

Efectos de la exposición lumínica
prolongada durante el reposo de *Astylus*
trifasciatus (Guérin-Méneville, 1844)
(*Coleptera: Melyridae*): Una
aproximación experimental al efecto de
la contaminación lumínica en insectos
diurnos.

Tesis

Entregada A La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

Sofía Raquel Valenzuela Zuccar

Diciembre, 2022

Director de Tesis Dr:

Claudio Veloso Iriarte

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por la candidata.

Sofia Raquel Valenzuela Zuccar

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día

Director de Tesis:
Dr. Claudio Veloso
.....

Co-Director de Tesis
Dr.
.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. ..Rodrigo..Vásquez....

Dr. ..Cristian..Villagra.....

Dr.

Dr.

Dedicado a todos los bichitos que dieron su vida y
su libertad para la realización de esta tesis
(y la anterior).

BIOGRAFÍA



Sofía Raquel Valenzuela Zuccar nació en la ciudad de Santiago el domingo 24 de abril del año 1994. Luego de terminada su educación media, el año 2012 ingresó a la Universidad de Chile para cursar la carrera de Biología con mención en Medio Ambiente en la Facultad de Ciencias. En la misma Casa de Estudios y facultad, como prosecución de estudios procedió a cursar el Magister en Ciencias Biológicas, ingresando el año 2021, el cual tiene como resultado la presente tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo y guía de mi profesor Claudio Veloso; que María José Kaffman me haya prestado techo; que Felipe Rojas me haya ayudado contra el horrible proceso de enfrentar RStudio; a César Suay e Irene Zuccar por su amor, comprensión y apoyo; y a Edith Parrini por haberme dado las bases para quien soy hoy.

ÍNDICE DE MATERIAS

LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
Hipótesis.....	8
Objetivos.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Captura y mantención de los animales.....	9
Tratamiento experimental.....	10
Metabolismo y patrón respiratorio.....	10
a) Sistema de medición metabólica	10
b) Protocolo	11
c) Análisis de mediciones	12
Rendimiento.....	13
a) Sistema de caminata	13
b) Protocolo	14
c) Tratamiento de datos	15

Temperatura preferencial y actividad.....	15
a) Sistema térmico	15
b) Protocolo	16
c) Tratamiento de datos	17
Longevidad.....	17
Análisis estadísticos.....	17
RESULTADOS.....	20
Metabolismo y patrón respiratorio.....	20
Rendimiento.....	31
Temperatura preferencial y actividad.....	38
Longevidad.....	43
DISCUSIÓN.....	44
Metabolismo y patrón respiratorio.....	44
Rendimiento.....	45
Temperatura preferencial y actividad.....	48
Longevidad.....	50
CONCLUSIONES.....	54
BIBLIOGRAFÍA.....	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Tamaño muestral para cada experimento (n).....	19
Tabla 2: Patrón respiratorio (df=3).....	22
Tabla 3: Duración ciclo respiratorio y fases (df=3).....	24
Tabla 4: Resultados mediciones metabolismo (df=3).....	27
Tabla 5: Resultados pruebas <i>a posteriori</i>	29
Tabla 6: Resultados rendimiento locomotor (df=1).....	35
Tabla 7: Resultados temperatura preferencial (df=1).....	39
Tabla 8: Individuos activos durante el experimento de temperatura preferencial (df=1)	41
Tabla 9: Longevidad (df=1).....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Brillo del cielo nocturno en la zona de Chile Central.....	5
Figura 2: Fotografía de <i>Asthylus trifasciatus</i>	6
Figura 3. Fases de un ciclo en DGE.....	7
Figura 4. Número de ciclos y frecuencia.....	23
Figura 5. Duración fases del ciclo respiratorio.....	25
Figura 6. Resultados de metabolismo.....	30
Figura 7. Curvas de rendimiento.....	32
Figura 8. Parámetros de rendimiento locomotor.....	36
Figura 9. Temperatura preferencial.....	40
Figura 10. Porcentaje de individuos activos durante el experimento de temperatura preferencial.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ALAN	Luz artificial durante la noche (trad.).
CGE	Intercambio gaseoso cíclico.
CoGE	Intercambio gaseoso continuo.
DGE	Intercambio gaseoso discontinuo.
mb	Masa corporal.
LL	Ciclo de luz continua 24 horas.
LO	Ciclo Luz/Oscuridad.
LLL	Tratamiento de LL medido en condición de luz.
LLO	Tratamiento de LL medido en condición de oscuridad.
LOL	Tratamiento de LO medido en condición de luz.
LOO	Tratamiento de LO medido en condición de oscuridad.
Trat.	Tratamiento.
Parám.	Parámetro.
Norm.	Normalidad
Homoc.	Homocedasticidad
CT_{máx.}	Temperatura crítica máxima.
CT_{mín.}	Temperatura crítica mínima.

Top.	Temperatura optima.
Tbr.	Amplitud de rendimiento.
Dist máx.	Distancia máxima.
df	Grados de libertad.
X	Promedio.
ds	Desviación estándar.
cv	Coefficiente de variación.
S2,4,8,10	Semana 2,4,8,10.

RESUMEN

La luz artificial es uno de los principales factores de contaminación de origen antrópico causante del decline mundial de insectos. En este trabajo se analizó el efecto de la contaminación lumínica sobre algunos elementos de la biología de *Astylus trifasciatus*, una especie de insecto diurno e importante polinizador nativo, bajo dos condiciones contrastantes de fotoperíodo día-noche: (i) luz:oscuridad y (ii) luz 24 h. Realizando mediciones a las 2, 4, 8 y 10 semanas de tratamiento. Se observó que *A. trifasciatus* presenta DGE como patrón respiratorio en reposo, sin cambios en su temporalidad, y con efectos sobre la tasa metabólica de reposo a las 10 semanas de tratamiento; presentó una disminución en la distancia máxima recorrida a través del tiempo, sin diferencias entre grupos; se encontraron diferencias en la temperatura de reposo preferidas, los individuos expuestos a luz continua presentaron menor temperatura preferencial que el grupo control; y, el grupo en tratamiento presentó una menor tasa de sobrevivencia, cumpliendo de manera parcial la hipótesis planteada.

ABSTRACT

Artificial light is one of the main factors on anthropogenic pollution that drives the insect decline worldwide. In this study, the effect of light pollution on some elements of *Astylus trifasciatus* biology, a diurnal insect species and important native pollinator, was analyzed under two contrasting day-night photoperiod conditions: (i) light:dark and (ii) light 24h. Taking measurements at 2, 4, 8, and 10 weeks of treatment. It was observed that *A. trifasciatus* shows DGE as respiratory pattern at rest, without changes in its temporality, with effects on the resting metabolic rate at week 10 of treatment; a decrease in the maximum walking distance was observe over time, with no differences between groups; differences in the preferred resting temperature where found, the individuals exposed to continuous light showed a lower preferential temperature than the control group; And The treatment group also showed a lower survival rate, partially fulfilling the proposed hypothesis.

INTRODUCCIÓN

El exceso de luz artificial ha transformado el cielo nocturno, alterando la composición e intensidad de la radiación lumínica nocturna (Kyba y col., 2011; Davies y col., 2013). Este fenómeno se conoce como ALAN por sus siglas en inglés "artificial light at night" (luz artificial durante la noche), y su principal consecuencia es el aumento del brillo en cielo nocturno, i.e. "resplandor del cielo" (Cinzano y col., 2001).

Este tipo de contaminación es nociva para la biodiversidad, sobre todo para los insectos. Entre los impactos generados por ALAN sobre estos, se encuentra el comportamiento de "vuelo hacia la luz", el cual aumenta las tasas de mortalidad debido al contacto con la fuente de luz, facilita la depredación o causa la muerte por el vuelo exhaustivo a su alrededor (Eisenbeis, 2006). También se ha encontrado importantes efectos sobre el desarrollo (van Geffen y col., 2014), la reproducción (van Geffen y col., 2015a, van Geffen y col., 2015b, Firebaugh & Haynes, 2016), la alimentación,

(van Langevelde et al., 2017) y sobre la respuesta inmune (Durrant y col., 2015, 2020), entre otros.

Aunque, aún es poco lo que se conoce sobre los efectos de ALAN en insectos diurnos en general (Desouhant y col., 2019; Borges, 2022), la evidencia disponible sobre estas especies sugiere que la contaminación lumínica es capaz de alterar su reproducción (Sanders et al., 2015) y disminuye su supervivencia (McLay y col., 2017, 2018). Además, el exceso de luz afecta la calidad y cantidad de reposo en laboratorio (Zimmerman, 2004; Le Glou y col., 2012; Hussaini y col., 2009). En el caso de la polilla diurna *Tegeticula maculata* (Lepidoptera: Prodoxidae), ALAN extiende el periodo de alimentación (Wilson y col., 2021); ocurriendo algo similar con *Apis dorsata* (Hymenoptera: Apidae), que aumenta su actividad con la luz de la luna (Dyer, 1985; Young y col., 2021), haciéndola sensible a ALAN, favoreciendo su dominancia sobre flores nocturnas.

Se ha encontrado que ALAN puede afectar la tasa de polinización de las plantas, pudiendo disminuir o aumentar las visitas de polinizadores diurnos (Giavi et al., 2021), lo que da luces de lo impredecible de los efectos que esta

perturbación puede tener sobre las interacciones comunitarias, como las redes de polinización, y por consecuencia, en todo el ecosistema. También la fuerte iluminación de algunos puntos puede provocar fototaxis (Tielens et al., 2021), teniendo como consecuencia migraciones y actividad conductual inadecuada (Borges, 2022), que puede desensamblar las comunidades, entre otros impactos.

La contaminación lumínica se ha reconocido como uno de los principales impulsores del alarmante declive poblacional en insectos (Bolliger y col., 2020; Boyes y col., 2020; Owens y col., 2020; Rydell y col., 2020; y Kalinkat y col., 2021). Reduciendo su biomasa total y tamaños poblacionales, alterando la composición relativa de las comunidades, lo que tiene consecuencias sobre las redes tróficas en las que están involucrados (Hölker, 2010; Nankoo y col., 2019). Por lo que estudios tendientes a entender los efectos de la luminosidad en insectos diurnos podría generar información importante en una era donde los insectos sufren una de las tasas de extinción más altas registradas (Sorg y col., 2013; Hallmann y col., 2017) con el potencial de desencadenar "Armagedón ecológico" (Leather, 2018; Carrington, 2017) a consecuencia

de esto. Afectando los servicios ecosistémicos en que participan (Schowalter y col., 2018; Macgregor & Scott-Brown, 2020).

En Chile, el 20,8 % de los cielos se reportaron como contaminados por luz entre los años 1996 y 1997 (Cinzano y col., 2001). Sin embargo, a 2015 este valor aumento a un 48,6% (Falchi y col., 2016), equivalente 367,88 km², posicionándolo como uno de los 20 países más contaminados lumínicamente en el mundo (puesto 19°). Esta situación hace que su biodiversidad se encuentre expuesta y amenazada por la contaminación lumínica. Sin embargo, los efectos negativos de la contaminación lumínica dentro del territorio son escasamente conocidos.

Esto es relevante en el contexto de la zona central, donde se concentra la mayor densidad poblacional humana del país y en consecuencia de contaminación lumínica (Fig. 1), superpuesta a un *hot spot* de biodiversidad (Arroyo y col. 2004), de importancia mundial.

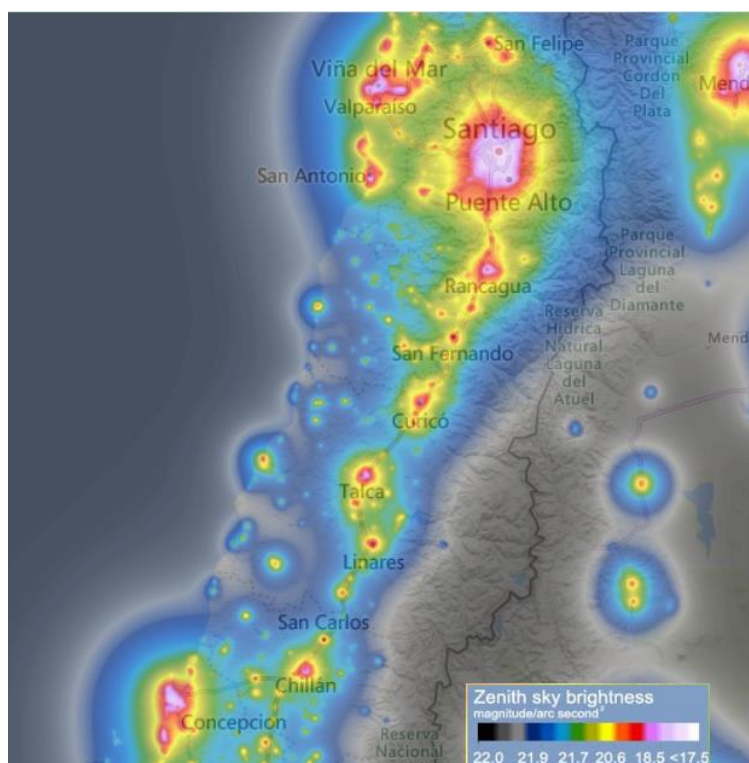


Figura 1. Brillo del cielo nocturno en la zona de Chile Central. La escala de color muestra el brillo del cielo en el cenit (magnitud/arc s²), desde el cielo nocturno más oscuro (negro) al más iluminado (blanco). Información de 2015 publicada en Falchi y col., 2016¹.

En este trabajo se estudiaron los efectos que ALAN puede tener sobre el metabolismo energético en reposo, patrón respiratorio, rendimiento locomotor (utilizado como un proxy de adecuación biológica, Bennett & Huey, 1990), la temperatura preferencial y longevidad en insectos diurnos al perturbar el periodo de reposo con luz.

¹ <https://www.lightpollutionmap.info/>

Para ello se utilizó como modelo la especie *Astylus trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera: Melyridae) (Fig. 2), conocido como pololo común. Un coleóptero melírido diurno, polinizador nativo de Chile central (Solervicens & Estrada, 1997; Estrada, 2002). Esta especie presenta un claro patrón respiratorio de intercambio gaseoso discontinuo durante los periodos de reposo (Valenzuela-Zuccar, 2020), lo que permite una fácil evaluación de cambios metabólicos debido a perturbaciones a través de respirometría.



Figura 2: Fotografía de *Astylus trifasciatus*. Por Javier Gross.

El patrón de intercambio gaseoso discontinuo o DGE, por sus siglas en inglés "Discontinuous Gas Exchange" (Punt y col., 1957), se clasifica como un rasgo fisiológico característico del estado de reposo, y presenta un patrón de tres fases: 1) Fase abierta (O), donde una gran cantidad de CO₂ es liberado en poco tiempo a consecuencia de la apertura total de los

espiráculos; 2) Fase cerrada (C), la cual está asociada a un cierre total de los espiráculos; y 3) Fase "Flutter" (F), donde se observa una apertura y cierre rápido y consecutivo de los espiráculos, generando una pequeña liberación de CO₂ (Thienel y col. 2015; Chown & Nicolson, 2004) (Fig. 3). Permitiendo describir en detalle los cambios en el patrón de intercambio gaseoso y el metabolismo del insecto, en una condición estándar.

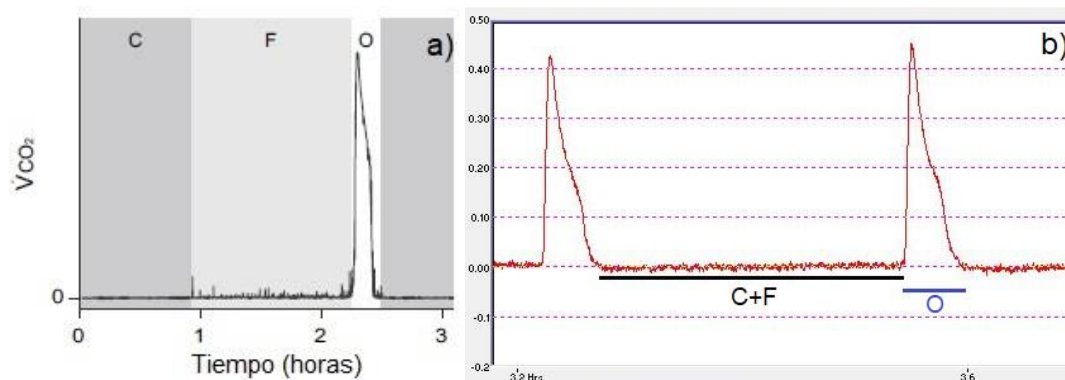


Figura 3. Fases de un ciclo en DGE. a) Emisión de CO₂ mostrando intercambio gaseoso discontinuo (DGE), indicando las tres fases: cerrada "C" (gris oscuro), flutter "F" (gris claro), y abierta "O" (Blanco), modificado de Matthews y Terblanche (2015); y, b) Registro respirométrico de *Astylus trifasciatus* en reposo, mostrando el registro de la emisión de CO₂ (línea roja), fases cerrada y flutter "C+F" (línea negra), y fase abierta "O" (línea azul).

Hipótesis:

La exposición continua a luz artificial durante el periodo de reposo de *Astylus trifasciatus* afectará de forma negativa la fisiología de este insecto en su estado adulto debido a la alteración de la cantidad y calidad del reposo. Lo que conllevará a un aumento en su metabolismo, alterando el patrón de intercambio gaseoso durante el reposo, aumentando las emisiones de CO₂, disminuirá la duración de los ciclos respiratorios y aumentará su frecuencia, junto a una reducción en el tiempo en que se presenta discontinuidad respiratoria. También se reducirá su rendimiento, bajando su desplazamiento máximo de caminata, disminuirá su temperatura preferencial para suplir la demanda metabólica, y disminuirá su longevidad en comparación individuos que son expuestos a ciclos normales de luz:oscuridad.

Objetivos:**Objetivo general:**

Estudiar el impacto de la contaminación lumínica durante la fase de reposo sobre el patrón respiratorio, rendimiento, temperatura preferencial y longevidad de *A. trifasciatus*.

Objetivos específicos:

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

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

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura y mantención de los animales:

Se capturó un total de 73 individuos machos de *A. trifasciatus* entre el 20 de septiembre y el 8 de octubre de 2022, en el cerro San Cristóbal, ciudad de Santiago, Región Metropolitana de Chile Central. Los individuos fueron capturados por colecta activa y posteriormente transportados al laboratorio de Ecofisiología de Invertebrados, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Para su transporte se utilizaron jaulas de malla cilíndricas de aproximadamente 15 cm de diámetro y 25 cm de alto. Una vez en el laboratorio, los individuos fueron diferenciados con un patrón de puntos blancos sobre sus élitros, y fueron mantenidos en dos jaulas de tela de 27 L, con fotoperiodo normal y luz natural, cercanos a una ventana con una temperatura ambiental aproximada de 23 ± 2 °C. Fueron alimentados con polen granulado comercial (marca Aura Vitalis) molido y agua fresca *ad libitum*, el agua fue dispuesta en placas Petri con papel absorbente para evitar ahogamientos.

Tratamiento experimental:

Luego de transcurrido como mínimo una semana de aclimatación a las condiciones del laboratorio desde la captura de los individuos, estos fueron transferidos a cámaras termo y foto-reguladas para los tratamientos. Estos consistieron en: a) 24 h de luz continua (LL), o b) Un ciclo de 12:12 h de luz/oscuridad (LO), con un ciclo de temperatura ambiental entre los 15°C y 25°C, para la noche y el día respectivamente. Individuos de cada tratamiento fueron asignados a experimentos de respirometría o de rendimiento de manera exclusiva, en tanto la mayoría fueron utilizados en los experimentos de temperatura preferencial y longevidad indistintamente. Se registró el peso de los individuos de *A. trifasciatus* antes y después de cada experimento.

Metabolismo y patrón respiratorio:**a) Sistema de medición metabólica:**

Luego de 2, 4, 8 y 10 semanas en tratamiento experimental, se midió el metabolismo por respirometría a los individuos y se determinó su patrón respiratorio. Se utilizó un sistema de medición de CO₂, el cual consistió en un sistema abierto de flujo continuo de aire (60 ml/min), donde, antes de entrar a la cámara metabólica, el aire es filtrado mediante columnas

de hidróxido de bario (Baralyme®) y sulfato de calcio anhídrido (Drierite®), retirando el CO₂ y agua, respectivamente. Luego el aire entra en una cámara metabólica de vidrio (15 mL), donde se encuentra el animal, dentro de un gabinete foto- y termo- regulado. Al salir de la cámara el aire se filtra con Drierite®, y luego pasara por el registrador de CO₂: Sable CO₂ Systems International®, modelo FOXBOX.

b) Protocolo:

El sistema de medición se puso en marcha una hora antes del inicio de los experimentos para limpiar los restos de CO₂ y agua dentro de los conductos del aparato. Para cada tratamiento (LL/LO) los individuos se dividieron en dos condiciones de medición: con luz artificial (LLL/LOL), o en oscuridad (LLO/LOO), a 15°C de temperatura ambiente. Y se siguieron los protocolos propuestos para insectos por Chappell & Rogowitz (2000), Lighton & Turner (2004), y Nespolo y col. (2007), corroborado por Thienel y col. (2015).

Las mediciones se realizaron durante la fase nocturna, como mínimo por un periodo de 4 horas en total, considerando 10 min al inicio (antes de que ingresara el insecto), y al final

(luego de que este fuese retirado), para registrar la línea base. En caso de que no se completase el último ciclo respiratorio dentro de este periodo, y este, según las características de los ciclos anteriores, aparentara terminar dentro de los próximos 30 min, se consideró extender el tiempo de medición hasta completar dicho ciclo.

c) Análisis de mediciones:

Para el análisis de las mediciones de metabolismo obtenidas por respirometría se utilizó el software ExpeData (Sable Systems International®) versión 1.0.3. Se consideraron los primeros 30 min desde el ingreso del individuo a la cámara como periodo de aclimatación, por lo que este no fue analizado.

Posterior al tiempo de aclimatación, como primer paso se identificó la cantidad de tiempo en que el individuo presentó DGE respecto al tiempo total de la medición (terminado esta al retirar al individuo de la cámara), determinándose el porcentaje de tiempo en DGE, junto con contabilizar la cantidad de ciclos completos realizados en este periodo, y a partir de ambos datos de duración y número de ciclos se calculó la frecuencia de los ciclos.

Posteriormente se procedió a caracterizar dichos ciclos, midiendo: la duración de las fases C+F y O, junto a la duración total del ciclo; la tasa metabólica en reposo (mL CO₂/h), correspondiente al promedio de las emisiones de CO₂ durante todo el ciclo; la tasa metabólica masa específica, correspondiente a la división de la tasa metabólica de reposo por el peso corporal (mL CO₂/h*g); el volumen de CO₂ emitido (mL CO₂), correspondiente al volumen de CO₂ liberado durante la fase O; y, la tasa metabólica máxima (mLCO₂/h), correspondiente al promedio de la emisión máxima de CO₂ durante 5 s.

Rendimiento:

a) Sistema de caminata:

Luego de 2, 4, 8 y 10 semanas en tratamiento experimental, se evaluó el rendimiento locomotor mediante un experimento de velocidad de caminata a distintas temperaturas, basado en el protocolo de Gilchrist (1996). Para ello se creó un sistema de caminata a partir del corte longitudinal de un tubo de PVC de 2 m de largo y 10 cm de diámetro, forrado con tela en su interior para facilitar la adhesión de los insectos, y cubierto por laminas plásticas transparentes en

la porción abierta para apreciar el desplazamiento de los individuos sin que estos pudiesen escapar. Además, se colocaron huinchas de medición (definición en mm) a ambos costados para poder medir la distancia recorrida por el individuo de *A. trifasciatus*. A la mitad del tubo se colocó un sistema de rotación, para poder invertirlo en caso de que el insecto llegase al límite superior de este, y pudiese continuar su caminata, siguiendo el geotropismo negativo.

b) Protocolo:

Cada individuo fue colocado en un frasco individual e introducido en un baño térmico durante 10 min, para luego ser rápidamente trasladado a la base del sistema de caminata. Se registró la distancia recorrida, en cm, durante un periodo de 4 min, contabilizados con cronometro. En caso de que el individuo llegase al límite superior, se rotó el sistema de forma antihoraria para que este pudiese continuar.

Se siguió una secuencia térmica de 5, 10, 15, 20 ,25, 30, 35 y 40° para evitar daño fisiológico irreversible, y cambios conductuales causados por temperaturas altas. Considerando un descanso mínimo de 15 min entre mediciones, a una temperatura ambiente de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ aprox. para minimizar

efectos de aclimatación.

c) Tratamiento de datos:

A partir de los valores obtenidos de distancia recorrida y temperatura se generó la curva de rendimiento para cada individuo de manera independiente, ajustando los datos a una función polinomial de segundo orden. A partir de esta ecuación se determinó: temperatura crítica mínima (CT_{mín.}) y máxima (CT_{máx.}), temperatura óptima (Top.), amplitud de rendimiento (Tbr.) y distancia máxima (Dist máx.), esta última correspondiendo al rendimiento máximo (Huey & Stevenson, 1979).

Temperatura preferencial y actividad:

a) Gradiente térmico:

Los experimentos de temperatura preferencial fueron realizados anterior o posterior a los experimentos de rendimiento/respirometría. Para ello se generó un gradiente térmico estable entre los 2 a 56 °C aproximadamente, en un terrario de 50 cm de largo, 20 cm de ancho y 20 cm de alto, con arena como sustrato, cubierto de una tela fina para facilitar la movilización de los individuos y tapado con una rejilla, para evitar el escape de los animales.

b) Protocolo:

El experimento se llevó a cabo en una habitación cerrada y sin ventanas. Al momento de realizar comenzar el experimento, los individuos fueron colocados de manera aleatoria dentro del terrario, con luz. Luego de transcurridos 30 min desde la colocación de los animales se registró la temperatura corporal de aquellos en estado de reposo ($^{\circ}\text{C}$), y se tomó nota de aquellos en actividad (es decir, en movimiento). Luego de transcurrida 1 h desde el inicio de la actividad se repitió la toma de datos, procediendo con posterioridad a apagar la luz de la habitación. Luego de transcurrida otra hora, es decir 2 h desde el inicio del experimento, se repitieron las mediciones y luego se devolvió a los individuos a sus cámaras de tratamiento. La temperatura corporal de los individuos en estado quiescente fue considerada como temperatura preferencial de reposo.

Al inicio, y después de cada medición se revisó la mantención del gradiente térmico. Todas las mediciones de temperatura se realizaron con un termómetro digital infrarrojo inalámbrico (marca EXTECH, modelo Dual laser 12", sensibilidad de $0,1^{\circ}\text{C}$).

c) Tratamiento de datos:

En el caso del análisis de actividad, se comparó el número de individuos activos con el número total de la muestra (activos + quiescente) para cada tratamiento.

Longevidad:

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

Análisis estadísticos:

En los análisis estadísticos se utilizó el software RStudio versión 1.1.383, considerando un α de 0,05. Para determinar la prueba a utilizar se evaluaron los tres supuestos de (i) normalidad, por medio de la prueba de Shapiro-Wilk's; (ii) homocedasticidad, por medio de la prueba de Bartlett; y (iii) independencia, la cual se obtuvo de no reiterar mediciones en los mismos individuos.

Para el análisis de significancia estadística, en caso de cumplirse los tres supuestos mencionados con anterioridad, se utilizó como prueba paramétrica ANCOVA, con la masa corporal (mb) como covariable. En caso de no obtener normalidad u homocedasticidad, se utilizó la prueba de permutaciones. En los análisis *a posteriori*, para datos paramétricos se realizó la prueba de Tukey, y para no paramétricos una prueba de anova con permutaciones.

Para la sistematización de los datos, cálculo de promedios, desviación estándar, coeficiente de variación, error estándar y generación de gráficos se utilizó el software Microsoft Excel (Office 365).

A continuación, se detalla en número de individuos por experimento:

Tabla 1: Tamaño muestral para cada experimento (n).

Experimento	Tratamiento		Semana 2	Semana 4	Semana 8	Semana 10
Metabolismo	LLL		10	10	10	8
	LLO		10	10	8	8
	LOL		9	10	9	5
	LOO		9	10	9	8
Rendimiento	LL		9	8	8	6
	LO		9	10	8	7
Temperatura Preferencial	30 min (Luz)	LL	17	14	11	7
		LO	13	15	8	9
	1 h (Luz)	LL	18	15	11	7
		LO	13	13	10	8
	2 h (oscuridad)	LL	20	16	11	7
		LO	14	15	12	10
Actividad	LL		20	16	11	7
	LO		18	18	12	9
Longevidad	LL		30			
	LO		28			

RESULTADOS

Como se indicó en la metodología, cada experimento fue realizado solo una vez por individuo, para cada uno de los tiempos de tratamiento (semanas 2, 4, 8 y 10), por lo que no hay repetición de datos, ya que cada uno corresponde a un individuo. A continuación, se presentan los resultados para cada experimento:

Metabolismo y patrón respiratorio:

Respecto al patrón respiratorio presentado por los individuos durante las mediciones de respirometría, tenemos que estos presentan DGE casi un 100% del tiempo, teniendo el menor porcentaje de tiempo en el tratamiento LOL en la segunda semana (Tabla 2). Debido a la alta similitud de los valores de % de DGE y su baja variabilidad, el software utilizado no pudo realizar el análisis estadístico para estos datos.

En promedio se observaron 4 ciclos respiratorios completos de DGE, sin embargo, a nivel individual se presentaron individuos que completaron un solo ciclo respiratorio durante

toda la medición, o el caso contrario, aquellos que realizaron de 11 a 13 ciclos. Respecto a la frecuencia de los ciclos en general se obtuvieron valores en torno a los 0,4 mHz, y, como es de esperar, se presenta una variabilidad similar a la del número de ciclos registrados (Tabla 2).

Se puede observar que en la semana 2, para el número de ciclos y la frecuencia, no se presenta mayor diferencia entre los tratamientos, destacando una mayor variabilidad en los valores para el tratamiento LLL (situación que se sostiene durante el transcurso del tratamiento, a excepción de la semana 8), sin embargo, a medida que transcurre el tiempo de tratamiento, se observa una tendencia a la diferenciación de los valores de LLO y LOO respecto a LLL y LOL, donde aquellos medidos en oscuridad tienden a tener valores más bajos que aquellos medidos en luz. Esta diferenciación también se observa de manera gráfica en la Figura 4.

Tabla 2: Patrón respiratorio (df=3).*

Parám.	Numero de ciclos				Frecuencia				DGGE %			
Unidad	n°				mHz				%			
Trat	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO
Semana 2												
X	4	4	4	4	0,465	0,424	0,436	0,427	98,3	100,0	93,5	100,0
ds	3	2	1	1	0,281	0,155	0,111	0,088	5,2	0,0	13,0	0,0
cv	0,63	0,42	0,30	0,30	0,60	0,37	0,25	0,21	0,05	0,00	0,14	0,00
F valor	0,139				0,106				-			
P valor	0,936				0,956				-			
Semana 4												
X	4	4	4	3	0,419	0,362	0,385	0,317	100,0	100,0	100,0	100,0
ds	3	2	1	1	0,311	0,144	0,098	0,091	0,0	0,0	0,0	0,0
cv	0,76	0,51	0,26	0,41	0,74	0,40	0,25	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00
F valor	0,613				0,543				-			
P valor	0,611				0,656				-			
Semana 8												
X	4	3	4	4	0,359	0,316	0,412	0,389	100,0	100,0	98,6	100,0
ds	2	1	2	2	0,111	0,145	0,223	0,169	0,0	0,0	4,1	0,0
cv	0,44	0,54	0,64	0,51	0,31	0,46	0,54	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00
F valor	0,656				0,535				-			
P valor	0,587				0,662				-			
Semana 10												
X	5	4	5	3	0,466	0,355	0,450	0,330	100,0	100,0	100,0	100,0
ds	3	2	1	2	0,233	0,197	0,113	0,132	0,0	0,0	0,0	0,0
cv	0,60	0,59	0,29	0,53	0,50	0,56	0,25	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00
F valor	0,897				1,034				-			
P valor	0,456				0,395				-			

*Parám= parámetro, Trat= tratamiento, X= promedio, ds= desviación estándar, cv= coeficiente de variación, y F y p valor= estadígrafos F y p.

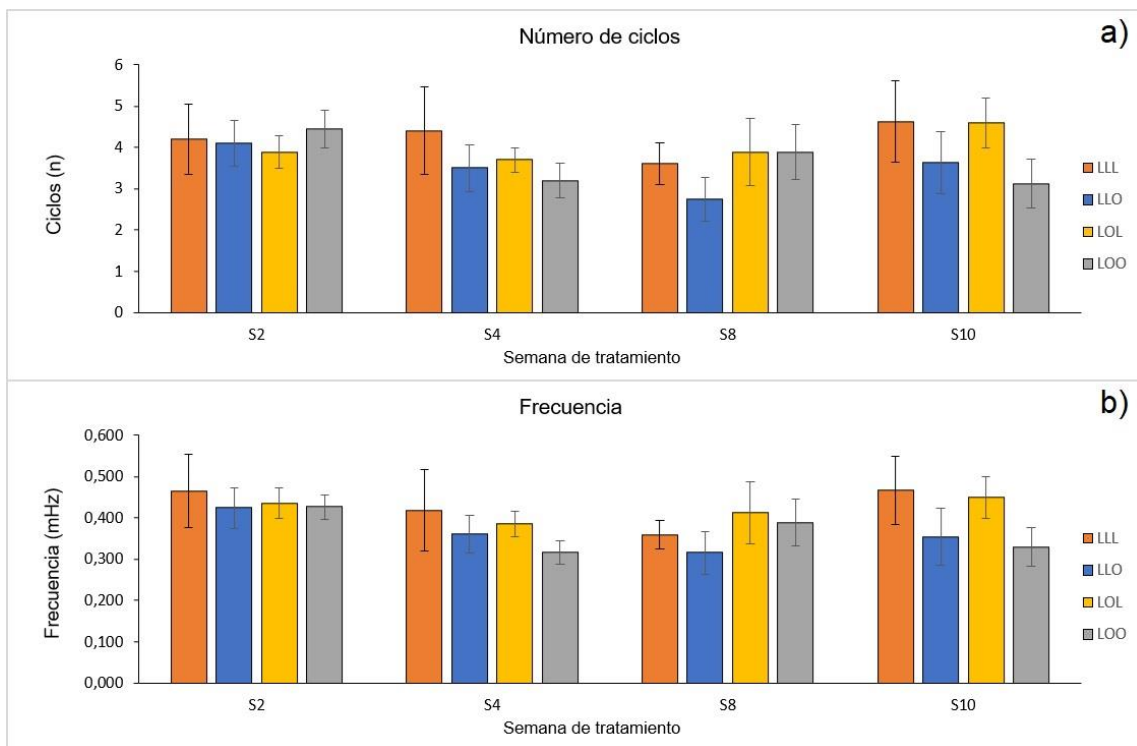


Figura 4. Número de ciclos y frecuencia. (a) y (b), respectivamente, obtenidas para LLL (naranja), LLO (azul), LOL (amarillo) y LOO (gris), a la semana 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, con su correspondiente barra de error estándar.

En cuanto a la duración de los ciclos (Tabla 3), tal como se esperaba según la literatura, la duración de las fases C+F fue mayor a la fase O. Se puede observar una mantención en la duración de la fase O, en la semana 2 ronda entre los 175 y 199 s, en la semana 4 entre 173 y 204 s, en la semana 8 entre 171 y 203 s, y en la semana 10 entre los 166 y 209 s. En general la duración menor de la fase O está asociada al tratamiento LLL, exceptuando la semana 2, y la mayor a LOO, exceptuando la semana 8.

Tabla 3: Duración ciclo respiratorio y fases (df=3).

Parám.	Fase C+F				Fase O				Duración total ciclo			
Trat.	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO
Semana 2												
X	2767	2496	2278	2262	183	182	175	199	2941	2668	2445	2458
ds	1644	959	658	591	29	18	16	21	1658	966	669	598
cv	0,59	0,38	0,29	0,26	0,16	0,10	0,09	0,11	0,56	0,36	0,27	0,24
F valor	0,468				1,967				0,446			
P valor	0,706				0,138				0,721			
Semana 4												
X	3058	2978	2565	3171	173	190	184	204	3223	3160	2737	3370
ds	1588	1102	648	810	32	19	16	29	1606	1113	658	822
cv	0,52	0,37	0,25	0,26	0,18	0,10	0,09	0,14	0,50	0,35	0,24	0,24
F valor	0,580				2,843				0,600			
P valor	0,632				0,052				0,619			
Semana 8												
X	2829	3490	2609	2735	171	203	201	191	2981	3603	2786	2913
ds	823	1298	761	959	33	53	47	48	852	1456	774	968
cv	0,29	0,37	0,29	0,35	0,20	0,26	0,24	0,25	0,29	0,40	0,28	0,33
F valor	1,337				0,997				1,022			
P valor	0,280				0,407				0,396			
Semana 10												
X	2312	3405	2146	3422	166	189	186	209	2468	3589	2324	3620
ds	806	1678	521	1861	23	39	44	62	826	1706	528	1850
cv	0,35	0,49	0,24	0,54	0,14	0,20	0,24	0,29	0,33	0,48	0,23	0,51
F valor	1,650				1,297				1,700			
P valor	0,203				0,297				0,193			

Por otra parte, la duración de las fases C+F para los tratamientos LLO y LOO tiende a aumentar a medida que transcurre el tiempo en tratamiento, lo que se ve reflejado también en la tendencia presentada para la duración total del ciclo (Fig. 5).

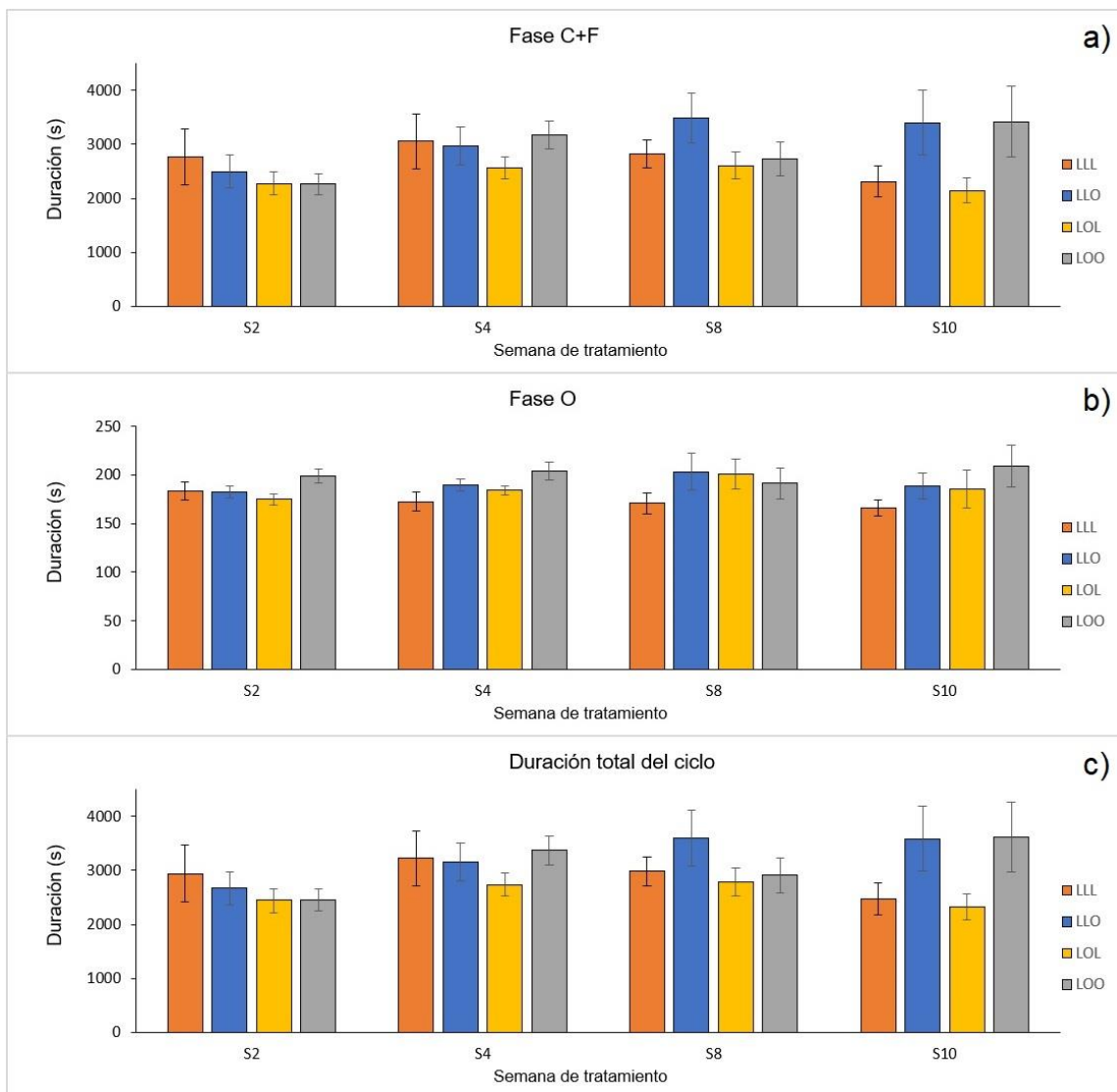


Figura 5. Duración fases del ciclo respiratorio. (a) Fase C+F, (b) Fase O, y (c) duración total del ciclo. Obtenidas para LLL (naranja), LLO (azul), LOL (amarillo) y LOO (gris), a la semana 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, con su correspondiente barra de error estándar.

Para los resultados de metabolismo (Tabla 4), los individuos del tratamiento L00, en promedio, tendieron a disminuir la tasa metabólica en reposo y específica a medida que trascurría el tiempo en tratamiento, en tanto los otros grupos no presentaron una tendencia clara. El volumen de CO₂ liberado tampoco presentó un patrón claro, tomando valores en torno a los 70 ml/CO₂ en promedio. De manera similar, no se observan tendencias para la tasa metabólica máxima, excepto una disminución promedio del tratamiento L00 en las semanas 8 y 10, en general esta se encontró cercana a 1 ml CO₂/h indistintamente del tratamiento y la semana de medición.

En la semana 10 se obtuvieron diferencias significativas en la tasa metabólica de reposo, tasa metabólica específica, y en el metabolismo máximo. Al realizar pruebas *a posteriori* se obtuvo una diferencia significativa para el tratamiento L00, solo respecto a L0L para la tasa metabólica; para la tasa metabólica específica se tuvo que el tratamiento L00 difiere de manera estadísticamente significativa de los otros tres tratamientos; y, por último, para el metabolismo máximo, al realizar la prueba *a posteriori* de Tukey no se obtuvo diferencia alguna entre tratamientos (Tabla 5).

Tabla 4: Resultados mediciones metabolismo (df=3).

Parám.	Tasa metabólica				Tasa metabólica específica			
Unidad	ml CO ₂ /h x10 ⁻²				ml CO ₂ /h*g x10 ⁻²			
Trat.	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO
Semana 2								
X	3,937	3,258	2,920	3,040	22,42	18,82	17,59	18,48
ds	1,759	1,602	0,614	0,790	9,830	5,964	2,822	5,018
cv	0,45	0,49	0,21	0,26	0,44	0,32	0,16	0,27
F valor	1,149				1,024			
P valor	0,344				0,394			
Semana 4								
X	3,237	2,400	2,674	2,349	18,37	15,11	15,87	14,24
ds	1,783	0,504	0,595	0,588	9,265	4,691	3,406	3,789
cv	0,55	0,21	0,22	0,25	0,50	0,31	0,21	0,27
F valor	1,606				0,941			
P valor	0,205				0,431			
Semana 8								
X	2,945	2,134	2,771	1,934	16,10	13,35	16,01	11,60
ds	0,865	1,172	1,148	0,460	4,870	6,463	6,439	2,589
cv	0,29	0,55	0,41	0,24	0,30	0,48	0,40	0,22
F valor	2,450				1,574			
P valor	0,082				0,215			
Semana 10								
X	3,323	2,987	3,612	1,962	18,48	17,95	20,54	11,52
ds	0,633	1,463	0,738	0,715	3,991	6,784	1,688	4,069
cv	0,19	0,49	0,20	0,36	0,22	0,38	0,08	0,35
F valor	5,175				4,837			
P valor	0,00671				0,00865			

Tabla 4: Continuación.

Parám.	Volumen CO ₂				Tasa metabólica máxima			
Unidad	ml CO ₂				ml CO ₂ /h			
Trat.	LLL	LLO	LOL	LOO	LLL	LLO	LOL	LOO
Semana 2								
x	75,43	72,09	63,81	65,76	1,119	1,056	0,9905	0,9833
ds	19,81	24,41	18,94	13,24	0,205	0,317	0,209	0,162
cv	0,26	0,34	0,30	0,20	0,18	0,30	0,21	0,16
F valor	0,906				0,999			
P valor	0,449				0,405			
Semana 4								
x	77,56	70,90	67,45	73,66	1,171	1,012	1,045	1,094
ds	24,67	30,06	15,67	19,05	0,241	0,366	0,209	0,172
cv	0,32	0,42	0,23	0,26	0,21	0,36	0,20	0,16
F valor	0,660				1,673			
P valor	0,582				0,191			
Semana 8								
x	68,62	67,47	68,22	55,78	1,013	1,008	1,051	0,8483
ds	21,47	17,93	7,42	29,40	0,268	0,218	0,079	0,407
cv	0,31	0,27	0,11	0,53	0,26	0,22	0,08	0,48
F valor	0,806				0,992			
P valor	0,500				0,409			
Semana 10								
x	72,40	77,37	68,43	63,02	1,128	1,060	1,012	0,8571
ds	23,89	20,50	11,38	15,55	0,299	0,209	0,123	0,242
cv	0,33	0,26	0,17	0,25	0,27	0,20	0,12	0,28
F valor	1,206				3,151			
P valor	0,329				0,043			

Tabla 5: Resultados pruebas *a posteriori*.

Tasa metabólica S10			
Pr(> t)	LLL	LLO	LOL
LLO	1,000	-	-
LOL	0,818	0,807	-
LOO	0,063	0,062	0,0175
Tasa metabólica específica S10			
p-valor	LLL	LLO	LOL
LLO	0,851	-	-
LOL	0,332	0,423	-
LOO	0,0022	0,0366	0,0016
Metabolismo máximo S10			
Pr(> t)	LLL	LLO	LOL
LLO	0,988	-	-
LOL	0,888	0,748	-
LOO	0,160	0,081	0,627

Las tendencias antes descritas se pueden apreciar de manera más clara en la Figura 6. Se observa claramente la tendencia a la disminución en la tasa metabólica en reposo y específica para el tratamiento LOO. Una disminución similar se aprecia para LLO, sin embargo, el metabolismo vuelve a subir en la semana 10. Esta disminución en la tasa metabólica se correlaciona con la tendencia a fases C+F más largas para el tratamiento LOO y el tratamiento LLO, exceptuando la semana 10. Indicando que la disminución metabólica radica en la extensión temporal de las fases C+F y no en una disminución del volumen de CO₂ liberado durante la fase O, su duración, o el metabolismo máximo.

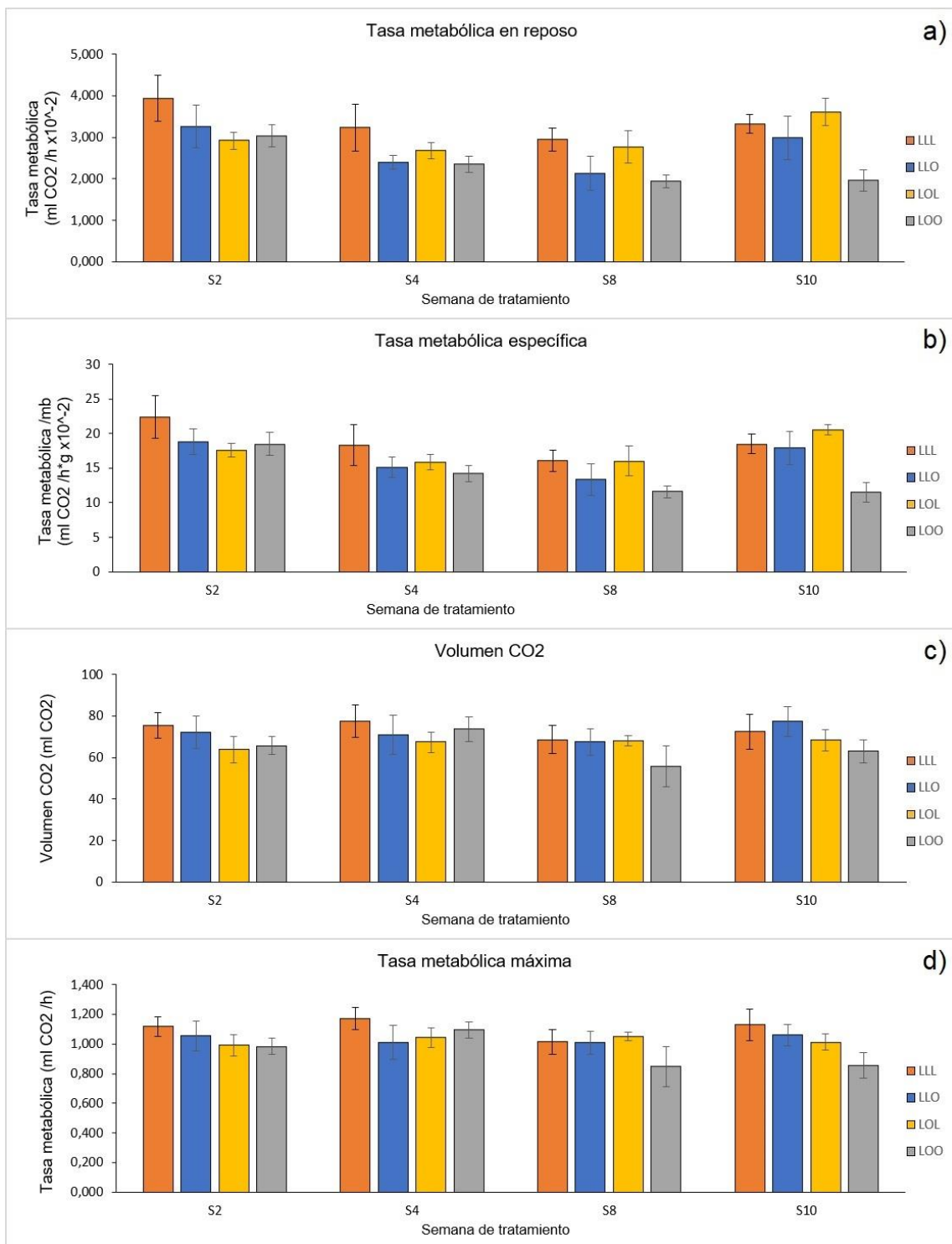


Figura 6. Resultados de metabolismo. (a) Tasa metabólica en reposo, (b) tasa metabólica específica, (c) Volumen de CO₂, y (d) tasa metabólica máxima. Obtenidas para LLL (naranja), LLO (azul), LOL (amarillo) y LOO (gris), a la semana 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, con su correspondiente barra de error estándar.

Rendimiento:

En general, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en los resultados obtenidos a partir del experimento de rendimiento.

Sin embargo, se observa un claro patrón, en el que el promedio de distancia recorrida por los individuos expuestos a LL es menor que aquellos en LO, y que la distancia recorrida en ambos grupos disminuye a medida que transcurre el tiempo, presentando los valores más bajos de recorrido en la semana 10 (Fig. 7). También es posible observar valores de error estándar relativamente altos, asociados principalmente a las distancias recorridas entre las temperaturas de 15-20 °C a los 35 °C, los cuales también presentan la tendencia de ser aún más altos para las barras asociadas a los individuos de *A. trifasciatus* mantenidos en LO.

Por otro lado, se tiene que los puntos de corte de las líneas de tendencia en el eje de la temperatura, correspondientes a CT_{mín} y CT_{máx}, son muy similares para ambos tratamientos y se mantienen a en el transcurso del tiempo.

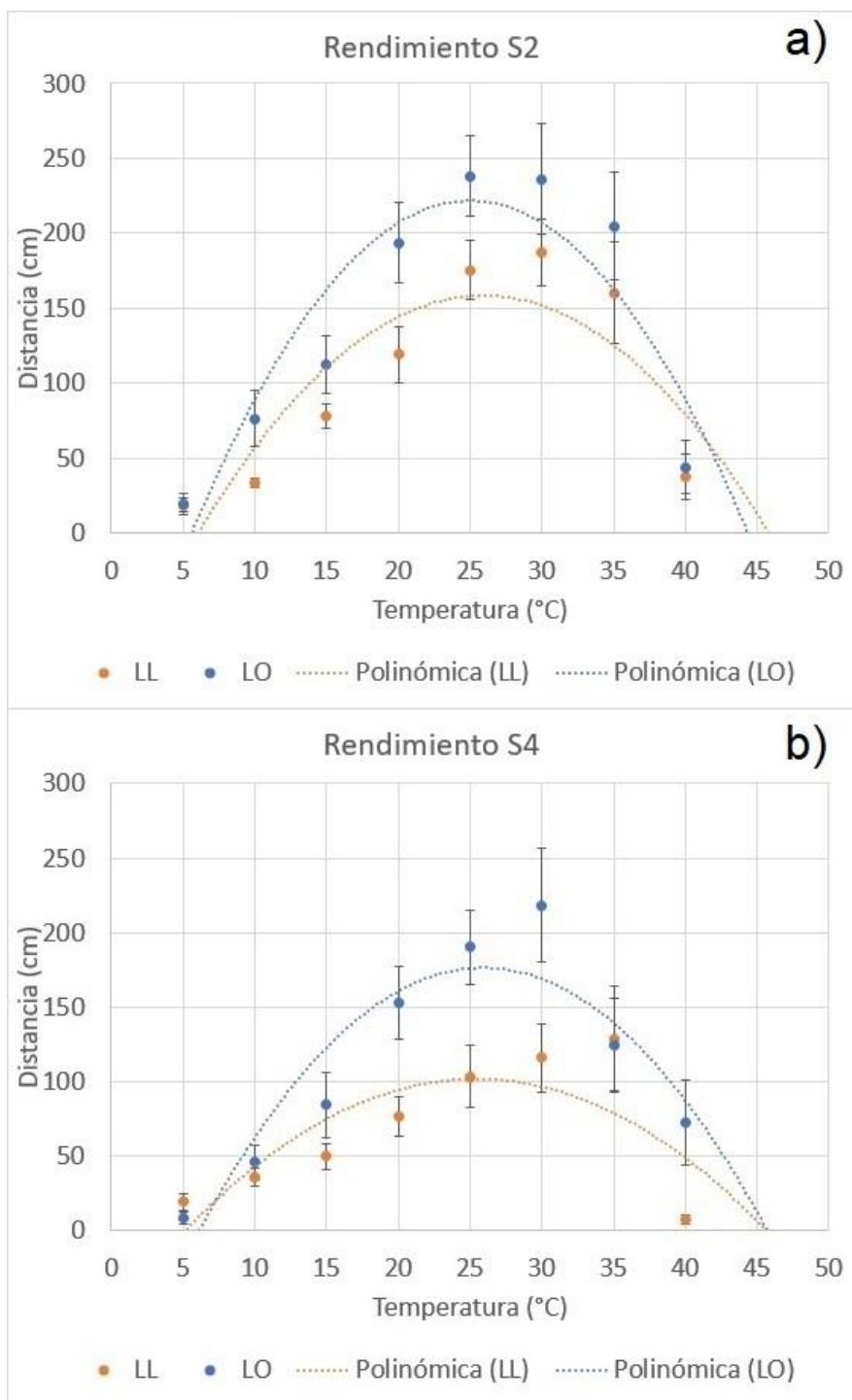


Figura 7. Curvas de rendimiento. Distancia recorrida en función del tiempo, para los individuos en tratamiento de LL (naranja) y LO (azul), a las: a) 2 semanas, b) 4 semanas, c) 8 semanas y d) 10 semanas de tratamiento. Con su correspondiente línea de tendencia polinómica de segundo grado y error estándar de los datos.

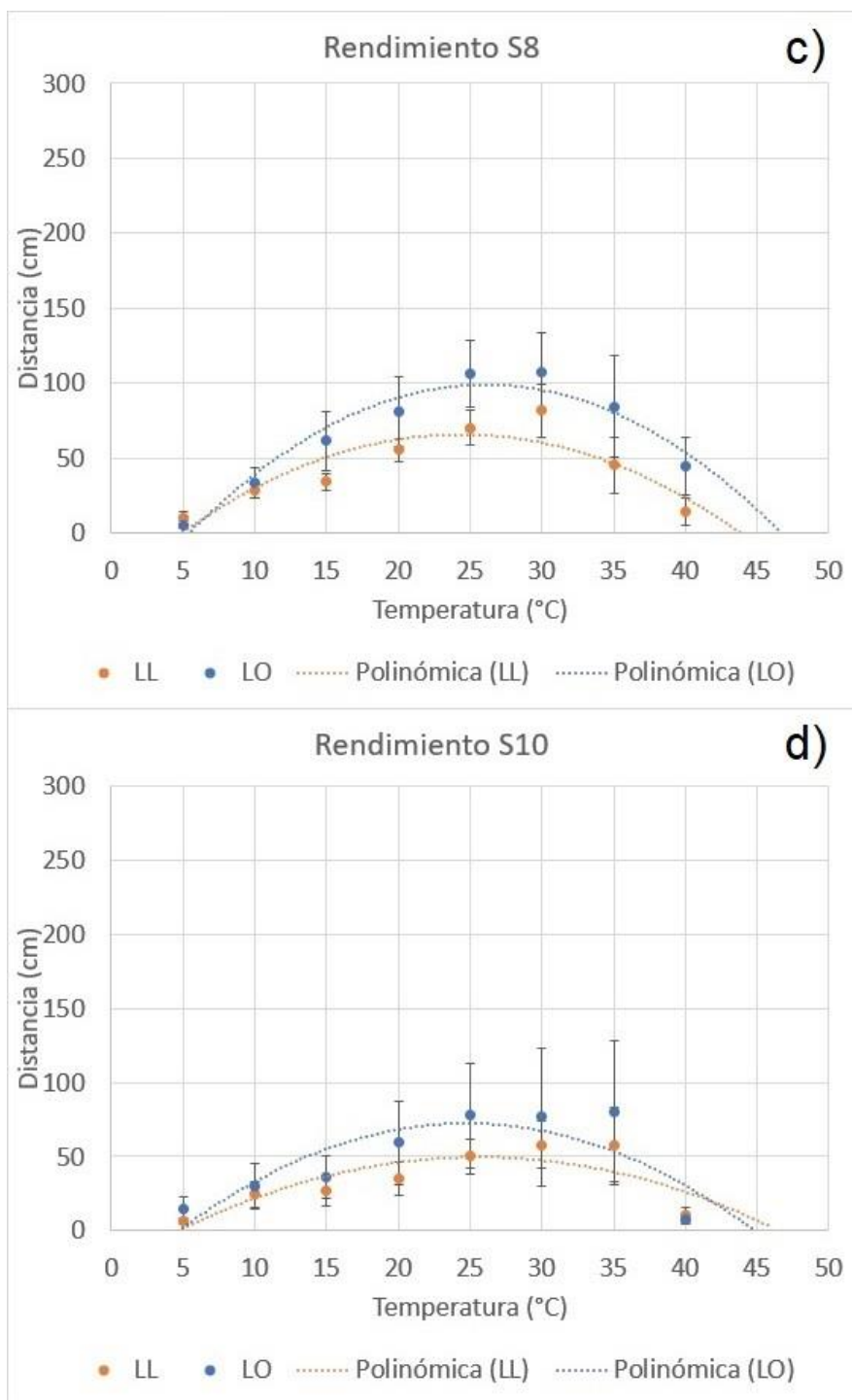


Figura 7. Continuación.

El comportamiento presentado en las líneas de tendencia respecto a las temperaturas queda explicitado en términos numéricos (Tabla 6). A través del tiempo se tiene que CT_{\min} para LL presenta valores entre los 4,3 a 5,7 °C, con un promedio de 4,8 °C, en tanto para LO los valores están entre los 4,4 a 6,2 °C, con un promedio algo más elevado de 5,5°C, presentando una leve tendencia a disminuir en el tiempo para ambos tratamientos; en el caso de CT_{\max} , el rango para LL va desde los 45,2 a 48,3 °C, con un promedio de 46,6 °C, y para LO se encuentra entre los 44,3 a 48,8 °C, con un promedio de 46,7 °C; para Top el rango de valores para LL va desde 24,7 a 26,3 °C, con un promedio de 25,7 °C, y para LO de 25,0 a 26,9 °C, con 26,3 °C de promedio.

En el caso de T_{br} , aunque sea poca la diferencia, se tiene un aumento paulatino, presentando los valores más bajos en la semana 2, desde los 14,2 a 18,2 °C para LL y de 14,1 a 19,1 °C para LO, y los más altos en la semana 10, de 18,2 °C para LL y 19,1°C, con promedios de 16,1 °C y 16,0 °C, respectivamente. Estas leves tendencias al cambio (CT_{\min} y T_{br}) o mantenciones (CT_{\max} y Top) se observan de manera más evidente en la Figura 8.

Tabla 6: Resultados rendimiento locomotor (df=1).

Parám.	CT mín.		CT máx.		Top		Tbr		Dist máx.	
Unidad	°C								cm	
Trat.	LL	LO	LL	LO	LL	LO	LL	LO	LL	LO
Semana 2										
X	5,7	5,7	46,5	44,3	26,1	25,0	14,2	14,1	160,6	223,1
ds	1,1	1,4	4,7	2,9	2,5	1,7	1,4	2,7	59,3	81,7
cv	0,19	0,24	0,10	0,07	0,10	0,07	0,10	0,19	0,37	0,37
F valor	0,003		1,453		1,205		0,025		3,832	
p valor	0,956		0,247		0,290		0,877		0,069	
Semana 4										
X	4,9	6,2	46,4	47,7	25,5	26,9	16,8	14,6	103,0	180,8
ds	1,6	0,9	3,3	8,5	2,2	4,5	3,0	2,4	49,2	80,3
cv	0,34	0,15	0,07	0,18	0,09	0,17	0,18	0,17	0,48	0,44
F valor	4,440		0,172		0,688		2,625		9,683	
p valor	0,052		0,684		0,420		0,126		0,0071	
Semana 8										
X	4,3	5,1	45,2	48,8	24,7	26,6	15,1	16,0	67,1	100,9
ds	2,5	1,7	8,7	8,1	3,6	3,7	4,6	3,6	28,2	74,0
cv	0,60	0,33	0,19	0,17	0,15	0,14	0,30	0,23	0,42	0,73
F valor	0,546		0,739		1,007		0,214		1,454	
p valor	0,473		0,405		0,334		0,651		0,248	
Semana 10										
X	4,3	4,4	48,3	45,9	26,3	26,8	18,2	19,1	50,3	72,6
ds	1,5	2,0	7,3	8,2	3,4	5,3	2,2	5,9	34,5	96,3
cv	0,35	0,44	0,15	0,18	0,13	0,20	0,12	0,31	0,69	1,33
F valor	0,028		0,313		0,056		0,118		0,286	
p valor	0,870		0,587		0,818		0,738		0,603	

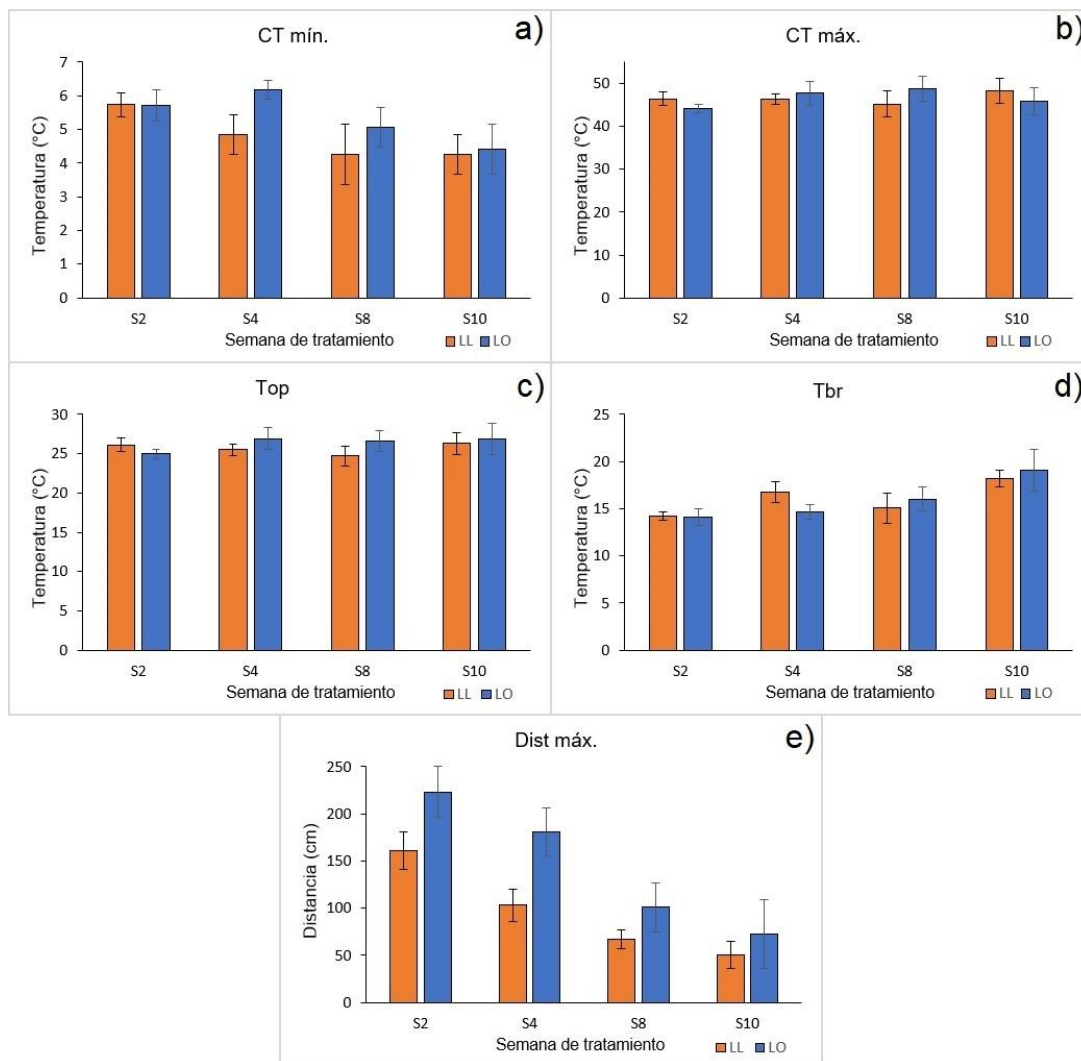


Figura 8. Parámetros de rendimiento locomotor. a) CTmáx, b) CTmín, c) Top, d) Tbr, y e) Dist máx, según LL (naranja) y LO (azul). A la semana 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, con su correspondiente barra de error estándar.

Respecto a la Dist máx. (Fig. 8, e), esta es mayor para LO que para LL, con una diferencia de 49,1 cm (34 %) en promedio, y que para ambos este parámetro disminuye en el tiempo, de 160,6 a 50,3 cm para LL y de 223,1 a 72,6 cm para LO (Tabla 6). Lo que se condice con lo observado en las curvas de rendimiento (Fig. 7).

Otro fenómeno que se pudo observar, que tiene incidencia sobre los resultados de rendimiento, fue el deterioro físico. Los individuos de *A. trifasciatus* provenientes del tratamiento LL perdieron una mayor cantidad de segmentos en sus extremidades que aquellos en LO. La pérdida comenzaba desde el tarso y tibia, hasta incluso perder el fémur, simultáneamente en distintas patas, habiendo individuos que se desplazaban casi en su totalidad con trozos de tibia, cuando aquellos del grupo LO tendieron a perder, en general, algunos tarsos, pero si se observó mayor dificultad en el desplazamiento al transcurrir el tratamiento. Esta diferencia También se apreció temporalmente, ya que aquellos en LL presentaron deterioro mucho antes que aquellos en LO, los cuales en su mayoría fallecieron con la totalidad de las piezas de sus patas.

Lamentablemente esta observación no fue cuantificada a detalle durante el transcurso del experimento, lo que dificulta su comparación cuantitativa.

Temperatura preferencial y actividad:

Se encontró que la diferencia de temperatura preferida por los individuos difirió de manera estadísticamente significativa entre los tratamientos, exceptuando en la semana 8, donde la diferenciación solo se presentó a las 2 h de experimento. En general LL presentó valores promedio entre los 21,0 a 36,4 °C, en tanto los valores de LO estuvieron en el rango de 39,4 a 46,9 °C (Tabla 7).

Durante la semana 2, el promedio de los valores durante todo el experimento da una temperatura preferencial de 28,3 °C para LL y de 40,5 °C para LO; en la semana 4 se obtuvieron 26,9 °C para LL y 43,2 °C para LO; en la semana 6 los individuos en LL tendieron a preferir temperaturas más altas, 33,4 °C, en tanto LO se mantuvo la tendencia entorno a los 40°C con 43,1 °C, sin embargo, a las 2 h de experimento la temperatura preferencial promedio de los individuos fue la más alta, 45,0 °C, lo que explicaría las diferencias estadísticas; y para la semana 10 LL presento una temperatura promedio de 23,8 °C, en tanto LO alcanzo los 41,8 °C.

En general, las temperaturas preferidas por LL son alrededor de 14,1 °C (33,5%) menores que las preferidas por LO.

Tabla 7: Resultados temperatura preferencial (df=1).

Tiempo	30 min (luz)		1 h (luz)		2 h (oscuridad)	
Trat.	LL	LO	LL	LO	LL	LO
Semana 2						
X	27,3	39,4	28,0	40,5	29,7	41,5
ds	16,8	9,0	13,8	5,2	12,6	7,7
cv	0,61	0,23	0,49	0,13	0,43	0,18
F valor	5,511		9,670		9,673	
p valor	0,026		0,0041		0,0039	
Semana 4						
X	25,8	46,9	27,5	41,6	27,3	41,0
ds	9,8	9,7	12,0	10,4	12,8	7,9
cv	0,38	0,21	0,44	0,25	0,47	0,19
F valor	32,478		10,921		12,290	
p valor	5,37E-06		0,0028		0,0016	
Semana 8						
X	32,3	41,3	36,4	43,1	31,4	45,0
ds	14,5	9,6	13,5	5,5	15,1	4,6
cv	0,45	0,23	0,37	0,13	0,48	0,10
F valor	2,175		2,130		8,785	
p valor	0,160		0,160		0,0074	
Semana 10						
X	21,0	43,2	26,1	42,1	24,5	40,1
ds	7,9	10,1	10,3	7,8	9,3	11,3
cv	0,38	0,23	0,39	0,18	0,38	0,28
F valor	21,221		14,448		9,100	
p valor	0,0005		0,0025		0,0087	

Esta tendencia de preferencia por valores más altos de temperatura de LO sobre LL se aprecia claramente en la Figura 9. Donde también se ve el alza en temperatura, mencionada anteriormente, presentada por LL en la semana 8.

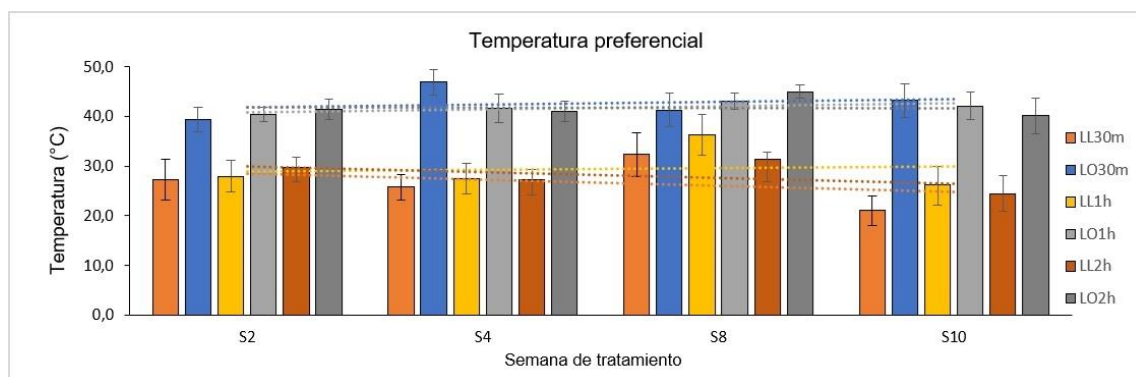


Figura 9. Temperatura preferencial. Presentada a los 30 min (con luz, LL en naranja, LO en azul), 1h (con luz, LL en amarillo, LO en gris claro) y 2 horas (en oscuridad, LL en terracota, LO en gris oscuro) de transcurrido el experimento, a la semana 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, con su correspondiente barra de error estándar y línea de tendencia.

Se puede también observar la diferencia en las temperaturas preferenciales entre tratamientos y la mantención de estas a través del tiempo, tanto durante el experimento mismo como en las semanas, a través de la agrupación de las líneas de tendencia y sus bajas pendientes.

Respecto al nivel de actividad de los individuos durante el transcurso del experimento de temperatura preferencial, se encontró que aquellos provenientes del grupo mantenido con

un ciclo de LO, independiente de la semana de tratamiento, presentaron mayor actividad que aquellos mantenidos con LL (Tabla 8). Este fenómeno se presentó con un patrón de disminución de la actividad para ambos tratamientos durante el transcurso del experimento, teniendo los valores más bajos a las 2 h de experimento, ya en condición de oscuridad. De manera similar la actividad general disminuyó a medida que avanzaron las semanas de tratamiento.

Tabla 8: Individuos activos durante el experimento de temperatura preferencial (df=1).

Tiempo	30 min (luz)		1 h (luz)		2 h (oscuridad)	
Trat.	LL	LO	LL	LO	LL	LO
Semana 2						
n activo	3	5	1	5	0	4
Actividad %	15,0	27,8	5,0	27,8	0,0	22,2
Semana 4						
n activo	3	3	1	5	0	3
Actividad %	12,5	16,7	6,3	27,8	0,0	16,7
Semana 8						
n activo	0	4	0	2	0	0
Actividad %	0,0	33,3	0,0	16,7	0,0	0,0
Semana 10						
n activo	0	1	0	2	0	0
Actividad %	0,0	10,0	0,0	20,0	0,0	0,0

Este comportamiento se puede observar de manera más ilustrativa en la Figura 10, donde se puede apreciar como las barras de colores cálidos, disminuye paulatinamente, hasta desaparecer a las 2 h de experimento, tanto en la

segunda como en la cuarta semana de tratamiento, para no presentar actividad alguna del grupo LL en las semanas 8 y 10. De manera similar, pero con porcentajes más altos, se observa que la actividad en el grupo LO, tiende a disminuir al transcurrir el experimento, sin embargo, este sigue presentando individuos activos a las 2 h de experimento, momento en el que la habitación se encuentra en total oscuridad, en las semanas 2 y 4, a diferencia del grupo LL, la cual solo desaparece a las 2 h en las semanas 8 y 10, con un patrón similar al grupo LL en las semanas 2 y 4.

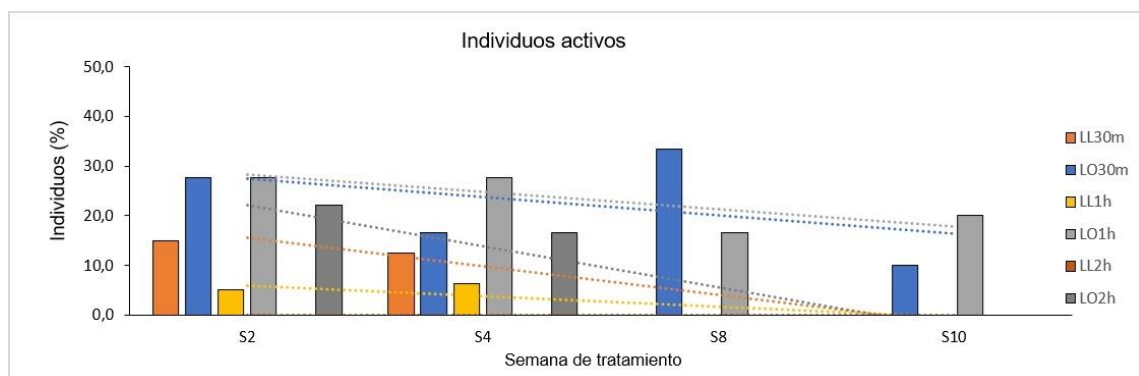


Figura 10. Porcentaje de individuos activos durante el experimento de temperatura preferencial. Presentado a los 30 min (con luz, LL en naranja, LO en azul), 1h (con luz, LL en amarillo, LO en gris claro) y 2 horas (en oscuridad, LL en terracota, LO en gris oscuro) de transcurrido el experimento, a las semanas 2, 4, 8 y 10 de tratamiento experimental, cada grupo con su correspondiente línea de tendencia.

Se puede observar la línea de tendencia para los 30 min y 1 h de experimento del tratamiento LO, a pesar de tener valores altos, presenta una baja pendiente, indicando un cambio menor

a través del tiempo. En tanto para LO a las 2 h de experimento y el tratamiento LL a 30 min, la línea de tendencia presenta valores más bajos, pero con la mayor pendiente de todos. Finalmente, la tendencia presentada para el tratamiento LL a 1 y 2 h de experimento presentan los valores más bajos, sin embargo, la pendiente que presentan es menor, siendo 0 para LL a 2 h de experimento.

Longevidad:

Con respecto a la longevidad, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos (Tabla 9). Donde la sobrevivencia de aquellos insectos mantenidos en condiciones cíclicas de LO vivieron 28 días (26,67 %) más, en promedio, que aquellos expuestos a un régimen continuo de iluminación. Junto con el seguimiento de la sobrevivencia de los individuos se registró su peso corporal para monitorear su condición general, sin embargo, no se observaron patrones o cambios relevantes.

Tabla 9: Longevidad (df=1).

Unidad	Tratamiento	n	X	ds	cv	F valor	p valor
Días	LL	30	77	32	0,42	8,937	0,0042
	LO	28	105	37	0,36		

DISCUSIÓN

Metabolismo y patrón respiratorio:

Se encontró que el patrón respiratorio en reposo principal de *A. trifasciatus* corresponde a DGE, esto se debería a que, al disminuir la demanda metabólica, se propone que la actividad cerebral (propia de los ganglios ubicados en la cabeza) es reducida, y aparece la DGE a consecuencia de que el control del organismo se redirige a los ganglios del tórax y el abdomen (Chown, 2011; Bustami & Hustert, 2000; Chown & Holter, 2000). También, el que este estado se mantuviera en casi el 100% del tiempo de medición indica que esta especie presenta facilidad para entrar en reposo.

Respecto a la tasa metabólica, solo se observaron diferencias a las 10 semanas de tratamiento, con una disminución significativa para el grupo L00. También se observó, que, independiente del tratamiento, la duración de la fase O se conservó a través de las semanas, indicando que la disminución de la tasa metabólica radica en la extensión temporal de las fases C+F y no en una disminución del volumen

de CO₂ liberado durante la fase O, su duración, o el metabolismo máximo.

Se ha observado que, en mediciones realizadas a temperaturas ambientales superiores a las utilizadas en el presente estudio, los individuos de *Astylus trifasciatus*, mantienen el patrón respiratorio de DGE (C.P. Veloso, comunicación personal, 16 de diciembre de 2022). Por lo que, la diferencia apreciada en la temperatura preferencial más baja para individuos de LL a pesar de tener temperaturas óptimas de rendimiento similares entre tratamientos, sumado al antecedente anterior de que la tasa metabólica tiende a mantenerse más alta en individuos en tratamiento de LL, o medidos en luz, podría sugerir que el realizar mediciones metabólicas a temperaturas ambientales superiores (25 o 30 °C) podría entregar diferencias más marcadas entre tratamientos.

Rendimiento:

La mantención de los parámetros de temperatura crítica (CT_{mín}, CT_{máx} y Top) podría implicar que no hay mayores alteraciones respecto al nivel de tolerancia a las temperaturas límite evaluadas. Pero si se aprecia un claro

patrón respecto al desplazamiento, donde la distancia recorrida máxima disminuye para ambos grupos a medida que pasan las semanas de tratamiento y aumenta la edad de los individuos, con una disminución más marcada para el grupo LL respecto a LO.

Esta disminución en la distancia máxima recorrida puede asociarse con el envejecimiento de los individuos. Los movimientos coordinados en insectos, como en otros grupos animales, dependen de la mantención de un adecuado y balanceado tono entre grupos musculares simétricos (Garrey, 1918; Harischandra y col. 2019), y, en consecuencia, la reducción en la funcionalidad en regiones del cerebro, órganos sensoriales, neuronas motoras, músculos, la cutícula y juntas de los apéndices motores (patas y alas), puede reducir la habilidad de caminar, volar, etc. (Promislow y col. 2022), presentándose disminuciones en el rendimiento con la edad (Williams, 1957). Por ejemplo, en *Drosophila*, el envejecimiento está asociado con reducciones en muchos aspectos cognitivos y conductuales tales como la locomoción y el sueño (Jones & Grotewiel, 2011).

La tendencia diferencial que presenta el grupo LL con distancias recorridas menores podría entonces relacionarse a un envejecimiento acelerado en comparación al grupo control debido a la exposición a luz continua. Este último punto coincidiría con el fenómeno observado de pérdida de piezas en las patas de los individuos pertenecientes al tratamiento LL, llegando a haber insectos solo con fémures, en tanto para LO, la pérdida de piezas se centró en los tarsos y se presentó a edades más avanzadas, explicando la diferencia en la capacidad de desplazamiento entre tratamientos.

Existen estudios que indican una pérdida en la capacidad del vuelo al envejecer en insectos (Promislow y col. 2022), y otros que indican que esta se mantendría (Aita y col. 2021). Por lo que sería importante evaluar el efecto en el rendimiento a través del vuelo, generando una aproximación más cercana a condición natural, ya que, al tratarse de insectos voladores, esta actividad es su principal medio de desplazamiento en función de poder encontrar flores, una disminución en la capacidad de volar debido a la exposición a luz artificial tendría importantes consecuencias en su adecuación biológica.

Temperatura preferencial y actividad:

Se ha encontrado en ectotermos, que la temperatura preferencial con frecuencia se corresponde estrechamente con temperaturas que maximizan diversos atributos del rendimiento, presentándose correlaciones entre la temperatura preferencial y la temperatura óptima (temperatura a la cual alguna métrica del rendimiento es óptima) (Huey & Bennett, 1987; Angilleta y col., 2002; y, Martin & Huey, 2008). En el caso del género *Drosophila*, existen antecedentes que sugieren que la temperatura preferencial es muy cercana a aquella que maximiza su rendimiento, como en el caso de la velocidad de caminata y fecundidad (Dillon y col. 2009).

Sin embargo, para ambos grupos de *A. trifasciatus*, tratamiento y control, los individuos prefirieron temperaturas (~30 °C y ~40 °C, respectivamente). Siendo superiores a la temperatura optima obtenida para rendimiento locomotor (~26 °C para ambos), contrario a lo indicado en la literatura, lo que podría sugerir que la temperatura de reposo pudiera estar relacionada a la temperatura optima de algún otro parámetro de rendimiento no evaluado en este estudio.

En *Drosophila* se ha encontrado que la temperatura preferencial también es determinada por el ritmo de la temperatura corporal (RTC) (Goda y col. 2017), traducándose en un ritmo de temperatura preferencial (RTP), donde la temperatura preferida aumenta durante el día y disminuye a medida que anochece (Kaneko y col. 2012). El RTC, y en consecuencia el RTP, es regulado por medio del reloj circadiano (Aschoff, 1983; Krauchi, 2002; y Weinert, 2010).

Por lo que una alteración en el ritmo circadiano podría alterar el RTC y en consecuencia el RTP de los individuos, ya que los individuos en LL no tienen el estímulo de luz/oscuridad para regular sus procesos metabólicos circadianos, causando la diferencia encontrada en las temperaturas preferidas, 10 °C más bajas para LL respecto a LO. Aunque, de todos modos, no se puede descartar en su totalidad que esto pueda deberse a cambios en otras vías metabólicas no relacionadas con el ciclo circadiano, necesitándose más estudios al respecto.

Resultaría muy interesante el estudiar aquellos metabolitos y vías metabólicas asociadas que se ven alteradas debido a la exposición constante a luz artificial, junto con un

estudio del rendimiento de estos a distintas temperaturas, a modo de buscar una correlación con lo observado conductualmente en los individuos.

Longevidad:

La longevidad, referida a la sobrevivencia de los individuos, fue un parámetro que difirió fuertemente entre los tratamientos, viviendo menos aquellos expuestos a luz continua. Este resultado se ha observado también en *Drosophila melanogaster*, donde la longevidad de los individuos se ve reducida cuando son expuestos a un régimen lumínico de 24h (Sheeba y col., 2000; Kouser y col., 2014), llegando a presentar hasta un 12% de reducción en su esperanza de vida (McLay y col., 2017).

En hembras de *A. trifasciatus* también se ha observado una menor longevidad en aquellos individuos expuestos a luz continua, sobreviviendo 22 días (18,8 %) menos que el grupo control (Valenzuela-Zuccar, 2020). Indicando que la disminución en la longevidad producto de la exposición continua a luz artificial sería un efecto no asociado al sexo, en esta especie.

Esta combinación de resultados obtenidos de una tendencia a un menor rendimiento locomotor, menor temperatura preferencial y menor actividad y longevidad, junto con el marcado deterioro físico en el grupo expuesto a luz continua podrían ser síntomas de un estado de estrés fisiológico.

Se han encontrado resultados que sugieren el espectro de luz visible presenta longitudes de onda altamente nocivas para los insectos, con efectos y rangos de onda especie específicos, llegando a ser más dañina que la exposición a luz UV para ciertos animales, posiblemente por la producción de especies de oxígeno reactivas (ROS) a nivel celular (Hori y col. 2014). Este fenómeno se vería, por ejemplo, en la exposición a luz de ampolletas tipo LED (utilizadas ampliamente en la actualidad, como en el caso de este experimento) ya que el rango de ondas e intensidad en que emiten es muy similar al espectro de la luz diurna, a diferencia de las antiguas ampolletas de sodio, que emitían solo algunos rangos de luz (Boyes y col. 2020).

Los resultados diferenciales obtenidos para el grupo expuesto a luz artificial constante podrían bien ser efecto de la producción de ROS, como se reporta en Hori y col. (2014), o

por problemas en los metabolitos que los regulan debido a las alteraciones en las vías metabólicas asociadas a la producción de melatonina por la falta de oscuridad (Jones y col. 2015).

La melatonina es una hormona ampliamente conservada encontrada en la mayor parte de los organismos, incluyendo insectos (Hardeland & Poeggeler, 2003; Zhao y col., 2019). Esta hormona también es un fuerte antioxidante, cumpliendo un rol protector en las células (Reiter et al., 2017). Su síntesis ocurre en periodos de oscuridad y es suprimida por la luz del día, siendo un importante regulador del ciclo circadiano (Linn y col., 1995; Bloch y col., 2013; y Lampel y col., 2005). Por lo que la ausencia de periodos de oscuridad podría provocar la supresión de su síntesis, generando estrés oxidativo y daño celular, entre otras potenciales complicaciones derivadas de su ausencia, con efectos directos sobre la adecuación biológica de los individuos.

También podrían presentarse consecuencias fisiológicas en el organismo de *A. trifasciatus* en tratamiento de luz continua debido a los costos energéticos de sufrir un estímulo visual constante. La actividad cerebral requiere grandes gastos

energéticos, con un 20% del metabolismo en reposo dedicado solo al sistema visual (Lehmann & Schützner, 2010), lo que motiva la regulación de la información que ingresa por los canales visuales.

Para lidiar con el exceso de luz ambiental existen mecanismos como la regulación conductual, de la que los individuos experimentales fueron privados debido a falta de estructuras para esconderse de la luz), y a nivel celular, por medio de la ubicación de los pigmentos oculares y/o por medio de cambios estructurales que limitan la cantidad de luz que pasa entre los omatidios del ojo limitando la cantidad de luz que alcanzan los fotorreceptores (Chapman, 2013). Sin embargo, al carecer de estructuras físicas que bloqueen completamente el paso de la luz, es posible que a largo plazo estos mecanismos celulares no sean suficiente frente a la exposición continua a luz artificial, teniendo consecuencias como las descritas anteriormente.

Sería necesario realizar estos análisis con grupos muestrales más grandes, y así, determinar si las tendencias observadas se atribuyen simplemente a una variabilidad individual, o, si efectivamente los efectos del tratamiento

logran desviar los parámetros analizados de los individuos que mantuvieron un ciclo de luz:oscuridad regular, particularmente en el estudio del metabolismo y el rendimiento locomotor. Junto con un análisis sobre la producción de especies de oxígeno reactivas y la variación sobre la producción de melatonina para indagar respecto a las causas fisiológicas que llevan a estos resultados.

CONCLUSIONES

La hipótesis propuesta se cumple parcialmente, ya que la exposición a luz artificial durante el periodo de reposo de *A. trifasciatus* afectó solo algunos parámetros de su fisiología, presentando un aumento en la tasa metabólica del grupo expuesto a luz continua solo en la última semana de tratamiento respecto al grupo de luz:oscuridad, y sin cumplirse respecto a lo esperado para el rendimiento locomotor.

Sin embargo, la hipótesis si se cumplió respecto a la temperatura preferencial, al igual que en la longevidad, donde la del grupo LL prefirió temperaturas más bajas y presento una menor sobrevida. Por lo que, si bien no fueron afectados parámetros puntuales como el metabolismo energético y el rendimiento. Se encontró que la luz artificial durante el periodo de reposo cautiverio de *A. trifasciatus* sí genera efectos en la fisiología del insecto, alterando su temperatura preferencial y disminuyendo su sobrevida en.

BIBLIOGRAFÍA

- Aita, R. C., Kees, A. M., Aukema, B. H., Hutchison, W. D., & Koch, R. L. (2021). Effects of Starvation, Age, and Mating Status on Flight Capacity of Laboratory-Reared Brown Marmorated Stink Bug (Hemiptera: Pentatomidae). En R. Mercader (Ed.), *Environmental Entomology* (Vol. 50, Issue 3, pp. 532-540). Oxford University Press (OUP).
- Angilleta, M.J., Niewiarowski Jr., P.H., Navas, C.A. 2002. The evolution of thermal physiology of ectotherms. *J. Therm. Biol.* 27: 249-268.
- Arroyo, M.T.K., P.A. Marquet, C. Marticorena, J.A. Simonetti, L. Cavieres, F. Squeo, y R. Rozzi. 2004. "Chilean winter rainfall-Valdivian forests". In: Mittermeier, R.A., P.R. Gil, M. Hoffmann, J. Pilgrim, T. Brooks, C.G. Mittermeier, J. Lamoreux & G.A.B. da Fonseca (eds.) *Hotspots Revisted: Earth's Biologically Wealthiest and most Threatened Ecosystems*. CEMEX, México D.F. 99-103.
- Aschoff, J. 1983. Circadian control of body temperature. *J. Therm. Biol.* 8: 143-147.

- Bennett, A.F y Huey, R.B.1990. Studying the evolution of physiological performance. *Oxford Surv. Evol. Biol.* 7: 251-284.
- Bloch, G., Hazan, E. y Rafaeli, A. 2013. Circadian rhythms and endocrine functions in adult insects. *J. Insect Physiol.* 59: 56-69.
- Bolliger, J., Hennet, T., Wermelinger, B., Bösch, R., Pazur, R., Blum, S., Haller, J., y Obrist, M. K. 2020. Effects of traffic-regulated street lighting on nocturnal insect abundance and bat activity. *BAAE.* 47: 44-56.
- Borges, R. M. 2022. Impacts of Artificial Light at Night on Nocturnal and Diurnal Insect Biology and Diversity. *Entomol. Soc. Of India.* 84: 483-492.
- Boyes, D. H., Evans, D. M., Fox, R., Parsons, M. S., & Pocock, M. J. O. 2020. Is light pollution driving moth population declines? A review of causal mechanisms across the life cycle. *Insect Conserv. Divers.* 14: 167-187.
- Bustami, H.P. y Hustert, R. 2000. Typical ventilatory pattern of the intact locust is produced by the isolated CNS. *J. Insect Physiol.* 46: 1285-1293.
- Carrington, D. Warning of 'ecological Armageddon' after dramatic plunge in insect numbers. *The Guardian*, 18 de

- octubre de 2017. Visto el 26 de noviembre de 2022:
- Chapman, R. F. 2013. The insects: structure and function. S.J. Simpson y A.E. Douglas (eds.). 5ta ed., pp. 723-724. Cambridge University Press, New York.
- Chappell, M.A. y Rogowitz, G.L. 2000. Mass, temperature and metabolic effects on discontinuous gas exchange cycles in Eucalyptus-boring beetles (Coleoptera: Cerambycidae). J. Exp. Biol. 203: 3809-382.
- Chown, S.L. 2011. Discontinuous gas exchange: new perspectives on evolutionary origins and ecological implications. Funct. Ecol. 25: 1163-1168.
- Chown, S.L. y Holter, P. 2000. Discontinuous gas exchange cycles in *Aphodius fossor* (Scarabaeidae): a test of hypotheses concerning origins and mechanisms. J. Exp. Biology. 203: 397-403.
- Chown, S.L. y Nicolson, S.W. 2004. Insect physiological ecology: mechanisms and patterns. pp 63-65. Oxford University Press, Oxford.
- Cinzano, P. Falchi, F. y Elvidge, C.D. 2001. The first world atlas of the artificial night sky brightness. Mon. Not. Roy. Astron. Soc. 328: 689-707.
- Davies, T. W. Bennie, J. Inger, R. Hempel De Ibarra, N. y Gaston, K.J. 2013. Artificial light pollution: are shifting

- spectral signatures changing the balance of species interactions?. *Glob. Change Biol.* 19: 1417-1423.
- Desouhant E, Gomes E, Mondy N, y Amat I. 2019. Mechanistic, ecological, and evolutionary consequences of artificial light at night for insects: review and prospective. *Entomol. Exp. Appl.* 167: 37-58.
- Dillon, M. E., Wang, G., Garrity, P. A., & Huey, R. B. 2009. Thermal preference in *Drosophila*. *J. Therm. Biol.* 34: 109-119.
- Durrant J, Green M P, y Jones T M. 2020. Dim artificial light at night reduces the cellular immune response of the black field cricket, *Teleogryllus commodus*. *Insect Science* 27: 571-582.
- Durrant, J. Michaelides, E.B. Rupasinghe, T. Tull, D. Green, M.P. y Jones, T.M. 2015. Constant illumination reduces circulating melatonin and impairs immune function in the cricket *Teleogryllus commodus*. *Peer J.* 3: e1075.
- Dyer, F.C. 1985. Nocturnal orientation by the Asian honey bee, *Apis dorsata*. *Animal Behav.* 33: 769-774.
- Eisenbeis G. 2006. Artificial night lighting and insects: attraction of insects to streetlamps in a rural setting in Germany. *Ecological Consequences of Artificial Night Lighting*, pp. 281-304. C. Rich y T. Longcore (eds.). Island

- Press, Washington.
- Estrada, P. 2002. El género *Astylus* en Chile: re-descripción de *Astylus Trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera-Melyridae). *AEC*. 26: 51-58.
- Falchi, F. Cinzano, P. Duriscoe, D. Kyba, C. Elvidge, C.D. y Baug, K. 2016. The new world atlas of artificial night sky brightness. *Sci. Adv.* 2: e1600377.
- Firebaugh, A. y Haynes, K.J. 2016. Experimental tests of light-pollution impacts on nocturnal insect courtship and dispersal. *Oecologia*, 182: 1203-1211.
- Garrey, W.E. 1918. Light and the muscle tonus of insects the heliotropic mechanism. *J. Gen. Physiol.* 1: 101-125.
- Giavi, S., Fontaine, C., y Knop, E. 2021. Impact of artificial light at night on diurnal plant-pollinator interactions. *Nature Communications* 12: 1690.
- Gilchrist G. W. 1996. A quantitative genetic analysis of thermal sensitivity in the locomotor performance curve of *Aphidius ervi*. *Evolution*. 50: 1560-1572.
- Goda, T., Doi, M., Umezaki, Y., Murai, I., Shimatani, H., Chu, M. L., Nguyen, V. H., Okamura, H., & Hamada, F. N. 2018. Calcitonin receptors are ancient modulators for rhythms of preferential temperature in insects and body temperature in mammals. *Genes Dev.* 32: 140-155.

Hallmann, C.A. Sorg, M. Jongejans, E. Siepel, H. Hofland, N. Schwan, H. Stenmans, W. Müller, A. Sumser, H. Hörren, T. Goulson, D. y de Kroon, H. 2017. More than 75% decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. PLoS ONE. 12: e185809.

Hardeland, R. y Poeggeler, B. 2003. Non-vertebrate melatonin. J. Pineal Res. 34: 233-241.

Harischandra, N., Clare, A. J., Zakotnik, J., Blackburn, L. M. L., Matheson, T., y Dürr, V. 2019. Evaluation of linear and non-linear activation dynamics models for insect muscle. En J. Ayers (Ed.), PLOS Computational Biology (Vol. 15, Issue 10, p. e1007437). Public Library of Science (PLOS).

Hölker, F. Moss, T. Griefahn, B. Kloas, W. Voigt, C.C. Henckel, D. Hänel, A. y col. 2010. The dark side of light: a transdisciplinary research agenda for light pollution policy. Ecol. Soc. 15: e13.

Hori, M., Shibuya, K., Sato, M., & Saito, Y. (2014). Lethal effects of short-wavelength visible light on insects. Sci. Rep. 4: 7383.

<https://www.theguardian.com/environment/2017/oct/18/warning-of-ecological-armed-don-after-dramatic-plunge-in-insect-numbers>

- Huey, R. B. y Stevenson, R. D. 1979. Integrating Thermal Physiology and Ecology of Ectotherms: A Discussion of Approaches. *Am. Zool.* 19: 357-366.
- Huey, R.B., Bennett, A.F.,.1987. Phylogenetic studies of coadaptation: preferred temperatures versus optimal performance temperatures of lizards. *Evol.* 41: 1098-1115.
- Hussaini, S.A. Bogusch, L. Landgraf, T. y Menzel, R. 2009. Sleep deprivation affects extinction but not acquisition memory in honeybees. *Learn. Mem.* 16: 698-705.
- Jones, M.A. y Grotewiel, M. 2011. *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotion and other behaviors. *Exp. Gerontol.* 46: 320-25.
- Jones, T.M. Durrant, J. Michaelides, E.B. y Green, M.P. 2015. Melatonin: a possible link between the presence of artificial light at night and reductions in biological fitness. *Philos. Trans. R. Soc. B.* 370: e20140122.
- Kalinkat, G., Grubisic, M., Jechow, A., van Grunsven, R.H.A., Schroer, S., y Hölker, F., 2021. Assessing long-term effects of artificial light at night on insects: what is missing and how to get there. *Insect Conserv. Divers.* 14: 260-270.
- Kaneko, H., Head, L.M., Ling, J., Tang, X., Liu, Y., Hardin, P.E., Emery, P., y Hamada, F.N. 2012. Circadian rhythm of

- temperature preference and its neural control in *Drosophila*. *Curr. Biol.* 22: 1851-1857.
- Kouser, S., Palaksha, y Shakunthala, V. 2014. Study on fitness of *Drosophila melanogaster* in different light regimes. *Biol. Rhythm Res.* 45: 293-300.
- Krauchi, K. 2002. How is the circadian rhythm of core body temperature regulated?. *Clin. Auton. Res.* 12: 147-149.
- Kyba, C.M. Ruhtz, T. Fischer, J. y Hölker, F. 2011. Cloud coverage acts as an amplifier for ecological light pollution in urban ecosystems. *PLoS ONE* 6. 3: e17307.
- Lampel, J., Briscoe, A.D. y Wasserthal, L.T. 2005. Expression of UV-, blue-, long-wavelength-sensitive opsins and melatonin in extraretinal photoreceptors of the optic lobes of hawkmoths. *Cell Tissue Res.* 321: 443-458.
- Le Glou, E. Seugnet, L. Shaw, P.J. Preat, T. y Goguel, V. 2012. Circadian modulation of consolidated memory retrieval following sleep deprivation in *Drosophila*. *SRS.* 35: 1377-1384.
- Leather S.R. 2018. "Ecological Armageddon" - more evidence for the drastic decline in insect numbers. *Ann. Appl. Biol.* 172: 1-3.
- Lighton, J.R.B. y Turner R.J. 2004. Thermolimit respirometry: an objective assessment of critical thermal maxima in two

- sympatric desert harvester ants, *Pogonomyrmex rugosus* and *P. californicus*. *J. Exp. Biol.* 207: 1903-1913.
- Linn, C.E., Poole, K.R., Roelofs, W.L. y Wu, W.-Q. 1995. Circadian changes in melatonin in the nervous system and hemolymph of the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. *J. Comp. Physiol. A.* 176: 761-771.
- Macgregor, C.J., y Scott-Brown, A.S. 2020. Nocturnal pollination: an overlooked ecosystem service vulnerable to environmental change. *Emerg. Top. Life Sci.* 4: 19-32.
- Martin, T.L., Huey, R.B. 2008. Why ``suboptimal`` is optimal: Jensen's inequality and ectotherm thermal preferences. *Am. Nat.* 171: E102-E118.
- Matthews, P. G. D., y Terblanche, J. S. 2015. Evolution of the Mechanisms Underlying Insect Respiratory Gas Exchange. *Adv. In Insect Phys.* 49: 1-24.
- McLay, L.K. Green, M.P. y Jones, T.M. 2017. Chronic exposure to dim artificial light at night decreases fecundity and adult survival in *Drosophila melanogaster*. *J. Insect Physiol.* 100: 15-20.
- McLay, L.K. Nagarajan-Radha, V. Green, M.P. y Jones, T.M. 2018. Dim artificial light at night affects mating, reproductive output, and reactive oxygen species in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Zool. Part A.* 329: 419-

428.

- Nankoo, S., Raymond, S., y Galvez-Cloutier, R. 2019. The impact of the Jacques Cartier bridge illumination on the food chain: from insects to predators. *Community Ecol.* 20: 172-180.
- Nespolo, R.F. y Franco, M. 2007. Whole-animal metabolic rate is a repeatable trait: a meta-analysis. *J. Exp. Biol.* 210: 2000-2005.
- Owens, A.C.S., Cochard, P., Durrant, J., Farnworth, B., Perkin, E.K., y Seymoure, B. 2020. Light pollution is a driver of insect declines. *Biol. Conserv.* 241: 1-9.
- Promislow, D.E.L., Flatt, T., y Bonduriansky, R. 2022. The Biology of Aging in Insects: From *Drosophila* to Other Insects and Back. *Annu. Rev. Entomol.* 67: 83-103.
- Punt, A., Parser, W.J. y Kuchlein, J. 1957. Oxygen uptake in insects with cyclic CO₂ release. *Biol. Bull.* 112:108-119.
- Reiter, R.J., Rosales-Corral, S., Tan, D.X., Jou, M.J., Galano, A. y Xu, B. 2017. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell. Mol. Life Sci.* 74: 3863-3881.
- Rydell, J., Elfström, M., Eklöf, J., y Sánchez-Navarro, S. 2020. Dramatic decline of northern bat *Eptesicus nilssonii* in Sweden over 30 years. *R. Soc. Open Sci.* 7: 191754.

- Schowalter, T.D. Noriega, J.A. y Tscharntke T. 2018. Insect effects on ecosystem services - introduction. *Basic Appl. Ecol.* 26: 1-7.
- Sheeba, V., Sharma, V.K., Shubha, K., Chandrashekar, M.K., Joshi, A. 2000. The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output. *J. Biol. Rhythms.* 15: 380-392.
- Solervicens, J. y Estrada P. 1997. Ciclo de vida y descripción de los estados inmaduros de "*Astylus Trifasciatus*" Guérin, 1844 (Coleoptera: Melyridae). *AEC.* 21: 81-88.
- Sorg, M. Schwan, H. Stenmans, W y Müller A. 2013. Ermittlung der Biomassen flugaktiver Insekten im Naturschutzgebiet Orbroicher Bruch mit Malaise Fallen in den Jahren 1989 und 2013. *Mitteilungen aus dem Entomologischen Verein Krefeld.* 1: 1-5.
- Thienel, M., Canals, M., Bozinovic, F., y Veloso, C. 2015. The effects of temperature on the gas exchange cycle in *Agathemera crassa*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 183: 126-130.
- Thienel, M., Canals, M., Bozinovic, F., y Veloso, C. 2015. The effects of temperature on the gas exchange cycle in

- Agathemera crassa. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 183: 126-130.
- Tielens, E.K., Cimprich, P.M., Clark, B.A., DiPilla, A.M., Kelly, J.F., Mirkovic, D., Strand, A.I., Zhai, M., y Stepanian, P.M. 2021. Nocturnal city lighting elicits a macroscale response from an insect outbreak population. Biol. Lett. 17: 20200808.
- Valenzuela-Zuccar, S.R. 2020. Efecto de la iluminación en el patrón respiratorio de reposo en *Astylus trifasciatus* (Guérin-Méneville, 1844) (Coleoptera: Melyridae): Una aproximación experimental al efecto de la contaminación lumínica en insectos. Tesis de pregrado. Universidad de Chile.
- van Geffen, K.G. Groot, A.T. Van Grunsven, R.H.A. Donners, M. Berendse, F. y Veenendaal, E.M. 2015a. Artificial night lighting disrupts sex pheromone in a noctuid moth. Ecol. Entomol. 40: 401-408.
- van Geffen, K.G. Van Eck, E. De Boer, R. A. Van Grunsven, R.H.A. Salis, L. Berendse, F. y col. (2015b). Artificial light at night inhibits mating in a Geometrid moth. Insect Conserv. Divers. 8: 282-287.
- van Geffen, K.G. van Grunsven, R.H.A. van Ruijven, J. Berendse, F. y Veenendaal, E.M. 2014. Artificial light at

- night causes diapause inhibition and sex-specific life history changes in a moth. *Ecol. Evol.* 4: 2082-2089.
- van Langevelde, F. van Grunsven, R.H.A. Veenendaal, E.M. y Fijen T.P.M. 2017. Artificial night lighting inhibits feeding in moths. *Biol. Lett.* 13: e20160874.
- Weinert, D. 2010. Circadian temperature variation and ageing. *Ageing. Res. Rev.* 9: 51-60.
- Williams, G.C. 1957. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evol.* 11:398-411.
- Wilson, A., Seymoure, B.M., Jaeger, S., Milstead, B., Payne. H., Peria, L., Vosbigian, R.A., y Francis, C.D. 2021. Direct and ambient light pollution alters recruitment for a diurnal plant-pollinator system. *Integr. Comp. Biol.* 61: 1122-1133.
- Young, A.M., Kohl, P.L., Rutschmann, B., Steffan-Dewenter, I., Brockmann, A., y Dyer, F. C. 2021. Temporal and spatial foraging patterns of three Asian honeybee species in Bangalore, India. *Apidologie.* 52: 503-523.
- Zhao, D., Yu, Y., Shen, Y., Liu, Q., Zhao, Z., Sharma, R. y Reiter, R.J. 2019. Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants. *Front. Endocrinol.* 10: 1-16.
- Zimmerman, J.E. Mackiewicz, M. Galante, R. J. Zhang, L.

Cater, J., Zoh, C. y col. 2004. Glycogen in the brain of *Drosophila melanogaster*: diurnal rhythm and the effect of rest deprivation. J. Neurochem. 88: 32-40.