

UCH-FC
MAG-EBE
ZRS
C.1

**CONSECUENCIAS DE LA ACLIMATACIÓN TÉRMICA PUPAL
SOBRE RASGOS DE HISTORIA DE VIDA Y LA TASA
METABÓLICA DE LA MOSCA PARASITOIDE DE ALTURA
Phasmovora phasmophagae (TACHINIDAE)**

Tesis

entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Magister en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva

Facultad de Ciencias

Por

Jorge Zamorano Miranda

Octubre, 2009

Director de Tesis: Dr. Claudio Veloso Iriarte.



**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE MAGISTER**

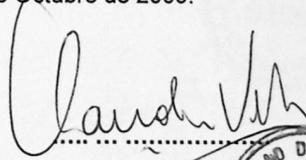
Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis Magister presentada por el candidato.

JORGE ZAMORANO MIRANDA

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el 14 de Octubre de 2009.

Director de Tesis:

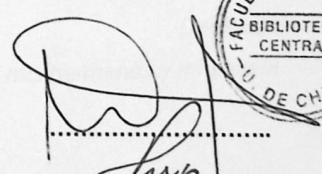
Dr. Claudio Veloso Iriarte



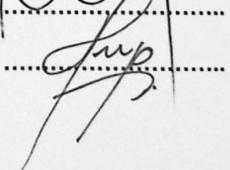
.....



**Facultad de Ciencias
BIBLIOTECA
CENTRAL
UNIVERSIDAD DE CHILE**



.....



.....

Comisión de Evaluación de la Tesis:

Dr. Mauricio Canals Lambarri

Dr. Hugo Torres Contreras



Dedicada
A mi madre, mis hermanas y mi abuela



Jorge Zamorano Miranda nació el 28 de diciembre de 1980 en la ciudad de Santiago. Cursó la enseñanza media en el liceo municipal Eduardo de la Barra, de la ciudad de Valparaíso, y su formación de pregrado la realizó en la carrera de Pedagogía en Biología y Ciencias en la Universidad de Playa Ancha de Ciencias de la Educación de la misma ciudad.

Su trabajo científico lo ha desarrollado principalmente en el área de la entomología trabajando con los grupos Hymenóptera y Díptera, tanto en comparaciones comunitarias, como en la evaluación del efecto de variaciones ambientales sobre rasgos morfo-fisiológicos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a mi tutor el Dr. Claudio Veloso, por su constante apoyo y paciencia en mi formación como alumno del programa, y por la confianza depositada en mi para el desarrollo de ésta tesis y en el trabajo de sus propios proyectos.

Agradezco a los profesores Dr. Mauricio Canals, Dr. Hugo Torres y Dr. Pablo Sabat por sus valiosas sugerencias en el desarrollo de ésta tesis, tanto en el proceso como en el escrito y resultado final.

Quiero hacer un especial reconocimiento a mi profesora Elizabeth Chiappa, quien influyó en mi interés y me ha acompañado en todo mi desarrollo en el mundo de la ciencia, y por sobre todo, me transmitió su gran admiración por los insectos, por lo tanto, quizás sin su apoyo y motivación, no estaría en estas instancias.

A mis compañeros del Laboratorio de Ecofisiología Animal, por su preocupación y sugerencias en el desarrollo de este trabajo.

Por último, agradezco el apoyo incondicional de mi familia y amigos que me han apoyado durante toda mi formación, permitiendo que mis metas y desafíos se cumplan de la mejor forma.

Este trabajo fue financiado por el proyecto Fondecyt 1080072.



INDICE DE MATERIAS

LISTA DE TABLAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
• Hipótesis y Predicciones.....	9
• Objetivos general y específicos.....	10

CAPITULO I. Efecto de la aclimatación térmica, durante el estadio pupal, sobre rasgos de historia de vida de la mosca parasitoide de altura *Phasmovora phasmophagae* (Díptera: Tachinidae)

Resumen.....	11
Introducción.....	12
Materiales y métodos.....	15
Resultados.....	20
Discusión.....	26
Referencias.....	31



CAPITULO II. Efecto del sexo y de la aclimatación térmica en estadio pupal sobre la tasa metabólica estandar en LA mosca parasitoide de altura *Phasmovora phasmophagae* (Diptera: tachinidae)

Resumen.....36

Introducción.....37

Materiales y métodos.....40

Resultados.....43

Discusión.....46

Referencias.....49

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL.....53

REFERENCIAS INTRODUCCÓN Y DISCUSIÓN GENERAL.....56

LISTA DE TABLAS

CAPITULO I

Tabla 1. Resumen estadístico para variables morfológicas y de historia de vida por temperatura y sexo, de *Phasmovora phasmophagae*.....19

Tabla 2. ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación y del sexo sobre ancho de la cabeza, y de ANOVA para el efecto de la temperatura sobre masa corporal, días de pupa y días de adulto en machos, en *P. phasmophagae*.....21

Tabla 3. ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación sobre masa de ovarios y masa de lípidos en hembras de *P. phasmophagae*. Se utilizó masa corporal como covariable.....25

CAPITULO II

Tabla 1. Resumen estadístico para la tasa metabólica estándar por temperatura y sexo de *Phasmovora phasmophagae*.....42

Tabla 2. ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación y del sexo sobre la tasa metabólica estándar, utilizando masa corporal como covariable, en *Phasmovora phasmophagae*.....43



LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Efecto de la temperatura de aclimatación en estadio pupal y del sexo sobre masa corporal (A) y ancho cabeza (B) en adultos de *P. phasmophagae*. Se indican valores de promedio \pm 1EE por tratamiento y sexo. Se señalan diferencias significativas para prueba de Tukey HSD ($p < 0,01$).....22

Figura 2. Efecto de la temperatura de aclimatación en estadio pupal sobre los días de pupa (A) y días de adulto (sólo machos) (B) en *P. phasmophagae*. Todos los valores corresponden al promedio \pm 1EE. Las letras sobre las barras corresponden a una prueba a posteriori de Tukey HSD y n.s. (no significativo) (B).....24

Figura 3. Efecto de la aclimatación térmica en estadio pupal sobre la masa de ovarios y la masa de lípidos en hembras de *P. phasmophagae*. Todos los valores se presentan como promedio \pm 1EE. Las letras sobre los puntos corresponden a una prueba a posteriori de Tukey ($p < 0,05$), se indican con letras minúsculas para masa de ovario y mayúsculas para masa de lípidos.....26

CAPITULO II

Figura 1. Efecto de la temperatura de aclimatación durante el estadio pupal y tasa metabólica estándar (masa específica), en adultos de *Phasmovora phasmophagae*. Todos los valores se presentan como promedio \pm 1EE. Diferentes letras sobre las

barras indican diferencias significativas para prueba de Tukey HSD entre tratamientos (p<0,001).....44

Figura 2. Relación entre log masa corporal y log tasa metabólica estándar en hembras para 15 °C, 22,5 °C y 30 °C de *Phasmovora phasmophagae*. Línea de tendencia continua corresponde a 15 °C, punteada a 22,5 °C e interlineado a 30 °C.....45

Figura 3. Relación entre log masa corporal y log tasa metabólica estándar en machos para 15 °C, 22,5 °C y 30 °C de *Phasmovora phasmophagae*. Línea de tendencia continua corresponde a 15 °C, punteada a 22,5 °C e interlineado a 30 °C.....46

RESUMEN

La temperatura ambiente es uno de los factores ambientales condicionantes del desarrollo de animales ectotermos. Cambios en la temperatura ambiente son capaces de generar una amplia variación en rasgos energéticos y de historia de vida. Por otro lado, cualquier organismo y en especial aquellos que dependen durante su madurez, exclusivamente de las reservas almacenadas durante etapas tempranas de su desarrollo, presentarán una serie de restricciones o compromisos en el presupuesto de energía, lo que debiera verse reflejado en los recursos asignados a crecimiento y mantención, entre otros, lo que finalmente afectará a la reproducción y la sobrevivencia de un organismo, es decir, a su adecuación biológica. En este contexto, identificar y analizar en el laboratorio los efectos que la temperatura tiene sobre las variables energéticas y de historia de vida, permitirá comprender los potenciales efectos que cambios en ésta variable abiótica pueden ejercer sobre una determinada especie en vida libre.

Los estudios de aclimatación térmica se han desarrollado históricamente en etapas tempranas de los ciclos de vida de ectotermos, sin embargo, poca información existe en relación a los efectos de la temperatura sobre el estadio de pupa en insectos, que corresponde a la fase donde se desarrolla la metamorfosis, y por lo tanto, la etapa donde los recursos obtenidos en etapas tempranas del ciclo, son asignados de forma diferencial según el patrón genético y por las restricciones que impone el ambiente.

El presente estudio, analiza los efectos de la aclimatación térmica (15 °C, 22,5 °C y 30°C) en el estadio de pupa y sus consecuencias sobre el estadio adulto de la mosca parasitoide *Phasmovora phasmophagae*. Esta mosca habita la Cordillera de los Andes

de Chile central, sobre los 1800 m s.n.m. y utiliza como hospedero a la especie *Agathemera crassa* (Phasmatodea).

Los resultados muestran que la temperatura afecta la sobrevivencia en pupas que alcanzan el estadio adulto mostrando una alta mortalidad a 30 °C, lo que nos indica que ésta temperatura corresponde a un límite extremo para esta especie, además, los mayores tiempos de desarrollo se presentan a bajas temperaturas y en hembras, respuesta que tiene relación con la regla del desarrollo tamaño-temperatura. Por otro lado, se observó un aumento en el desempeño reproductivo (masa de ovario) a bajas temperaturas, rasgo que se encuentra en compromiso con la reserva energética (masa lípidos), y en relación al metabolismo energético ésta especie desarrolla mecanismos de adaptación metabólica al frío, aumentando la tasa metabólica a bajas temperaturas, por lo que la plasticidad de este rasgo podría ser considerada como un componente de la historia de vida de esta especie, ya que permite el desarrollo a temperaturas en donde las bajas tasas de desarrollo podrían afectar directamente en la sobrevivencia de los individuos. Por último, la evaluación de los efectos de la temperatura sobre el estadio pupal, permite entender como las restricciones impuestas por este condicionante, modifica distintos rasgos asociados a la asignación diferencial de recursos durante la metamorfosis, proceso que en este sentido ha sido poco abordado.

ABSTRACT

The ambient temperature is one of the environmental factors that condition the development of ectotherm animals. Changes in temperature can generate a wide variation in energetic and life history traits. Moreover, any organism and especially those who depend for their maturity, exclusive of the stocks during early stages of development, will present a series of constraints or trade-off in the energy budget, which should be reflected in the resources allocated to growth and maintenance, among others, which ultimately affect the reproduction and survival of an organism, which means, their fitness. In this context, identify and analyze in the laboratory the effects that temperature has on the energy variables and life history, will understand the potential effects that changes in abiotic variable it can have on a particular species in the wild.

Thermal acclimation studies have developed historically in early stages of the life cycles of ectotherms, however, there is a few information about regarding the effects of temperature on the pupal stage in insects, which corresponds to the stage where it develops metamorphosis, and therefore, the stage where the resources obtained early in the cycle are differentially allocated according to the genetic pattern and the constraints imposed by the environment.

This study examines the effects of thermal acclimation (15 °C, 22.5 °C and 30 °C) in the pupal stage and its impact on the adult stage of the parasitoid fly *Phasmovora phasmophagae*. This fly inhabits the Andes of central Chile, about 1800 m altitude and used as a host to species *Agathemera crassa* (Phasmatodea).

The results show that temperature affects the survival of pupae reaching the adult stage showing a high mortality at 30 °C, which indicates that this temperature corresponds to

an extreme limit for this species, plus the largest development times at low temperatures are presented and females, a response that is related to the temperature-size rule. On the other hand, an increment on the reproductive performance (ovary mass) in the presence of low temperatures was noticed, a feature committed with the energy reserve (lipid mass) and energy metabolism in relation to this species develops mechanisms of metabolic cold adaptation by increasing the metabolic rate at low temperatures, so that the plasticity of this trait could be considered a life history trait because it allows development where low temperatures in growth rates could directly affect the survival of individuals. Finally, the evaluation of the effects of temperature on the pupal stage can understand the restrictions imposed by this constraint amends various product features such as differential allocation of resources in metamorphosis, a process that in this respect has been little addressed.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Efecto de la temperatura sobre los rasgos de Historia de Vida

Los rasgos de historia de vida incluyen adaptaciones conductuales, fisiológicas y morfológicas, que afectan directamente el éxito de sobrevivencia y la reproducción de un organismo (Ricklefs & Wikelski, 2002). El conjunto de estas adaptaciones, se ven reflejadas en variaciones relacionadas con la edad de madurez reproductiva, tamaño y proporción de sexos de las crías (Stearns, 1992), y rasgos relacionados con el desarrollo individual. De estos últimos, se reconocen tres rasgos centrales de la teoría de historia de vida que están estrechamente interrelacionados: el tamaño del adulto, el tiempo de desarrollo y la tasa de crecimiento (Chown & Nicolson, 2004).

La temperatura es un importante factor ambiental que afecta la tasa de desarrollo, de mortalidad y natalidad en insectos (Campbell et al., 1974; Taylor, 1981). Los efectos sobre el desarrollo son el resultado de fenómenos de plasticidad fenotípica e incluso pueden ser observados entre individuos idénticos genotípicamente, pero criados a distintas temperaturas (Atkinson, 1996). Así, las temperaturas bajo las cuales los organismos se desarrollan, pueden tener los mismos efectos cualitativos sobre los rasgos de historia de vida, en comparación a las experimentadas durante su evolución (Atkinson, 1996). En ectotermos, altas temperaturas aumentan la tasa de crecimiento y disminuyen los tiempos de desarrollo, y generalmente determinan pequeños tamaños corporales en los adultos (Atkinson & Sibly, 1997). En particular, estudios realizados en

Drosophila indican que la mantención de animales a altas temperaturas ambientes generarán individuos de pequeños tamaños corporales, lo cual se debería principalmente a la disminución del tamaño celular, aunque cambios en el número celular también pueden tener participación (Partridge, 1994).

Dado que los insectos son animales ectotermos, su desarrollo está fuertemente influenciado por la temperatura ambiente, la cual afecta directamente la tasa metabólica, la producción de tejido y la tasa de mortalidad (Sibly & Atkinson, 1994). En este contexto, la alta plasticidad fenotípica exhibida por el tamaño corporal, por efecto de la temperatura de desarrollo es definida como "regla del desarrollo temperatura-tamaño" (Atkinson & Sibly, 1997). El potencial ecológico y evolutivo de esta relación entre tamaño y temperatura de desarrollo, es sugerido por la existencia de un aumento en el tamaño corporal entre las generaciones de verano e invierno de un gran número de invertebrados (Atkinson & Sibly, 1997). El normal crecimiento de los insectos ocurre dentro de rangos de temperaturas óptimas, pero cuando éstos están expuestos a bajas o altas temperaturas extremas, la tasa de desarrollo disminuye, la reproducción se reduce, y si la exposición es prolongada, ocurre la muerte del organismo (Andrewartha & Birch, 1954).

Numerosos estudios han documentado el efecto de un gradiente térmico sobre insectos, principalmente, asociados a control biológico (Chong & Oetting, 2006; Ichiki et al., 2003; Kalaitzaki et al., 2007; Ugine et al., 2007; Tran et al., 2007; Perez-Mendoza & Weaver, 2006), señalando estrechas asociaciones entre temperatura y sobrevivencia, y una disminución en la tasa de desarrollo a temperaturas extremas. La variación de

éstos y otros rasgos permiten realizar predicciones sobre los posibles efectos, por ejemplo, en la relación parasitoide-hospedero en la perspectiva del calentamiento global, donde los pronósticos del aumento de la temperatura entre 1,4 °C a 5,8 °C en los próximos ochenta años (Karl & Trenbeth, 2003), tendrían importantes efectos sobre la sincronización del sistema parasitoide-hospedero, afectando su distribución, y eventualmente provocando cambios en las relaciones térmicas del sistema, lo que podría tener consecuencias en la sincronización de los integrantes de la interacción (Hance et al., 2007). En resumen, estos cambios en la variable térmica, podrían afectar la distribución de las especies, sus historias de vida y, por lo tanto, al conjunto de relaciones comunitarias (Bale et al., 2002; Easterling, 2000).

Compromiso entre Reproducción y Supervivencia

Los rasgos de historia de vida se relacionan directamente con la reproducción y supervivencia de los organismos (Roff, 2002). La complejidad y el interés por la evolución de éstos rasgos surge porque los organismos han evolucionado de distintas formas, combinando dichos rasgos afectando su adecuación biológica (Stearns, 1992). La existencia de compromisos entre reproducción (fecundidad potencial) y supervivencia, restringe la evolución simultánea de ambos rasgos. Así, la asignación de energía hacia reproducción puede comprometer la supervivencia futura. Por ejemplo, una relación negativa entre reproducción y supervivencia fue encontrada por Tallamy & Denno (1982) en el hemíptero *Gargaphia solani*. En este estudio se

enfatan los costos fisiológicos de inversión en producir huevos, en vez de hacerlo en crecimiento o mantención. En esta especie, un aumento en la producción de huevos en adultos, se traduce en un descenso significativo de sus habilidades de sobrevivencia.

Los compromisos entre reproducción y sobrevivencia son comunes en insectos. A menudo estos compromisos reflejan una competencia entre la maduración del huevo y los procesos relacionados con la utilización de una reserva limitada de nutrientes (Papaj, 2000). De esta forma, una medida de los compromisos entre estos rasgos, corresponde a la inversión en reproducción futura (estructura ovárica) y almacenamiento de reserva energética (reserva lipídica) (Zera & Larsen, 2001). En el primer caso, el desarrollo de la estructura ovárica y su masa, representarían una medida directa de la asignación a esfuerzo reproductivo, en presencia de condiciones de restricción. Por otro lado, el almacenamiento de reservas energéticas, permite estimar la asignación a mantención y sería un indicador directo de la capacidad en sobrevivencia (Zera & Larsen, 2001).

Una aproximación a la variación entre reproducción y sobrevivencia se observa en el trabajo de Zera & Larsen (2001), quienes compararon las diferencias fenotípicas de los morfos funcionales para el vuelo y los que no presentan ésta característica, en *Gryllus firmus*, donde los individuos con capacidad de vuelo mostraron una acumulación de lípidos y triglicéridos mayor que los morfos no voladores. Además, se presentaron asociaciones negativas entre la masa de los ovaríolos y la concentración de triglicéridos en los cuerpos grasos. Esto nos indica el fuerte compromiso entre caracteres fisiológicos y la variación en rasgos de historia de vida que pueden exhibir

los organismos, así como una gran asociación negativa entre rasgos de mantención y reserva (reserva lipídica) con la fecundidad (masa ovario).

Temperatura y variación metabólica

Aunque la tasa metabólica no es indicada como un rasgo de historia de vida *per se*, ésta puede ser considerada como un indicador del costo de vida para un organismo bajo un conjunto de condiciones ambientales, y es estimada como el componente más importante del presupuesto energético en animales (Lardies, 2003), lo que tiene una influencia directa sobre la sobrevivencia (Chown & Nicolson, 2004). En ectotermos, la tasa metabólica estándar responde rápidamente a cambios en actividad y la temperatura ambiente (Bennett & Dawson, 1976) y en insectos escala positivamente con la masa corporal, e influye directamente sobre los presupuestos energéticos totales (Terblanche & Chown, 2007). Por otro lado, mecanismos de adaptación metabólica a la temperatura ambiente son comunes en insectos, los que, por ejemplo, permiten un aumento de la tasa metabólica en el desarrollo de organismos propios de climas con bajas temperaturas (Chown & Gaston, 1999; Addo-Bediako et al., 2002).

Aspectos generales de la biología de los parasitoides

Los parasitoides son un grupo de insectos holometábolos que comparten características del parasitismo y de depredación, y cuyas larvas se alimentan

exclusivamente del cuerpo de otro artrópodo (su hospedero) (Godfray, 1994). Estos organismos representan uno de los grupos de insectos más abundantes y diversos de nuestro planeta. Se estima su número en aproximadamente 2 millones de especies, representando casi el 25% de todos los insectos conocidos. Sus principales representantes pertenecen a los ordenes Hymenoptera (75%) y Díptera (25%) (Godfray, 1994). Debido a su alta especificidad, eficiencia y capacidad de regular las densidades poblacionales de las especies hospederos, desempeñan un rol fundamental en la ecología y evolución de las comunidades biológicas.

El ciclo de vida de un parasitoide comienza con la oviposición de la hembra adulta, luego este huevo se transforma en larva, la cual se desarrolla dentro o sobre su hospedero, siempre alimentándose a expensas del mismo hasta ocasionarle la muerte. El tamaño del parasitoide adulto estaría determinado por la cantidad y calidad del alimento consumido por la larva (Godfray, 1994). En la siguiente etapa la larva se transforma en pupa, estadio en el cual se forman los tejidos y estructuras del adulto. A continuación, ocurre la emergencia del parasitoide adulto, el cual debe alimentarse, reproducirse y localizar un nuevo hospedero para la consiguiente oviposición por parte de la hembra (Begon et al., 1995).

Organismo de estudio

La familia Tachinidae es una de las que incluye un gran número de especies dentro de Díptera, con aproximadamente 10 mil especies descritas (Stireman et al., 2006). Uno

de los rasgos que caracteriza a este grupo, es que todas las especies son endoparasitoides de insectos y otros artrópodos. Además, como es típico de los parasitoides, los taquínidos generalmente terminan por matar a sus hospederos. El amplio rango de hospederos en taquínidos, incluye los órdenes Lepidóptera, Coleóptera, Ortóptera y Phasmatodea entre otros, lo cual se relaciona con la diversificación de estrategias reproductivas y mecanismos de localización de hospederos (Feener & Brown, 1997). El desarrollo larval se completa comúnmente entre una a tres semanas, con excepción de las especies que hacen diapausa en sus hospederos, lo cual se puede prolongar por varios meses (Feener & Brown, 1997).

Los taquínidos carecen de un ovipositor modificado como el de los parasitoides de Hymenoptera. Es por esto, que con excepción de unos pocos grupos, los taquínidos deben depositar sus huevos externamente, sobre o cerca de sus hospederos. Debido a que los taquínidos no inyectan sus huevos en el hospedero, no suministran venenos paralizantes, virus y otras sustancias que atacan el sistema inmune, este grupo es clasificado como parasitoides koinobiontes. Es decir, los taquínidos permiten la alimentación y crecimiento de su hospedero, mientras se desarrollan dentro de éstos (Stireman et al., 2006).

La especie focal de este estudio es *Phasmovora phasmophagae* Cortés, 1968 (Diptera: Tachinidae), la cual corresponde a un parasitoide especialista del chinchemolle *Agathemera crassa* (Phasmatodea: Pseudophasmatidae). Aunque se ha descrito que sólo parasita a *A. crassa* (Cortés, 1968), actualmente se sabe que también parasita a las otras 3 especies representativas del género hospedero endémicas de Chile A.

grylloidea, *A. elegans* y *A. mesoauricularae* (C. Veloso, datos no publicados). *Phasmovora phasmophagae* corresponde a un parasitoide común y extremadamente abundante, al menos en la población de hospederos de la cual se obtuvieron los ejemplares, llegando a presentar niveles de incidencia cercanos al 100% en individuos adultos del hospedero (C. Veloso, datos no publicados). Parte de su ciclo de vida incluye la presencia de microhuevos, dimorfismo sexual, desarrollo larvario como endoparásito, período pupal y adulto externo, y cargas parasitarias mayores a los 20 individuos (C. Veloso, datos no publicados).

HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

En insectos, durante el desarrollo, la temperatura ambiente es un factor condicionante, imponiendo restricciones que modifican el patrón de asignación de recursos, lo cual generaría compromisos entre rasgos de historia de vida como la reproducción y la sobrevivencia, y modificaciones en la ontogenia relacionadas con las tasas de crecimiento y tiempos de desarrollo. Además, la temperatura ambiente, afecta generando variaciones en el metabolismo energético, lo que estaría asociado a respuestas fisiológicas diferenciales.

A partir de ésta hipótesis general y en base a los mecanismos fisiológicos discutidos en la revisión, se predice que:

- Los individuos de la especie *P. phasmophagae*, aclimatados durante el estadio pupal a mayor temperatura ambiente, presentarán menores tiempos de desarrollo, menor tamaño corporal del adulto, tasas metabólicas menores (por unidad de masa) y longevidad menor que animales mantenidos a baja temperatura.
- Los recursos obtenidos durante el estadio larval, serán asignados en forma diferencial a generar tejido con función reproductiva (masa ovarios) y hacia tejido con función energética reserva (masa de lípidos corporales), generándose compromisos entre estos rasgos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el efecto de la aclimatación térmica, durante el desarrollo (estadio de pupa), sobre rasgos de historia de vida y la tasa metabólica estándar del taquínido *Phasmovora phasmophagae*.

Objetivos Específicos

- Determinar el tiempo de desarrollo, la sobrevivencia, el tamaño y la masa corporal de individuos adultos de *P. phasmophagae*, sometidos a una carga metabólica diferencial.
- Determinar la variación en asignación hacia reproducción (medida como la masa de los ovarios), en hembras de *P. phasmophagae*, sometidas a una carga metabólica diferencial.
- Determinar la variación en asignación hacia mantención (medido como la masa de lípidos corporales), en hembras de *P. phasmophagae*, sometidas a una carga metabólica diferencial.
- Determinar la tasa metabólica estándar (SMR), de individuos de *P. phasmophagae*, sometidos a una carga metabólica diferencial.

CAPITULO I

EFFECTO DE LA ACLIMATACIÓN TÉRMICA, DURANTE EL ESTADÍO PUPAL, SOBRE RASGOS DE HISTORIA DE VIDA DE LA MOSCA PARASITOIDE DE ALTURA *Phasmovora phasmophagae* (DÍPTERA: TACHINIDAE)

Resumen

En ectotermos, la temperatura ambiente actúa como factor condicionante en el desarrollo, influyendo sobre la asignación diferencial de recursos entre rasgos que se encuentran en compromiso, como los relacionados con reproducción y sobrevivencia, y que por lo tanto, afecta directamente la adecuación biológica. En este sentido, un conjunto de hipótesis alternativas se han propuesto para explicar el efecto adaptativo de esta variación fenotípica ("optimal development" - "colder is better" - "hotter is better"). Por otro lado, en insectos, el estadio pupal representa la fase donde se desarrolla la metamorfosis, es decir, la etapa donde los recursos adquiridos en la fase larvaria son asignados a estructuras según un patrón definido genéticamente y restringidos por condicionantes ambientales.

En este trabajo se analizaron los efectos de la aclimatación térmica en el estadio pupal sobre rasgos de historia de vida del parasitoide *Phasmovora phasmophagae*, encontrando que la temperatura ambiente afecta la sobrevivencia de pupas, disminuyendo fuertemente a 30 °C, lo que la indicaría como un límite extremo, además se observaron los mayores tiempos de desarrollo en individuos mantenidos a baja

temperatura (15 °C) y en hembras. En relación a la asignación a reproducción, a 15 °C y 22,5 °C se observaron los mayores valores para masa de ovarios. Además, este rasgo se encuentra en compromiso con la masa de lípidos. Estos resultados permiten sugerir que *P. phasmophagae* presentaría un mayor desempeño en rasgos relacionados con su adecuación biológica a bajas temperaturas.

Palabras claves: Rasgos de historia de vida; aclimatación térmica; metamorfosis, parasitoide; *Phasmovora phasmophagae*.

Introducción

La temperatura que experimentan los organismos ectotermos durante su desarrollo, afectan fuertemente un conjunto de rasgos de historia de vida (Atkinson, 1994; Chown & Gaston, 1999; Chown & Nicolson, 2004). Los rasgos de historia de vida incluyen adaptaciones conductuales, fisiológicas y anatómicas, que se relacionan directamente con la sobrevivencia y la reproducción de un organismo (Ricklefs & Wikelski, 2002; Roff, 2002; Stearns, 1992). Sobre estos rasgos, la temperatura influye principalmente en caracteres relacionados con la fecundidad y el tamaño de la descendencia (Fox & Czesak, 2000), los cuales pueden aumentar a bajas temperaturas (Fisher et al., 2003). En escala evolutiva, la temperatura tiene importantes consecuencias para los organismos, determinando patrones de actividad diaria (Alexander, 1999), tamaño corporal (Sibly & Atkinson, 1994) y reproductivos (Gilbert et al., 2001). Estas

respuestas pueden ser el resultado de la adaptación a diferentes ambientes térmicos o una consecuencia del efecto de la temperatura sobre la fisiología de los organismos durante su desarrollo, como un ejemplo de plasticidad durante el desarrollo (Stillwell & Fox, 2005). En ectotermos, altas temperaturas aumentan la tasa de crecimiento y disminuyen los tiempos de desarrollo, y generalmente favorecen pequeños tamaños corporales en los adultos (Atkinson, 1994; Atkinson & Sibly, 1997). La complejidad y el interés por la evolución de éstos rasgos surge porque los organismos han evolucionado de distintas formas, combinando dichos rasgos afectando su adecuación biológica (Stearns, 1992). En el mismo sentido, la existencia de compromisos entre reproducción (fecundidad potencial) y sobrevivencia, restringe la evolución simultánea de ambos rasgos (Stearns, 1992). Así, la asignación de energía a la reproducción puede comprometer la sobrevivencia futura (Tallamy & Denno, 1982; Colinet et al., 2007). Una medida de los compromisos entre estos rasgos, corresponderían a la inversión en reproducción futura (estructura ovárica) (Price, 1975) y almacenamiento de reserva energética (reserva lipídica) (Zera & Larsen, 2001). Al respecto, las bajas temperaturas producen grandes tamaños corporales, lo que podría provocar un mejor desempeño en sobrevivencia, rasgo correlacionado con la cantidad de energía de reserva (Ellers et al., 1998; Colinet et al., 2006).

En relación al efecto de la temperatura sobre el desarrollo, hipótesis alternativas sugieren que la adecuación biológica puede ser mayor como producto del desarrollo de los organismo a temperaturas intermedias ("optimal development"), bajas ("colder is better") o altas ("hotter is better") (Leroi et al., 1994; Atkinson, 1994; Zamudio et al.,

1995; Huey & Berrigan, 1996), siendo este factor ambiental uno de los principales condicionantes en el desempeño del adulto. Además, como la aclimatación es considerada un mecanismo de adaptación fisiológica, también se propone que en ectotermos, el desempeño como adulto es máximo cuando estos se desenvuelven en los mismos ambientes térmicos en los cuales fueron criados (Beneficial Acclimation) (Leroi et al., 1994; Zamudio et al., 1995).

La plasticidad térmica ha sido raramente demostrada durante el desarrollo de la metamorfosis (Stevens, 2004). En insectos, los estados inmaduros son muy sensibles a las variaciones térmicas (Steigenga & Fisher, 2009), principalmente durante el estadio pupal que representa la fase donde ocurre la metamorfosis (Davidowitz et al., 2003). Esto último se debería a que las múltiples interacciones hormonales que funcionan en el desarrollo de este estadio, pueden ser alteradas por cambios en la temperatura (Davidowitz et al., 2003). Además, en especies con ciclos holometábolos, el fenotipo del adulto es fijado en ésta fase (Boggs, 1981; Chapman, 1998). En parasitoides, el tamaño corporal y el tiempo de desarrollo son componentes claves de las estrategias de historia de vida (Colinet et al., 2007). El tamaño corporal se correlaciona positivamente con otros rasgos que afectan la adecuación biológica, como longevidad y fecundidad (Charnov & Skinner, 1985; Waage & Godfray, 1985; King, 1989). En endoparasitoides koinobiontes, existe una estrecha relación con sus hospederos hasta el último instar larval (Godfray, 1994), y su tamaño corporal depende principalmente de la cantidad de reservas acumuladas durante ésta fase (Feener & Brown, 1997; Godfray, 1994). En conjunto con lo anterior, la temperatura de crianza,

puede afectar el tiempo de desarrollo produciendo, por ejemplo, que a altas temperaturas los tiempos de desarrollo sean cortos y aumenten la posibilidad de acceso a recursos como alimento, hospedero y pareja reproductiva en la emergencia, reduciendo así los tiempos entre generaciones (Pandey & Singh, 1999).

En este trabajo, *Phasmovora phasmophagae* Cortés, 1968 (Diptera: Tachinidae), parasitoide del phasmido *Agathemera crassa* Blanchard (Phasmatodea: Pseudophasmatidae), es utilizado como modelo para: i) estudiar el efecto de la temperatura ambiente sobre rasgos de historia de vida, ii) evaluar los compromisos entre reproducción y sobrevivencia, y iii) analizar la variación de estos efectos en una interacción específica de hábitat de altura (Andes, Chile Central), donde la variable térmica juega un rol predominante en el desarrollo y conducta de esta interacción parasitoide-hospedero. Por estos motivos, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la aclimatación térmica, durante una etapa puntual del desarrollo (estadio pupal), sobre los rasgos de historia de vida de *P. phasmophagae*.

Material y Métodos

Especie de estudio

La especie focal de este estudio es *P. phasmophagae* Cortés, 1968 (Diptera: Tachinidae), la que corresponde a un endoparasitoide koinobionte, especialista en el hospedero *Agathemera crassa* Blanchard, 1851 (Phasmatodea: Pseudophasmatidae).

puede afectar el tiempo de desarrollo produciendo, por ejemplo, que a altas temperaturas los tiempos de desarrollo sean cortos y aumenten la posibilidad de acceso a recursos como alimento, hospedero y pareja reproductiva en la emergencia, reduciendo así los tiempos entre generaciones (Pandey & Singh, 1999).

En este trabajo, *Phasmovora phasmophagae* Cortés, 1968 (Diptera: Tachinidae), parasitoide del phasmido *Agathemera crassa* Blanchard (Phasmatodea: Pseudophasmatidae), es utilizado como modelo para: i) estudiar el efecto de la temperatura ambiente sobre rasgos de historia de vida, ii) evaluar los compromisos entre reproducción y sobrevivencia, y iii) analizar la variación de estos efectos en una interacción específica de hábitat de altura (Andes, Chile Central), donde la variable térmica juega un rol predominante en el desarrollo y conducta de esta interacción parasitoide-hospedero. Por estos motivos, el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la aclimatación térmica, durante una etapa puntual del desarrollo (estadio pupal), sobre los rasgos de historia de vida de *P. phasmophagae*.

Material y Métodos

Especie de estudio

La especie focal de este estudio es *P. phasmophagae* Cortés, 1968 (Diptera: Tachinidae), la que corresponde a un endoparasitoide koinobionte, especialista en el hospedero *Agathemera crassa* Blanchard, 1851 (Phasmatodea: Pseudophasmatidae).

Parte de su ciclo de vida comprende dimorfismo sexual (mayor tamaño en hembras), la presencia de microhuevos y estrategia reproductiva pro-ovigénica (C. Veloso, datos no publicados), es decir, que las hembras presentan una carga de huevos maduros establecida, previo a la emergencia a adulto.

Captura y mantención

Los parasitoides fueron obtenidos a partir de una población de hospederos (*A. crassa*), ubicada en un sector alto andino de Chile central (Lagunillas (33° 36' S, 70° 17' W; 2200 m s.n.m.)), en el mes de diciembre del 2008. Los hospederos fueron trasladados al laboratorio de Ecofisiología Animal de la Universidad de Chile para su mantención y manipulación experimental. A medida que fueron emergiendo de sus hospederos, los parasitoides fueron asignados aleatoriamente en contenedores ubicados en tres tratamientos térmicos en cámaras termo-reguladas a 15 °C, 22,5 °C y 30 °C ($\pm 0,8$ °C), con un $50 \pm 5\%$ HR y un fotoperíodo 12:12 LO. Al momento de la emergencia como adultos, machos y hembras fueron mantenidos en cámaras termo-reguladas a una temperatura ambiente de 22,5 °C y bajo las mismas condiciones de humedad y fotoperíodo ya descritas anteriormente.

Determinación de días de pupa, masa y tamaño corporal y longevidad del adulto

A medida que los individuos fueron emergiendo como adultos se obtuvo el tiempo de desarrollo (días como pupa). La masa corporal de los machos fue medida mediante balanza analítica electrónica ($\pm 0,00005$ g) y su longevidad (días como adulto) fue registrada a una temperatura de $22,5$ °C, y sin alimentación. Una vez muertos, en los machos se registró mediante pie de metro digital ($\pm 0,005$ mm) el ancho de la cabeza, como una medida de tamaño corporal. Una vez emergidas las hembras se les registró su masa corporal, para posteriormente ser mantenidas a una temperatura ambiente de $22,5$ °C con un $50 \pm 5\%$ HR y un fotoperíodo 12:12 L:O. Luego de permanecer un día bajo estas condiciones, el ancho de la cabeza de las hembras fue medido y posteriormente éstas fueron sacrificadas.

Determinación de fecundidad potencial

La masa seca de los ovarios fue considerada una medida de asignación a fecundidad (Price, 1975). Para esto se sacrificaron las hembras un día después de la emergencia como adulto, tiempo necesario para la maduración de los ovariolos y para que los huevos no desciendan por el oviducto. Posteriormente, se realizó la disección del abdomen para obtener la estructura de los ovarios, sin espermateca ni oviducto, y luego estos fueron secados en una cámara a 60 °C hasta masa constante. Para masar los ovarios se utilizó una balanza analítica electrónica ($\pm 0,00005$ g).

Determinación del contenido de lípidos

La masa de lípidos corporales es considerada una medida de reserva energética, y por lo tanto, corresponde a una medida de mantención y sobrevivencia de los individuos (Colinet et al. 2007; Zera & Larsen, 2001). Los cuerpos de las hembras utilizados en la extracción de ovarios, fueron pulverizados y el polvo fue almacenado en paquetes de papel filtro, y luego secados a 60 °C hasta obtener masa constante. Los lípidos totales fueron extraídos mediante el sistema soxhlet, con éter de petróleo como solvente y calculando su masa final como la diferencia entre la masa inicial y la masa final del contenido del paquete de papel filtro, utilizando una balanza analítica electrónica ($\pm 0,00005$ g).

Análisis estadísticos

Para determinar el efecto de las temperaturas sobre la sobrevivencia en estadio de pupa, se realizó la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado (χ^2). El efecto de los tratamientos de temperatura y el sexo, sobre las variables días en estadio de pupa y masa corporal del adulto, fue analizado mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Se utilizó ANOVA de una vía para evaluar la sobrevivencia de machos adultos. Para comparar las variables: ancho cabeza, masa ovario y reserva lipídica, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA), utilizando la masa corporal como

covariable. En estos análisis, se utilizó como prueba a posteriori el test de Tukey HSD (Zar, 1996). Todos los análisis se efectuaron utilizando STATISTICA 7.0.

Tabla 1

Resumen estadístico para variables morfológicas y de historia de vida por temperatura y sexo, de *Phasmovora phasmophagae*.

Variable	Temp.	Sexo	Media ± EE	Mínimo	Máximo	n
Masa Corporal (g)	15°C	Hembra	0,0286 ± 0,0005	0,0242	0,034	28
		Macho	0,0150 ± 0,0003	0,0112	0,0196	36
	22,5°C	Hembra	0,02613 ± 0,0009	0,0129	0,0327	33
		Macho	0,0140 ± 0,0005	0,0056	0,0189	30
	30°C	Hembra	0,0249 ± 0,001	0,0142	0,0355	25
		Macho	0,0152 ± 0,0004	0,0074	0,0204	37
Ancho Cabeza (mm)	15°C	Hembra	2,5135 ± 0,0155	2,35	2,7	28
		Macho	2,1338 ± 0,0131	1,92	2,27	36
	22,5°C	Hembra	2,4566 ± 0,0253	2,07	2,63	33
		Macho	2,1736 ± 0,02759	1,65	2,37	30
	30°C	Hembra	2,6552 ± 0,1521	2,15	6,24	25
		Macho	2,2513 ± 0,023	1,97	2,88	37
Días de pupa	15°C	Hembra	43,9285 ± 0,3167	40	47	28
		Macho	42,361 ± 0,4006	31	46	36
	22,5°C	Hembra	18,3 ± 0,1281	17	20	33
		Macho	17,23 ± 0,2232	14	19	30
	30°C	Hembra	12,6 ± 0,1	12	13	25
		Macho	11,9459 ± 0,1856	7	14	37
Días de Adulto	15°C	Macho	3,6944 ± 0,153	2	6	36
	22,5°C	Macho	3,83 ± 0,1445	2	6	30
	30°C	Macho	3,4571 ± 0,198	1	6	35
Masa Ovarios (g)	15°C	Hembra	0,0011 ± 0,00004	0,0006	0,0016	28
	22,5°C	Hembra	0,001 ± 0,00006	0,0002	0,0018	32
	30°C	Hembra	0,0006 ± 0,00008	0,0001	0,0017	21
Masa Lípidos (g)	15°C	Hembra	0,0079 ± 0,0001	0,0057	0,0093	28
	22,5°C	Hembra	0,0067 ± 0,0002	0,0041	0,0096	28
	30°C	Hembra	0,0076 ± 0,0003	0,0043	0,0095	17

Resultados

Efecto de la aclimatación térmica sobre el tiempo de desarrollo y la sobrevivencia de la pupa, la masa y tamaño corporal, y la longevidad del adulto.

Un indicador de sobrevivencia durante el desarrollo como pupa, fue el porcentaje de emergencia a estadio adulto, encontrando que existe efecto de la temperatura de crianza sobre la sobrevivencia ($\chi^2=65,7$; $gl=2$; $p<0,001$) donde se presenta una alta sobrevivencia a 15 °C (94,1 %, $n=68$) y 22,5 °C (92,6 %, $n=68$), y una baja sobrevivencia a 30 °C (48,4 %, $n=128$)¹. Se encontraron diferencias tanto para masa como para ancho de la cabeza entre los tratamientos térmicos (Tabla 1 y 2), además se observan diferencias entre sexos para masa corporal, y en el caso de las hembras, se presentan diferencias entre 15 °C y 30 °C (Fig. 1A). Para el ancho de la cabeza, el tratamiento de 30 °C se diferencia del resto en machos (Fig. 1B). Solo para masa corporal se encontró efecto de la interacción entre temperatura de crianza y sexo en los análisis de varianza.

¹ El número de individuos a 30 °C, fue incrementado debido a la baja sobrevivencia hasta estadio adulto, lo cual permitió no desbalancear la comparación entre los tratamientos para otras variables.

Tabla 2

ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación y del sexo sobre ancho de la cabeza, y de ANOVA para el efecto de la temperatura sobre masa corporal, días de pupa y días de adulto en machos, en *P. phasmophagae*.

Rasgo	Fuente	SC	Gl	CM	F	p
Ancho cabeza	Masa (covariable)	1,63467	1	1,63466	224,542	< 0,001
	Sexo	0,00047	1	0,00047	0,0649	0,799
	Temperatura	0,31744	2	0,15872	21,802	< 0,001
	Sexo*Temperatura	0,02749	2	0,01374	1,888	0,154
	Error	1,31767	181	0,00727		
Masa Corporal	Sexo	0,006462	1	0,006462	466,970	< 0,001
	Temperatura	0,000134	2	0,000067	4,841	0,008
	Sexo*Temperatura	0,000118	2	0,000059	4,294	0,015
	Error	0,002532	183	0,000013		
Días de pupa	Sexo	56,8	1	56,8	26,61	< 0,001
	Temperatura	33655,4	2	16827,7	7880,82	< 0,001
	Sexo*Temperatura	6,39	2	3,19	1,49	0,226
	Error	390,75	183	2,1		
Días de adulto (machos)	Temperatura	3,977	2	1,988	1,855	0,161
	Error	106,111	99	1,071		

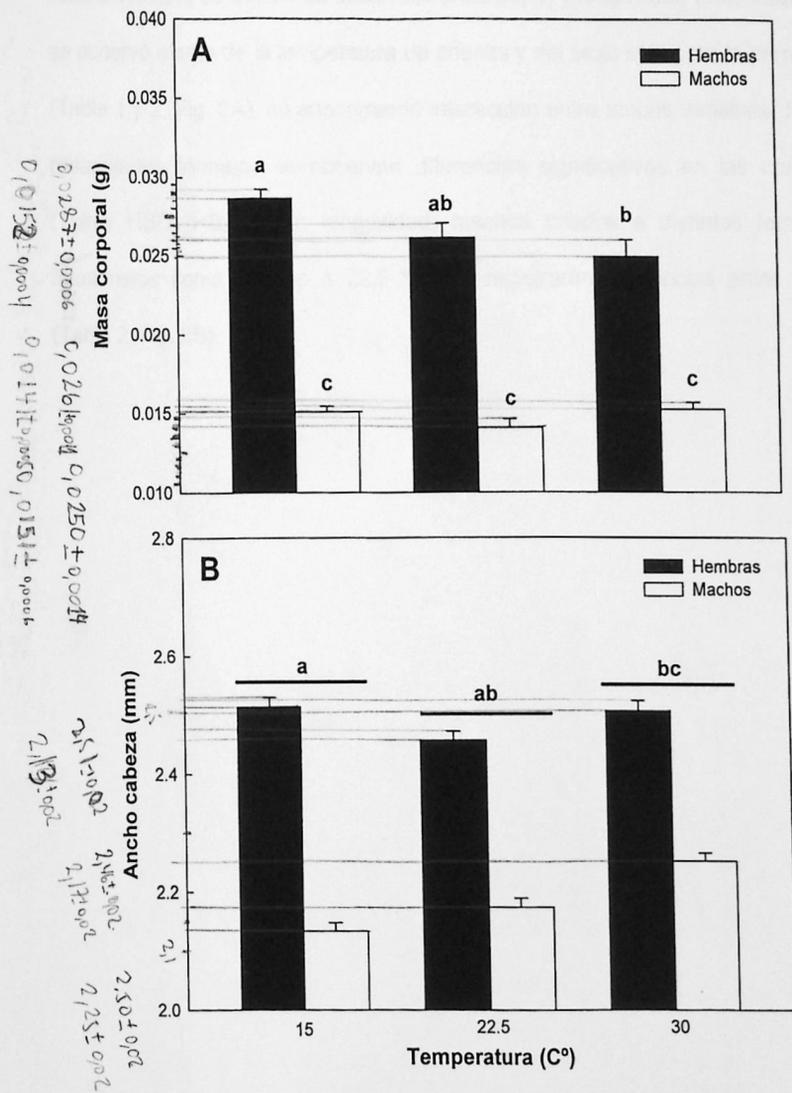


Figura 1. Efecto de la temperatura de aclimatación en estadio pupal y del sexo sobre masa corporal (A) y ancho cabeza (B) en adultos de *P. phasmophagae*. Se indican valores de promedio \pm 1EE por tratamiento y sexo. Se señalan diferencias significativas para prueba de Tukey HSD ($p < 0,01$).

Para los rasgos de tiempo de desarrollo (días pupa) y longevidad (días adulto machos), se observó efecto de la temperatura de crianza y del sexo sólo para la primera variable (Tabla 1 y 2, Fig. 2A), no encontrando interacción entre ambas variables. Para los tres tratamientos térmicos se observan diferencias significativas en las comparaciones (Tukey HSD $p < 0,01$). En longevidad, machos criados a distintas temperaturas y mantenidos como adultos a 22,5 °C, no registraron diferencias entre tratamientos (Tabla 2, Fig. 2B)

Figura 2. Efecto de la temperatura de crianza y del sexo sobre los rasgos de desarrollo (A) y longevidad (B) de machos de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Pemphigidae) criados a 15, 22,5 y 30 °C. Los machos fueron mantenidos como adultos a 22,5 °C. Tabla 1 y 2, Fig. 2A y 2B, Tabla 1 y 2, Fig. 2A y 2B.

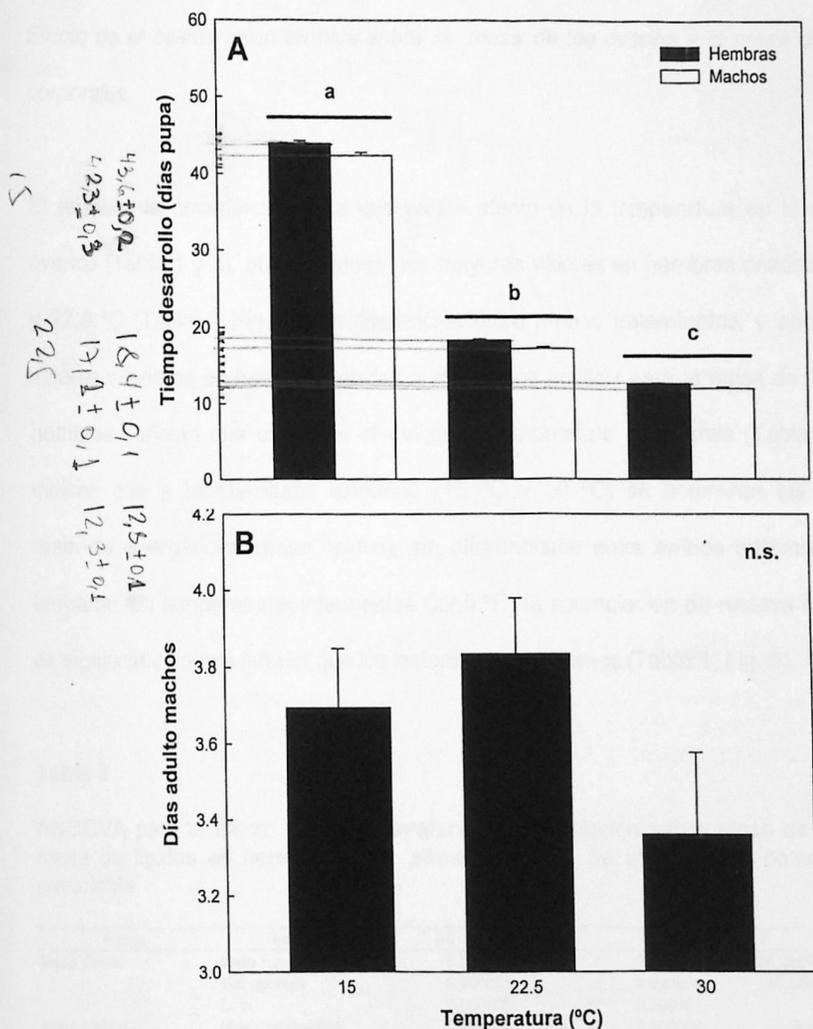


Figura 2. Efecto de la temperatura de aclimatación en estadio pupal sobre los días de pupa (A) y días de adulto (sólo machos) (B) en *P. phasmophagae*. Todos los valores corresponden al promedio \pm 1EE. Las letras sobre las barras corresponden a una prueba a posteriori de Tukey HSD y n.s. (no significativo) (B).

Efecto de la aclimatación térmica sobre la masa de los ovarios y la masa de lípidos corporales.

El análisis de covarianza indica que existe efecto de la temperatura en la masa de ovarios (Tabla 1 y 3), observándose los mayores valores en hembras criadas a 15 °C y 22,5 °C (Tabla 1, Fig. 3), sin diferencias entre ambos tratamientos, y encontrando valores inferiores en hembras criadas a 30 °C. Los análisis para la masa de lípidos en hembras señalan que existe un efecto de la temperatura de crianza (Tabla 1 y 3) e indican que a temperaturas extremas (15 °C y 30 °C) se acumulan las mayores reservas energéticas (masa lípidos), sin diferenciarse entre ambos tratamientos, sin embargo, en temperaturas intermedias (22,5 °C) la acumulación de reserva energética es significativamente inferior que los tratamientos extremos (Tabla 1, Fig. 3).

Tabla 3

ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación sobre masa de ovarios y masa de lípidos en hembras de *P. phasmophagae*. Se utilizó masa corporal como covariable.

Rasgo	Fuente	SC	Gl	CM	F	p
Masa Ovario	Masa (covariable)	0,000002	1	0,000002	26,22818	< 0,001
	Temperatura	0,000001	2	0,000001	10,2454	< 0,001
	Error	0,000006	77	0,000001		
Masa Lípidos	Masa (covariable)	0,000004	1	0,000003	3,14	0,081
	Temperatura	0,000019	2	0,000009	7,989	< 0,001
	Error	0,000081	69	0,000001		

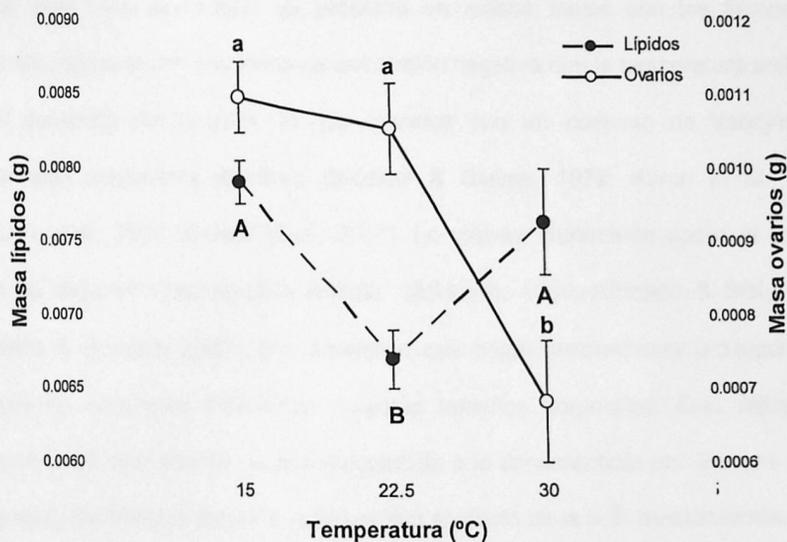


Figura 3. Efecto de la aclimatación térmica en estadio pupal sobre la masa de ovarios y la masa de lípidos en hembras de *P. phasmophagae*. Todos los valores se presentan como promedio \pm 1EE. Las letras sobre los puntos corresponden a una prueba a posteriori de Tukey ($p < 0,05$), se indican con letras minúsculas para masa de ovario y mayúsculas para masa de lípidos.

Discusión

Contrario a lo encontrado por Cortés (1968), los resultados de este trabajo muestran un marcado dimorfismo sexual en masa corporal con mayores valores en hembras, independiente de los tratamientos. Además también en hembras, las mayores masas corporales se observaron a 15 °C, lo que indica un efecto directo de la temperatura, puntualmente en este sexo, respuesta que no se presenta en machos. Un patrón

similar, pero más acentuado, se presenta en ambos sexos con los tiempos de desarrollo, donde existe una marcada asociación negativa con la temperatura ambiente en el desarrollo de la pupa, lo que coincide con un conjunto de trabajos que documentan respuestas similares (Siddiqui & Barlow, 1972; Karan et al., 1998; Folguera et al., 2007; Colinet et al., 2007). Lo anterior claramente apoya la llamada regla del desarrollo "temperatura-tamaño" (Atkinson, 1994; Atkinson & Sibly, 1997; Angilletta & Dunham 2003), que establece que bajas temperaturas provocan altos tiempos de desarrollo, induciendo mayores tamaños corporales. Esto último, fue encontrado en este estudio, lo que no coincide a lo documentado por Stevens (2004) en la mariposa *Pararge megeria*, quien evalúa el efecto de la aclimatación térmica en la misma fase. Por otro lado, no encontramos efectos de la temperatura sobre la longevidad, lo que no nos permite aplicar una hipótesis alternativa en relación al rendimiento en sobrevivencia de adulto, sin embargo, el porcentaje de emergencia a estadio adulto, indica que 30 °C sería una temperatura extrema (límite superior de tolerancia) para esta especie, ya que menos de la mitad de los individuos criados a esta temperatura sobrevivieron al tratamiento, y por otro lado, casi la totalidad de los individuos pudieron emerger a adulto a 15 °C y 22,5 °C. Esto nos permite proponer que se presenta un aumento en el desempeño en sobrevivencia en el desarrollo, a medida que disminuye la temperatura de aclimatación, y con esto, apoyar la hipótesis que explica la respuesta "colder is better" (Atkinson & Sibly, 1997).

Phasmovora phasmophagae presenta una estrategia reproductiva de tipo pro-ovigénica (ver Jervis et. al., 2008, para rasgos de ovigenia), por lo que la asignación a reproducción (masa de estructura ovárica), es determinada durante su desarrollo pre-adulto, y donde el estadio pupal cumple la función de asignación diferencial a tejidos como producto de la metamorfosis. Por esto, la fecundidad potencial es posible determinarla como una respuesta fisiológica a condicionantes ambientales presentes en la pupa. Para evaluar esto, se sometió a pupas a un gradiente térmico, encontrando en hembras adultas valores significativamente más altos de masa de ovarios a la temperatura de 15 °C, en comparación con el tratamiento de 30 °C, sin embargo, ésta diferencia no es significativa al comparar con los individuos criados a 22,5 °C. Por lo tanto, estos resultados sugerirían, igualmente a lo encontrado con sobrevivencia en pupa (ver párrafo anterior), que la disminución de la temperatura produciría un mejor desempeño para el desarrollo de rasgos de historia de vida relacionados con sobrevivencia (en pupa) y reproducción en esta especie. Por otro lado, rasgos de reproducción y mantención (reserva) se encuentran en compromiso (Stearns, 1992; Ellers & van Alphen, 1997; Ellers et al., 2000; Jervis et al., 2003; Colinet et al., 2007), y una medida de ambos rasgos corresponde a la masa ovárica (fecundidad potencial), y como mantención (sobrevivencia futura) la masa de lípidos corporales (reserva energética), respectivamente (Zera & Larsen, 2001). Además, la reserva de lípidos tiene un importante papel en la fisiología de la asignación de recursos en este compromiso (Ellers & van Alphen, 1997), tanto como reserva energética para el adulto, como para la formación de los huevos. El efecto de la temperatura en ésta relación, fue

evaluado, encontrando que la masa de lípidos corporales en hembras mantenidas a 22,5 °C es significativamente menor que en del resto de los tratamientos. Por otro lado, en el tratamiento de 15 °C, se presentan los mayores valores de masa de lípidos (Tabla 1, Fig. 3), lo que permite sugerir que bajas temperaturas permiten en esta especie, un mejor desempeño, de forma paralela para los rasgos en compromiso de reproducción y sobrevivencia. Estos resultados nos indicarían que la temperatura ambiental en el desarrollo de la pupa, influiría directamente en la variación del compromiso entre estos rasgos en *P. phasmophagae*, en donde, la asignación al desarrollo de la masa en la estructura ovárica, tiene costos en reserva energética para la mantención futura, pero una disminución en las temperaturas de aclimatación en el desarrollo, aumentan la adecuación biológica de esta especie, en relación a rasgos de sobrevivencia, reproducción y mantención, esto último, producto de una mayor asignación a reserva energética.

Como las condiciones de aclimatación no presentaron las fluctuaciones térmicas propias de las variaciones ambientales, a las cuales está sometida la especie en el campo, nuestras manipulaciones no incluyen un conjunto de variables adicionales que también puedan modificar sus respuestas, sin embargo, esta aproximación permite conocer algunos rangos térmicos de tolerancia y de desarrollo óptimos de *P. phasmophagae*, y así entender los posibles efectos de la variación térmica de la población de parasitoides, en la relación con su hospedero y por la selección de microhábitat para la pupación, y con esto, maximizar su adecuación biológica. En una perspectiva ecológica y desde el punto de vista del hospedero, la selección de

temperaturas ambientes se asocia a sus propios rendimientos, sin embargo, desde el punto de vista de la asociación parásito-hospedero, la selección de temperaturas subóptimas se asociaría a un "control" de los rendimientos y en definitiva de la carga parasitaria, por lo que este acercamiento en la comprensión del efecto de la variable térmica sobre este sistema parasitoide-hospedero, abre un potencial de investigación tanto en seguir la línea del parasitoide (ampliando el rango térmico), como la línea del hospedero en la interacción. Por último, el utilizar el estadio pupal como centro en los protocolos de manipulación térmica, permite entender la variación en la asignación de recursos para la formación de tejidos y su plasticidad reflejada en el adulto.

Referencias

- Alexander, R. M. 1999.** Energy for Animal Life. New York: Oxford University Press.
- Angilletta, M.J. & Dunham A.E. 2003.** The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *Am. Nat.* 162:332–342.
- Atkinson, D., 1994.** Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? *Adv. Ecol. Res.* 25, 1–58.
- Atkinson, D. 1996.** Ectotherm life-history responses to developmental temperature. En: Johnston IA. & AF. Bennett (eds.). Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation, pp. 183-204. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Atkinson, D. & Sibly, R.M. 1997.** Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends in Ecology and Evolution.* 12: 235-239.
- Boggs, C.L., 1981.** Nutritional and life-history determinants of resource-allocation in holometabolous insects. *Am. Nat.* 117, 692–709.
- Chapman, R.F. 1998.** The Insects: structure and function. 4th ed. Cambridge University Press. Cambridge. UK.
- Charnov, E.L., & Skinner, S.W. 1984.** Evolution of host selection and clutch size in parasitoid wasp. *Florida Entomology.* 67: 5-21.
- Chown, S.L., Gaston, K.J., 1999.** Exploring links between physiology and ecology at macro-scales: the role of respiratory metabolism in insects. *Biol. Rev.* 74, 87–120.

- Chown, S.L. & Nicolson, S.W. 2004.** Insect Physiological Ecology Mechanisms and Patterns. Oxford University Press, U.K.
- Colinet, H. Boivin, G. & Hance, Th., 2007.** Manipulation of parasitoid size using the temperature-size rule: fitness consequences. *Oecologia*.152: 425-233.
- Cortés, R. 1968.** Taquínidos chilenos (Dipt., Tachinidae) parásitos de phasmidos (Phasmoidea). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 40:101-111 (1965-1966).
- Davidowitz, G., D'Amico, L.J., Nijhout, H.F., 2003.** Critical weight in the development of insect body size. *Evol. Dev.* 5, 188–197.
- Ellers, J. & van Alphen J.J.M. 1997.** Life history evolution in *Asobara tabida*: plasticity in allocation of fat reserves to survival and reproduction. *J. Evol. Biol.* 10:771–785
- Ellers, J, van Alphen J.J.M., Sevenster, J.G., 1998.** A Weld study of size–Wtness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*. *J. Anim. Ecol.* 67: 318–324.
- Ellers, J., Driessen, G., & Sevenster, J.G. 2000.** The shape of the trade-off function between reproduction and survival in the parasitoid *Asobara tabida*. *Neth. J. Zool.* 50:29–36.
- Feener, D. & Brown, B. 1997.** Diptera as Parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 42:73–97.
- Fischer, K., Brakefield, P.M., Zwaan, B.J., 2003.** Plasticity in butterfly egg size: why larger offspring at lower temperatures? *Ecology* 84, 3138–3147.
- Folguera, G., Muñoz, J. L., Ceballos, S., Bozinovic F. & Hasson, E. 2007.** Testing the interplay between physiological and life-history traits: an experimental study in *Drosophila*. *Evolutionary Ecology Research*, 9: 1211–1222.

- Fox, C.W., Czesak, M.E., 2000.** Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 341–369.
- Gibert, P., Huey, R. B. and Gilchrist, G. W. 2001.** Locomotor performance of *Drosophila melanogaster*: interactions among developmental and adult temperatures, age, and geography. *Evolution* 55: 205-209.
- Godfray, H.C.J. 1994.** Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton, University Press, NJ, USA.
- Huey, R. B., and D. Berrigan. 1996.** Testing evolutionary hypotheses of acclimation. Pages 205–237 in I. A. Johnston and A. F. Bennett, editors. Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Karan, D., Morin, J.P., Moreteau, B. and David, J.R. 1998.** Body size and developmental temperature in *Drosophila melanogaster*: analysis of body weight reaction norm. *J. Therm. Biol.*, 23: 301–309.
- King, B.H. 1989.** Host-size dependent sex ratios among parasitoids wasps: does host size matter? *Oecologia* 78: 420-426.
- Jervis, M.A., Ferns, P.N., & Heimpel, G.E. 2003.** Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps: a comparative analysis. *Funct. Ecol.* 17:375–383
- Jervis, M.A. Ellers, J. & Harvey J.A., 2008.** Resource Acquisition, Allocation, and Utilization in Parasitoid Reproductive Strategies. *Annu. Rev. Entomol.* 53:361–85.
- Leroi, A.M., Bennett, A.F., & Lenski, R.E., 1994.** Temperature-acclimation and competitive fitness: an experimental test of the beneficial acclimation assumption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1917–1921.

- Pandey, S. & Singh, R., 1999.** Host size induced variation in sex ratio of an aphid parasitoid *Lysiphlebia mirizai*. *Entomol. Exp. Appl.* 90:61–67.
- Price, P.W. 1975. Reproductive strategies of parasitoids.** In *Evolutionary Strategies of Parasitoids*, ed. P.W. Price, pp. 87–111. New York: Plenum.
- Ricklefs, R.E. & Wikelski, M. 2002.** The physiology / life-history nexus. *Trends in Ecology and Evolution.* 17: 462-468.
- Roff, D.A. 2002.** Life history evolution. Sinauer Associates, MA, NJ.
- Sibly, R.M. & D. Atkinson, D. 1994.** How rearing temperature affects optimal adult size in ectotherms. *Functional Ecology* 8:486-493.
- Siddiqui, W.H. & Barlow, C.A. 1972.** Population growth of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) at constant and alternating temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 65: 993–1001.
- Stearns, S.C. 1992.** *The Evolution of Life Histories*, Oxford University Press.
- Steigenga, M.J. & Fisher, K., 2009.** Fitness consequences of variation in developmental temperature in a butterfly. *J. Therm. Biol.* 34: 244-249.
- Stevens, D., 2004.** Pupal development temperature alters adult phenotype in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria*. *J. Therm. Biol.* 29: 205-210.
- Stillwell, R.V. & Fox, C.W., 2005.** Complex patterns of phenotypic plasticity: interactive effects of temperature during rearing and oviposition. *Ecology.* 86, 924–934.
- Tallamy, D.W. & Denno, R. F. 1982.** Life history trade-offs in *Gargaphia solani* (Hemiptera: Tingidae): the cost of reproduction. *Ecology.* 63: 616-620.

Waage, J.K & Godfray, H.C. 1985. Reproductive strategies and population ecology of insect parasitoids, En: R.M. Sibly R.H. Smith, eds. Behavioral ecology, 449-470. Oxford, UK. Blackwell Scientific Publications.

Zamudio, K.R., Huey, R.B., Crill, W.D., 1995. Bigger isn't always better: body size, developmental and parental temperature and male territorial success in *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.* 49, 671-677.

Zar, J. 1996. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA.

Zera, A.J. & Larsen, A. 2001. The metabolic basis of life history variation: genetic and phenotypic differences in lipid reserves among life history morphs of the wing-polymorphic cricket, *Gryllus firmus*. *Journal of Insect Physiology.* 47: 1147-1160.

CAPITULO II

EFFECTO DEL SEXO Y DE LA ACLIMATACIÓN TÉRMICA EN ESTADIO PUPAL SOBRE LA TASA METABÓLICA ESTANDAR EN LA MOSCA PARASITOIDE DE ALTURA *Phasmovora phasmophagae* (DIPTERA: TACHINIDAE)

Resumen

La temperatura ambiente y la masa corporal son factores que influyen directamente sobre la tasa metabólica estándar. Sin embargo, la magnitud de las modificaciones depende del tipo de organismo y del ambiente en que éste se desarrolla normalmente. Este estudio documenta la variación de la tasa metabólica en adultos de una población del parasitoide taquinido *Phasmovora phasmophagae* por efecto de la aclimatación térmica durante el período pupal, por la masa corporal de adulto y por el sexo. Los resultados indican que la aclimatación de los individuos a distintas temperaturas afecta significativamente la tasa metabólica, estableciendo una asociación negativa entre ambas variables, es decir, animales aclimatados a 15 °C y 22,5 °C presentan una tasa metabólica mayor que animales mantenidos a 30 °C al ser medidos todos a 22,5 °C y al hacer las comparaciones controlando por masa corporal, son los machos los que desarrollan las mayores tasas metabólicas. La respuesta presentada a bajas temperaturas, corresponde a un mecanismo de adaptación metabólica al frío por compensación, posible de ser desarrollada en estadio pupal.

Palabras claves: Tasa metabólica estándar; aclimatación térmica, adaptación metabólica al frío, parasitoide, *Phasmovora phasmophagae*.

Introducción

La tasa metabólica refleja el costo de vida de los organismos bajo un conjunto específico de condiciones ambientales (Terblanche & Chown, 2007; Chown & Nicolson, 2004, Hulbert & Else, 2000). En ectotermos, la tasa metabólica responde rápidamente a la temperatura ambiente (Bennett & Dawson, 1976) y en insectos escala positivamente con la masa corporal, e influye directamente sobre los presupuestos energéticos totales (Terblanche & Chown, 2007), por lo tanto, modificaciones en este rasgo implican adaptaciones que permiten a las especies mantenerse en ambientes, que de otra forma, no les sería posible (Chown & Gaston, 1999; Lardies et al., 2008). Diferencias en la tasa metabólica interespecífica, se observan como producto de la optimización de los fenotipos con respecto a sus ambientes (Spicer & Gaston, 1999). A pesar de que los determinantes inmediatos de su variación son la masa corporal y la temperatura ambiente, también se muestra influenciada por otros factores como el género, estrategias de locomoción (Rogowitz & Chappell, 2000), actividad (Bartholomew & Lighton, 1985; Reinhold, 1999), diapausa, estación, la altitud y latitud (Terblanche et al., 2005). La depresión en el metabolismo se ha observado como una adaptación a altas temperaturas, asociado a una disminución de la adecuación biológica (véase Chown & Gaston, 1999 para revisión). En el caso de elevadas tasas

metabólicas de especies de climas fríos, conocida como adaptación metabólica al frío, se propone que ésta adaptación permite elevar los costos de ATP asociados a crecimiento y desarrollo (Wieser, 1994) necesarios para completar ciclos de vida cortos propios de climas de altas alturas y latitudes (Sømme & Block, 1991; Reinhold, 1999; Addo-Bediako et al., 2002; Chown & Nicolson, 2004). La adaptación metabólica al frío no solo representa una respuesta fisiológica a la temperatura ambiente, sino que también se entiende como un componente de la historia de vida de un organismo, que permite responder vía modificaciones internas, a su ambiente (Gotthard et al., 2000). Estas alteraciones se desarrollan por mecanismos de compensación del metabolismo (compensación completa y sobrecompensación) al cambio de temperatura (Hazel & Prosser, 1974; Schmidt-Nielsen, 1996; Huey & Berrigan, 1996), lo que podría afectar el uso de la energía en una población y de esta forma, influenciar las formas en que los recursos están distribuidos entre los individuos (Chown & Gaston, 1999). A nivel intraespecífico, pocos estudios han analizado el efecto de un gradiente térmico (por altitud o latitud) sobre respuestas en adaptación metabólica (Chown & Nicolson, 2004), donde algunos no presentan evidencia para la adaptación (Nylund, 1991), y otros han encontrado soporte para el metabolismo adaptado al frío (Berrigan & Partridge, 1997). Por otro lado, análisis de regresión a escala latitudinal entre tasa metabólica-temperatura, indican que la pendiente de esta relación aumenta hacia regiones frías del hemisferio norte y se mantiene sin variaciones en el sur, aunque para este último los datos son muy limitados (véase Addo-Bediako et al., 2002 para revisión), a pesar de esto, se propone que ésta sensibilidad reducida del metabolismo a la temperatura

ambiente, puede ser característica del hemisferio sur, donde los climas se mantienen constantemente más fríos (Chown, 1997; Chown & Gaston, 1999) y las posibilidades de termorregulación conductual son limitadas (Chown, 1997), en contraste con los climas del norte donde los períodos de radiación directa son más frecuentes (Danks, 1999; Gotthard et al., 2000).

Apoyo adicional a las hipótesis de compensación adaptativa, puede ser obtenida de estudios que muestren que la tasa metabólica también presenta compensación como producto de aclimatación en el desarrollo (Berrigan, 1997). Adicionalmente, la plasticidad térmica raramente ha sido demostrada durante el desarrollo de la metamorfosis (estadio pupal) (Stevens, 2004), donde en especies con ciclos holometábolos, el fenotipo del adulto es fijado (Boggs, 1981; Chapman, 1998).

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar los efectos de la aclimatación térmica en estadio pupal, sobre la variación metabólica de *Phasmovora phasmophagae* Cortés (Diptera: Tachinidae), parasitoide del phásmido *Agathemera crassa* Blanchard (Phasmatodea: Pseudophasmatidae), propios de un sistema parasitoide-hospedero de hábitat de altura de los Andes de Chile Central, donde la variable térmica cumple un importante rol en el desarrollo y conductas de éstos organismos.

Materiales y métodos

Especie de estudio

La especie focal de este estudio es *Phasmovora phasmophagae* Cortés, 1968 (Díptera: Tachinidae), la que corresponde a un endoparasitoide koinobionte especialista en el hospedero *Agathemera crassa* Blanchard, 1851 (Phasmatodea: Pseudophasmatidae). Un marcado dimorfismo sexual en la masa corporal caracteriza parte de su ciclo de vida (C. Veloso, datos no publicados).

Diseño experimental

Captura y mantención de los animales

Los parasitoides fueron obtenidos a partir de una población de hospederos (*A. crassa*), ubicada en un sector alto andino de Chile central (Lagunillas (33° 36' S, 70° 17' W; 2200 m s.n.m.)), en el mes de diciembre del 2008. Los hospederos fueron trasladados al laboratorio de Ecofisiología Animal de la Universidad de Chile para su mantención y manipulación experimental. A medida que fueron emergiendo de sus hospederos, los parasitoides fueron asignados aleatoriamente en contenedores ubicados en tres tratamientos térmicos en cámaras termo-reguladas a 15 °C, 22,5 °C y 30 °C ($\pm 0,8$ °C), con un $50 \pm 5\%$ HR y un fotoperíodo 12:12 LO.

Medición de Tasa Metabólica Estándar

La determinación de la tasa metabólica estándar se realizó a través del registro de producción de CO₂ en sistema cerrado (Vleck, 1987). Los individuos fueron obtenidos de las cámaras termoreguladas durante las 24 horas después de su emergencia como adultos, registrando su masa corporal como adulto mediante balanza analítica electrónica ($\pm 0,00005$ g). Posteriormente, fueron ubicados individualmente en jeringas de vidrio de 2 cc herméticamente selladas y mantenidas en condiciones de oscuridad durante 2 horas (Folguera et al., 2007) a una temperatura constante de 22,5°C. Terminado el tiempo experimental, el aire de la cámara fue inyectado a un sistema de respirometría (Sable Systems International) con registro en programa Expedata. Antes de ingresar al sistema, el aire fue secado pasando por gránulos de Drierita® y el CO₂ absorbido en Baralyme®. La producción de CO₂ fue registrada una vez inyectado el aire de la jeringa en el sistema cada 1 segundo en un intervalo de 10 minutos, realizando una línea base entre cada medición y manteniendo un flujo continuo de aire de 10 ml/min. La medida de SMR fue obtenida como el área bajo la curva de volumen de producción de CO₂ estandarizado por hora (Lighton, 2008).

Tabla 1

Resumen estadístico para la tasa metabólica estándar por temperatura y sexo de *Phasmovora phasmophagae*.

Variable	Temp.	Sexo	Media \pm EE	Mínimo	Máximo	n
Tasa Metabólica	15°C	Hembra	0,4138 \pm 0,0154	0,2801	0,5636	28
VCO ₂ (ml h ⁻¹ g ⁻¹)		Macho	0,5224 \pm 0,0201	0,2905	0,7679	36
	22,5°C	Hembra	0,3478 \pm 0,0136	0,2267	0,5335	33
		Macho	0,4773 \pm 0,0275	0,2879	0,8527	30
	30°C	Hembra	0,2941 \pm 0,0153	0,1628	0,4433	24
		Macho	0,3638 \pm 0,0173	0,2069	0,6116	36

Análisis estadísticos

Para determinar el efecto de los tratamientos (temperaturas y del sexo) sobre SMR, se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) de dos vías, utilizando la masa corporal como covariable. Como prueba a posteriori se utilizó la prueba de Tukey HSD. Se realizó un análisis de regresión lineal simple para establecer el grado de asociación entre tasa metabólica y masa corporal para cada tratamiento. También, se efectuaron análisis de covarianza (modelo de homogeneidad de pendientes) como prueba de paralelismo, para identificar diferencias entre las pendientes de la comparación tasa metabólica-masa corporal para cada tratamiento, además en este análisis las variables fueron log transformadas para linealizar las variables y cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad (Zar, 1996). Todos los análisis se realizaron en el programa STATISTICA 7.0.

Resultados

Efecto de la aclimatación térmica en pupa, masa corporal y sexo sobre la tasa metabólica en adultos

La tasa metabólica estándar muestra variación significativa entre los tratamientos térmicos y entre sexos al controlar por masa corporal (Tabla 1 y 2), presentando mayores volúmenes de producción de CO₂ en los tratamiento de 15 °C y 22.5 °C para ambos sexos y valores bajos en la temperatura extrema de 30 °C (Tabla 1, Fig. 1). En la comparación por tratamiento entre sexos, son los machos los que presentan mayor tasa metabólica en promedio al controlar por masa para cada temperatura (Tukey HSD, $p < 0,001$).

Tabla 2

ANCOVA para el efecto de la temperatura de aclimatación y del sexo sobre la tasa metabólica estándar, utilizando masa corporal como covariable, en *Phasmovora phasmophagae*.

Rasgo	Fuente	SC	GI	CM	F	p
Tasa Metabólica	Masa (covariable)	0,005862	1	0,005862	0,51385	0,474
	Sexo	0,089583	1	0,089583	7,85253	0,005
	Temperatura	0,591258	2	0,295629	25,91377	<0,001
	Sexo*Temperatura	0,023327	2	0,011663	1,02241	0,361
	Error	2,053473	180	0,011408		

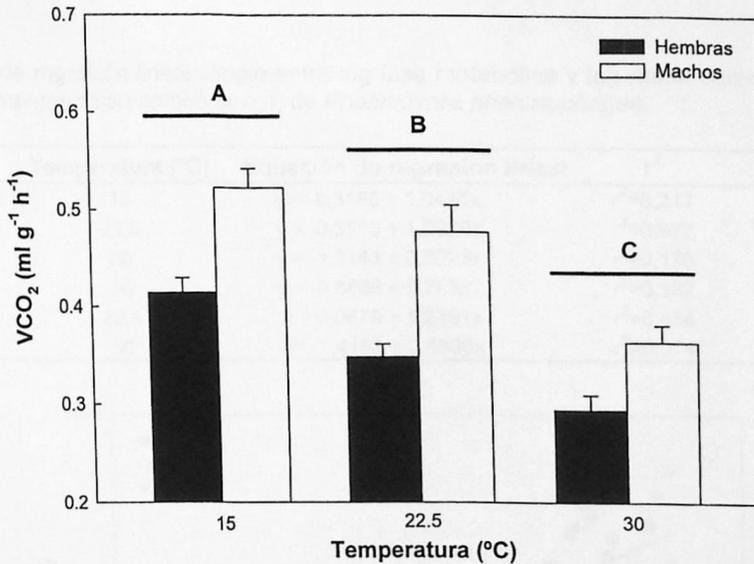


Figura 1. Efecto de la temperatura de aclimatación durante el estadio pupal y tasa metabólica estándar (masa específica), en adultos de *Phasmovora phasmophagae*. Todos los valores se presentan como promedio \pm 1EE. Diferentes letras sobre las barras indican diferencias significativas para prueba de Tukey HSD entre tratamientos ($p < 0,001$).

La masa corporal se correlaciona significativamente con la tasa metabólica para todas las temperaturas en hembras, pero en machos no se presenta correlación significativa solo en animales provenientes de 30 °C (Tabla 3). Los mayores grados de asociación entre las variables se observa a 22,5 °C, y en el análisis de covarianza para determinar paralelismo, muestra que no existen diferencias entre las pendientes de los tratamientos térmicos, tanto en hembras ($F_{(2,79)}=2,26$, $p=0,11$, ANCOVA, modelo de homogeneidad de pendientes) (Fig. 2), como en machos ($F_{(2,96)}=2,51$, $p=0,086$, ANCOVA, modelo de homogeneidad de pendientes) (Fig. 3)

Tabla 3

Análisis de regresión lineal simple entre log tasa metabólica y log masa corporal, para cada temperatura en ambos sexos, de *Phasmovora phasmophagae*.

Sexo	Temperatura (°C)	Equación de regresión lineal	r ²	p
Hembras	15	$y = -0,3188 + 1,0471x$	r ² =0,217	p=0,012
	22,5	$y = -0,3113 + 1,0989x$	r ² =0,577	p<0,001
	30	$y = -1,3143 + 0,5223x$	r ² =0,176	p=0,041
Machos	15	$y = -0,6866 + 0,785x$	r ² =0,182	p=0,009
	22,5	$y = 0,0679 + 1,2191x$	r ² =0,534	p<0,001
	30	$y = -1,4183 + 0,4698x$	r ² =0,074	p=0,106

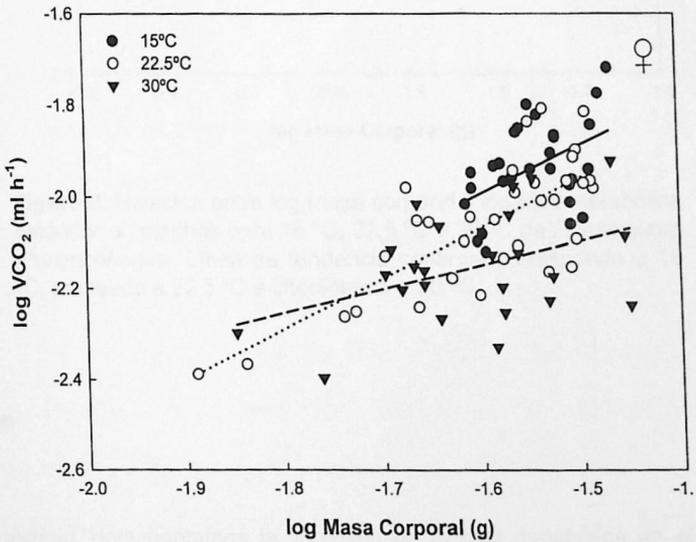


Figura 2. Relación entre log masa corporal y log tasa metabólica estándar en hembras para 15 °C, 22,5 °C y 30 °C de *Phasmovora phasmophagae*. Línea de tendencia continua corresponde a 15 °C, punteada a 22,5 °C e interlineado a 30 °C.

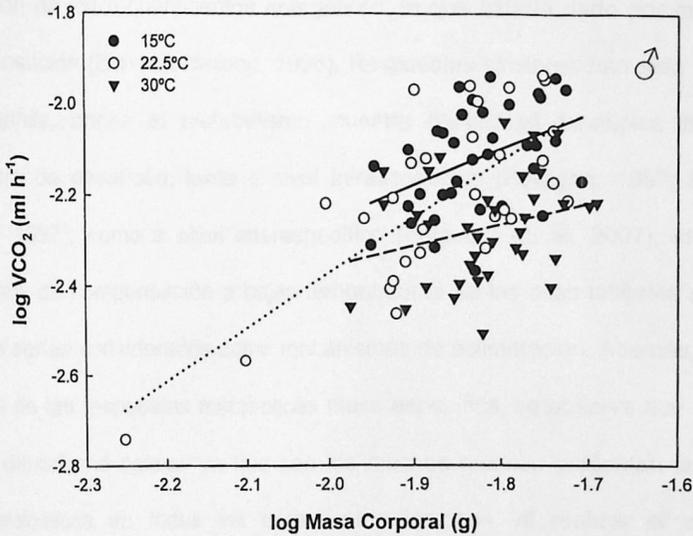


Figura 3. Relación entre log masa corporal y log tasa metabólica estándar en machos para 15 °C, 22,5 °C y 30 °C de *Phasmovora phasmophagae*. Línea de tendencia continua corresponde a 15 °C, punteada a 22,5 °C e interlineado a 30 °C.

Discusión

En este estudio, documentamos la variación de la tasa metabólica en el taquínido parasitoide *Phasmovora phasmophagae* por efecto de la temperatura de desarrollo durante el estadio de pupa. Los resultados indican que la tasa metabólica estándar está directamente influenciada por la temperatura de aclimatación, presentando asociación negativa entre ambas variables. Estos resultados además indican que esta especie presenta adaptación metabólica a bajas temperaturas como producto de la

modificación de los requerimientos energéticos, lo que estaría dado por mecanismos de compensación (Schmidt-Nielsen, 1996). Respuestas similares han sido reportadas en *Drosophila*, donde el metabolismo muestra plasticidad fenotípica frente a la temperatura de desarrollo, tanto a nivel intraespecífico (Berrigan, 1997; Berrigan & Partridge, 1997), como a nivel interespecífico (Folguera et. al, 2007), identificando mecanismos de compensación a bajas temperaturas de las altas latitudes o altitudes, los cuales serían considerados como mecanismos de aclimatación. Además, al realizar el análisis de las respuestas metabólicas masa específica, se observa que este rasgo presenta dimorfismo sexual, ya que son los machos quienes presentan las mayores tasas metabólicas en todos los tratamientos térmicos, al realizar el análisis de covarianza controlando por masa corporal.

En el análisis de regresión entre masa corporal-tasa metabólica, encontramos una asociación positiva en ambos sexos. Por otro lado, no encontramos diferencias significativas en las pendientes por tratamiento térmico, sin embargo, aunque el análisis estadístico no identifica diferencias significativas en la comparación de los tres tratamientos en cada sexo, si podemos observar una disminución en la tasa de cambio (pendiente) de VCO_2 a 30 °C para cada sexo, incluso para machos en esta temperatura la relación masa-tasa metabólica no es significativa (ver tabla 3, Fig. 2 y 3). Por lo que ésta temperatura, además de producir una disminución en la tasa metabólica, modificaría la relación alométrica entre ambos rasgos en comparación a los otros tratamientos, lo que estaría estrechamente relacionado con modificaciones que provocarían alteraciones de la maquinaria fisiológica.

En conclusión, en *P. phasmophagae*, la temperatura actúa como un factor condicionante de la energética de los individuos. Estas respuestas, aparecen como características propias de un rasgo que desarrolla plasticidad fenotípica, por lo que el poseer mecanismos de compensación metabólica a bajas temperaturas, sería un componente de la historia de vida de un organismo, ya que bajas temperaturas podrían afectar las tasas de desarrollo, como un factor estresante en la metamorfosis de estos organismos, y con esto, tener efectos directos sobre sobrevivencia.

Referencias

- Addo-Bediako, A., Chown, S.L., & Gaston, K.J. 2002.** Metabolic cold adaptation in insects: a large-scale perspective. *Functional Ecology* 16: 332–338.
- Bartholomew, G.A., Lighton, J.R.B., 1985.** Ventilation and oxygen consumption during rest and locomotion in a tropical cockroach, *Blaberus giganteus*. *Journal of Experimental Biology* 118, 449–454.
- Bennett, A.F. & Dawson, W.R. 1976.** Metabolism. En: Gans CA. & Dawson WR. (eds.). *Biology of the Reptilia*, pp. 127-224. Academic Press, New York.
- Berrigan, D. 1997.** Acclimation of metabolic rate in response to developmental temperature in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Thermal Biology* 22, 213-218.
- Berrigan, D. & Partridge, L. 1997.** Influence of temperature and activity on the metabolic rate of adult *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 118A, 1301-1307.
- Boggs, C.L., 1981.** Nutritional and life-history determinants of resource-allocation in holometabolous insects. *Am. Nat.* 117, 692–709.
- Chapman, R.F. 1998.** *The Insects: structure and function*. 4th ed. Cambridge University Press. Cambridge. UK.
- Chown, S.L., 1997.** Thermal sensitivity of oxygen uptake of Diptera from sub-Antarctic South Georgia and Marion Island. *Polar Biology* 17, 81–86.
- Chown, S.L. & Gaston, K.J., 1999.** Exploring links between physiology and ecology at macro-scales: the role of respiratory metabolism in insects. *Biol. Rev.* 74, 87–120.

- Chown, S.L. & Nicolson, S.W. 2004.** Insect Physiological Ecology Mechanisms and Patterns. Oxford University Press, U.K.
- Cortés, R. 1968.** Taquinidos chilenos (Dipt., Tachinidae) parásitos de phasmidos (Phasmoidea). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 40:101-111 (1965-1966).
- Danks, H.V. 1999.** Life cycles in polar arthropods-flexible or programmed? *European Journal of Entomology*. 96: 83–102.
- Folguera, G., Muñoz, J. L., Ceballos, S., Bozinovic F. & Hasson, E. 2007.** Testing the interplay between physiological and life-history traits: an experimental study in *Drosophila*. *Evolutionary Ecology Research*, 9: 1211–1222.
- Gotthard, K., Nylin, S. & Wiklund, C. 2000.** Individual state controls temperature dependence in a butterfly (*Lassiommatata maera*). *Proceedings of the Royal Society of London B*. 267: 589–593.
- Hazel, J.R. & Prosser, C.L., 1974.** Molecular mechanisms of temperature compensation in poikilotherms. *Physiological Reviews* 54, 620–677.
- Hulbert A. J. & Else, P.L. 2000.** Mechanisms Underlying the Cost of Living in Animals. *Annu. Rev. Physiol.* 62:207–35.
- Huey, R. B., and D. Berrigan. 1996.** Testing evolutionary hypotheses of acclimation. Pages 205–237 in I. A. Johnston and A. F. Bennett, editors. *Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Lardies, M. A., Naya, D., Berrios, P., & Bozinovic F. 2008. The cost of living slowly: metabolism, Q₁₀ and repeatability in a South American harvestman. *Physiological Entomology*. 33: 193–199.

Lighton, J.R.B. 2008. Measuring metabolic rates: a manual for scientists. Oxford University Press NY. 201 pp.

Nespolo, R.F., Lardies, M.A. & Bozinovic, F. 2003. Intrapopulation variation in the standard metabolic rate of insects: repeatability, thermal dependence and sensitivity (Q₁₀) of oxygen consumption in a cricket. *Journal of Experimental Biology*, 206 , 4309 – 4315.

Nylund, L. 1991. Metabolic rates of *Calathus melanocephalus* (L.) (Coleoptera, Carabidae) from alpine and lowland habitats (Jeløy and Finse, Norway and Drenthe, The Netherlands). *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 100: 853-862.

Reinhold, K., 1999. Energetically costly behaviour and the evolution of resting metabolic rate in insects. *Functional Ecology* 13, 217–224.

Rogowitz, G. L. and Chappell, M. A. 2000. Energy metabolism of eucalyptus-boring beetles at rest and during locomotion: gender makes a difference. *J. Exp. Biol.* 203, 1131-1139.

Schmidt-Nielsen , K . 1996. Animal Physiology. Cambridge University Press, New York.

Sømme, L. & Block, W. 1991. Adaptations to alpine and polar environments. Insects at Low Temperature (eds R. E. Lee & D. L. Denlinger), pp. 318–359. Chapman & Hall, London.

- Spicer, J.I. & Gaston, K.J. 1999.** Physiological Diversity and its Ecological Implications
Blackwell Science , U.K .
- Stevens, D., 2004.** Pupal development temperature alters adult phenotype in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria*. *J. Therm. Biol.* 29: 205-210.
- Terblanche, J. & Chown, S.L. 2007.** The effects of temperature, body mass and feeding on metabolic rate in the tsetse fly *Glossina morsitans centralis*. *Physiological Entomology*. 32: 175–180.
- Terblanche, J. S., Klok, C. J. & Chown, S. L. 2005.** Temperature dependence of metabolic rate in *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) does not vary with gender, age, feeding, pregnancy or acclimation. *Journal of Insect Physiology*, 51: 861 – 870.
- Vleck, D. 1987.** Measurement of O₂ consumption, CO₂ production, and water vapor production in a closed system. *J. Appl. Physiol.* 62, 2103-2106.
- Wieser, W. 1994.** Cost of growth in cells and organisms: general rules and comparative aspects. *Biological Reviews*. 68: 1-33.
- Zar, J. 1996.** Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN GENERAL

Los organismos ectotermos dependen directamente para su desarrollo de la temperatura ambiente, la cual modifica un conjunto de rasgos morfofisiológicos que pueden incidir en aspectos reproductivos y de sobrevivencia de los mismos, por lo tanto, afectaría directamente su adecuación biológica.

En este estudio, se evaluó el efecto de la aclimatación térmica en el desarrollo del estadio pupal de la mosca endoparasitoide *Phasmovora phasmophagae* sobre rasgos de historia de vida y sobre la variación en el metabolismo energético. En relación a los primeros rasgos, los resultados indican que la temperatura de aclimatación en el desarrollo, afecta significativamente la sobrevivencia de individuos mantenidos en estadio pupal, en donde ésta es mayor a una temperatura menor (15 °C) e intermedia (22,5 °C) y, por otro lado, observamos una fuerte disminución en la emergencia de los individuos a estadio adulto a 30 °C, lo que indicaría que esta temperatura corresponde a un límite extremo que provoca una disminución en las capacidades de sobrevivencia por ser un factor estresante en el desarrollo de esta especie. Estos datos nos permiten sugerir que una disminución en la temperatura de aclimatación, aumenta el desempeño en sobrevivencia, durante el desarrollo en estadio pupal para esta especie, lo cual nos permitiría apoyar la hipótesis relacionada con ésta respuesta a bajas temperaturas en *P. phasmophagae* ("colder is better") (Atkinson & Sibly. 1997).

En relación a los tiempos de desarrollo, una respuesta similar al rasgo anterior (sobrevivencia) fue observada en estos experimentos, en donde a medida que disminuye la temperatura ambiente, aumentan los días en el desarrollo del estadio

pupal, esta respuesta estaría en concordancia con lo encontrado en otros insectos (Siddiqui & Barlow, 1972; Karan et al., 1998; Folguera et. al., 2007; Colinet et al., 2007) y, además apoyaría la regla del desarrollo "temperatura-tamaño" (Atkinson, 1994; Atkinson & Sibly, 1997; Angilletta & Dunham 2003), que explica ésta plasticidad en el desarrollo. Sin embargo, a pesar que estos resultados son significativos, es recomendable ampliar el rango térmico hacia temperaturas más bajas y disminuir el intervalo entre cada una, para así lograr una mayor comprensión de las posibles respuestas en el desarrollo de esta especie.

En relación al compromiso entre los rasgos relacionados con la reproducción (masa de ovarios) y mantención (masa de lípidos), es posible evaluar la asignación de recursos hacia la formación de tejidos con función reproductiva, ya que presenta una estrategia de tipo pro-ovigénica. Los resultados muestran que los mayores valores de masa de ovario se presentan en los individuos mantenidos a 15 °C y 22,5 °C, en cambio, el tratamiento de 30 °C presenta los valores más bajos de masa de ovarios. Por otro lado, la masa de lípidos corporales muestra los valores más bajos a 22,5 °C, lo cual apoya el compromiso establecido en trabajos anteriores para estos rasgos (Stearns, 1992; Ellers & van Alphen, 1997; Ellers et al., 2000; Zera & Larsen, 2001; Jervis et al., 2003; Colinet et al., 2007)

Los resultados relacionados con el metabolismo energético, indican que la temperatura afecta significativamente la tasa metabólica de esta especie, mostrando un aumento en la producción de CO₂ a medida que disminuye la temperatura de desarrollo como pupa, lo que nos permite sugerir que *P. phasmophagae* presentaría mecanismos de

adaptación metabólica al frío (Addo-Bediako et al., 2002; Chown & Nicolson, 2004), adaptación que ha sido indicada como un componente de la historia de vida los organismos ectotermos (Gotthard et al., 2000), ya que permite, a bajas temperaturas, mantener tasas de crecimiento, que sin un aumento en el metabolismo no serían posibles. Por otro lado, en los análisis de covarianza utilizando a la masa corporal como covariable, se observa que las mayores tasas metabólicas se presentan en machos, por lo que este rasgo se considera como sexualmente dimórfico en ésta especie.

Finalmente, desde una perspectiva ecológica de la relación parasitoide-hospedero, los resultados obtenidos en este trabajo, en cuanto al efecto de la temperatura ambiente sobre las variables de historia de vida del parasitoide, sugieren que la selección de temperaturas de microhábitat por parte del hospedero podría afectar significativamente la sobrevivencia y fecundidad del parasitoide (ver Müller & Schmid-Hempel, 1993). En este contexto, la distribución altoandina del hospedero posiblemente se encuentre asociada a su capacidad de "controlar" los efectos negativos que el parasitoide le infringe, utilizando ambientes térmicos subóptimos para el desarrollo de este.

REFERENCIAS INTRODUCCIÓN Y DISCUSIÓN GENERAL

- Addo-Bediako, A., Chown, S.L., & Gaston, K.J. 2002.** Metabolic cold adaptation in insects: a large-scale perspective. *Functional Ecology*.16: 332–338.
- Andrewartha, H. G., & Birch, L.C. 1954.** The distribution and abundance of animals. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Angilletta, M.J. & Dunham A.E. 2003.** The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *Am Nat.* 162:332–342.
- Atkinson, D. 1996.** Ectotherm life-history responses to developmental temperature. En: Johnston IA. & AF. Bennett (eds.). *Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation*, pp. 183-204. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Atkinson, D. & Sibly, R.M. 1997.** Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends in Ecology and Evolution.* 12: 235-239.
- Bale, J.S. Masters, G.J. Hodkinson, I.D. Awmack, C. & Bezemer, T.M. 2002.** Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Glob. Change Biol.* 8:1–16.
- Begon, M.; Harper, J.L. & Townsend. 1995.** El comportamiento de los depredadores. Omega (ed.) *Ecología: Individuos, Poblaciones y Comunidades.* pp. 298-334.
- Bennett, A.F. & Dawson, W.R. 1976.** Metabolism. En: Gans CA. & Dawson WR. (eds.). *Biology of the Reptilia*, pp. 127-224. Academic Press, New York.

- Campbell, A., B. D. Frazer, N. Gilbert, A. P. Gutierrez, & M. Mackauer. 1974. Temperature requirements of some aphids and their parasites. *J. Appl. Ecol.* 11: 431-438.
- Chong, J. & Oetting, R.D. 2006. Influence of Temperature and Mating Status on the Development and Fecundity of the Mealybug Parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. *Sinope Noyes and Menezes* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Environ. Entomol.* 35(5): 1188-1197.
- Chown, S.L. & Gaston, K.J., 1999. Exploring links between physiology and ecology at macro-scales: the role of respiratory metabolism in insects. *Biol. Rev.* 74, 87-120.
- Chown, S.L. & Nicolson, S.W. 2004. *Insect Physiological Ecology Mechanisms and Patterns*. Oxford University Press, U.K.
- Colinet, H. Boivin, G. & Hance, Th., 2007. Manipulation of parasitoid size using the temperature-size rule: fitness consequences. *Oecologia*.152: 425-233.
- Cortés, R. 1968. Taquínidos chilenos (Dipt., Tachinidae) parásitos de phasmidos (Phasmoidea). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 40:101-111 (1965-1966).
- Davis, J. A. Radcliffe, E. B. & Ragsdale D. W. 2006. Effects of High and Fluctuating Temperatures on *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Environ. Entomol.* 35(6): 1461-1468.
- Easterling, D.R. Meehl, G.A. Parmesan, C. Changnon, S.A. Karl, T.R. & Mearns, L.O. 2000. Climate extremes: observations, modeling, and impacts. *Science* 289:2068-74.

- Ellers, J. & van Alphen J.J.M. 1997.** Life history evolution in *Asobara tabida*: plasticity in allocation of fat reserves to survival and reproduction. *J. Evol. Biol.* 10:771–785
- Ellers, J., Driessen, G., & Sevenster, J.G. 2000.** The shape of the trade-off function between reproduction and survival in the parasitoid *Asobara tabida*. *Neth. J. Zool.* 50:29–36.
- Feener, D. & Brown, B. 1997.** Diptera as Parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 42:73–97.
- Folguera, G., Muñoz, J. L., Ceballos, S., Bozinovic F. & Hasson, E. 2007.** Testing the interplay between physiological and life-history traits: an experimental study in *Drosophila*. *Evolutionary Ecology Research*, 9: 1211–1222.
- Godfray, H.C.J. 1994.** Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton, University Press, NJ, USA.
- Gotthard, K., Nylin, S. & Wiklund, C. 2000.** Individual state controls temperature dependence in a butterfly (*Lassiommatia maera*). *Proceedings of the Royal Society of London B.* 267: 589–593.
- Hance, T. Van Baaren, J. Vernon, P. & Boivin, G. 2007.** Impact of Extreme Temperatures on Parasitoids in a Climate Change Perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 52:107–26.
- Huey, R. B., and D. Berrigan. 1996.** Testing evolutionary hypotheses of acclimation. Pages 205–237 in I. A. Johnston and A. F. Bennett, editors. *Animals and temperature: phenotypic and evolutionary adaptation*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Ichiki, R. Takasu, K. & Shima, H. 2003.** Effects of temperature on immature development of the parasitic fly *Bessa parallela* (Meigen) (Diptera: Tachinidae). *Appl. Entomol. Zool.* 38 (4): 435–439.
- Jervis, M.A., Ferns, P.N., & Heimpel, G.E. 2003.** Body size and the timing of egg production in parasitoid wasps: a comparative analysis. *Funct. Ecol.* 17:375–383
- Kalaitzaki, A. Lykouressis, D. Perdikis, D & Alexandrakis, V. 2007.** Effect of Temperature on Development and Survival of the Parasitoid *Pnigalio pectinicornis* (Hymenoptera: Eulophidae) Reared on *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Environ. Entomol.* 36(3): 497-505.
- Karan, D., Morin, J.P., Moreteau, B. and David, J.R. 1998.** Body size and developmental temperature in *Drosophila melanogaster*: analysis of body weight reaction norm. *J. Therm. Biol.*, 23: 301–309.
- Karl, T.R. & Trenbeth, K.E. 2003.** Modern global climate change. *Science* 302:1719–23.
- Lardies, M.A. 2003.** Integrando la fisiología con la variación geográfica en historia de vida. En: Bozinovic F. (ed.). *Fisiología Ecológica y Evolutiva: Teoría y casos de estudio en animales*, pp. 483-502. Ediciones Universidad Católica. Santiago, Chile.
- Müller, C. & Schmid-Hempel, P. 1993.** Exploitation of cold temperature as defense against parasitoids in bumblebees. *Nature* 363: 65-67.
- Nespolo, R. F. Lardies, M. A. & Bozinovic, F. 2003.** Intrapopulational variation in the standard metabolic rate of insects: repeatability, thermal dependence and sensitivity (Q10) of oxygen consumption in a cricket. *J. Exp. Biol.* 206, 4309-4315 4309.

- Papaj, D. 2000.** Ovarian Dynamics and Host use. *Annu. Rev. Entomol.* 45:423–448.
- Partridge, L. 1994.** Evolution and development of body size and cell size en *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution.* 48: 1269-1276.
- Perez-Mendoza, J. & Weaver, D. K. 2006.** Temperature and Relative Humidity Effects on Postdiapause Larval Development and Adult Emergence in Three Populations of Wheat Stem Sawfly (Hymenoptera: Cephidae). *Environ. Entomol.* 35(5): 1222-1231.
- Ricklefs, R.E. & Wikelski, M. 2002.** The physiology / life-history nexus. *Trends in Ecology and Evolution.* 17: 462-468.
- Roff, D.A. 2002.** Life history evolution. Sinauer Associates, MA, NJ.
- Sibly, R.M. & D. Atkinson, D. 1994.** How rearing temperature affects optimal adult size in ectotherms. *Functional Ecology* 8:486-493.
- Siddiqui, W.H. & Barlow, C.A. 1972.** Population growth of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) at constant and alternating temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 65: 993–1001.
- Stearns, S.C. 1992.** The Evolution of Life Histories, Oxford University Press
- Stireman, J. III; O'Hara, J. & Wood D. 2006.** Tachinidae: Evolution, Behavior, and Ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 51:525–55
- Tallamy, D.W. & Denno, R. F. 1982.** Life history trade-offs in *Gargaphia solani* (Hemiptera: Tingidae): the cost of reproduction. *Ecology.* 63: 616-620.
- Taylor, F. 1981.** Ecology and evolution of physiological time in insects. *Am. Naturalist* 117: 11-23.

- Terblanche, J. & Chown, S.L. 2007.** The effects of temperature, body mass and feeding on metabolic rate in the tsetse fly *Glossina morsitans centralis*. *Physiological Entomology*. 32: 175–180.
- Tran, D. H. Ridland, P. M. & Takagi, M. 2007.** Effects of Temperature on the Immature Development of the Stone Leek Leafminer *Liriomyza chinensis* (Diptera: Agromyzidae). *Environ. Entomol.* 36(1): 40-45
- Ugine, T. Sanderson, J. & Wraight S. 2007.** Developmental Times and Life Tables for Shore Flies, *Scatella tenuicosta* (Diptera: Ephydriidae), at Three Temperatures. *Environ. Entomol.* 36(5): 989-997.
- Vleck, D. 1987.** Measurement of O₂ consumption, CO₂ production, and water vapor production in a closed system. *J. Appl. Physiol.* 62, 2103-2106.
- Zamudio, K.R., Huey, R.B., Crill, W.D., 1995.** Bigger isn't always better: body size, developmental and parental temperature and male territorial success in *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.* 49, 671–677.
- Zar, J. 1996.** Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey, USA.
- Zera, A.J. & Larsen, A. 2001.** The metabolic basis of life history variation: genetic and phenotypic differences in lipid reserves among life history morphs of the wing-polymorphic cricket, *Gryllus firmus*. *Journal of Insect Physiology*, 47: 1147-1160.