M(°)	3,35	6	4
	M(°°)	3,37	6,6	11
18	F	8,45	7,7	28
	M(°)	2,85	5,2	0
	M(°°)	2,9	5,2	15
19	F	9,24	7,1	18
	M(°)	3,12	5,4	2
	M(°°)	3,05	5,2	22
20	F	11,7	8	8
	M(°)	3,72	6	2
	M(°°)	4,04	6	16
21	F	10,9	8,6	17
	M(°)	3,54	5,2	3
	M(°°)	3,9	5,5	18
22	F	10,6	8	17
	M(°)	3,39	5,3	1
	M(°°)	3,63	5,4	9

Transcurrido el tiempo de aclimatación, se procedió a retirar la cubierta plástica, quedando los tres animales en libertad de contacto por 60 minutos. Todos los individuos fueron utilizados sólo una vez.

El análisis de las grabaciones se realizó utilizando el software BSplayer versión 2.51 (Webtech, 2009), mediante el cual se registró minuto a minuto la conducta dominante, o bien, cualquier interacción producida entre los machos y entre éstos y la hembra, incluyendo las respuestas generadas por cada animal a dichas interacciones, considerando su latencia, frecuencia y eventuales secuencias.

2.3. Experimentos de cópula

Una vez finalizada la grabación, el trío de animales fue trasladado a una caja plástica de dimensiones 28x17x7,5 cm con acceso permanente a su alimento, independientemente de la ocurrencia o no de la cópula con alguno de los machos durante el tiempo de grabación. Con el objeto de estudiar las relaciones entre los animales experimentales, las cajas fueron revisadas periódicamente, por un tiempo variable, el que fue definido por las condiciones fisiológicas en que se encontraban los individuos. El menor tiempo de observación fue de 3 días y el mayor de 36 días.

Fueron registrados los siguientes aspectos referentes a la cópula:

- identificación del macho copulador
- fecha de inicio y de término de la cópula (períodos de pre-cópula y cópula)
- cambios de pareja
- sobrevivencia

2.4. Observaciones en terreno

Se realizaron cuatro salidas a terreno en las localidades de Lagunillas (33°25' S 71°28' W, 2400 m s.n.m.) y Farellones (33°18' S 70°19' W, 2500 m s.n.m.) durante finales de diciembre de 2009 y principios de enero de 2010. Se registró un total de 20 parejas en cópula las que en algunos casos se encontraban acompañadas por más individuos de la especie. A cada individuo se le registró su largo corporal, su CPA y el sustrato en el cual se encontraba.

2.5. Análisis estadístico

2.5.1. Análisis de conductas

Se utilizó la prueba paramétrica de *t* de Student para determinar el efecto del tiempo sobre la conducta de reposo en hembras (definida posteriormente en los resultados), así como también para evaluar posibles diferencias entre machos y hembras dada una misma conducta.

Para determinar el efecto del tiempo sobre la conducta de reposo en machos, en donde se incluyó el factor correspondiente al nivel (mayor o menor) de CPA, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, así como también en la determinación del efecto de este último factor sobre las respuestas pasivas/evasivas de los machos hacia la hembra durante ambos meses de medición. Los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homocedasticidad.

2.5.2. Análisis de aspectos relativos a la cópula

Para determinar el efecto del nivel de CPA de los machos sobre la duración del proceso de fijación de la cópula y sobre la duración del período de pre-cópula durante los meses de medición, cuyas muestras fueron independientes y con un bajo n , se utilizó la prueba no-paramétrica U de Mann-Whitney.

Se utilizó la prueba paramétrica de t de Student para evaluar la diferencia en la duración de la cópula entre machos con menor y mayor nivel de CPA; y también, para evaluar las diferencias de CPA y de tamaño corporal (masa corporal) entre los machos copuladores y no copuladores, en condiciones de laboratorio. En condiciones de terreno, la asociación entre el tamaño corporal y el éxito de apareamiento de los machos se evaluó a través de la prueba U de Mann-Whitney, utilizando la variable morfométrica correspondiente al largo corporal de los individuos.

Para estudiar el efecto del tiempo y del nivel de CPA de los machos sobre el éxito de cópula, se utilizó la prueba no-paramétrica de Chi-cuadrado (X^2).

Para evaluar los efectos de las variables respuesta correspondientes a la CPA y la masa corporal de los machos sobre la duración de la cópula, se efectuaron análisis de regresión lineal simple.

2.5.3. Análisis de CPA según largo corporal

A través de un análisis de regresión lineal simple, se evaluó la asociación entre la CPA (de machos y hembras medidos tanto en laboratorio como en terreno) y el tamaño corporal de los individuos, utilizando como variable morfométrica su largo corporal. Los análisis realizados con los animales traídos al laboratorio en estadio adulto, consideraron a machos y a hembras como un solo grupo. Además, los análisis se realizaron considerando noviembre y diciembre por separado, puesto que en el primer mes, el parasitoide aún no ha emergido en su totalidad en relación al segundo, lo que puede provocar posibles subestimaciones en la carga parasitaria (C. Veloso, comunicación personal). Por otra parte, el análisis realizado con los animales en terreno durante fines de diciembre y comienzos de enero, consideró un grupo etario mayor que el anterior, ya que se incluyó a individuos en estadios juveniles.

Se utilizó la prueba de t de Student para evaluar la diferencia de CPA de machos y hembras en estadio adulto entre noviembre y diciembre.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el apoyo bibliográfico de Blair & Taylor (2008), a través del software Statistica 7.0 (StatSoft, Inc. 2004) y se consideró un nivel de significancia del 5%.

3 RESULTADOS

3.1. Experimentos de conducta

3.1.1. Conductas

Las conductas que se observaron durante las grabaciones pueden ser clasificadas en 7 categorías, en donde se incluyen tanto comportamientos individuales como también aquellas conductas de respuesta ante interacciones entre machos y entre cada macho y la hembra: (1) desplazamientos, entendidos como el movimiento locomotor del individuo principalmente alrededor de la arena circular; (2) reposo, en la que el individuo permanece inactivo; (3) acercamientos, los que corresponden al desplazamiento fortuito o voluntario hacia alguno de los individuos; (4) monturas, definida como el escalamiento al dorso de uno de los individuo por otro; (5) respuestas pasivas o de evasión, entendidas como aquella respuesta de indiferencia, inmovilidad o alejamiento de uno de los individuos que ocurre cuando se acerca o sube otro individuo; (6) respuestas agresivas, en las cuales un individuo responde con espasmos, chillidos, patadas y/o retorcimientos del abdomen ante el acercamiento o montura de otro individuo; y (7) apareamientos, entendidos como el proceso por el cual el macho sube sobre la hembra conectando su genitalia con la de ella.

3.1.2. Desplazamiento y reposo

Los desplazamientos realizados tanto por la hembra como por ambos machos fueron, en su mayoría, una trayectoria circular alrededor de la arena y, al mismo tiempo, intentando trepar por las paredes de ésta. En general, el tiempo destinado a esta conducta fue similar para todos los individuos durante ambos períodos de tiempo (Figura 1).

La conducta de reposo, fue una de las más recurrentes para todos los individuos durante noviembre y diciembre, representando en promedio un 75,2% y un 34,9% del total del tiempo de grabación (60 min), respectivamente. En este caso, hubo un efecto significativo del factor tiempo sobre la duración del reposo tanto en la hembra ($t=3,56$; $df=20$; $n=22$; $p<0,01$) como en ambos machos con niveles de CPA diferenciales ($F_{(1,44)}=15,04$; $p<<0,05$). De esta forma, todos los individuos permanecieron un mayor tiempo en reposo en noviembre que durante el mes siguiente (Figura 1).

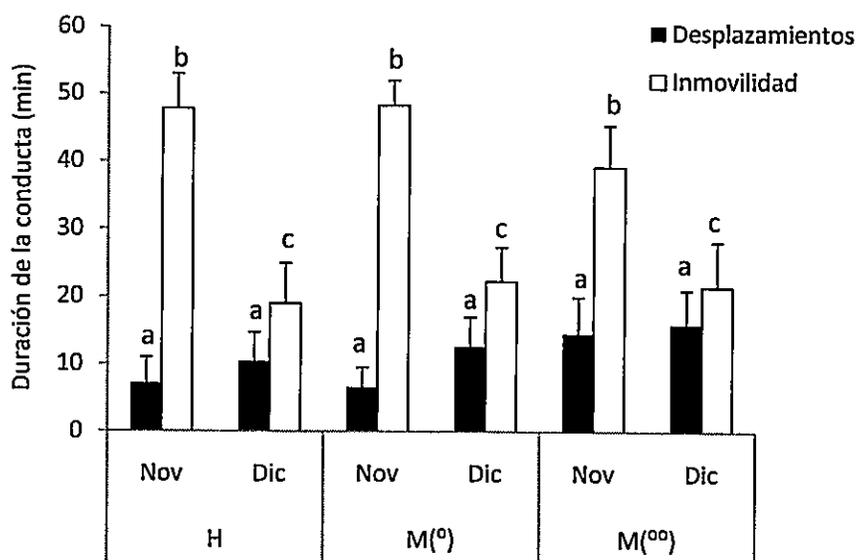


Figura 1. Relación entre los meses de medición y la duración de las conductas individuales de desplazamiento y reposo de *A. crassa* ($\bar{X} \pm EE$). H= hembra; M(°)= macho con menor nivel de CPA; M(°°)= macho con mayor nivel CPA.

3.1.3. Acercamientos y monturas

Como se mencionó en el punto anterior, los desplazamientos fueron realizados en su mayoría alrededor de la arena circular, por lo cual frecuentemente ocurrían encuentros fortuitos entre aquellos animales que venían de lados opuestos, pasando uno encima del otro. En ocasiones, se observó encuentros voluntarios con acercamientos directos hacia otro individuo, en donde eventualmente también se subía uno encima de otro.

En general, fueron los machos quienes asignaron un mayor tiempo en acercarse hacia la hembra y/o hacia el macho oponente ($t=2,38$, $df=130$; $p<0,05$),

durante ambos períodos de tiempo. La hembra, por su parte, no buscó el encuentro directo con los machos, sino que éstos se producían fortuitamente durante el desplazamiento de ella. Las monturas de un animal sobre otro fueron realizadas principalmente por los machos ($t=2,40$, $df=130$; $p<0,05$), quienes se subían sobre el dorso de la hembra o del macho oponente, aferrándose enérgicamente con sus patas por varios segundos en algunas ocasiones.

3.1.4. Respuestas pasivas y/o evasivas

Como se indicó en un comienzo, las respuestas pasivas y/o evasivas correspondieron a aquellas respuestas hacia cualquier interacción (acercamiento y/o subida) que no poseían un comportamiento brusco o violento, como lo fueron la indiferencia, entendida como hacer caso omiso al estímulo de otro individuo que se acerca o sube; el alejamiento, considerado como un rechazo pasivo hacia otro individuo; o bien, el reposo, entendido como la inactividad locomotora frente al estímulo.

En general, los machos exhibieron tiempos similares de respuestas pasivas y/o evasivas tanto hacia la hembra como hacia el macho oponente ($t=-0,45$, $df=86$; $p=0,65$), durante ambos períodos de tiempo. Sin embargo, en diciembre la hembra respondió de forma pasiva hacia ambos machos durante una cantidad de tiempo mayor ($F_{(1,22)}=4,28$; $p<0,05$) (Figura 2).

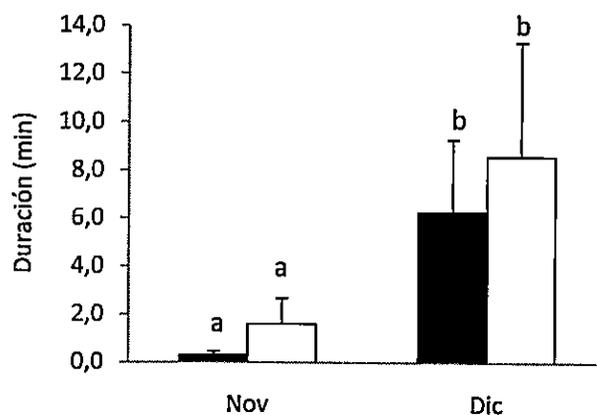


Figura 2. Relación entre los meses de medición y la duración ($\bar{X} \pm EE$) de las respuestas pasivas y/o evasivas de la hembra hacia ambos machos. Barras oscuras= macho con menor nivel de CPA; barras blancas= macho con mayor nivel de CPA.

3.1.5. Respuestas agresivas

Al contrario de las respuestas pasivas, las respuestas agresivas eran todas aquellas que poseían un comportamiento de rechazo agresivo o dominancia frente a otro individuo, desplegando movimientos bruscos y/o violentos, tales como espasmos o contorsiones, en los cuales el individuo rápida y repetitivamente levantaba y encorbaba su abdomen y cabeza hacia arriba. A veces, este comportamiento era acompañado de la emisión de chillidos cortos y repetidos, como señal (aparentemente) de incomodidad frente al estímulo por parte del individuo agredido.

Otra conducta agresiva observada fue la utilización de las patas en las peleas entre machos, quienes las movían enérgicamente con el fin de desplazar o alejar al macho contrincante, o bien, las utilizaban para abrazarlo y contenerlo en señal de

dominancia. No se observaron peleas entre alguno de los machos y la hembra, sin embargo, ésta eventualmente lanzaba patadas hacia ambos como señal de rechazo.

3.1.6. Apareamientos

A través de las grabaciones realizadas durante el segundo mes de medición (diciembre), fue posible observar la conducta de cinco parejas (experimentos 12, 14, 16 y 19, véase Tabla 1) al momento de aparearse. Especialmente, en el experimento 16 se efectuaron dos cópulas dentro de la hora de grabación, donde la primera de ellas fue mediada por el macho de menor nivel de CPA. Sin embargo, ésta no fue exitosa, pues una vez finalizado el respectivo proceso de fijación de la cópula que a continuación se detalla, el macho se desprendió de la genitalia de la hembra. Luego de aproximadamente 15 minutos, el macho con mayor nivel de CPA efectuó la segunda cópula, la que finalmente resultó exitosa.

Los machos que presentaron una cópula exitosa durante las grabaciones, independientemente de su CPA, se mostraban muy interactivos tanto con la hembra como con el otro macho. En ocasiones se observó cómo el macho, que finalmente copulaba, se subía y abrazaba fuertemente con sus patas al macho opuesto. No necesariamente se produjeron combates entre los machos en todos los apareamientos efectuados, incluso a veces ni siquiera existió contacto previo entre ellos.

3.1.6.1. Proceso de fijación de la cópula

La cópula fue iniciada por la subida del macho sobre el dorso de la hembra, en el mismo sentido del cuerpo de ella (véase Figura 3 y DVD adjunto). Aferrándose con sus patas a su tórax, el macho posicionó su abdomen con la genitalia abierta en forma de tenaza y curvada hacia su derecha siempre por el costado izquierdo de la hembra y por debajo de su abdomen (véase Figura 4a). Consecutivamente, el macho intentó conectarse con la genitalia de la hembra usando su órgano copulador, abriendo la placa subgenital ubicada por debajo de los dos últimos segmentos abdominales de ella, produciéndose así un primer “enganche”. Inmediatamente después, el macho efectuó una rotación levógira (en sentido contrario a las manijas del reloj) en 360°, en donde las genitalias de ambos individuos quedaron acopladas (véase Figura 4b) y así, el macho se montó nuevamente sobre el dorso de la hembra. Finalmente, con sus tarsos de las patas delanteras y medias, el macho se aferró al tórax y abdomen de la hembra, mientras que con las traseras se apoyó sobre la superficie.

El proceso de fijación de la cópula protagonizado por los machos, tuvo una duración promedio de $2,6 \pm 0,4$ min. No hubo diferencias significativas entre las duraciones de ambos machos con nivel diferenciado de CPA ($Z=0,001$; $n_{M(*)}=3$, $n_{M(**)}=2$; $p=1,0$) (Figura 5).

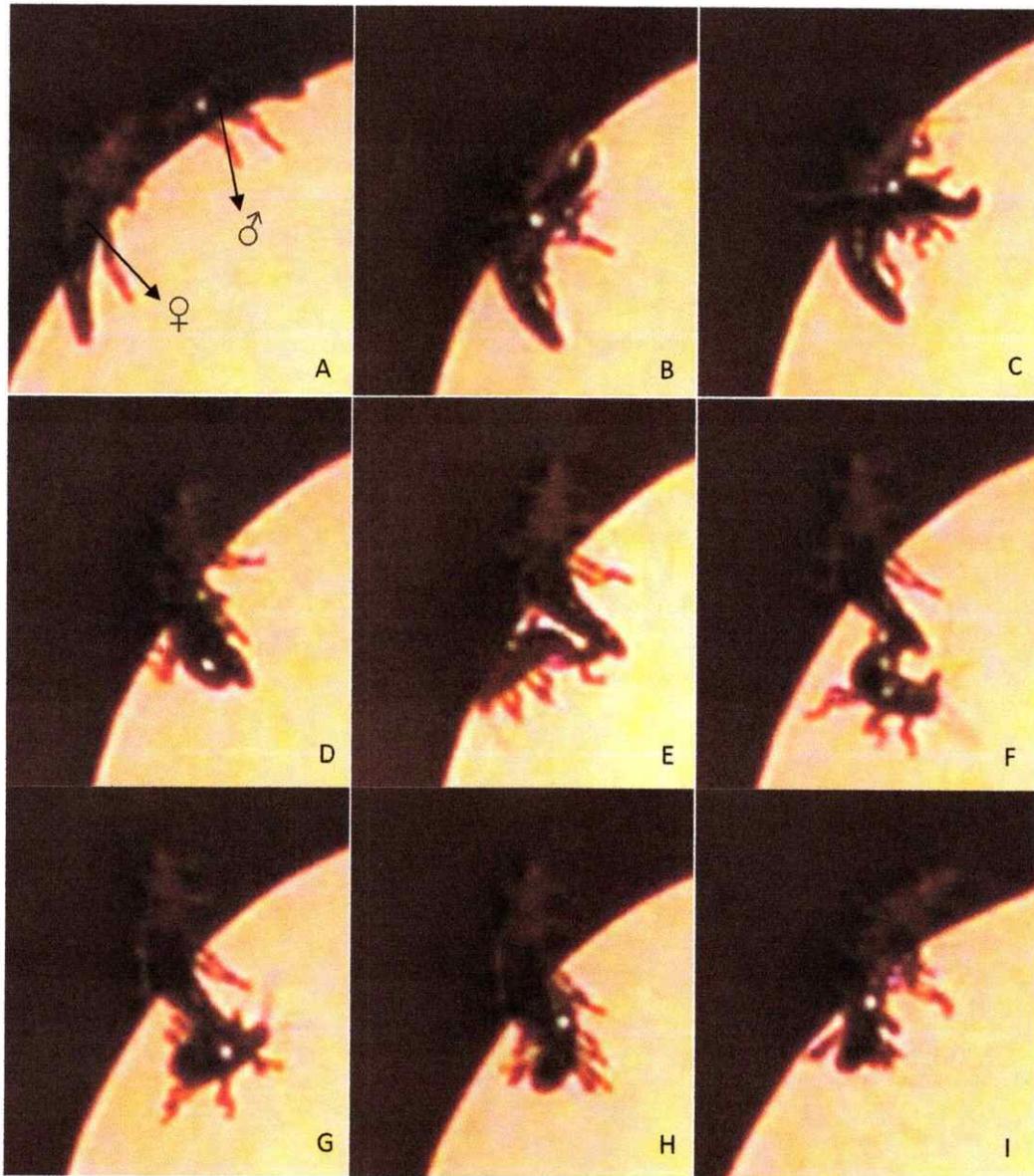


Figura 3. Proceso de apareamiento de *Agathemera crassa*. El macho es aquel individuo marcado con un punto blanco. (A) Encuentro de la hembra con el macho. (B) El macho inicia el proceso de apareamiento subiéndose sobre el dorso de la hembra. (C) El macho se posiciona en el mismo sentido del cuerpo de la hembra. (D) Con sus patas, el macho se aferra sobre el tórax y el abdomen de la hembra y, con su genitalia curvada hacia su derecha, éste comienza a intentar conectarse a la vulva, produciéndose un primer “enganche”. (E-F-G-H) Inmediatamente después de éste, el macho inicia una vuelta levógira en 360°. (I) Finalmente, el macho se aferra nuevamente al dorso de la hembra con sus patas delanteras y medias, mientras que con las traseras se apoya sobre la superficie.



Figura 4. (a) Parejas en cópula de *A. crassa*. Los machos son aquellos individuos de menor tamaño. Nótese que la cópula siempre ocurre por el costado izquierdo de la hembra. (b) Acople de las genitalias.

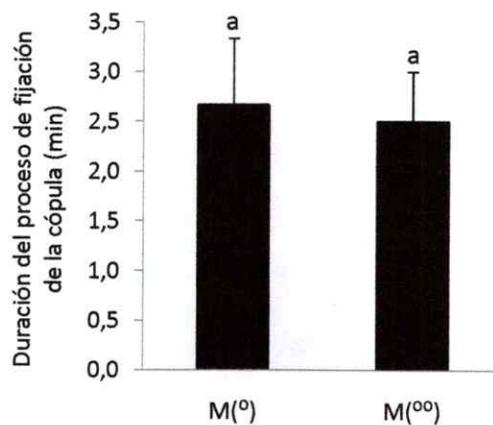


Figura 5. Duración ($\bar{X} \pm EE$) del proceso de fijación de la cópula en relación al nivel de CPA de los machos de *A. crassa*. M(°)= macho con menor CPA; M(°°)= macho con mayor CPA.

3.2. Experimentos de cópula

3.2.1. Conducta durante la cópula

En general, la hembra tendió a permanecer en reposo durante toda la cópula. Los desplazamientos que ésta realizó fueron principalmente para acceder al alimento. No se observaron conductas agresivas entre la hembra y el macho en cópula ni tampoco entre la hembra y el macho no copulador.

Por su parte, el macho copulador permaneció sobre la hembra durante la mayor parte del tiempo y sólo se alimentaba si es que la hembra estaba cercana al alimento. En general, se observó un comportamiento agresivo del macho copulador frente a los acercamientos del segundo macho. Ambos machos combatían enérgicamente, utilizando sus patas como principal arma (véase Figura 6a), sin embargo, ningún enfrentamiento tuvo como resultado el desplazamiento total del macho copulador; sólo se observó que el segundo macho pudo desplazar parcialmente hacia un costado al macho en cópula (véase Figura 6b). También, el segundo macho pudo posicionarse ya sea sobre el macho copulador (véase Figura 6c) o bien, sobre la hembra (entre ambos individuos copulando) (véase Figura 6d), conformando un consolidado de tres individuos, pudiendo permanecer así durante horas o incluso varios días. En ocasiones fue posible observar al macho no copulador conectado, a través de su genitalia, a alguna zona del abdomen de la hembra. No obstante, esta conducta no afectó en ningún momento la cópula entre el macho copulador y la hembra.



Figura 6. Conductas durante el apareamiento de *A. crassa*. (a) Ambos machos combatiendo con sus patas; (b) desplazamiento del macho copulador hacia un costado; (c) el macho no copulador se encuentra sobre el macho copulador con su genitalia conectada en él; (d) el macho no copulador se encuentra entre la pareja en cópula con su genitalia conectada en el abdomen de la hembra.

Otro aspecto identificado asociado a la cópula fue la ocurrencia de necrofilia en 5 de las 22 mediciones realizadas (véase Figura 7), en donde el macho permaneció en cópula con la hembra una vez muerta, por períodos entre 2 y 20 días con un promedio de $8,6 \pm 3,1$ días. No fue posible determinar la razón de la muerte de ninguno de los individuos, fueran éstos hembras o machos.

Respecto a la ocurrencia de cambio de pareja, sólo fue observado en uno de los 22 tríos de experimentación (experimento 5, ver Tabla 1). La primera cópula se produjo con el macho de mayor CPA, con una duración de 4 días. Luego, al cabo de un

día finalizada la primera, el macho con menor CPA efectuó la segunda cópula, la que duró 5 días.



Figura 7. Necrofilia en *A. crassa*. Ambas hembras están muertas.

3.2.2. Cópulas

El apareamiento de los individuos se produjo, en su mayoría [71,4% ($n=10$)], dentro de las cajas plásticas una vez finalizada la grabación, no obstante un 28,6% ($n=4$) lo realizó durante el registro.

3.2.2.1. Períodos de pre-cópula

En cada una de las cópulas exitosamente realizadas (a excepción de la segunda cópula del experimento n°5, la que no fue considerada en este análisis), fue posible cuantificar el tiempo (en días) que demoraba el macho en monopolizar a la

hembra e iniciar el respectivo proceso de fijación de la cópula. En noviembre, este período osciló entre 2 y 10 días, con una media de $5,0 \pm 1,8$ días y, entre 0 (la cópula era producida durante la grabación o inmediatamente después de ésta) y 2 días, con una media de $0,56 \pm 0,24$, en diciembre (Figura 8a). Tal diferencia fue significativa ($Z=2,625$; $n_{nov}=4$, $n_{dic}=9$; $p<0,01$).

Por otro lado, al comparar los períodos de pre-cópula en función del nivel de CPA de los diferentes machos (Figura 8b), se obtuvo que no existen diferencias significativas entre éstos ($Z=0,112$; $n_{M(*)}=5$, $n_{M(**)}=13$; $p=0,9$), presentando tiempos similares de pre-cópula con un promedio de $1,9 \pm 0,8$ días.

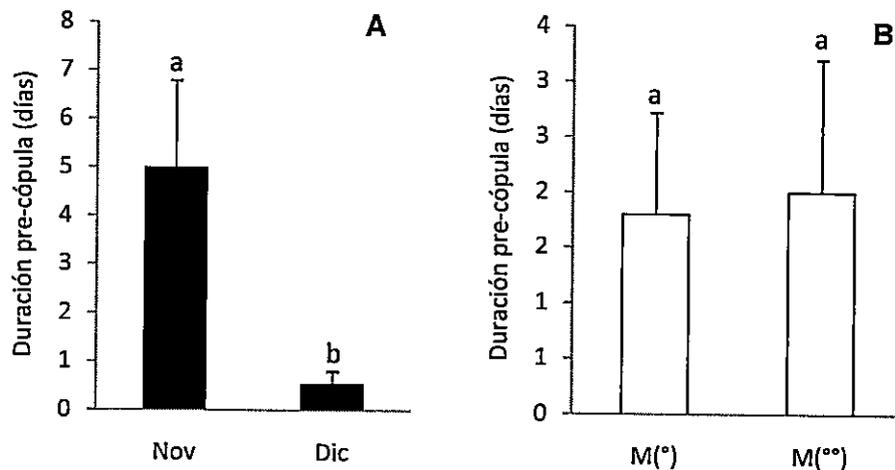


Figura 8. Duración del período de pre-cópula ($\bar{X} \pm EE$) de *A. crassa* en función (a) del período de tiempo y (b) del nivel de CPA de los machos.

3.2.2.2. Éxitos de cópula

3.2.2.2.1. Éxito total de cópula

En aquellos experimentos realizados en noviembre ($n=10$) y diciembre ($n=12$), se produjo un éxito de cópula de 50% ($n=5$) y 75% ($n=9$), respectivamente (Figura 9). No se produjeron diferencias significativas en el éxito de cópula entre ambos periodos de tiempo ($\chi^2= 1,47$; $gl=1$; $n= 22$; $p=0,22$).

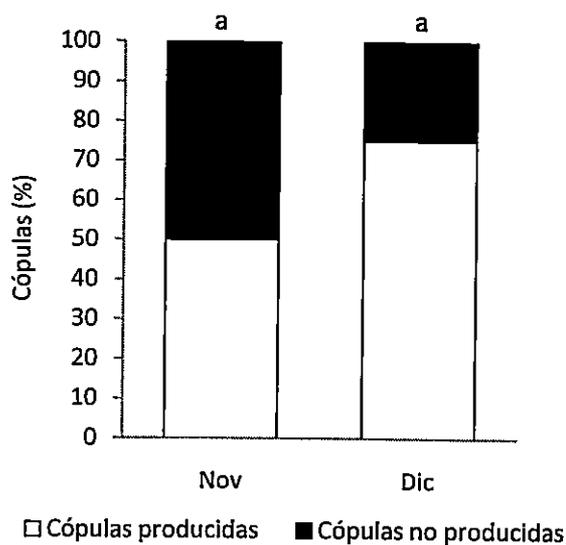


Figura 9. Porcentaje de cópulas producidas y no producidas en *A. crassa*, respecto al total de experimentos realizados en noviembre ($n=10$) y diciembre ($n=12$).

3.2.2.2.2. Éxito de cópula según nivel de carga parasitaria aparente (CPA)

Sobre un total de 14 experimentos con cópula exitosa, esto es, sin considerar el factor tiempo, se produjo un 42,9% ($n=6$) de éxito de cópula para aquellos machos con menor nivel de CPA y un 57,1% ($n=8$) para aquellos machos con mayor nivel de CPA (Figura 10). Esta diferencia no fue significativa ($\chi^2= 0,42$; $gl=1$; $n=44$; $p=0,52$), no encontrándose efecto alguno del nivel de CPA de los machos sobre el éxito de cópula.

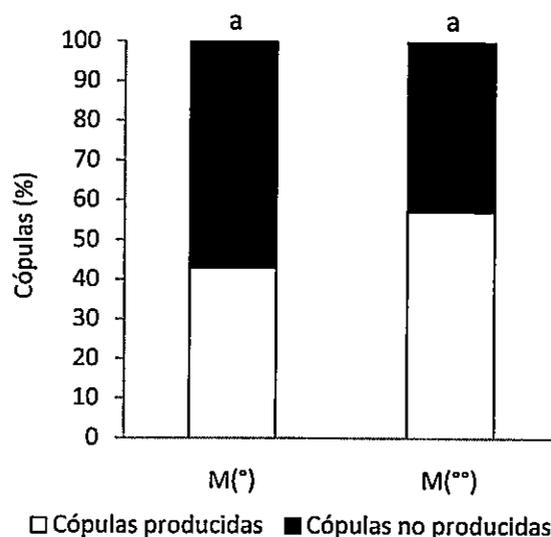


Figura 10. Porcentaje de cópulas producidas y no producidas según el nivel de CPA de los machos de *A. crassa*. M(°)= machos con menor nivel de CPA; M(°°)= machos con alto nivel de CPA.

Ahora bien, considerando el factor tiempo, en noviembre se produjo un 60% ($n=3$) de éxito de cópula para aquellos machos con una menor CPA y un 40% ($n=2$) para aquellos machos con una mayor CPA. Inversamente, en diciembre se produjo un 33,3% ($n=3$) de éxito de cópula para aquellos machos con una menor CPA y un 66,7%

($n=6$) para aquellos con una mayor CPA (Figura 11). No se encontraron efectos significativos de la CPA en el éxito de cópula de los machos durante ambos períodos de tiempo ($\chi^2= 0,93$; $gl=1$; $n=14$; $p=0,33$).

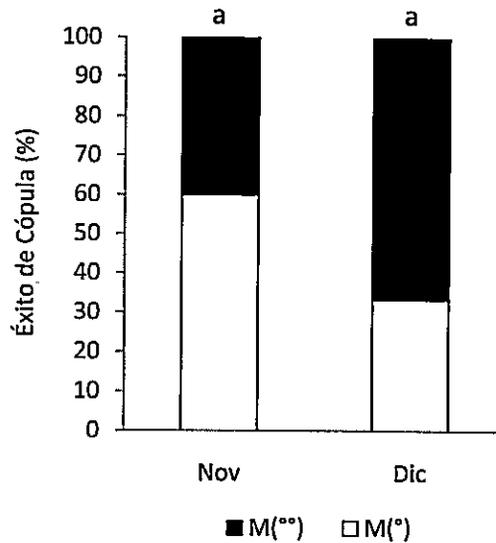


Figura 11. Porcentaje del éxito de apareamiento de *A. crassa* según el nivel de CPA de los machos en noviembre y diciembre. M(°)= machos con baja CPA; M(°°)= machos con alta CPA.

Por otro lado, la CPA de los machos que copularon varió entre 1 y 22 perforaciones, con un promedio de $9,33 \pm 2,1$. Asimismo, la CPA de los machos que no copularon varió entre 0 y 18 perforaciones, con un promedio de $6,92 \pm 2,0$ (Figura 12). No se encontraron diferencias significativas entre la CPA de los machos copuladores y no copuladores ($t=0,649$; $df=11$; $p=0,5$).

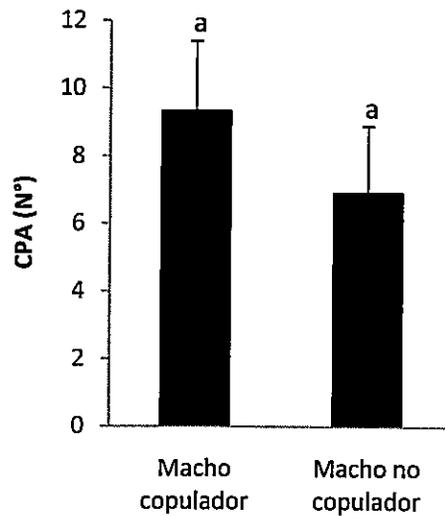


Figura 12. CPA de machos de *A. crassa* copuladores y no copuladores (media \pm EE).

3.2.2.2.3. Éxito de cópula según masa corporal

Se analizó el éxito de cópula según la masa corporal de los machos que fueron enfrentados en cada experimento (Figura 13). La masa corporal de los machos que tuvieron una cópula exitosa varió entre 2,49 y 4,04 g con un promedio de $3,06 \pm 0,15$ g; por su parte, la masa corporal de los machos que no copularon osciló entre 2,43 y 3,72 g con un promedio de $2,94 \pm 0,12$ g. Es decir, los machos que copularon poseen en promedio una mayor masa corporal en relación a aquellos machos que no lo hicieron ($t=2,347$; $df=11$; $p<0,05$).

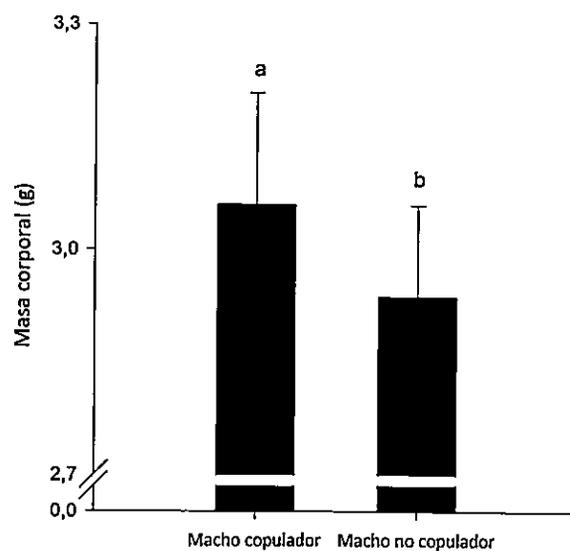


Figura 13. Masa corporal de machos de *A. crassa* copuladores y no copuladores (media \pm EE).

3.2.2.3. Duración de la cópula

La duración de la cópula varió entre períodos desde 4 hasta 34 días de cópula continua, con un promedio de $14,14 \pm 2,39$ días. Cabe mencionar que la duración de la cópula que fue considerada en los análisis, corresponde a aquella que se produjo con ambos individuos vivos, es decir, no se incluyeron los días de cópula necrófila.

3.2.2.3.1. Duración de la cópula asociada a la CPA de los machos

La duración de las cópulas obtenida de cada apareamiento exitoso ($n=14$) fue analizada primero, a través de su asociación con el gradiente de CPA medido en número de perforaciones de los machos (Figura 14) y segundo, según su nivel de CPA [bajo= $M(^{\circ})$; alto= $M(^{\circ\circ})$] (Figura 15).

Los resultados de regresión lineal simple indicaron que no existe una asociación significativa entre la CPA de los machos y la duración de la cópula ($F_{1,12} = 0,793$; $n=14$; $p=0,39$), por lo que la duración de la cópula no estaría siendo afectada por la CPA de los machos.

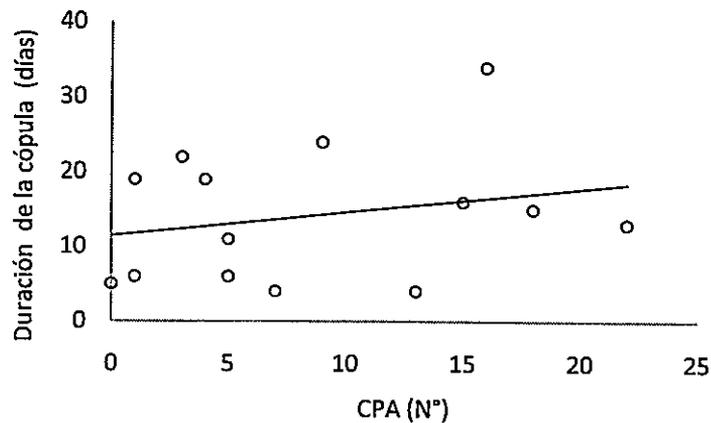


Figura 14. Relación entre la CPA de los machos de *A. crassa* y la duración de la cópula ($y = 0,3137x + 11,476$; $R^2 = 0,062$).

La duración de la cópula correspondiente a los machos con menor nivel de CPA varió entre 5 y 22 días con un promedio de $13,7 \pm 2,98$ días, y la de los machos con mayor nivel de CPA varió entre 4 y 34 días con un promedio de $14,5 \pm 3,70$ días. No se produjeron diferencias significativas entre estos promedios ($t=-0,166$; $df=12$; $p=0,87$).

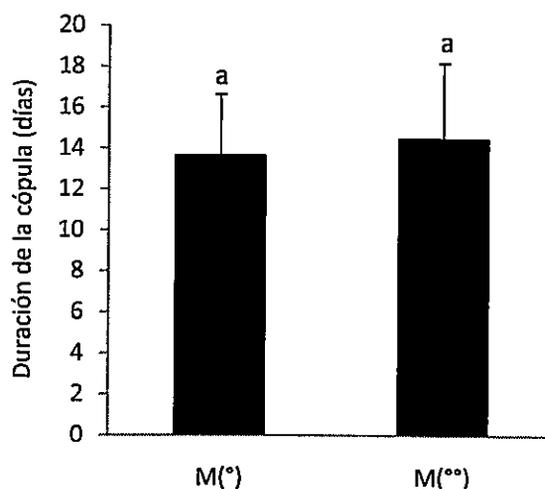


Figura 15. Duración de la cópula de *A. crassa* según el nivel de CPA de los machos ($\bar{X} \pm EE$). M(°)= bajo nivel de CPA; M(°°)= alto nivel de CPA.

3.2.2.3.2. Duración de la cópula según la masa corporal de los machos

En el análisis de regresión lineal simple, la asociación entre la duración de la cópula y la masa corporal de los machos resultó tener una correlación positiva y significativa ($F_{1,12}=5,39$; $n=14$; $p<0,05$) (Figura 16), por lo que machos de mayor masa corporal tuvieron una cópula más prolongada que aquellos de menor masa.

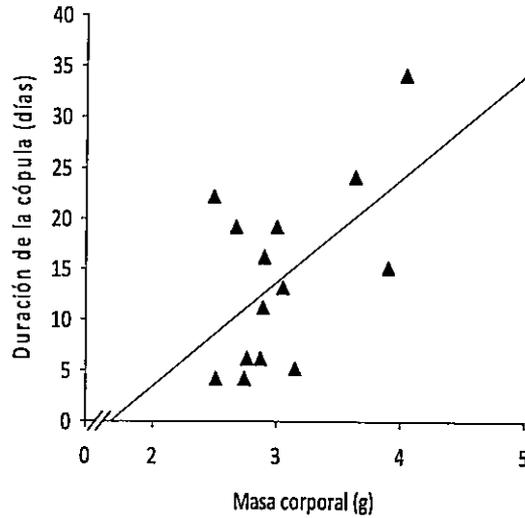


Figura 16. Relación entre la masa corporal de los machos de *A. crassa*, y la duración de la cópula ($y=10,249x - 17,045$; $R^2=0,3099$).

3.3. Observaciones en terreno

3.3.1. Tamaño de los grupos y refugios

De un total de 20 parejas en cópula, un 60% se encontró en solitario (una hembra y un macho en cópula) y el resto lo hizo en compañía de otros individuos, hembras y machos, tanto en estadio juvenil como adulto (véase Tabla 2). Estos grupos variaron en cuanto a tamaño desde 3 hasta 7 individuos (incluyendo a la hembra y el macho en cópula).

Tabla 2. Registro de variables en terreno de parejas en cópula. BR= bajo roca; BM= bajo madera; SS= sobre suelo; SR= sobre roca; SV= sobre vegetación (e.g. *A. splendens*). LC= largo corporal; CPA= carga parasitaria aparente. Los individuos marcados en gris claro y en gris oscuro corresponden a parejas en cópula dentro de un sector. Sectores 1-5: Farellones 23-12-09; 6-9: Farellones 30-12-09; 10-14: Farellones 05-01-10; 11-19: Lagunillas 11-01-10.

Sector	Sustrato	Sexo	Estadio	LC (cm)	CPA (N°)
1	BR-SS	F	Adulto	7,3	15
		M	Adulto	5,82	12
2	BR-SS	F	Adulto	8,2	14
		M	Adulto	5,86	3
		M	Juvenil	4,45	0
		M	Juvenil	4,19	7
		M	Juvenil	4,42	0
		M	Juvenil	4,88	1
		F	Adulto	8,73	30
3	BR-SS	F	Adulto	8,8	3
		M	Adulto	5,8	6
4	BR-SS	F	Adulto	8,12	0
		M	Adulto	5,5	0
		F	Adulto	7,1	9
		M	Juvenil	5,11	0
5	BR-SS	F	Adulto	8,6	7
		M	Adulto	5,46	7
6	BR-SS	F	Adulto	8,02	9
		M	Adulto	6,02	6
		F	Adulto	6,96	15
7	BR-SR	F	Adulto	9,2	2
		M	Adulto	5,94	0
8	BR-SS	F	Adulto	9,48	8
		M	Adulto	6,97	9
9	BR-SS	F	Adulto	8,8	41
		M	Adulto	6,84	4
		F	Adulto	7,48	19
10	BR-SS	F	Adulto	7,99	10
		M	Adulto	5,58	2

Sector	Sustrato	Sexo	Estadio	LC (cm)	CPA (N°)
11	BR-SR	F	Adulto	9,13	0
		M	Adulto	6,14	4
12	BR-SS	F	Adulto	8,67	31
		M	Adulto	5,82	3
13	BR-SR	F	Adulto	7,94	11
		M	Adulto	5,91	11
		M	Juvenil	4,56	0
		F	Juvenil	5,35	0
		F	Juvenil	3,84	3
14	BR-SS	F	Adulto	9,28	18
		M	Adulto	6,44	6
		M	Adulto	5,8	15
15	BR-SS	F	Adulto	6,52	0
		M	Adulto	5,13	2
16	BR-SR	F	Adulto	8,46	0
		M	Adulto	6,2	5
17	BR-SV	F	Adulto	8,42	1
		M	Adulto	5,78	0
18	BR-SS	F	Adulto	7,84	1
		M	Adulto	5,41	5
19	BM-SS	F	Adulto	9,09	0
		M	Adulto	5,82	15
		F	Adulto	8,31	1
		M	Adulto	6,18	6
		F	Juvenil	4	0
		M	Adulto	5,53	1
		M	Adulto	5,46	10

Respecto a los refugios en los cuales fueron encontrados los individuos durante las salidas de campo de diciembre y enero, fue posible observar que en general, las parejas en solitario no tendieron a preferir sustratos distintos a los de las parejas en compañía, el que en su mayoría correspondió a rocas que estaban en contacto con la tierra y/o con otras piedras, sin embargo, también se encontraron ejemplares bajo elementos artificiales como latas y maderos en contacto con tierra, piedras e incluso vegetación (e.g. *A. splendens*) (véase Tabla 2).

Cabe destacar que en los refugios siempre se observó una gran cantidad de fecas tanto de la temporada en curso como de anteriores a ella, en contacto con los mismos individuos. También fue muy habitual encontrar defecaderos antiguos sin uso bajo y entre las piedras. Otro aspecto importante que llamó la atención, fue la estrecha cercanía de los refugios al alimento (*Acaena splendens*), el cual se encontraba disponible en gran abundancia.

3.3.2. Tamaño de los individuos

El tamaño corporal de los individuos en cópula según su largo total varió entre 6,52 cm y 9,48 cm con un promedio de $8,41 \pm 0,16$ cm ($n=20$) para las hembras, y entre 5,11 cm y 6,97 cm con un promedio de $5,93 \pm 0,10$ cm ($n=20$) para los machos (véase Tabla 2).

Para los individuos adultos que no se encontraban en cópula, el tamaño corporal varió entre 6,96 cm y 8,73 cm con un promedio de $7,57 \pm 0,40$ cm ($n=4$) para las hembras, y entre 5,46 cm y 5,80 cm con un promedio de $5,60 \pm 0,10$ cm ($n=3$) para los machos (véase Tabla 2).

En los individuos juveniles, el tamaño corporal según largo total varió entre 3,84 cm y 5,35 cm con un promedio de $4,40 \pm 0,48$ cm ($n=3$) para las hembras, y entre 4,19 cm y 5,11 cm con un promedio de $4,60 \pm 0,14$ cm ($n=6$) para los machos (véase Tabla 2).

De las 20 parejas encontradas en cópula, sólo un 15% ($n=3$) se encontraba con otros machos adultos a su alrededor. Al comparar el largo corporal entre los machos en cópula y los que no estaban en ella, se observa una diferencia significativa ($Z= 1,964$; $p<0,05$) a favor de los primeros, por lo que éstos tendrían mayores largos corporales en relación a los machos que no se encontraron en cópula.

3.3.3. CPA por individuo

La CPA de los individuos adultos en cópula varió entre 0 y 41 perforaciones con un promedio de $8,6 \pm 2,5$ perforaciones ($n=20$) para las hembras, y entre 0 y 15 perforaciones con un promedio de $5,3 \pm 0,9$ perforaciones ($n=20$) para los machos (véase Tabla 2).

Para los individuos adultos que no se encontraban en cópula, la CPA varió entre 9 y 30 perforaciones con un promedio de $18,3 \pm 4,4$ perforaciones ($n=4$) para las hembras, y entre 1 y 15 perforaciones con un promedio de $8,7 \pm 4,1$ perforaciones ($n=3$) para los machos (véase Tabla 2).

En los individuos juveniles, la CPA varió entre 0 y 3 perforaciones con un promedio de $1,0 \pm 1,0$ perforaciones ($n=3$) para las hembras, y entre 0 y 7 perforaciones con un promedio de $1,3 \pm 1,1$ perforaciones ($n=6$) para los machos (véase Tabla 2).

3.4. Carga parasitaria aparente según largo corporal

El promedio de CPA en hembras y machos en estadio adulto fue de $5,50 \pm 0,90$ y $12,25 \pm 1,55$ perforaciones en los meses de noviembre y diciembre, respectivamente. La diferencia de CPA entre ambos períodos de medición es significativa ($t=-3,58$; $df=64$; $p<0,01$).

Asimismo, el análisis de regresión lineal simple arrojó como resultado que el largo corporal posee una asociación positiva y significativa con la CPA sólo en el mes de diciembre ($F_{1,34}=4,202$; $R^2=0,110$; $n=36$; $p<0,05$) (Figura 17).

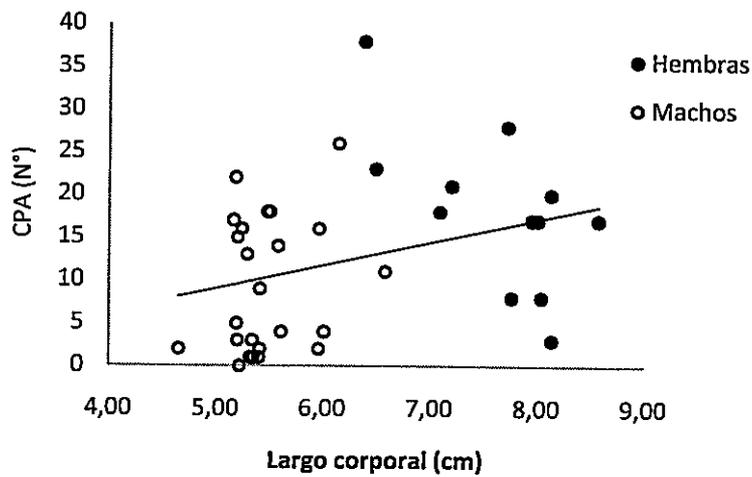


Figura 17. Relación entre el largo corporal y la CPA de machos y hembras en estadio adulto de *A. crassa* durante el mes de diciembre ($y = 2,6878x - 4,3888$; $R^2 = 0,110$).

Del mismo modo, pero esta vez considerando a animales tanto en estadio adulto como juvenil, el resultado de la regresión lineal simple entre la CPA y el largo corporal también muestra la presencia de una asociación positiva y significativa ($F_{(1,54)}=8,51$; $R^2=0,120$; $n=56$; $p<0,01$) (Figura 18).

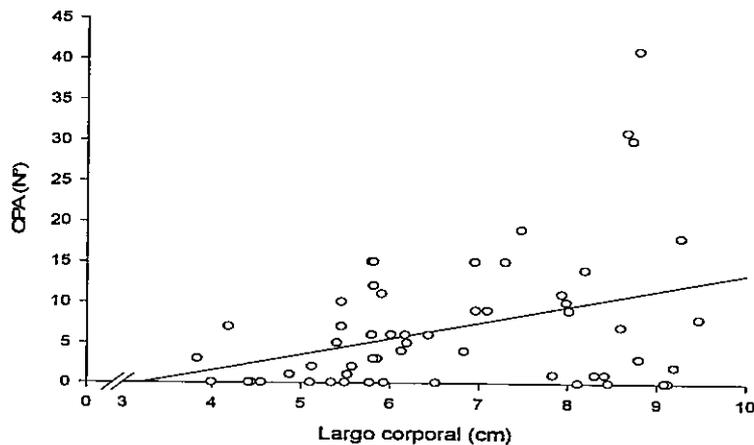


Figura 18. CPA de individuos juveniles y adultos de *A. crassa* según su largo corporal durante los meses de diciembre y enero. ($y = 1,9838x - 6,3433$; $R^2=0,120$)

4 DISCUSIÓN

El comportamiento reproductivo de los animales está moldeado por distintos mecanismos que ocurren de forma tanto intra- e inter- sexual, como antes y después del apareamiento, interpretándose como el resultado del balance entre cooperación y conflicto, debido a que los intereses de ambos sexos no necesariamente coinciden (Darwin 1859, Andersson 1994, Cordero 2001, Simmons 2001, Thornhill & Alcock 2001). En este sentido, es a través de dichos mecanismos desde donde evolucionan las características intra-sexuales distintivas de las especies, las que intervendrían directamente en su éxito reproductivo, obteniendo con ellas altas ventajas en la selección sexual.

En este trabajo, se evaluó la potencial selectividad de la característica correspondiente a la carga parasitaria aparente de los machos (CPA) de *Agathemera crassa*, cuyo menor nivel estaría considerado como un rasgo que podría ser seleccionado positivamente a través de las hembras, pues indicaría un estado fisiológico óptimo capaz de sostener un mejor desarrollo de los caracteres sexuales secundarios; al mismo tiempo y como una actividad complementaria, se evaluó la variable morfométrica correspondiente a la masa corporal de los machos, la que junto a la CPA, serían factores que intervendrían en su éxito de apareamiento y así, en su adecuación biológica.

4.1. Selectividad de la hembra relativa a la carga parasitaria aparente del macho

Los resultados obtenidos a través de las grabaciones sugieren que la hembra no presentaría un trato preferencial hacia alguno de los machos oponentes, ya que sus respuestas tanto agresivas como pasivas no tienen distinta intensidad hacia ambos. De esta manera, las motivaciones que dan lugar a las interacciones entre los individuos son habitualmente generadas por los machos, quienes de forma frecuente buscan acercarse y montarse sobre los demás individuos, sean estos machos o hembras. Por lo tanto, desde un punto de vista conductual, las hembras no estarían reconociendo a la CPA de los machos como una característica seleccionable.

La ausencia de una selectividad positiva por parte de las hembras de *A. crassa* del carácter correspondiente a un bajo nivel de CPA de los machos, estaría dada por la gran incidencia que posee el parasitoide *P. phasmophagae* sobre la especie hospedera en su hábitat natural, y más aún en condiciones de laboratorio, en donde el parasitoide se desarrolla con mayor éxito y velocidad (Veloso, C., comunicación personal). El dato que apoyaría este resultado se obtiene a través de las observaciones en terreno, en cuyas condiciones tan sólo un 15% (n=3) de los machos en cópula no poseía perforaciones, por lo tanto, la incidencia del parasitoide sería tal que la CPA de los individuos no debiera considerarse como una característica distintiva que pudiese ser seleccionada, pues la gran mayoría está infectada con el parasitoide. Además, el hecho de que el parasitoide ataque a machos y a hembras con la misma incidencia, impide que exista un patrón que sea distintivo sexualmente, lo que concuerda con lo planteado por Searcy (1982), quien señala que un rasgo será sexualmente seleccionado por la hembra en la medida que éste varíe lo suficiente entre las posibles

parejas como para que su valor óptimo², al ser seleccionado puntualmente, sea apreciablemente mayor al obtenido si la selección del rasgo fuera al azar. Por otra parte, a medida que un rasgo es seleccionado positivamente y que su influencia en el éxito reproductivo de la especie es más evidente, el límite de su valor óptimo es cada vez mayor o más exigente (Searcy 1982, Andersson 1994). Un ejemplo clásico de esto es la selección positiva de las grandes ornamentas en el macho del escarabajo *Bolitotherus cornutus*, en donde machos con cuernos grandes poseen un mayor éxito de apareamiento que aquellos con cuernos de menor tamaño, debido a que suelen salir victoriosos de los combates entre machos (Thornhill & Alcock 2001). En este sentido, aunque la variabilidad total de la CPA entre los machos sea alta (desde 0 a 15 perforaciones con un promedio de $5,3 \pm 0,9$), el número ideal de perforaciones que indicaría el mejor estado fisiológico del macho sería el mínimo (0), por lo que las probabilidades de una hembra de encontrar a un macho con 0 perforaciones durante el período de apareamiento natural serían muy escasas, lo cual disminuiría drásticamente su éxito reproductivo.

De esta manera, es posible señalar que los apareamientos se producirían de forma oportunista y, en general, con el primer macho que encuentre una hembra. Tal conducta de apareamiento no dista de aquella encontrada por Maginnis et al. (2008) en el fásmid *Megaphasma denticus*, quien también posee una conducta oportunista y una aparente ausencia de patrones involucrados en la competencia entre machos y/o en la elección de la hembra.

² Entendido como el compromiso entre éxito reproductivo y disminución de sobrevivencia de la hembra producto de la selección de pareja (Searcy, 1982).

4.2. Éxito de apareamiento

4.2.1. Hipótesis: Éxito de apareamiento según la carga parasitaria aparente de los machos

Los resultados sugieren la ausencia de selección intersexual (elección de la hembra), por lo que serían los machos los que tendrían un rol activo en la búsqueda de potenciales parejas, como también así en su monopolización, para que las hembras tengan el menor contacto posible con otros machos competidores y evitar, de esta manera, que sean inseminadas con otros espermios (Alcock 1994). Es en esta última tarea en donde tienen lugar los combates entre machos, por lo que es lógico pensar que machos de mejor calidad, estarían en ventaja por sobre aquellos en peor estado. Sin embargo, a pesar de que la carga parasitaria puede ser un factor que disminuye fisiológicamente el vigor del individuo, los resultados encontrados a través de las cópulas observadas, sugieren que una menor CPA no aseguraría la victoria en un enfrentamiento, debido a que independientemente del número de perforaciones que tenían los machos, éstos se mostraban muy activos y con una actitud jerárquica frente a su oponente. No obstante la presencia de esta conducta agresiva, los pocos registros de cópulas de este estudio no permiten asegurar que esta conducta sea una regla que acompañe previamente los apareamientos de *A. crassa*, puesto que también se identificó la ausencia de ella y de cualquier interacción entre los machos, sin que el efecto de la CPA jugara un rol significativo.

Los resultados apoyan que la CPA de los machos no jugaría un rol importante sobre el éxito de cópula, debido a que en promedio, la CPA de los machos que

copularon no distó significativamente de aquella presente en los machos que no copularon. Dados estos antecedentes, es posible señalar que no obstante la CPA de los machos, éstos tendrían la misma probabilidad de copular durante a lo menos los primeros meses del período reproductivo de la especie (noviembre y diciembre). En otras palabras, el hecho de que un macho tenga un bajo nivel de CPA no aseguraría un mejor éxito de apareamiento frente a otro macho con mayor nivel de CPA, a pesar de que el primero posea una ventaja fisiológica, por lo que la primera hipótesis planteada no se cumpliría.

Otro resultado que apoya que la CPA no interviene en el éxito de apareamiento de los machos, es aquel obtenido a partir de la observación de las cópulas, en donde fue posible registrar la duración de su proceso de fijación. En este proceso, en el que intervienen una serie de movimientos corporales que involucran un gasto energético no menor, si se considera que la conducta más recurrente de *A. crassa* es el reposo, la agilidad y habilidad del macho jugarían un rol fundamental en el logro de una cópula exitosa, en donde la correcta fijación entre las genitalias de ambos sexos es clave. De esta forma, y teniendo como antecedente que la presencia de parasitoides va en desmedro del estado fisiológico de su hospedero y, eventualmente, de su homeostasis y estado de salud general, la CPA no estaría interviniendo en la habilidad de los machos para efectuar el proceso de fijación de la cópula. Realizar el proceso de fijación en un tiempo menor implicaría monopolizar a la hembra de forma más rápida, lo que disminuiría las probabilidades de ser desplazado por machos rivales y, de esta forma, se estaría en presencia de un rasgo que representaría una ventaja en el éxito reproductivo del macho, sin embargo, este no fue el caso.

En contraste a la gran parte de la bibliografía consultada relativa al estudio de las interacciones parasitoide-hospedero, cuyos resultados indican que la presencia de parasitoides va en desmedro de la capacidad fisiológica y conductual de su hospedero, los resultados encontrados en este trabajo indicarían que la CPA de los machos no está incidiendo en gran medida en el estado de salud de *A. crassa*. Posiblemente y desde una perspectiva ecológica, esto se deba al "control" que ejerce el hospedero sobre el parasitoide, a través de la selección de ambientes térmicos subóptimos para el desarrollo de éste (Zamorano 2009), debido al efecto que posee la temperatura ambiente sobre rasgos de historia de vida del parasitoide (Hance et al. 2007). De esta forma, la distribución altoandina que posee *A. crassa* estaría siendo condicionada por la presencia de su parasitoide *P. phasmophagae*, lo que también concuerda con lo señalado por Müller & Schmid-Hempel (1993), quienes plantean que la selección de temperaturas de microhábitat por parte del hospedero pueden afectar significativamente la sobrevivencia y fecundidad del parasitoide.

4.2.2. Éxito de apareamiento según la masa corporal de los machos

A pesar de que el diseño experimental llevado a cabo en este trabajo no fue ideado para evaluar directamente la masa corporal de los machos y su influencia en la selección de pareja de *A. crassa*, los resultados sugieren que la masa promedio de aquellos machos que copulan es mayor que la de aquellos que no lo hacen, lo que implicaría que machos de mayor masa estarían siendo más exitosos al aparearse que aquellos de menor masa. Esto indicaría que la masa corporal, vista como una medida indirecta de la cantidad de reservas energéticas y, por lo tanto, un reflejo de la

condición corporal del individuo (Moya-Laraño et al. 2008), es por tanto un rasgo que implicaría una ventaja al momento de aparearse y consecuentemente, un mayor éxito de apareamiento, resultado que también se observa en otros taxa de insectos como en dípteros (Blanckenhorn et al. 2003, Yuval 2006) y coleópteros (Kumano et al. 2010).

Además, en los resultados obtenidos a través de las observaciones en terreno, en los cuales se utilizó al largo corporal de los machos como una medida indirecta de su masa corporal, se ratifica la diferencia a favor de los machos en cópula, es decir, estos últimos tendrían en promedio un mayor largo corporal que aquellos machos que no están copulando, indicando que los primeros tendrían un mayor éxito de apareamiento.

El éxito de apareamiento de los machos de mayor tamaño corporal estaría dado, entre otras razones, por lo planteado inicialmente por Darwin (1859) en su mayor tratado sobre la evolución orgánica, y luego ratificado por diversos autores que promovieron esta teoría (e.g. Wallace 1889, Fisher 1930, Williams 1966, Eberhard 1985 y Andersson 1994), quien señala que machos más grandes son generalmente más agresivos y más competitivos que aquellos más pequeños, por lo que al momento de enfrentarse con otros machos por distintos recursos, como por ejemplo el alimento, éstos tendrían mayores probabilidades de salir victoriosos (Nosil 2002). De esta manera, la masa corporal de los machos, considerada como una medida del tamaño corporal, es el factor más importante que interviene en la capacidad para retener un recurso, por lo que machos relativamente pequeños, a menudo son menos capaces para capturar y defender un recurso que promueva el éxito de apareamiento (Thornhill & Alcock 2001).

De esta forma, el hecho de que un macho presente una mayor masa corporal, se interpretaría como una ventaja frente a otros machos de menor tamaño durante los combates que protagonizan con el fin de obtener el recurso hembra. Dada esta situación, la masa corporal de los machos de *A. crassa* podría ser considerada como un carácter sexual secundario favorecido por selección sexual mediante la competencia intra-machos. No obstante, se sugiere que en futuras investigaciones se realice un diseño experimental adecuado que evalúe de forma específica el efecto de la masa corporal en los mecanismos de selección sexual de *A. crassa*.

4.3. Otros aspectos relativos al comportamiento reproductivo

4.3.1. Conducta de apareamiento

A partir de los resultados obtenidos respecto a la conducta sexual en el proceso de fijación de la cópula en *A. crassa*, es posible ratificar que esta especie sigue el mismo patrón de comportamiento descrito por Gangrade (1963), Bedford (1978) y Sivinski (1978) para el orden Phasmatodea, en donde el macho se monta sobre la hembra (quien parece pasiva) con la porción terminal de su abdomen doblada hacia su derecha (izquierda de la hembra) para alcanzar la vulva. Sin embargo, existe un aspecto conductual no descrito en la literatura, que corresponde a la rotación levógira en 360° que realiza el macho una vez producido el primer enganche con la genitalia de la hembra. Este movimiento generaría un mejor acople entre las genitalias de los individuos en cópula, que aseguraría aún más el monopolio del macho sobre ella y

disminuiría notablemente la probabilidad de que éste sea desplazado por otro macho en competencia o por alguna otra causa (depredadores, por ejemplo). Esto concuerda con lo planteado en la literatura, en donde se señala que la presencia de apéndices en la genitalia de los machos (*claspers*) de muchos insectos está funcionalmente asociada, entre otras hipótesis, a la sujeción de la hembra durante la cópula de tal manera de evitar su desplazamiento por otros machos, por lo que desde una perspectiva evolutiva, esta estructura estaría siendo favorecida mediante selección intrasexual (Simmons 2001, Moreno-García y Cordero 2008), gracias al aumento en el éxito de fertilización de los machos (Eberhard 1993, Arnqvist 1998, Hosken & Stockley 2004).

Las observaciones realizadas en terreno, relativas a la presencia y/o ausencia de otros individuos acompañando a las parejas en cópula, no permiten afirmar con certeza que éstas posean una inclinación a escoger refugios apartados, lo que eventualmente podría disminuir la posibilidad de que otros machos rivales desplacen al que se encuentra copulando. De todas formas, llama la atención que la mayoría de las parejas en cópula (60%) se haya encontrado en solitario en terreno, lo que hace pensar en la posibilidad de una especie de aislamiento de la hembra por parte del macho una vez que éste haya competido por ella con otros rivales.

En relación al tipo de refugio en el que se encontraban las parejas en cópula de *A. crassa* en su ambiente natural, es posible señalar que no existe una tendencia clara que indique que las parejas solitarias en cópula ocupen refugios con sustratos distintos de aquellos escogidos por parejas en cópula que están en compañía de otros individuos, lo que sugiere que la elección de éstos estaría en directa relación con su

disponibilidad, por lo que evaluar este factor podría ser interesante en futuras investigaciones.

4.3.2. Período de pre-cópula

El período de pre-cópula, definido en este trabajo como el tiempo que transcurre desde que se produce el encuentro de los individuos hasta que comienza la cópula, estaría dando cuenta del cambio en la receptividad sexual de la hembra y en la motivación de los machos relativa al apareamiento, esto es, el cambio de la conducta de la hembra que permite o ayuda a un macho a fertilizar sus huevos (Ringo 1996).

Desde una perspectiva conductual, los resultados sugieren que el reposo de los individuos sería mucho más recurrente durante noviembre en relación al siguiente mes, por lo que los animales tenderían a permanecer menos activos durante ese período. De esta forma, se podría pensar que a medida que el tiempo transcurre y avanza la época de apareamiento, los individuos comenzarían a destinar un mayor tiempo a la búsqueda de una pareja. Esto estaría avalado además por los resultados referentes a las conductas de interacción de los individuos, en donde la hembra destina un mayor tiempo a respuestas pasivas/evasivas frente a los machos durante diciembre, en relación al mes anterior, donde los machos interactuarían con ella un mayor número de veces, ya sea acercándose y/o montándose sobre ella. Según Ringo (1996), esta conducta de los machos incrementaría la receptividad de las hembras, debido a que podría ser interpretada como una posible señal de cortejo.

La ontogenia de la receptividad de la hembra es generalmente coordinada por patrones temporales de apareamiento (Ringo 1996), lo que se estaría reflejando en la diferencia entre la duración del período de pre-cópula de noviembre y diciembre, en donde la del primer mes fue significativamente mayor a la del segundo. Esto indicaría que, transcurrido el tiempo, las hembras de *A. crassa* estarían aceptando a su pareja de forma más rápida en relación al mes anterior, debido probablemente al aumento de su receptividad producto de la mayor intensidad de los estímulos provocados por los machos. Esto sugiere que el período óptimo de apareamiento de la especie sea a contar de diciembre.

Si se considera la duración del período de pre-cópula como un factor que puede afectar de algún modo el éxito de apareamiento de *A. crassa*, entonces sería lógico pensar que aquellos machos que monopolizan a su pareja rápidamente cuando se produce el encuentro con ella, disminuyan la probabilidad de que otros machos rivales la monopolicen antes que ellos. Sin embargo, esto no es así. A pesar de que la duración del período de pre-cópula fue significativamente menor durante diciembre en relación al mes anterior, el éxito de cópula de los machos no fue distinto entre ambos meses. Esto indicaría que el número de cópulas producidas sería similar, por lo menos, durante los dos primeros meses del período de apareamiento, no obstante, esta cantidad se alcanzaría de forma más rápida a medida que transcurre el tiempo.

Por otra parte, los resultados de la asociación entre la duración de la pre-cópula y la CPA de los machos durante ambos períodos de tiempo, indican que la primera variable no tiene una dependencia significativa con la segunda, por lo que aquellos machos con menores niveles de CPA tendrán duraciones similares de pre-

cópula en relación a aquellos más parasitados. De esta forma, el nivel de parasitoidismo que poseen los machos de *A. crassa* no estaría interfiriendo con la intensidad natural de los estímulos que realizan los machos para "persuadir" a las hembras a medida que transcurre la época de apareamiento. Por lo tanto, suponiendo que el estado fisiológico interviene en el vigor de un individuo para emitir señales óptimas que estimulen al sexo opuesto, y que además la presencia de parasitoides puede ir en detrimento de dicho estado, lo que podría gatillar en una disminución de su éxito de apareamiento, entonces, la CPA de los machos de *A. crassa* podría ser considerada una excepción a lo encontrado comúnmente en la literatura.

4.3.3. Duración de la cópula

En muchos órdenes de insectos como Odonata, Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera y especialmente en Heteroptera y Phasmatodea, se ha reportado la presencia de una cópula prolongada, en la cual los machos mantienen el contacto genital con su pareja más allá del tiempo estrictamente necesario para su inseminación (Alcock 1994). La duración de la cópula en *A. crassa* obtenida en este trabajo concuerda con tal información, al encontrarse dentro del rango descrito para este orden: días e incluso semanas (Sivinski 1978). Cabe mencionar que para este orden está descrito el record de cópula prolongada entre todos los insectos, correspondiente a 79 días en el palote *Necroscia sparaxes* (Gangrade 1963).

El prologado tiempo de cópula continua que realizan las parejas de *A. crassa*, aparentemente no estaría asociado con el tiempo de inseminación (Simmons 2001)

pues éste último ocurriría al comienzo de la cópula (Alcock 1994), por lo que está considerado como un importante mecanismo de evasión de competencia espermática (Parker 1970 citado en Simmons 2001). En esta estrategia post-copulatoria conocida como "protección de la pareja", las hembras mantienen su receptividad sexual después de la inseminación (Alcock 1994), por lo que los machos deben reducir la probabilidad de que éstas acepten esperma de otros machos rivales (Simmons 2001), situación en donde la presencia de otros machos alrededor puede jugar un importante rol respecto a la duración de la cópula. Según varios autores (e.g. Simmons 2001, Knox & Scott 2005), las cópulas serán prolongadas cuando la densidad de machos es alta o cuando la proporción operacional de sexos está desviada por un exceso de machos. Por ejemplo, en especies del orden Odonata, bajo condiciones de intensa competencia, la cópula se prolonga cada día hasta que finaliza la actividad de la población sexualmente activa y así, terminarla de forma sincronizada. A bajas densidades, las hembras poseen bajas posibilidades de volver a aparearse, por lo que no existe la necesidad de terminar la copula sincronizadamente (Cordero 1990).

Una proporción de sexos desviada hacia los machos estaría dada, según Thornhill & Alcock (2001), por el marcado dimorfismo sexual de los fásmidos, en el cual se asume que el tiempo para alcanzar la madurez sexual es mucho menor en los machos que en las hembras, por lo que si la tasa de mortalidad es razonablemente constante y equivalente para ambos sexos, habría una menor cantidad de hembras maduras en relación a los machos maduros. De hecho, en condiciones de cautiverio, Vera & Camousseight (2008) observaron que los machos de la especie *Agathemera mesoauriculae* poseen 6 estadíos post-embrionarios, no así las hembras quienes poseen 7, cuyo último estadío es esencial para alcanzar la madurez sexual y así poder

copular. De esta forma, se establecería una relación en la cual un mayor dimorfismo sexual implicaría una cópula más prolongada debido a la desviación hacia los machos de la proporción operacional de sexos. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo no permiten confirmar esta hipótesis debido a que la proporción de sexos siempre se mantuvo constante (M: H/2:1), y la duración de las cópulas varió independientemente de ésta, por lo que sería interesante estimular la realización de estudios que asocien puntualmente este aspecto en relación a distintas proporciones operacionales de sexos.

Otro aspecto que podría dar cuenta de la exagerada prolongación de la cópula en *A. crassa* sería el acotado período de apareamiento que posee la especie, el cual está limitado por las condiciones ambientales adversas que caracterizan el clima altoandino, en donde las estaciones se ven temporalmente afectadas en relación al valle central y la costa. La primavera llega más tarde, producto de los fríos invernales que se prolongan por algunos meses especialmente en las partes más altas, por lo que fines de diciembre y enero se asemejarían a septiembre y octubre de las áreas más bajas (Hoffmann et al. 1998). El comienzo de la época invernal y, por ende, del período de hibernación de *A. crassa*, sucede a finales del mes de mayo (C. Veloso, comunicación personal), lo que implicaría que el tiempo que posee la especie para reproducirse y terminar exitosamente el período estival sería bastante acotado. De esta forma, como mecanismo de evasión de competencia espermática, la cópula prolongada de *A. crassa* sería un fenómeno que aseguraría el éxito reproductivo de la especie, debido a que disminuiría notablemente la probabilidad de que el macho copulador sea desplazado por otros machos rivales.

La presencia de necrofilia observada en algunas parejas en condiciones de laboratorio, considerada como un dato anecdótico dentro de esta investigación, estaría explicada, en primer lugar, por el prolongado tiempo de cópula que naturalmente sostienen los machos de *A. crassa*, el cual probablemente no pudo ser sobrellevado por algunas hembras debido a la alteración en el control sobre el desarrollo del parasitoide, producto de las condiciones ambientales del laboratorio que posiblemente lo favorecen. En segundo lugar, la necrofilia también podría atribuirse a la fuerte competencia por interferencia que generan los machos al monopolizar a la primera hembra con la que puedan copular, y que puede llegar hasta el punto de no advertir su estado vital.

4.3.3.1. Duración de la cópula según la carga parasitaria aparente de los machos

El resultado obtenido en la relación entre la duración de la cópula y la CPA de los machos indica que esta última variable no jugaría un rol significativo en la duración de la cópula. Hubiese sido lógico pensar que un menor nivel de parasitoidismo de un macho de *A. crassa*, considerado como el reflejo de un mejor estado fisiológico, podría haber representado una ventaja al momento de mantener una cópula prolongada, debido al aumento de los costos que significaría sobrellevar una determinada carga parasitaria. Sin embargo, la ausencia de un efecto visible de la CPA sobre la duración de la cópula no excluye que otros efectos del parasitoide puedan estar actuando de forma silente sobre la reproducción de *A. crassa*. En este sentido, altos niveles de carga parasitaria podrían alterar tanto la cantidad como la calidad de la esperma

transferida durante la cópula (Simmons 2001, Hurts et al. 2005), por lo que sería interesante evaluar esta hipótesis en estudios posteriores.

4.3.3.2. Duración de la cópula según la masa corporal de los machos

Considerando a la masa corporal de los machos como medida indirecta del tamaño corporal de los individuos, los resultados sugieren que machos de mayor tamaño tenderían a sostener la cópula durante más tiempo que los machos de menor dimensión. No obstante, a pesar de la significancia de la regresión, el modelo ajustado sólo explica el 31% de la variabilidad en la duración de la cópula relativa a la masa corporal. En este sentido, un aumento del número de muestras podría aumentar el ajuste de esta regresión.

Sin embargo, dada la conducta que posee *A. crassa* durante el apareamiento, en donde se observó que el macho se alimentaba siempre y cuando la hembra se situara en un lugar cercano a la comida, y considerando que la masa corporal es una medida indirecta de las reservas energéticas que posee un individuo (Moya-Laraño et al. 2008), un macho que goce de una mayor masa corporal podría verse beneficiado durante una cópula prolongada, en relación a uno de menor masa. Cabe señalar que *A. crassa* es una especie que debe exponerse a un período de hibernación mucho más prolongado que el tiempo que eventualmente podría durar una cópula, lo que implicaría que este organismo está especialmente adaptado para soportar largos períodos de escases de alimento.

Por otra parte, la probabilidad de que un macho sea desplazado por otros rivales decrece con el aumento del tamaño corporal de éste (Sigurjónsdóttir & Parker 1981), por lo que la probabilidad de encontrar a machos de mayor tamaño apareándose de la forma naturalmente prolongada descrita para este orden, sería mayor a la de encontrar a machos pequeños haciéndolo.

4.4. Carga parasitaria aparente según largo corporal

Considerando únicamente a individuos en estadio adulto, la asociación entre la CPA y el largo corporal fue positivamente significativa sólo en el mes de diciembre, en donde la cantidad de larvas emergidas fue, en promedio, mayor en relación a noviembre, en cuyo mes ésta relación no se cumplió. Esto ratifica lo planteado por C. Veloso (comunicación personal), quien indica que en el mes de noviembre, el hospedero se encontraría recién abandonando el período de hibernación, por lo que las larvas del parasitoide aún se encuentran en período de desarrollo dentro de él. En contraste, durante diciembre las condiciones ambientales se tornan favorables para la emergencia de las larvas, por lo que éstas lo harían en mayor cantidad.

Del mismo modo, al analizar la relación entre la CPA y el largo corporal, ahora considerando un rango etario más amplio que el anterior (inclusión de estadios juveniles), se ratificó la asociación positiva y significativa entre estas variables.

De acuerdo a Heimpel (2000), la variación intraespecífica del número de huevos de parásitos que soporta un hospedero está ampliamente analizada y puede ser atribuida, entre otros factores, al tamaño corporal del hospedero (Vet & Datema 1993). Según esto, el valor de la carga parasitaria máxima que un hospedero sería capaz de soportar efectivamente estaría asociada a su tamaño, pues éste último sería un componente de su calidad (Godfray 1994), lo que tendría incidencias directas sobre los recursos disponibles para el desarrollo del parasitoide. Estos recursos son el único sustento para el desarrollo de los huevos, por lo que el tamaño del hospedero es crucial en la determinación de la adecuación biológica de éstos (Godfray et al. 1991, Vet & Datema 1993). Es por esto, que los máximos valores de CPA, obtenidos de los animales de laboratorio y de aquellos en su hábitat natural, se presentaron en las hembras, quienes poseen tamaños corporales significativamente superiores a los machos, por lo que los recursos energéticos y espaciales para un desarrollo óptimo del parasitoide también son mayores.

5 CONCLUSIONES

- A pesar de que el número de perforaciones provocadas por la emergencia de las larvas del parasitoide puede ser un indicador del estado fisiológico de los machos de *Agathemera crassa*, el éxito de apareamiento de éstos es independiente a su CPA, por lo que machos con niveles bajos de CPA poseen las mismas probabilidades de aparearse que aquellos con niveles altos. De esta forma, la Hipótesis se rechaza.
- El control que ejercería *A. crassa* sobre el parasitoide al seleccionar ambientes subóptimos para su desarrollo, jugaría un rol crucial en el grado de influencia de este último sobre el estado fisiológico del primero, pues aunque la incidencia del parasitoide sea alta (cercana al 100%), ésta no interfiere en el éxito de apareamiento de manera tal que poseer una menor CPA no implica una ventaja al momento de aparearse, motivo por el cual no sería un rasgo distintivo que está siendo seleccionado sexualmente.
- En términos conductuales, las hembras no poseen un patrón selectivo de caracteres especiales de los machos, por lo que no existiría selección intersexual en *A. crassa*. La selección sexual estaría actuando a nivel de los machos, quienes eventualmente competirían con el fin de monopolizar a su pareja, y en donde la CPA de los machos tampoco intervendría sobre el vigor con que se efectúan los enfrentamientos.

- De todas formas, dichos combates son eventuales, por lo que la competencia intra-sexual no sería obligatoria, produciéndose de este modo, un grado de oportunismo en los apareamientos, los que tenderían a darse con el primer individuo que se presente.

- A pesar de no haber ideado un diseño experimental para evaluar la masa corporal de los machos y su influencia en la selección sexual, es posible concluir que los machos que copulan poseen, en promedio, mayores masas corporales que aquellos que no lo hacen, por lo que efectivamente esta variable puede implicar una ventaja al momento de aparearse debido a la mayor calidad competitiva y de retención de los recursos que implica poseer un tamaño corporal superior. De esta forma, se sugiere que esta variable puede ser considerada como un carácter sexual secundario favorecido por selección sexual mediante la competencia intra-machos.

- La duración de los periodos de pre-cópula durante noviembre y diciembre es independiente del nivel de CPA de los machos y posiblemente da cuenta del cambio en la receptividad sexual de la hembra de acuerdo a la intensidad de los estímulos de los machos, los cuales irían en aumento a medida que transcurre la época de apareamiento de *A. crassa*, lo cual sugiere que su período óptimo sería a contar de diciembre.

- El proceso de apareamiento de *A. crassa* sigue el mismo patrón que aquel observado en géneros del mismo orden, pero con la inclusión de un giro en 360° que realiza el macho una vez que conecta su genitalia con la de la hembra. Este giro aumentaría la fortaleza de dicha unión, disminuyendo de esta manera las

probabilidades de que el macho sea desplazado mientras copula y así también la competencia espermática.

- La duración prolongada de la cópula en *A. crassa* se encuentra dentro del rango descrito para este orden y es considerada como un efectivo mecanismo post-copulatorio de evasión de competencia espermática (competencia por interferencia).
- La duración de la cópula es independiente de la CPA de los machos, por lo que el grado de influencia del parasitoide sobre su hospedero no implica un menor tiempo de cópula.
- La duración de la cópula tiene una asociación positiva con la masa corporal de los machos, debido posiblemente a la mayor cantidad de reservas energéticas que ayuda a soportar tiempos prolongados sin alimentarse.
- La CPA de machos y de hembras de *A. crassa* posee una asociación positiva con el tamaño corporal de los individuos, al considerar tanto un rango etario reducido (sólo adultos) como también a más estadios de desarrollo (i.e. juveniles).
- La mayor cantidad de recursos que poseen los individuos adultos, como por ejemplo las reservas energéticas y el espacio, implica una mayor capacidad para soportar una CPA más alta, en relación a los individuos juveniles.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMO, S. (2002) Modulating the Modulators: Parasites, Neuromodulator and Host Behavioral Change. *Brain, Behavior and Evolution* 60: 370 – 377.
- ALCOCK, J. (1994) Postinsemination associations between males and females in insects: The mate-guarding hypothesis. *Annual Review of Entomology* 39: 1 – 21.
- ANDERSSON, M. (1994) Sexual Selection. *Princeton, New Jersey: Princeton University Press*. 599 pp.
- ARNQVIST, G. (1998) Comparative evidence for the evolution of genitalia by sexual selection. *Nature* 393: 784 – 786.
- BECKAGE, J. (1985) Endocrine interactions between endoparasitic insects and their hosts. *Annual Review of Entomology* 30: 371 – 413.
- BEDFORD, G. (1978) Biology and Ecology of the Phasmatodea. *Annual Review of Entomology* 23: 125 – 49.
- BLANCKENHORN, W., KRAUSHAAR, U. & REIM, C. (2003) Sexual selection on morphological and physiological traits and fluctuating asymmetry in the yellow dung fly. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 903 – 913.
- BLANCKENHORN, W., REUSH, T. & MÜHLHÄUSER, C. (1998) Fluctuating asymmetry, body size and sexual selection in the dung fly *Sepsis cynipsea* – testing the good genes assumptions and predictions. *Journal of Evolutionary Biology* 11: 735 – 753.
- BLAIR, R.C. & TAYLOR, R.A. (2008) Bioestadística. *Editorial Pearson Educación, México*. 1ª Edición. 552 pp.
- CAMOUSSEIGHT, A. (1995) Revisión Taxonómica del Género *Agathemera* (Phasmatodea: Pseudophasmatidae) en Chile. *Revista Chilena de Entomología* 22: 35 – 53.
- COATS, J., POULIN, R. & NAKAGAWA, S. (2010) The consequences of parasitic infections for host behavioural correlations and repeatability. *Behaviour* 147: 367 – 382.

- CORDERO, A. (1990) The adaptative significance of the prolonged copulations of the damselfly, *Ischnura graellsii* (Odonata: Coenagrionidae). *Animal Behaviour* 40: 43 – 48.
- CORDERO, A. (1999) Selección sexual y comportamiento reproductor de los insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa* 26: 693 – 701.
- CORDERO, A., EGIDO, F. & ANDRÉS, J. (2002) The effect of handling damage, mobility, body size, and fluctuating asymmetry on lifetime mating success of *Ischnura graellsii* (Rambur) (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatológica* 31(2): 117 – 128.
- CORTÉS, R. (1968) Taquínidos chilenos (Dipt., Tachinidae), parásitos de phasmidos (Phasmoidea). *Bol. Soc. Biol. Concepción* 40: 101 – 114.
- CLUTTON-BROCK, T. (2009). Sexual selection in females. *Animal Behaviour* 77: 3 – 11.
- DANIELSSON, I. (2001) Antagonistic pre- and post-copulatory sexual selection on male body size in a water strider (*Gerris lacustris*). *Proc. R. Soc. Lond. B* 268: 77 - 81
- DUNN, A. (2005) Parasitic manipulation of host life history and sexual behaviour. *Behavioural Processes* 68: 255 – 258.
- DARWIN, C. (1859) El origen de las especies. Versión en español traducida por Anibal Froufe 1985. Editorial EDAF, España. 533 pp.
- EBERHARD, W. (1985) Sexual Selection and Animal Genitalia. *Harvard University Press, Cambridge*.
- EBERHARD, W. (1993) Evaluating models of sexual selection: Genitalia as a test case. *American Naturalist* 142(3): 564 – 571.
- FISHER, R. A. (1930). The Genetical Theory of Natural Selection. *Oxford: Clarendon Press*.
- GANGRADE, G. (1963) A contribution to the biology of *Necroscia sparaxes* West-wood (Phasmidae: Phasmida). *Entomologist* 96: 83 – 93.
- GOLDSMITH, S., STEWARD, Z., ADAMS, S. & TRIMBLE, A. (1996) Success in the Cottonwood Borer, *Plectodera scalator* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Behavior*, Vol. 9, No. 5.
- GODFRAY, H., PARTRIDGE, L. & HARVEY, P. (1991) Clutch size. *Annual Review of Entomology* 22: 409 – 429.

- GODFRAY, H. (1994) Parasitoids. Behavioral and evolutionary ecology. *Princeton University Press*. 474 pp.
- GROSS, P. (1993) Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. *Annual Review of Entomology* 38: 251 – 273.
- GULLAN, P.J. & CRANSTON, P.S. (2005) The insects: an outline of entomology. *Blakwell Publishing, 3ª Edición*, 505 pp.
- HAMILTON, D. & ZUK, M. (1982) Heritable True Fitness and Bright Birds: A Role for Parasites? *Science* 218: 384 – 387.
- HANKS, L., MILLAR, J. & PAINE, T. (1996) Body Size Influences Mating Success of the Eucalyptus Longhorned Borer (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Insect Behavior*, Vol. 9, No. 3.
- HANCE, T., VAN BAAREN, J., VERNON, P. & BOIVIN, G. (2007) Impact of Extreme Temperatures on Parasitoids in a Climate Change Perspective. *Annual Review of Entomology* 52:107 – 26.
- HEIMPEL, G. (2000) Effects of parasitoids clutch size on host-parasitoid population dynamics. En HOCHBERG, M. E IVES, A. (eds). Parasitoid population biology. *Princeton University Press*. 366 pp.
- HOFFMANN, A., ARROYO, M., LIBERONA, F., MUÑOZ, M. & WATSON, J. (1998) Plantas altoandinas en la Flora Silvestre de Chile. *Ediciones Fundación Claudio Gay*. Santiago de Chile. 281 pp.
- HOSKEN, D. & STOCKLEY, P. (2004) Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 19(2): 87 – 93.
- HURTS, G., WEBBERLEY, M. & KNELL, R. (2005) The role of parasites of insect reproduction in the diversification of insect reproductive processes. En FELLOWES, M., HOLLOWAY, G. & ROLFF, J. (eds) Insect Evolutionary Ecology. Proceedings of the Royal Entomological Society's 22nd Symposium. *Cabi Publishing*. 539 pp.
- KELLY, A., HATCHER, M., EVANS, L. & DUNN, A. (2001) Mate choice and mate guarding under influence of a vertically transmitted, parasitic sex ratio distorter. *Animal Behavior* 61: 763 – 770.
- KNOX, T. & SCOTT, M. (2005) Size, operational sex ratio, and mate-guarding success of the carrion beetle, *Necrophila americana*. *Behavioral Ecology* 17: 88–96

- KUMANO, N., KURIWADA, T., SHIROMOTO, K., HARAGUCHI, D. & KOHAMA, T. (2010) Effect of body size and sex ratio on male alternative mating tactics of the West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 135: 154 – 161.
- LAILVAUX, S. E IRSCHICK, D. (2006) A functional perspective on sexual selection: insights and future prospects. *Animal Behaviour* 72:263-273.
- LEFÈVRE, T., ROCHE, B., POULIN, R., HURD, H., RENAUD, F. & THOMAS, F. (2008) Exploiting host compensatory responses: the 'must' of manipulation? *Trends in Parasitology* Vol. 24, No. 10.
- LEFÈVRE, T., LEBARBENCHON, C., GAUTHIER-CLERC, M., MISSÉ, D., POULIN, R. & THOMAS, F. (2009) The ecological significance of manipulative parasites. *Trends in Ecology and Evolution* Vol.24, No.1.
- LEUNG, T. & POULIN, R. (2008) Parasitism, commensalism, and mutualism: exploring the many shades of symbioses. *Life and Environment* 58: 107 – 115.
- LIBERSAT, F., DELAGO, A. & GAL, R. (2009) Manipulation of Host Behavior by Parasitic Insects and Insect Parasites. *Annual Review of Entomology* 54: 189 – 207
- MAGINNIS, T., COOL, C. & MUNIZ, J. (2008) Some observations on the mating behavior of the giant walking stick, *Megaphasma dentricus* (Orthoptera: Phasmidae). *Texas Journal of Science* 60(1): 57 – 62.
- MORENO-GARCÍA, M. & CORDERO, C. (2008) On the function of male genital claspers in *Stenomacra marginella* (Heteroptera: Largidae). *Journal of Ethology* 26: 255 – 260.
- MOYA-LARAÑO, J., MACÍAS-ORDÓÑEZ, R., BLANCKENHORN, W. & FERNÁNDEZ-MONTRAVETA, C. (2008) Analysing body condition: mass, volume or density? *Journal of Animal Ecology* 77: 1099 – 1108.
- MÜLLER, C. (1994) Parasitoid induced digging behavior in bumblebee workers. *Animal Behaviour* 48: 961 – 966.
- MÜLLER, C. & SCHMID-HEMPEL, P. (1993) Exploitation of cold temperature as defense against parasitoids in bumblebees. *Nature* 363: 65 – 67.
- NOSIL, P. (2002) Food fights in house crickets, *Acheta domesticus*, and the effects of body size and hunger level. *Canadian Journal of Zoology* 80(3): 409–417
- PECKARSKY, B., McINTOSH, A., CAUDILL, C. & DAHL, J. (2002) Swarming and mating behavior of a mayfly *Baetis bicaudatus* suggest stabilizing selection for male body size. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 51: 530 – 537.

- POULIN, R. (2007) Are there general laws in parasite ecology? *Parasitology* 134: 763 – 776.
- RINGO, J. (1996) Sexual receptivity in insects. *Annual Review of Entomology* 41:473 – 94.
- ROY, H., STEINKRAUS, D., EILENBERG, J., HAJEK, A. & PELL, J. (2006) Bizarre Interactions and Endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Host. *Annual Review of Entomology* 51: 331 – 357.
- SEARCY, W. (1982) The evolutionary effects of mate selection. *Annual Review of Entomology* 13: 57 – 85.
- SERRANO-MENESES, M., CÓRDOVA-AGUILAR, A., MÉNDEZ, V, LAYEN, S. & SZÉKELY, T. (2007). Sexual size dimorphism in the American rubyspot: male body size competition and mating succes. *Animal Behaviour* 73: 987 – 997
- SIGURJÓNSDÓTTIR, H. & PARKER, G. (1981) Dung Fly Struggles: Evidence for Assessment Strategy. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 8: 219 – 230.
- SIMMONS, L., TOMKINS, J. & ALCOCK, J. (2000) Can minor males of Dawson's burrowing bee, *Amegilla dawsoni* (Hymenoptera: Anthophorini) compensate for reduced access to virgin females through sperm competition? *Behavioral Ecology* Vol. 11, No 3: 319 – 325.
- SIMMONS L. (2001) Sperm Competition and Its Evolutionary Consequences in the Insects. *Princeton University Press*. 434 pp.
- SIVINSKI, J. (1978) Intrasexual aggression in the stick insects *Diaperomera veliei* and *D.covilleae* and sexual dimorphism in the phasmatodea. *Psyche*, 85:395-405.
- STIREMAN, J. III, O'HARA, J. & WOOD, D. (2006) Tachinidae: evolution, behavior and ecology. *Annual Review of Entomology* 51: 525 – 555.
- THOMAS, F., RENAUD, F. & POULIN, R. (1998a) Exploitation of manipulator: 'hitch-hikung' as a parasite transmission strategy. *Animal Behaviour* 56: 199 – 206.
- THOMAS, F., RENAUD, F., DE MEEÛS, T. & POULIN, R. (1998b) Manipulation of host behaviour by parasites: ecosystem engineering in the intertidal zone? *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 1091 – 1096.
- THOMAS, F., POULIN, R., DE MEEÛS, T., GUEGAN, J. & RENAUD, F. (1999) Parasites and Ecosystem Engineering: What Roles Could They Play? *Oikos* Vol.84, No. 1: 167 – 171.

- THOMAS, F., ADAMO, S & MOORE, J. (2005) Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes* 68: 185 – 199.
- THORNHILL, R. Y ALCOCK, J. (2001) The evolution of insect mating systems. *Harvard University Press*. 547 pp.
- VET, L. & DATEMA, A. (1993) Clutch size in a larval-pupal endoparasitoid. *Proc. Exper. & Appl. Entomol.* 4: 85 – 89.
- VERA, A. Y CAMOUSSEIGHT, A. (2008) Ciclo vital de *Agathemera mesoauriculae* Camousseight, 1995 (Phasmatodea: Agathemeridae), en condiciones de cautiverio. *Revista Chilena de Entomología* 34: 57 – 61.
- WADE, M. J. & ARNOLD, S. J. (1980) The intensity of Sexual Selection in relation to male sexual behavior, female choice and sperm procedences. *Animal Behaviour* 28: 446 – 461.
- WALLACE, A. R. (1889) Darwinism: An Exposition of the Theory of Natural Selection with Some of its Applications. *London: MacMillan & Co.*
- WILLIAMS, G. C. (1966). Adaptation and Natural Selection: A Critique of Some Current Evolutionary Thought. *Princeton: Princeton Univ. Press*
- YUVAL, B. (2006) Mating systems of blood-feeding flies. *Annual Review of Entomology* 51: 413 – 40.
- ZAMORANO, J. (2009) Consecuencias de la aclimatación térmica pupal sobre rasgos de historia de vida y la tasa metabólica de la mosca parasitoide de altura *Phasmovora phasmophagae*. *Tesis de Magíster en Cs. Biológicas, Universidad de Chile.*

ANEXO

Contenido del DVD

1. Conductas de apareamiento de *Agathemera crassa* (.avi):

Se muestran tres de las grabaciones realizadas, en donde fue posible captar la ocurrencia de cópula entre uno de los machos y la hembra. La velocidad con la que transcurre la grabación está aumentada al doble del tiempo real.

En el primer trío de animales que aparece, existe una interacción (aparentemente agresiva) entre ambos machos previa a la cópula, mientras que la hembra se desplaza alrededor de la arena experimental. Al cabo de unos minutos, la cópula se produce con el macho de menor CPA (marcado con un punto). Nótese el giro en 360° que realiza el macho una vez unida su genitalia con la de la hembra.

En el segundo trío de animales que se muestra, también ocurre una interacción entre los machos, la que es mucho más enérgica que la producida en el trío anterior. Al cabo de unos minutos, la cópula se produce con el macho con menor CPA (marcado con un punto). Vuélvase a notar el giro en 360° que realiza el macho una vez unida su genitalia con la de la hembra.

Finalmente, se muestra un tercer trío de animales, en el cual no existe una interacción entre los machos previa a la cópula. El macho con menor CPA no busca el encuentro directo con el macho opuesto ni tampoco con la hembra. Por su parte, el macho con mayor CPA permanece montado sobre la hembra por varios minutos hasta que ocurre la cópula entre ellos. Vuélvase a notar el giro en 360° que realiza el macho una vez unida su genitalia con la de la hembra.

2. Combate entre machos 1 (.avi):

Muestra una lucha entre machos mientras uno de ellos (aquel de mayor CPA, marcado con dos puntos) se mantiene en cópula con la hembra. Nótese la utilización de las patas en la interacción.

3. Combate entre machos 2 (.avi):

Muestra una lucha entre machos mientras uno de ellos (aquel de menor CPA, marcado con un punto) se mantiene en cópula con la hembra, quien al mismo tiempo se desplaza por la pared del contenedor. Nótese la utilización de las patas en la interacción.