



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**CONSTRUCCIÓN DE REFUGIOS DE *GEPHYRA CYNISCA*
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE): EFECTO SOBRE LA
DEPREDACIÓN Y LA CALIDAD ALIMENTICIA DEL FOLLAJE**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)

P R E S E N T A

MARIANA ABARCA ZAMA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. KARINA BOEGE PARÉ

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 15 de junio de 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** de la alumna **ABARCA ZAMA MARIANA** con número de cuenta **098195044** con la tesis titulada **"CONSTRUCCIÓN DE REFUGIOS DE GEPHYRA CYNISCA (*Lepidoptera: Pyralidae*): EFECTOS SOBRE LA DEPREDACIÓN Y LA CALIDAD ALIMENTICIA DEL FOLLAJE"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. KARINA BOEGE PARÉ**.

Presidente: DR. CONSTANTINO DE JESUS MACIAS GARCIA
Vocal: DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI
Secretario: DR. ZENON CANO SANTANA
Suplente: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI
Suplente: DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO

De acuerdo con lo anterior, la alumna se acogió a la nueva normatividad, con base en el Artículo **QUINTO TRANSITORIO** en apego a lo establecido en el Artículo 25 del Reglamento General de Estudios de Posgrado (29 septiembre de 2006).

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 07 de Septiembre de 2009.

Dr. Juan Nuñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de México (UNAM).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca para la realización de estudios de Maestría y a la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por el apoyo económico brindado.

A la Dra. Karina Boege Paré por el financiamiento para realizar este proyecto.

A los miembros de mi comité tutorial: Dra. Karina Boege Paré, Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo, Dr. Zenón Cano Santana por su apoyo y por las contribuciones que hicieron a este trabajo desde su planteamiento.

A los miembros del jurado: Dr. Constantino de Jesús Macías García, Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli, Dr. Zenón Cano Santana, Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo y Dra. Ek del Val de Gortari por su tiempo y sus comentarios, que mejoraron en gran medida este trabajo.

Al doctor Julio Campo por la realización de los análisis químicos del follaje.

A los maestros de los cursos de posgrado que tomé, especialmente a los doctores Teresa Valverde, Carlos Cordero y Hugh Drummond, por la alta calidad de sus clases, que realmente disfruté.

A Blanca Mejía y a Yadira Ramírez, por su gran ayuda con el trabajo de campo.

Al personal de la Estación de Biología de Chamela, especialmente a Juan Manuel, Rafa y Pancho por su ayuda en la construcción del invernadero y el mantenimiento de las plantas durante la época de secas.

A Rubén Pérez Ishiwara por todo el apoyo que me ha brindado.

A mis compañeros del laboratorio de Interacción Planta- Animal: Diego, Luz, Johnattan, Etzel, Lupita, Carlos, Paula, Violeta, Karla, Jessica, Fernanda, Lislíe, Lluvia, Betsa, Vero, Nora, Blanca, Angélica, Toño y Sofía por su ayuda y apoyo. Y a Karina, Juan, César y Rubén, por mantener un laboratorio con las condiciones materiales, académicas y personales ideales para trabajar.

A las personas que me ayudaron de manera indirecta, en especial a Julia, María, Mónica y Artemio

A Pablo Frank por dibujar los esquemas y por su ayuda con MATLAB.

A Karina, por la complicidad, el tiempo, el apoyo y las ideas.

Para Julu

Índice

Introducción.	8
Sitio de estudio.	13
Sistema de estudio.	14
Parte I: Ciclo de vida y descripción del proceso de construcción de refugios de <i>Gephyra cynisca</i>	
Introducción.	15
Métodos.	17
Resultados.	19
Discusión.	32
Parte II. Evaluación de los costos y beneficios de la construcción de refugios de <i>Gephyra cynisca</i> .	
Introducción.	37
Métodos.	40
Resultados.	47
Discusión.	55
Discusión general y conclusiones.	59
Referencias.	62

Resumen

Los herbívoros están sometidos al menos a dos tipos de presiones ecológicas; las que les imponen las plantas que consumen (presiones ascendentes) y las que ejercen sus depredadores (presiones descendentes). Atributos de los herbívoros como el tamaño corporal y el tiempo de desarrollo pueden estar influenciados simultáneamente por ambos tipos de presiones; en consecuencia, es común observar comportamientos que minimizan su impacto. La construcción de refugios atrincherados frecuentemente permite a los herbívoros lidiar con estos dos tipos de presiones simultáneamente, ya que los refugios protegen del ataque de los enemigos naturales, mientras que el atrincheramiento permite mejorar la calidad de la planta como alimento.

En este trabajo se evaluó el papel de la conducta de construcción de refugios atrincherados ante las presiones ecológicas ascendentes y descendentes en *Gephyra cynisca* a lo largo de su desarrollo. Se describieron el ciclo de vida y el comportamiento de construcción y uso de refugios. Se evaluó el efecto del atrincheramiento en la calidad del follaje por medio de dos comparaciones del desempeño de las larvas (peso de las pupas y tiempo de desarrollo) entre a) individuos que se alimentaron de hojas con tres días de atrincheramiento vs. hojas atrincheradas recientemente y b) entre individuos alimentados con hojas atrincheradas vs. no atrincheradas (unidas a la planta). Para determinar la función defensiva de los refugios ante los depredadores se realizó un experimento pareado en el que las orugas se colocaron dentro de un refugio o fuera de éste durante el periodo de construcción y se comparó la tasa de depredación entre tratamientos. Para determinar los costos fisiológicos de la construcción de refugios se evaluó el desempeño de larvas sometidas a tres tratamientos de construcción de refugios (uno, ninguno y varios). Las orugas alimentadas con follaje de tres días de atrincheramiento tuvieron mayor tiempo de desarrollo pero igual peso de las pupas que las que se alimentaron con follaje recientemente atrincherado. Las orugas alimentadas con follaje atrincherado tuvieron el mismo tiempo de desarrollo pero mayor peso al pupar que las orugas alimentadas con tejido no atrincherado. No se encontraron efectos asociados a los tratamientos de construcción de refugios en el tiempo de desarrollo ni en el peso al pupar.

Este estudio muestra que el beneficio más importante que obtuvieron las larvas de *G. cynisca* a partir de la construcción de refugios en el follaje de *Piper stipulaceum* fue protección ante los depredadores. En este caso la construcción de refugios puede considerarse como un atributo que atenúa las presiones ascendentes y descendentes a las que *G. cynisca* está sometida, ya que las trincheras de los refugios mejoraron la calidad alimenticia del follaje, con la consecuencia de alargar el tiempo de desarrollo de las larvas.

Abstract

Herbivores deal with two main ecological pressures, those exerted by plants on which they feed (bottom-up) and those exerted by their predators (top-down). Herbivore attributes like body size and developmental time may be influenced simultaneously by both types of pressures; consequently, it is common to observe behaviors that minimize their impact. The building of trenched shelters frequently allows them to deal with top-down and bottom-up pressures simultaneously, as shelters provide protection against natural enemies and trenching improves plant quality.

The aim of this study was to evaluate costs and benefits of shelter building behavior of *Gephyra cynisca* (Pyralidae) on the leaves of its host *Piper stipulaceum* (Piperaceae). The study includes the description of the life cycle, construction behavior and shelter use. To evaluate trenching effects on food quality, two comparisons of larval performance (pupal mass and developmental time) were made: a) between individuals fed on 3- day trenched leaves vs. recently trenched leaves, b) between individuals fed on recently trenched leaves vs. non trenched leaves. To assess the shelter's anti- predator function, a pairwise experiment was performed in which caterpillars were placed either inside of a refuge or exposed on a leaf while building the shelter (4 hours approx.). Predation rates were compared between treatments. To measure physiological costs of shelter building, performance of larvae constructing none, one or several shelters during their lifetime was compared. Caterpillars fed with recently trenched leaves developed faster than caterpillars fed with 3- day trenched foliage, but larvae on both treatments attained the same pupal mass. In contrast, developmental time of caterpillars fed with trenched foliage was equal to that of caterpillars fed with non trenched foliage. In this case, pupal mass was found to be larger in the caterpillars under the trenched treatment. Survival after the predation experiment was significantly higher in sheltered caterpillars than in the exposed ones. In addition, no physiological costs were found with the shelter building experiment because developmental time and pupal mass did not differ significantly among shelter construction treatments.

These results show that the most important benefit provided by leaf shelters to *G. cynisca* caterpillars is anti-predator protection. In this system, shelter building can be considered as an attribute that mitigates the top-down and bottom-up forces exerted over *G. cynisca* larvae, as shelter's trenches improved foliage quality, with the consequence of lengthening developmental time.

Introducción

Los lepidópteros son un grupo de insectos muy diverso, integrado por alrededor de 120 familias (Powell 2003). La mayor parte de las especies de lepidópteros se alimentan de plantas, aunque hay algunas detritívoras e incluso parásitas y depredadoras (Scoble 1992). Las larvas de los lepidópteros tienen una gran importancia como herbívoros, ya que a menudo son los principales consumidores de follaje de las plantas en ecosistemas tropicales (De la Cruz y Dirzo 1987; Janzen 1988). Sin embargo, las plantas rara vez representan una fuente de alimento óptima para ellos (Schoonhoven et al. 2005), debido a que su calidad alimenticia puede variar en función de sus contenidos de nutrientes y de defensas. La variación en estos atributos puede estar influida por factores como el tipo de suelo en el que crecen las plantas, la edad y la posición de las hojas, la presencia de patógenos o el daño foliar sufrido previamente (Langenheim et al. 1986; Dussourd 1993; Coley y Barone 1996; Karban y Baldwin 1997; Campo y Dirzo 2003; Boege y Dirzo 2004; Ide 2006). Para reducir el daño que causan los herbívoros, las plantas pueden modificar su calidad nutricional (Coley y Barone 1996). Pueden además, producir fibras que limitan o entorpecen la digestión, presentar estructuras duras como tricomas, espinas, cortezas y cutículas cerosas que dificultan acceder a los tejidos comestibles. Por otro lado, las plantas también pueden tener la capacidad de producir sustancias tóxicas, entre las que destacan los alcaloides, terpenos, fenoles, proteínas nocivas, aminoácidos que inhiben funciones enzimáticas y compuestos cianogénicos (McKey 1979; Coley 1983; Slanski 1993; Gurevitch et al. 2002; Schoonhoven et al. 2005). La mayoría de estos compuestos reducen o inhiben el consumo del follaje. Por su parte, las orugas han desarrollado estrategias para lidiar con las defensas de las plantas. De acuerdo con Dussourd (1993) estas estrategias se pueden dividir en cuatro categorías: 1) la capacidad de reconocer las sustancias tóxicas y evitar las estructuras donde se encuentran más concentradas, como los haces vasculares. De hecho, es frecuente encontrar hojas dañadas con todo el sistema de nervaduras intacto. 2) Adaptaciones bioquímico-fisiológicas, que consisten en que las orugas han desarrollado sistemas enzimáticos, como las oxidasas de función múltiple (Brattsten et al. 1977) que les permiten neutralizar las sustancias tóxicas. Estos sistemas pueden estar acompañados por otras adaptaciones que les permiten secuestrar a los metabolitos secundarios o excretar a los que han sido neutralizados. 3) Secuestro, que consiste en que las orugas utilizan los mecanismos defensivos de las plantas para su propia defensa. Esta estrategia incluye a las orugas que se alimentan dentro de plantas tóxicas o espinosas, consiguiendo así un entorno más seguro, y

también a las que se apropian de las defensas de las plantas almacenándolas dentro de su cuerpo, como las mariposas monarca, que almacenan los cardenólidos que consumen y de esa manera son tóxicas para los depredadores (Brower et al. 1968; Reichstein et al. 1968). 4) Finalmente, están las defensas conductuales, que incluyen el efectuar modificaciones a la planta, como quitar tricomas y espinas, la alimentación en grupo para poder morder partes duras, atar a las hojas con seda para modificar su composición química y el corte de trincheras o atrincheramiento. El atrincheramiento consiste en hacer un corte parcial separando del resto de la planta el tejido foliar que se va a consumir. Este corte interrumpe el flujo de sustancias tóxicas a la porción de hoja atrincherada, y en el caso de plantas que producen látex o savia, hace que éstos drenen al exterior (Dussourd y Denno 1991, 1994), mejorando considerablemente la calidad de la hoja como alimento (Chambers et al. 2007). Dussourd (1999) encontró que las trincheras y los cortes en los haces vasculares realizados por cinco especies de herbívoros, que incluyen orugas y larvas de escarabajos, eliminaban más del 94 % del contenido de exudados en el tejido aislado por estos cortes. En el caso de las mariposas monarca, *Danaus plexippus* (Nymphalidae), este comportamiento elimina casi el 100 % del látex de su planta hospedera, *Asclepias curassavica* (Asclepiadaceae), en la porción de hoja que consume (Dussourd 1999). El látex es una sustancia peligrosa para las larvas, especialmente las pequeñas, porque además de contener altas concentraciones de cardenólidos, se seca al exponerse al aire y puede pegar las mandíbulas de las orugas o atraparlas completamente, por lo que casi el 30 % de las larvas pequeñas mueren atrapadas en el látex (Zalucki y Brower 1992). Zalucki et al. (2001) demostraron que las larvas del primer estadio de *D. plexippus* que se alimentaron de hojas atrincheradas aumentaban su tasa de crecimiento de manera sustancial y duplicaban su probabilidad de supervivencia. El atrincheramiento juega un papel importante en la relación entre escarabajos del género *Aplosonix* (Crisomelidae) y plantas del género *Aracas*. Estos escarabajos construyen trincheras circulares en el tejido de las hojas, con las que drenan el látex producido por la planta, creando un patrón de daño circular característico (Darling 2007).

Por otro lado, las presiones selectivas impuestas por los depredadores también han promovido la evolución de caracteres conductuales, morfológicos y fisiológicos de las presas para defenderse de aquellos (Dugatkin 2004). Atributos de los herbívoros como el tamaño corporal, el tiempo de desarrollo y la tasa de crecimiento, a pesar de que en general están relacionados con la calidad alimenticia de las plantas, también pueden sufrir modificaciones por la presión que los

depredadores ejercen sobre ellos (Lill 2001). Es común que las presiones por parte de los depredadores se contrapongan con las que ejercen las plantas, como en el caso de *Thaumatopea pytocampa* (Notodontidae), en la que las presiones ascendentes favorecen a las larvas que eclosionan de huevos grandes, porque al tener mandíbulas más grandes pueden acceder con mayor facilidad a los tejidos que les sirven de alimento, mientras que las descendentes propician la eclosión de los huevos pequeños, ya que los grandes atraen depredadores. Estas presiones encontradas provocaron un gradiente espacial en el que las poblaciones de lepidópteros que ocupan poblaciones de plantas con follaje duro producen huevos grandes y tienen altas tasas de parasitoidismo, mientras que en las poblaciones donde el follaje es suave se producen huevos pequeños y la incidencia de parasitoidismo es baja (Zovi et al. 2008). Otro carácter de historia de vida que puede verse afectado por las presiones que ejercen los depredadores es la diapausa. Durante este periodo los procesos metabólicos se reducen, por lo que los organismos se pueden mantener en estado de quiescencia por un tiempo determinado, lo que les permite escapar de condiciones desfavorables (Lill 2001). Uno de los costos de este proceso es el agotamiento de las reservas energéticas, que puede repercutir en la fecundidad y longevidad de los adultos (Ishihara y Shimada 1995). Las larvas de *Battus philenor* (Papilionidae) se alimentan de plantas del género *Aristolochia* (Aristolochiaceae), de las que secuestran toxinas que les sirven de defensa ante los depredadores. Se ha observado que los individuos que entran en periodo de diapausa, al emerger tienen una mayor concentración de toxinas que los que no pasaron por este proceso (Fordyce et al. 2006). De manera que la presión por los depredadores podría favorecer que el periodo de diapausa se mantenga, a pesar de los costos que implica.

Las presiones de depredación han desencadenado una gran diversidad de respuestas evolutivas en los lepidópteros. Entre ellas están las morfológicas, como la cripsis y el mimetismo (Heinrich 1993; Stamp y Wilkens 1993); las fisiológicas, como el secuestro de sustancias tóxicas (Brower et al. 1968; Reichstein et al. 1968; Bowers 1993) y las conductuales, como las respuestas agresivas, los ajustes en los hábitos alimenticios de las larvas y la construcción de refugios (Montllor y Bernays 1993).

Estos mecanismos adaptativos generalmente se encuentran en combinaciones de varios tipos de estrategias complementarias. Por ejemplo, las orugas crípticas complementan su apariencia con una conducta discreta y baja movilidad (Stamp y Wilkens 1993); las larvas de algunos esfingidos que parecen serpientes adquieren posturas agresivas para maximizar esta

imagen (Scoble 1992). El aposematismo es un ejemplo de este tipo de combinaciones, ya que involucra la captura de sustancias tóxicas y la presencia de patrones de coloración llamativos, lo que permite que los depredadores aprendan a reconocer a las presas que no deben comer dada su toxicidad (Bowers 1993).

La evolución de estos caracteres está sometida a disyuntivas debido a los costos que representan y las posibles restricciones que involucran, por ejemplo, las orugas crípticas tienen que restringir su movimiento a ciertas plantas o ambientes para que su camuflaje funcione (Speed y Ruxton 2005). Una manera de lidiar con estas restricciones es el cambio en el tipo de caracteres defensivos a lo largo de la ontogenia, como hacen las larvas de *Saucrobotys futilais* (Pyralidae), que en los primeros estadios son crípticas y después, cuando su tamaño y la necesidad de moverse no les permiten seguir con la cripsis, expresan atributos aposemáticos (Grant 2007). El aposematismo ha evolucionado de manera independiente al menos cuatro veces en el género *Papilio* (Prudic et al. 2007) y una ruta sugerida de su evolución es a partir de orugas crípticas que adquirieron la capacidad de secuestrar toxinas y que al colonizar nuevas plantas, en las que su patrón de coloración las hacía llamativas, se volvieron aposemáticas (Speed y Ruxton 2005).

Las fuerzas ascendentes y descendentes son capaces de moldear la evolución de atributos como la duración de ciclo de vida y las conductas alimentarias de los folívoros. Sin embargo; es difícil distinguir entre los efectos que promueve cada tipo de fuerza (Weseloh 1993). Por ejemplo, respecto al impacto de los parasitoides, Wheseloh (1993) hizo una revisión en la que encontró que en el 61 % de los casos, las orugas tienen preferencias de hábitat más amplias que sus parasitoides, es decir, que las orugas pueden alimentarse en varias especies de plantas y los parasitoides sólo las atacan en algunas de ellas. De esta manera, los parasitoides parecen estar más especializados en un microhábitat que en una especie de hospedero. Por lo tanto, Weseloh (1993) arguyó que los parasitoides podrían ejercer una presión hacia la oligofagia, forzando a las larvas a ocupar hospederos donde no son atacadas; o hacia la monofagia, haciendo que las larvas se alimenten únicamente de las plantas inconspicuas para los parasitoides. Dentro de una planta, se sabe que las orugas pueden elegir sitios para alimentarse donde el follaje es de mala calidad, si éste les brinda protección ante los depredadores (Hunter 1987; Larsson et al. 1997). Por lo que es común que los herbívoros se enfrenten a la disyuntiva entre correr el riesgo de ser depredados al alimentarse de follaje de alta calidad, o alimentarse en sitios seguros donde el follaje es pobre en nutrientes. Hay atributos de los herbívoros que les permiten lidiar con ambos tipos de presiones

de manera simultánea, como es el caso de la captura de toxinas en la mariposa monarca. La construcción de refugios podría ser una de estas estrategias con doble función, ya que podrían proporcionar un refugio que reduce las presiones de depredación, al mismo tiempo que conservar o mejorar la calidad de las plantas (Sagers 1992; Fukui et al. 2002), ya que a menudo la manipulación del follaje para construirlos involucra que se realicen cortes en las hojas o que se construyan trincheras. Estas modificaciones alteran la composición química de las hojas y por lo tanto su calidad alimenticia (Lind et al. 2001; Weiss et al. 2003; Ide 2004).

Hay un gran número de trabajos que documentan la historia natural del atrincheramiento y la construcción de refugios en casos específicos, (Sagers 1992; Darling 2003; Weiss et al. 2003) y la mayoría coincide en que estas conductas confieren costos y beneficios; sin embargo, hay pocos estudios que hayan estimado dichos costos y beneficios en función de componentes de la adecuación de las orugas. Los estudios sobre el atrincheramiento y la construcción de refugios pueden dividirse entre los descriptivos (Darling 2003; Weiss et al. 2003), los que buscan encontrar patrones generales (Gentry y Dyer 2002; Darling 2007); los que evalúan la función de estas conductas (Hunter y Willmer 1989; Dussourd y Denno 1991; Sagers 1992; Eubanks et al. 1997; Dussourd 1999; Ide 2004) y los que hacen un balance de los costos y beneficios que confieren dichos atributos en términos de la adecuación de las orugas (Damman 1987; Loeffler 1996; Chambers et al. 2007). En cuanto a la construcción de refugios Damman (1987) y Loeffler (1996) concluyeron que los refugios brindaban protección efectiva en contra de los depredadores y que la dieta dentro de ellos era de menor calidad ya que provocaba un aumento en el tiempo de desarrollo de las larvas. Sin embargo, destacan que el incremento en el tiempo de desarrollo no necesariamente es un costo, porque las larvas están protegidas de los depredadores. En cuanto al atrincheramiento, Chambers et al. (2007) demostraron que las larvas de *Tricoplusia ni* (Noctuidae) alimentadas con tejido atrincherado aumentaban de peso con mayor rapidez. Sin embargo, en ninguno de estos estudios se tomó en cuenta el peso de las pupas, que al estar correlacionado con la adecuación, es un mejor parámetro para definir los costos de alimentarse de tejidos de menor calidad. En este contexto, el objetivo general de este trabajo es evaluar el papel de la conducta de construcción de refugios atrincherados ante las presiones ecológicas ascendentes y descendentes que el herbívoro *Gephyra cynisca* Druce (Pyralidae) enfrenta a lo largo de su ontogenia. Como se explica más adelante, durante la etapa larvaria, *G. cynisca* construye refugios atrincherados en el follaje de *Piper stipulaceum* (Piperaceae), por lo que representa un sistema de estudio ideal para

evaluar simultáneamente el efecto del atrincheramiento sobre la calidad del alimento y de los refugios como defensa ante los depredadores. De esta manera, los objetivos particulares son i) describir el ciclo de vida y el comportamiento de construcción y uso de refugios de *G. cynisca*. ii) Determinar el efecto del atrincheramiento sobre la calidad alimenticia del follaje de *P. stipulaceum* y finalmente iii) determinar el papel de los refugios como defensa ante los enemigos naturales.

Se espera que los refugios brinden protección ante los depredadores y que alteren la calidad de la hoja como alimento. Por un lado, podrían evitar que disminuya la calidad de la hoja al impedir el paso de los metabolitos secundarios, o al interrumpir los mecanismos de inducción de defensas. Por otro, podrían reducir la calidad al disminuir la cantidad de agua en el tejido foliar y la concentración de fotosintatos, ya que al alterar la forma y la posición de la hoja, podría disminuir la capacidad fotosintética de la misma. En cuanto a la protección ante los depredadores, se espera que su eficacia sea diferente de acuerdo con el tipo de depredador, ya que cada tipo de depredador utiliza diferentes pistas para localizar y atacar a sus presas, por ejemplo, se espera que sean efectivos en contra de depredadores que utilizan pistas visuales, como aves y arañas, pero es posible que no brinden protección ante avispas parasitoides, que utilizan pistas químicas para detectar a sus presas.

Sitio de estudio

Este trabajo se realizó en la Estación de Biología de Chamela (EBC) del Instituto de Biología de la UNAM. La EBC se encuentra en la costa del estado de Jalisco entre los 19° 29' y 19° 34' N y los 104° 58' y 105° 04' O. Actualmente la estación forma parte de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, que tiene una extensión de 13142 ha (Noguera et al. 2002). La temperatura media anual es de 24.6° C (1978-2000), con una oscilación media anual de 4.3° C (García-Oliva et al. 2002). La precipitación promedio anual es de 788 mm con una gran variación entre años (1977-2000) y el 80 % se precipita entre junio y octubre (García-Oliva et al. 2002). El clima de la EBC (registros de 1977-2000), según la clasificación de Köepen modificada por García (1988) es cálido subhúmedo, Aw₀1 (García Oliva et al. 2002).

La vegetación predominante es selva baja caducifolia con selva mediana a lo largo de las cañadas. En México, este ecosistema es muy diverso en cuanto a especies de plantas y de vertebrados (Lott et al. 1987; Noguera et al. 2002). En la EBC se encuentran 125 familias de plantas vasculares, siendo Leguminosae y Euphorbiaceae las representadas por un mayor número de especies (Lott y Atkinson 2002).

Sistema de estudio

Gephyra cynisca Druce es un lepidóptero de la familia Pyralidae. Durante su etapa larvaria se alimenta del follaje de *Piper stipulaceum* Opiz. (Piperaceae); una especie decidua del bosque tropical caducifolio. En las hojas de esta especie, *G. cynisca* construye refugios individuales atrincherando, doblando y pegando una hoja con seda, como se describe en la primera sección de este trabajo. Los parches de *P. stipulaceum* están asociados a arroyos, y por lo general se encuentran en la zona de selva mediana. No hay reportes de los metabolitos secundarios que produce, sin embargo, se sabe que otras especies de este género presentan inducción de alcaloides como respuesta ante el ataque por herbívoros (Dodson et al. 2000).

Parte I. Ciclo de vida y descripción del proceso de construcción de refugios de *G. cynisca*

La construcción de refugios con follaje se ha observado en distintos grupos de insectos (Fukui 2001). Entre los lepidópteros este comportamiento es común y ha evolucionado varias veces de manera independiente (Dussourd 1993). Su ocurrencia se ha reportado en al menos 32 familias, lo que corresponde al 25 % de las mismas (Stehr 1987; Sagers 1992; Scoble 1992; Eubanks et al. 1997; Lind et al. 2001; Costa y Varanda 2002; Oliveira y Mellender 2008; Rota y Wagner 2008). Entre los microlepidópteros de Inglaterra, el 40 % construye refugios durante al menos una parte de su ciclo de vida (Gaston et al. 1991).

Los refugios pueden ser individuales o grupales, y pueden estar hechos de seda, ramas y hojas enrolladas, dobladas o atadas, y pueden tomar una gran diversidad de formas, desde una hoja doblada sobre sí misma hasta los complicados túneles de seda con puentes colgantes de *Endotricha flammealis* (Pyralidae; DeVries 1987; Stehr 1987; Scoble 1992; Huertas 2006). La construcción involucra la manipulación del follaje que puede ir desde fragmentos de hoja hasta varias hojas completas que se doblan, unen o enrollan (Sagers 1992; Murakami 1999; Greeney y Jones 2003; Weiss et al. 2003). Las orugas, a diferencia de otros insectos constructores, como abejas y avispas, no poseen antenas ni estructuras de medición especializadas, sin embargo son capaces de construir estructuras regulares (Hansell 2005), ya que pueden usar el tamaño de su cuerpo como escala de medición, además de que al seguir un patrón estereotípico de pegado de seda, logran construir refugios estandarizados, es decir, refugios de la misma forma y tamaño de acuerdo con la especie y la etapa ontogenética (Weiss et al. 2003). La variación en los refugios que construyen los individuos de la misma especie es baja (Weiss et al. 2003), de tal manera que estas estructuras pueden utilizarse como caracteres para identificar familias de lepidópteros (Greeney y Jones 2003).

A pesar de que los individuos de cada especie siguen un patrón de construcción determinado, es común que el tipo de refugio cambie a lo largo de la ontogenia debido a las diferentes necesidades y capacidades de las larvas (Lind et al. 2001; Darling 2003; Greeney y Jones 2003). Las orugas experimentan cambios sustanciales de tamaño a lo largo de su desarrollo, ya que las larvas pueden incrementar su peso hasta 3300 veces entre el primero y el último estadio, como es el caso de *Eacles imperialis* (Saturniidae; Reavey 1993). De esta manera, se pueden

esperar restricciones ontogenéticas en la construcción de los refugios que se deben al cambio en el tamaño de las orugas (Weiss et al. 2003). El tamaño y la fuerza de las mandíbulas determinan la capacidad de las orugas para cortar el follaje, restringiendo la manera en que se alimentan (Hochuli 2001). Durante el proceso de construcción de refugios las mandíbulas son muy importantes porque es común que se realicen cortes al tejido foliar para crear cápsulas (Greeney y Jones 2003) o para facilitar el proceso de doblado (Ide 2004). Un estudio realizado con microlepidópteros de Inglaterra mostró que la construcción de refugios es más común en los últimos estadios ontogenéticos (Gaston et al. 1991), probablemente debido a estas restricciones. La función mecánica del atrincheramiento en la construcción de refugios puede ser muy importante, ya que provoca la pérdida de turgencia en las hojas y las hace más fáciles de doblar. En el caso de *Vanessa indica*, este comportamiento puede presentarse o no, pero Ide (2004) encontró que las hojas más grandes, que a su vez son las más difíciles de doblar, siempre son atrincheradas antes; además de que este comportamiento redujo de manera significativa la fuerza necesaria para doblar las hojas.

En la región de Chamela los artrópodos presentan una marcada estacionalidad a consecuencia del patrón de lluvias. La mayor parte de ellos están activos al inicio de la temporada de lluvias y en general los adultos tienen un periodo de actividad corto (Pescador- Rubio et al. 2002). En el Parque Nacional de Santa Rosa, Costa Rica, la zona de selva baja en la que se ha estudiado de manera más exhaustiva la ecología de lepidópteros, se presenta el mismo patrón, la biomasa y la densidad de orugas es cercana a cero durante la temporada seca, luego son muy abundantes durante los dos primeros meses de la temporada de lluvias y el resto de esta temporada, la densidad es baja (Janzen 1988). En este ecosistema es común que los lepidópteros pasen la época seca como pupas, aunque hay especies que la pasan como huevos (Janzen 1988; Pescador- Rubio et al. 2002). Parece ser que la clave ambiental que siguen las pupas para emerger, es el drástico decremento en la temperatura ambiental que sigue al inicio de las lluvias y no la humedad ambiental (Janzen 1993).

En esta sección se cubre el primer objetivo particular, que consiste en describir el ciclo de vida y el comportamiento de construcción y uso de refugios por *G. cynisca*.

Métodos

Ciclo de vida. Entre julio y octubre de 2008, se colectaron 165 orugas silvestres de diferentes parches de *P. stipulaceum* dentro de la estación. La colecta comenzó el 12 de julio, 32 días después de la primera lluvia (2.3 mm), y 10 días después de la primera lluvia importante (>12 mm), cuando la precipitación acumulada era de 380 mm. Las larvas colectadas se criaron en un laboratorio a temperatura ambiente, en recipientes de plástico y se alimentaron con follaje fresco de *P. stipulaceum*.

Se registró la duración de las distintas etapas del desarrollo y los adultos, que emergieron a principios de agosto se utilizaron para establecer un criadero. El criadero consistió en una exclusión de malla anti-áfido transparente, en la que se colocaron macetas de 20 cm de diámetro con plantas de *P. stipulaceum* de aproximadamente 30 cm, que fueron plantadas un año antes a partir de esquejes. Los adultos se liberaban dentro de esta exclusión y se alimentaban en la mañana y en la noche con agua azucarada. La exclusión se mantuvo dentro de un laboratorio a temperatura ambiente y en las mañanas era asperjada con agua para simular el rocío. El laboratorio estaba iluminado con luz artificial, simulando el fotoperiodo natural la mayor parte de los días. Las larvas pequeñas fueron colectadas de las hojas con un pincel y criadas en cajas petri con tejido fresco proveniente de plantas de poblaciones naturales.

Estadios larvales. Para determinar el número de estadios larvales de *G. cynisca*, se realizaron observaciones de los eventos de muda de las larvas más grandes y además se analizó la distribución de frecuencias de las medidas del ancho de la cabeza de una muestra de las larvas criadas en cautiverio. Se esperaba encontrar una distribución multimodal en la que cada pico corresponde a las medidas de la cápsula características de cada estadio (McClellan y Logan 1994). Se midió el ancho de la cabeza de 463 larvas y exuvias de diferentes tamaños, todas las larvas provenían del criadero y se sacrificaron en agua caliente. Las exuvias se colectaron cuando las orugas cambiaban de estadio y pertenecen a individuos silvestres y del criadero. En el caso de las exuvias de individuos silvestres se corroboró que pertenecieran a la especie *G. cynisca* conservándolos hasta que alcanzaran la madurez. Todas las muestras se fijaron en alcohol al 70 %, se fotografiaron con una cámara Powershot A 620 (Canon Inc. Tokyo) adaptada a un microscopio estereoscópico Zeiss Discovery V.8 (Carl Zeiss, Göttingen) y se midió el ancho de la cápsula de la cabeza con el programa Axio Vission 4.7.1 (Carl Zeiss Gmdh). Como no se pudieron observar los eventos de muda de las larvas más pequeñas, se analizó su distribución, que al ser bimodal se

dividió en dos muestras por medio del método de agrupamiento *k- means clustering*. Este método se utiliza para dividir un grupo de datos en “k” grupos, en este caso son dos. El agrupamiento se hace de tal manera que se fija un centroide por grupo, en un punto tal que la suma de las distancias de éste a cada dato asignado a su grupo sea la menor posible. Para hacer este análisis se utilizó el programa MATLAB 7.4.0. (MathWorks 2007). Posteriormente se analizó la distribución de los datos de cada grupo y se compararon sus medidas por medio de una prueba de Wilcoxon.

Abundancia a lo largo de la temporada. Para determinar la densidad de refugios y la abundancia de larvas a lo largo de la temporada se realizaron cuatro monitoreos mensuales, de julio a octubre, durante los cuales se colectaron todos los refugios frescos y secos presentes en un parche de plantas de *P. stipulaceum* de 15.5 m de largo por 12 m de ancho. Las orugas encontradas ahí se criaron en el laboratorio para determinar la incidencia de parasitoidismo y los adultos fueron liberados en el mismo parche para minimizar el efecto de la remoción. En este sitio se colectaron 45 individuos en total.

Construcción de refugios. Entre el 22 de julio y el 1 de agosto de 2008 se hicieron 31 observaciones del proceso de construcción de refugios, se observaron hasta cuatro larvas de manera simultánea y se registró su actividad de manera continua. De las 31 orugas observadas, sólo 21 llevaron a cabo este proceso. Las actividades durante la construcción de refugios se clasificaron en las siguientes categorías: a) desplazamiento por la hoja; b) desplazamiento por la planta; c) corte de peciolo o atrincheramiento; d) aseguramiento del peciolo, que se refiere a la unión con seda de la zona de corte, e) aseguramiento del siguiente nudo, que consiste en asegurar con seda la unión entre el peciolo y el siguiente entrenudo de la planta; f) poner seda en el haz; g) morder el haz; h) descanso y, finalmente; i) acicalamiento. Se registró el destino final de las orugas (sanas/ parasitadas) y se hicieron regresiones lineales para ver si el tiempo que las orugas dedicaban a cada actividad (variable independiente) tenía alguna relación con su estado de salud (variable dependiente). Se seleccionó el tiempo que dedicaban a cada actividad como variable independiente porque se esperaba que fuera un indicador del estado de salud de las larvas. A partir de estas regresiones se calculó la probabilidad de supervivencia de acuerdo con el tiempo que dedicaban a cada actividad.

Para determinar si las orugas prefieren algún tamaño de hoja para construir sus refugios, se midieron el ancho del peciolo, el largo y el ancho de la hoja de todos los refugios frescos encontrados (133) y sus medidas se compararon con la oferta de hojas. Para determinar la oferta

de hojas cada mes, se realizaron mediciones de 20 hojas seleccionadas de manera sistemática en cada una de 40 plantas y se hizo una comparación entre meses para ver si la oferta era constante a lo largo de la temporada. Para elegir las hojas primero se contó el total de las mismas por planta, y éste número se dividió entre 20, obteniendo así un número x . Después se seleccionó para medir una hoja cada x número de hojas, comenzando por la base de la planta. Este método asegura que las hojas medidas estén distribuidas de manera uniforme en toda la planta. Como los datos no tuvieron una distribución normal ni la alcanzaron con transformaciones, las medidas de las hojas y el peciolo se compararon con una prueba de Friedman, que es el equivalente no paramétrico de un Anova de medidas repetidas, en el programa STATISTICA (StatSoft, Inc. 1995). Por otro lado, para comparar las medidas de las hojas seleccionadas para los refugios con la oferta, se tomó una muestra aleatoria de 133 hojas que fueron las que se compararon con las dimensiones de los 133 refugios medidos, utilizando el programa JMP (SAS Institute 2001). Se aseguró que los datos a comparar de la oferta y los refugios correspondieran al mismo mes. Para la comparación anterior se utilizó una prueba de Wilcoxon por mes. Por último, para determinar si las hojas que las orugas seleccionaban para hacer refugios eran del mismo tamaño a lo largo de la temporada, se compararon las medidas (largo, ancho y ancho del peciolo) de las hojas de los refugios colectados en julio y en septiembre por medio de tres análisis de varianza.

Resultados

Ciclo de vida. Se colectaron 165 orugas de distintos estadios en los parches de *P. stipulaceum* que rodean a la EBC y se obtuvieron más de 2000 crías en cautiverio. Las larvas de los primeros estadios son microscópicas, por lo que no fueron observadas con detalle. La duración aproximada de la etapa larvaria macroscópica fue de 30 días, pero presentó algunas variaciones debidas a la alimentación. Se observaron dos tipos de larvas, que incluyen varios estadios, de acuerdo a su tamaño y sus hábitos. Las larvas de cabeza negra, que corresponden a los primeros estadios y son pequeñas y las larvas de cabeza rojiza que corresponden a los últimos estadios y son grandes (Fig. 1.1). Sólo las larvas con cabeza rojiza construyen refugios. Al término del último estadio, las larvas abandonan su refugio y pupan en el suelo, construyendo un capullo de seda y tierra. Las pupas tardan en emerger $12.14 \pm e.e. 0.21$ días ($n = 37$). Los adultos pueden vivir hasta 10 días en cautiverio alimentados con agua azucarada. Todas las cópulas observadas en el insectario se llevaron a cabo en la madrugada y las parejas se acoplaron por períodos mayores a una hora. Los

huevos de *G. cynisca* son microscópicos. Se registraron tres generaciones en el periodo de julio a octubre; sin embargo, es posible que haya cuatro por temporada, ya que el follaje de *P. stipulaceum* sigue disponible en noviembre y diciembre.

En la Figura 1.1 se muestran imágenes de los diferentes tipos de estructuras que utilizan los individuos de *G. cynisca* de acuerdo con su etapa ontogenética. Los huevos son depositados en el envés de las hojas, por lo general en una zona donde dos hojas se tocan. Al emerger, las larvas aseguran el sitio de unión con seda y su actividad provoca que las hojas se marchiten y adquieran una coloración amarilla o café (Fig. 1.1a). Algunos depredadores, como arañas y alacranes utilizan estos sitios de unión como refugios, probablemente consumiendo una parte de las orugas que los habitan. En el criadero se observó que después de varios días de actividad larvaria estas hojas se desprenden de la planta. Cuando las orugas alcanzan el primer estadio de cabeza rojiza abandonan la puesta para construir refugios individuales (Fig. 1.1b). En casos raros pueden encontrarse dos o tres orugas en la misma hoja, cada una en un doblez individual; sin embargo, se observó que si dos orugas se encuentran durante la construcción del refugio, reaccionan de manera agresiva y sólo una se queda con la hoja.

El último tipo de estructura en que se encontraron individuos de *G. cynisca* se denominó nido (Fig. 1.1c). Los nidos son refugios secos, abandonados por la oruga que los construyó y ocupados por orugas de los primeros estadios que aún no pueden construir su propio refugio. Los nidos colectados principalmente albergaban a otra especie de pirálido, muy similar a *G. cynisca*, que se describirá más adelante.

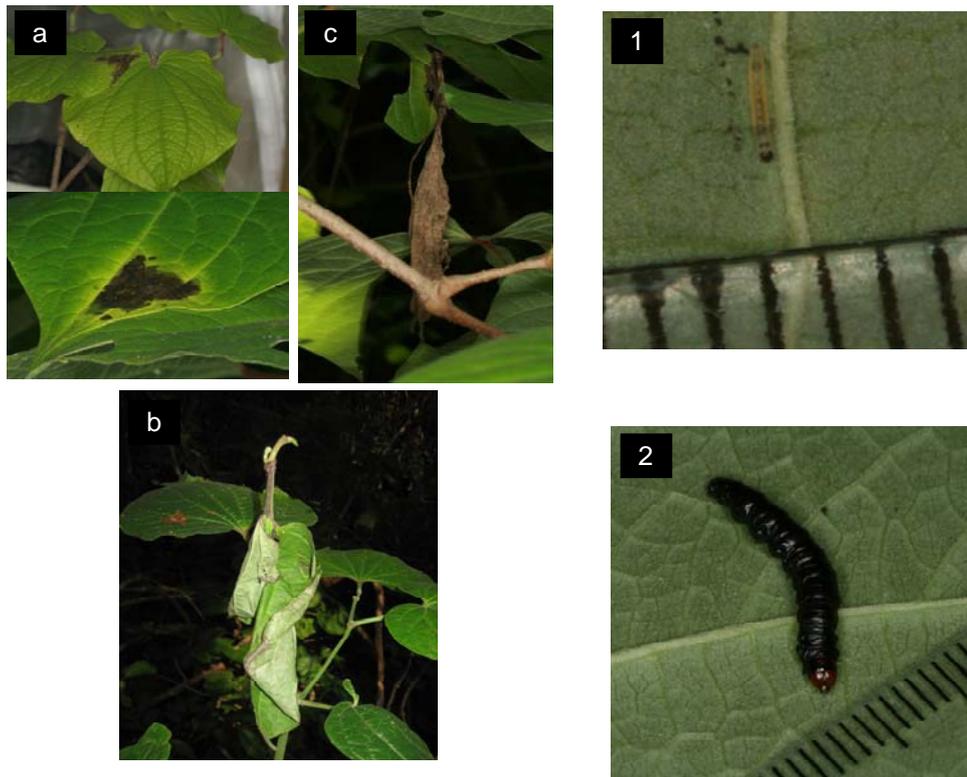


Figura 1.1 Tipos de refugio que ocupan las larvas de *G. cynisca*, de acuerdo con su etapa ontogenética: a) Puesta, b) refugio atrincherado, c) nido. Etapas ontogenéticas: 1) cabeza negra, 2) cabeza rojiza.

Estadios larvales. Se identificaron cinco estadios larvales con base en la observación de los eventos de muda y la distribución de las medidas de la cápsula de la cabeza de las orugas colectadas para tal propósito (Fig. 1.2). Por medio de observaciones de los eventos de muda, se identificaron tres estadios de cabeza rojiza. La cabeza del último de ellos mide 1.45 ± 0.02 mm ($n = 54$); sin embargo, sólo en algunos casos se puede distinguir entre los dos estadios anteriores, ya que son muy parecidos. El intervalo de medidas que abarcan estos dos estadios va de 0.4 a 1.4 mm, pero la misma larva puede tener medidas muy similares en ambos estadios, como es el caso de un individuo, cuya cápsula en el primer estadio rojizo midió 0.77 mm, mientras que en el segundo midió 0.88 mm.

La distribución de frecuencias del ancho de la cápsula de las larvas de cabeza negra es bimodal (Fig. 1.3), y se dividió en dos grupos, suponiendo que cada uno corresponde a un estadio. El primero, integrado por 61 individuos, incluye a las larvas cuya cápsula midió de 0.2 a 0.26 mm, con una moda de 0.22 mm. El segundo grupo se integró con 29 individuos, cuyas medidas de la cápsula van de 0.27 a 0.35 mm, con una moda de 0.29 mm. Sólo el segundo grupo tuvo una

distribución normal. Las medidas de ambos grupos difirieron significativamente ($\chi_1^2 = 59.7$, $P < 0.0001$) En cautiverio y alimentando a las larvas con follaje fresco, la etapa de cabeza negra duró alrededor de siete días y la de cabeza roja de 19 a 23 días.



Figura 1.2. Etapas del ciclo de vida de *G. cynisca*. a-e) Los cinco estadios larvales macroscópicos se muestran en orden cronológico, f-g) pupa, h) adulto.

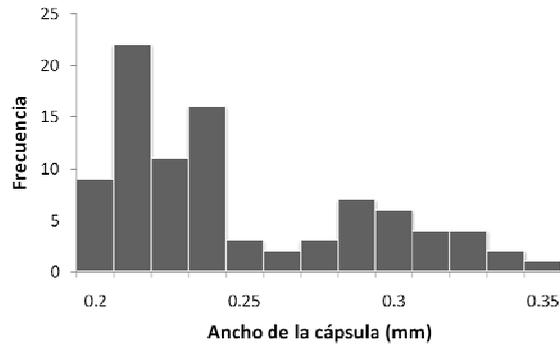


Figura 1.3 Distribución de frecuencias de las medidas del ancho de la cápsula de los estadios de cabeza negra.

La especie desconocida que también consume y construye refugios en *P. stipulaceum* es muy parecida durante la etapa larvaria a *G. cynisca*, de tal manera que fue imposible distinguirlas durante los primeros estadios. Además, ambas especies construyen refugios similares. La diferencia más evidente es el tamaño de las larvas del último estadio. La cápsula de la cabeza en el momento de pupar es de 1.062 ± 0.019 mm en la especie desconocida, alrededor de 0.5 mm menos que en *G. cynisca*. Sin embargo es difícil determinar si se trata del último estadio de la especie desconocida, o del tercero o cuarto de *G. cynisca*. En cuanto a las pupas, es muy fácil distinguir entre especies debido a la diferencia en tamaño, ya que las pupas de la especie desconocida, criadas en cautiverio, pesaron 7.7 ± 0.3 mg ($n = 20$), mientras que las pupas de *G. cynisca* criadas de la misma manera pesaron casi seis veces más (41 ± 1 mg, $n= 62$). En la figura 1.4 se muestra una comparación entre los adultos de ambas especies. Es importante señalar que las larvas de la especie desconocida se colectaron únicamente a partir de agosto.

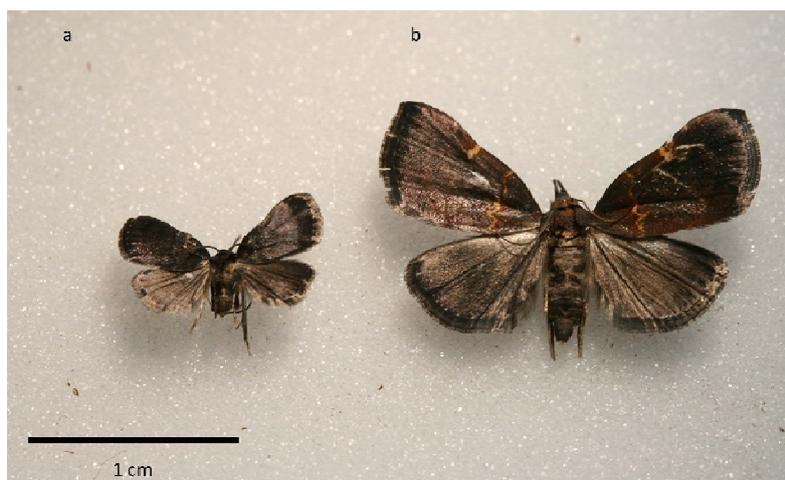


Figura 1.4. Imagen comparativa de a) especie desconocida y b) *G. cynisca*.

En la figura 1.5 a se muestra el destino de las 165 larvas colectadas en distintos parches en los alrededores de la EBC. Treinta y cuatro de ellas estaban parasitadas por avispas, una por un nemátodo, 10 murieron antes de pupar por causas desconocidas, 74 puparon y emergieron exitosamente y 46 pertenecieron a la especie desconocida. En la figura 1.5 b se muestra la proporción de orugas que se encontraron en cada tipo de vivienda (nido, puesta, refugio) tanto las orugas de la especie desconocida como las de *G. cynisca* se encontraron en estos tres tipos de vivienda.

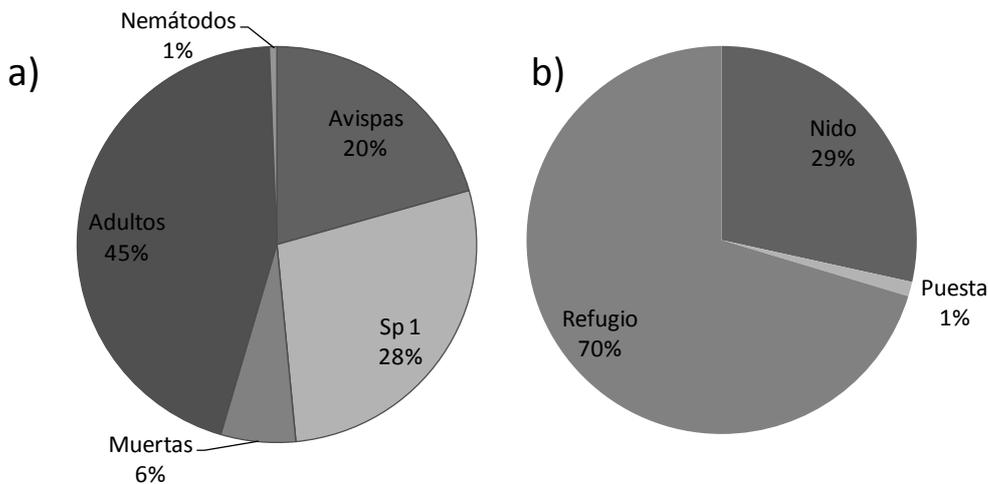


Figura 1.5. a) Destino y b) procedencia de las 165 orugas colectadas de julio a octubre de 2008. Sp. 1 denota el porcentaje de orugas que pertenecieron a la especie desconocida.

Abundancia a lo largo de la temporada. El área aproximada del parche de plantas de *P. stipulaceum* en el que se midió la abundancia de *G. cynisca* a lo largo de la temporada fue de 186 m². En la Tabla 1.1 se muestra el total de refugios encontrados por mes y la densidad de refugios ocupados y desocupados por metro cuadrado. En julio y septiembre se registró la mayor densidad de refugios. La densidad de refugios ocupados se mantuvo igual a lo largo de la temporada, salvo por el mes de agosto, en que fue cinco veces más baja que en el resto de los meses (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Número de refugios encontrados por mes, la densidad de los mismos y la densidad de refugios ocupados por metro cuadrado en el parche Calandria.

Mes	Refugios encontrados	Densidad de refugios (ref/m ²)	Densidad de refugios ocupados (ref/m ²)
Julio	23	0.12	0.06
Agosto	9	0.05	0.01
Septiembre	20	0.11	0.06
Octubre	16	0.09	0.06

La incidencia de parasitoidismo fue mayor en julio y agosto (Figura 1.6). La figura 1.6 da la impresión de que septiembre y octubre fueron meses libres de parasitismo, sin embargo, durante ese periodo sí se colectaron larvas parasitadas en otros parches. Es importante señalar que las orugas parasitadas podrían pertenecer a *G. cynisca* o a la especie desconocida, ya que no fue posible distinguir entre ellas durante la etapa larvaria.

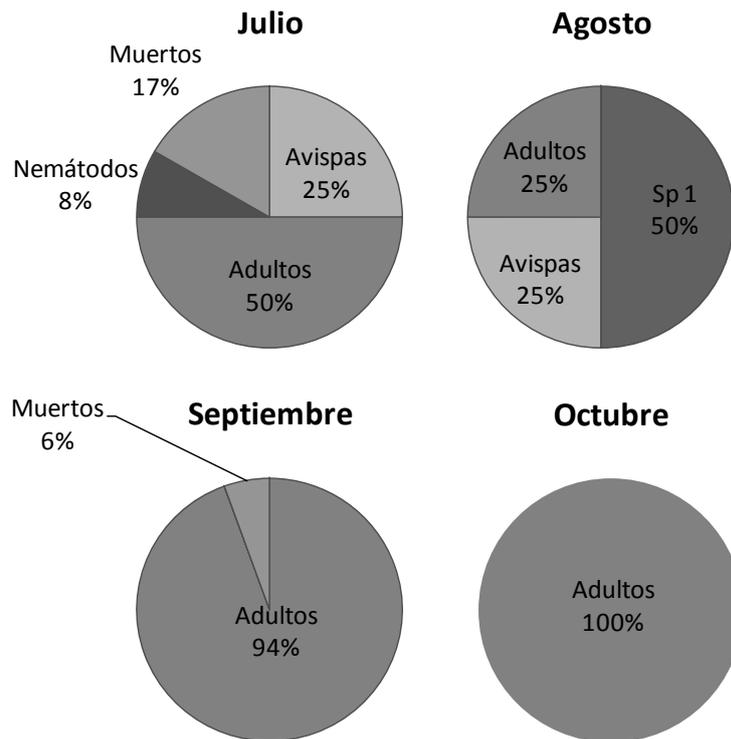


Figura 1.6. Destino de las larvas colectadas en el parche Calandria. En julio se colectaron 12 larvas, en agosto 4, en septiembre 18 y 11 en octubre.

Se encontraron dos morfoespecies de avispas parasitoides. En todos los casos se observó el mismo proceso en que la larva de la avispa consumía a la oruga desde adentro, dejando únicamente la piel y la cabeza al momento de pupar (Fig. 1.7).

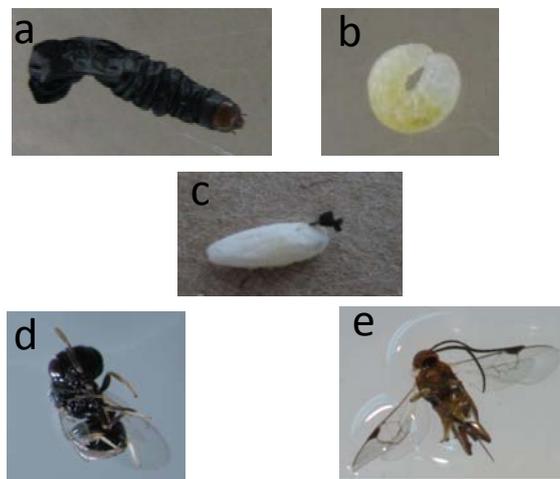


Figura 1.7. Parasitoides registrados. a) piel de la oruga que deja la larva del parasitodide. b) Larva del parasitoides unos minutos antes de pupar. c) Pupa. d, e) Morfoespecies de parasitoides registradas.

Construcción de refugios. Se hicieron 21 observaciones del proceso de construcción de refugios. Antes de comenzar, las orugas recorren la hoja y en ocasiones también la planta, en busca de otras hojas. La mayoría (14 orugas) visitó dos hojas antes de comenzar la construcción de su refugio ($\bar{x} = 2.43 \pm e.e. 0.29$); sin embargo, se observó que pueden visitar hasta siete hojas.

Una vez elegida la hoja donde se construirá el refugio, la oruga pone seda en la base de la misma, con la que se asegura a ella antes de comenzar la construcción. Posteriormente, efectúa el corte del peciolo (atrincheramiento) (Fig. 1.8a). Durante este proceso las orugas ingieren el tejido que cortan. Por lo general, el corte termina cuando queda sólo la parte inferior de la epidermis, aunque ésta se rompe al cabo de horas o un día. Posteriormente, la oruga pone seda en el sitio de corte asegurando la hoja a la planta (Fig. 1.8b), en ocasiones es posible que también ponga seda después del punto de corte, en el nudo más cercano, asegurando el peciolo al tallo (Fig. 1.8c). Después de asegurar el peciolo con seda, la oruga se coloca en la base de la hoja, justo en el centro (Fig. 1.8d) y pone hilos de seda sobre el haz perpendiculares al peciolo, doblando la hoja (Fig. 1.8e), hasta que une ambos extremos de la misma. Durante este proceso es común que la oruga muerda el tejido de la base de la hoja cercano al peciolo, probablemente facilitando el proceso de doblado. Posteriormente, la oruga se instala en uno de los dos extremos de la hoja y lo dobla, hasta construir una cámara como la que muestra en la figura 1.8h, en la que se aloja y que se ha denominado cápsula. Esta cápsula está cubierta por el lado opuesto de la hoja, que forma

una segunda cámara en el refugio. Es común observar arañas e insectos ocupando esta cámara externa. En la Fig. 1.8f se muestra un refugio recientemente terminado.

Los refugios cambian su apariencia con el paso del tiempo, ya que la hoja pierde humedad y la oruga consume una parte importante de la misma. Además, la oruga pone seda en las partes mordidas, doblando la hoja cada vez más (Fig. 1.8g). Los refugios siguen ocupados incluso cuando las hojas están completamente secas. Las orugas son capaces de alimentarse de tejido seco; sin embargo, se observó que pueden atrincherar una hoja fresca cercana y unirla con seda a su refugio para alimentarse de ella sin tener que salir (Fig. 1.8g). Las orugas observadas en cautiverio construyeron uno o dos refugios a lo largo de su vida.

En la figura 1.9 se muestra un esquema en el que se señalan la trinchera, la cápsula y la cámara externa de un refugio terminado; además de un diagrama con el proceso general de construcción, el tiempo que toma realizar las actividades y la probabilidad de que se lleven a cabo. Las probabilidades se obtuvieron a partir de la proporción de orugas que realizaron cada actividad, ya que no todas las orugas realizaron todas las actividades descritas. La construcción de un refugio puede tomar entre 3 y 6 horas; sin embargo, las orugas siguen poniendo seda y enrollando la hoja durante todo el periodo que dura la ocupación. El proceso de construcción está interrumpido por momentos de reposo en los que la oruga está inmóvil, todos ellos se agruparon en la categoría “descanso”. El acicalamiento es otro de los comportamientos observados durante este proceso, y consiste en que la oruga frota su cuerpo con las mandíbulas. El descanso y el acicalamiento pueden ocurrir en cualquier momento e interrumpir cualquiera de los otros comportamientos, por lo que en la figura 1.9 no están unidos con flechas al resto de las actividades. Las orugas pueden poner más seda en el peciolo o en el siguiente nudo si el refugio se mueve mucho.

Durante la construcción de los refugios las orugas pasan, en promedio, 78 % del tiempo en el haz ($\bar{x} = 203 \pm e.e. 16$), 10 % en el peciolo ($\bar{x} = 32 \pm e.e. 5$), 8 % en el envés ($\bar{x} = 15 \pm e.e. 7$) y 3 % en los tallos de la planta ($\bar{x} = 7 \pm e.e. 2$). En promedio pasan 170.2 ± 15.8 minutos ($n = 20$) expuestas sobre la superficie de la planta, de los cuales 76.3 ± 10.2 min ($n = 20$) están expuestas en el haz, antes de que la hoja se doble y las cubra parcialmente.

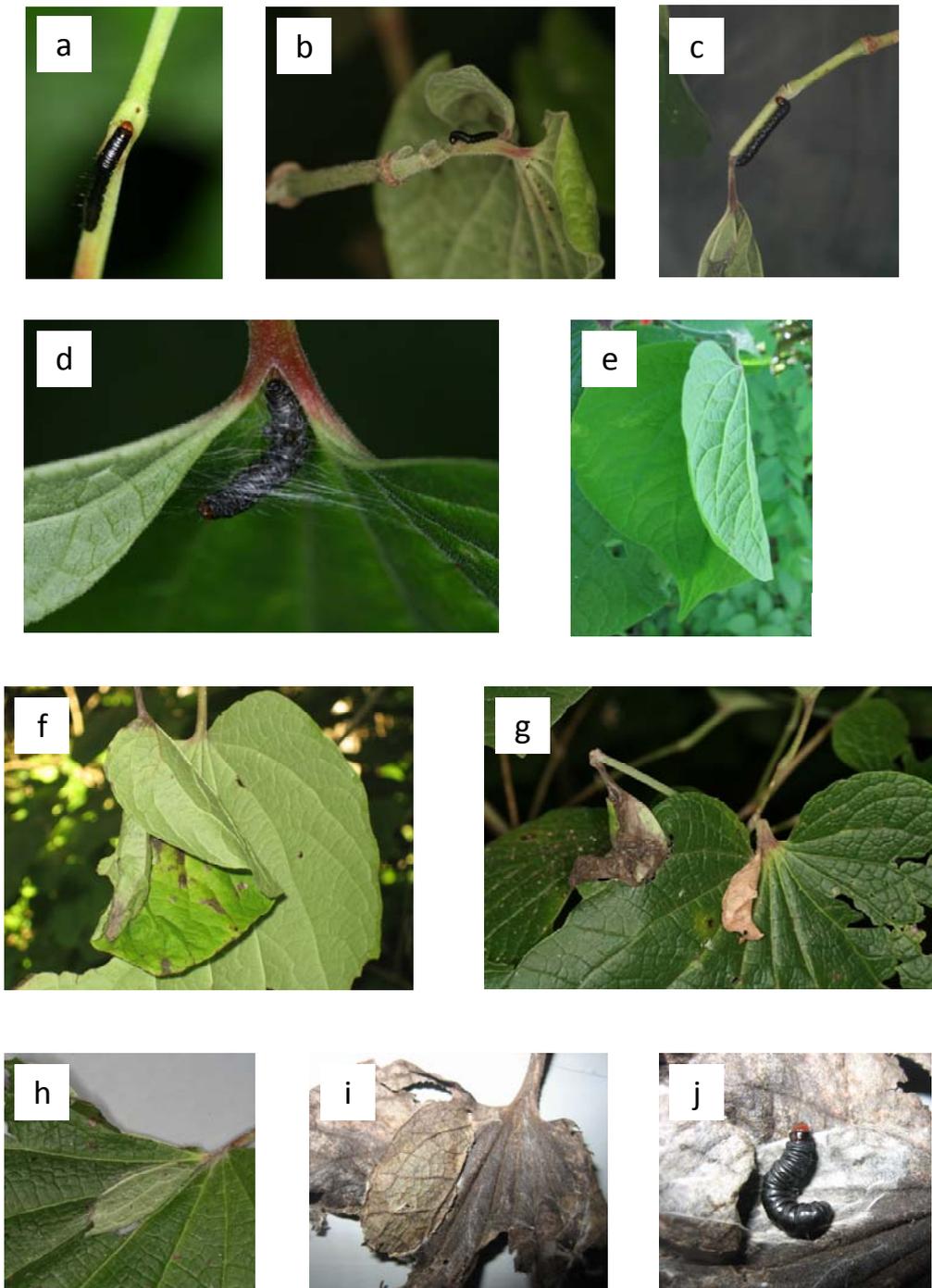


Figura 1.8. Etapas del proceso de construcción de refugios: a) corte de peciolo, b) poner seda en el peciolo, c) poner seda en el nudo, d) poner seda en la hoja, e) hoja doblada, f) refugio terminado, g) unión de una nueva hoja atrincherada, h) cápsula de un refugio fresco, i) cápsula de un refugio seco, j) cápsula abierta, habitada por una oruga del último estadio.

Al analizar la relación entre el tiempo que las larvas ($n = 12$) dedicaron a cada actividad de la construcción de refugios y su destino final (oruga sana, parasitada o muerta), se encontraron dos patrones marginalmente significativos. Por un lado, el tiempo invertido en alimentación durante la construcción de refugios se correlacionó negativamente con la probabilidad de supervivencia ($\chi_1^2 = 3.7, p = 0.054$, Fig. 1.10a), y por otro, el tiempo que las orugas tardaron en cortar el peciolo se correlacionó negativamente con la probabilidad de supervivencia ($\chi_1^2 = 3.67, p = 0.055$, Fig. 1.10b). Por último, se encontró una relación significativa entre el peso al construir el refugio y el destino de las larvas, ya que las larvas más pequeñas eran las que estaban parasitadas ($\chi_1^2 = 13.5, p = 0.0002$ Fig. 1.10c).

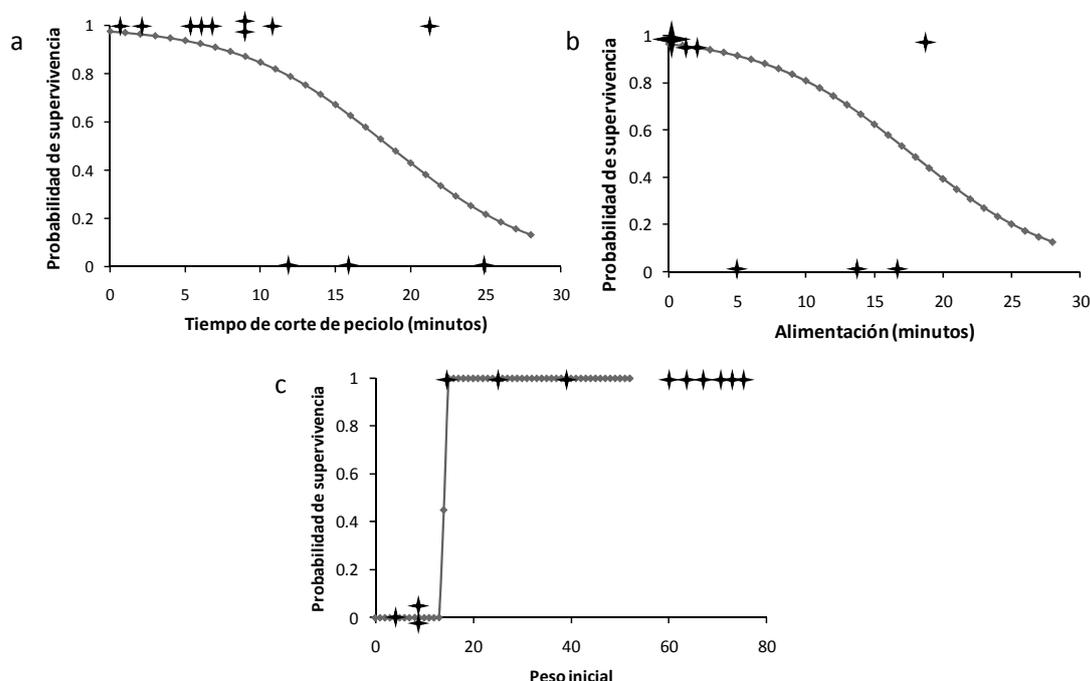


Figura 1.10. Probabilidad de supervivencia de las orugas de acuerdo con el tiempo que dedicaron a: a) alimentarse, b) cortar el peciolo y c) peso al construir el refugio (peso inicial). La predicción del modelo se indica con la línea punteada y los puntos señalados con cruces indican los datos que se utilizaron para construir el modelo. La cruz más grande representa seis orugas.

En cuanto a la preferencia de las orugas por algún tamaño de hoja para construir sus refugios, se observó que prefirieron hojas de alrededor de 12 cm de largo y ancho (Fig. 1.11) en los dos meses. Durante julio las hojas elegidas fueron más grandes que las de la oferta (Figura 1.11; **largo:** $\chi_1^2 = 11.12, P = 0.0009, n = 108$, **ancho:** $\chi_1^2 = 6.71, P = 0.0096, n = 108$, **ancho del peciolo:** $\chi_1^2 = 8.56, P = 0.0034, n = 108$), mientras que en septiembre, las medidas de las hojas seleccionadas

no fueron significativamente diferentes a las de la oferta (figura 1.11. **largo**: $\chi_1^2 = 0.15$, $P = 0.7$ $n = 148$ **ancho**: $\chi_1^2 = 0.59$, $P = 0.44$ $n = 148$, **ancho del peciolo**: $\chi_1^2 = 0.029$, $P = 0.87$ $n = 148$). El tamaño de las hojas elegidas para construir refugios no difirió significativamente entre julio y septiembre (**largo**: $F = 0.007$, $P = 0.93$, $n = 132$ **ancho**: $F = 0.69$, $P = 0.41$ $n = 132$, **ancho del peciolo**: $F = 2.71$, $P = 0.10$ $n = 132$).

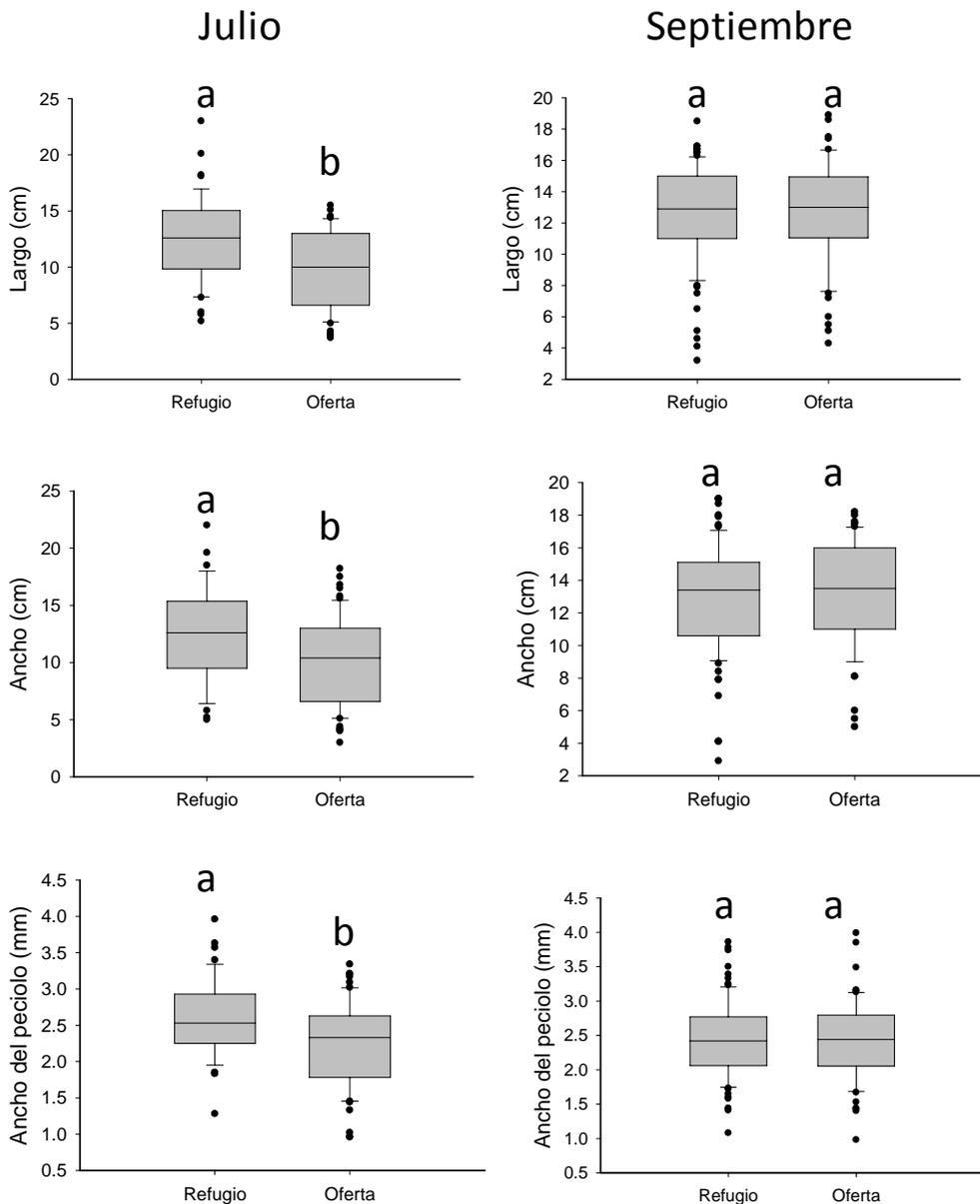


Figura 1.11. Largo, ancho y ancho del peciolo (la línea horizontal corresponde a la mediana, la caja al intervalo entre el 25 y el 75 % y los bigotes al intervalo entre el 10 y el 90 %) de las hojas elegidas para construir refugios y la oferta en a) julio y b) septiembre.

El tamaño de las hojas disponibles para construir refugios (oferta) no fue constante a lo largo de la temporada, ya que en julio las hojas fueron más pequeñas que en los otros meses: largo ($\chi_3^2 = 315.9$, $P < 0.0001$, $n = 3084$), ancho ($\chi_3^2 = 278.4$, $P < 0.0001$, $n = 3084$) y ancho del peciolo ($\chi_3^2 = 21.2$, $P = 0.0001$, $n = 3083$) como se muestra en la figura 1.12.

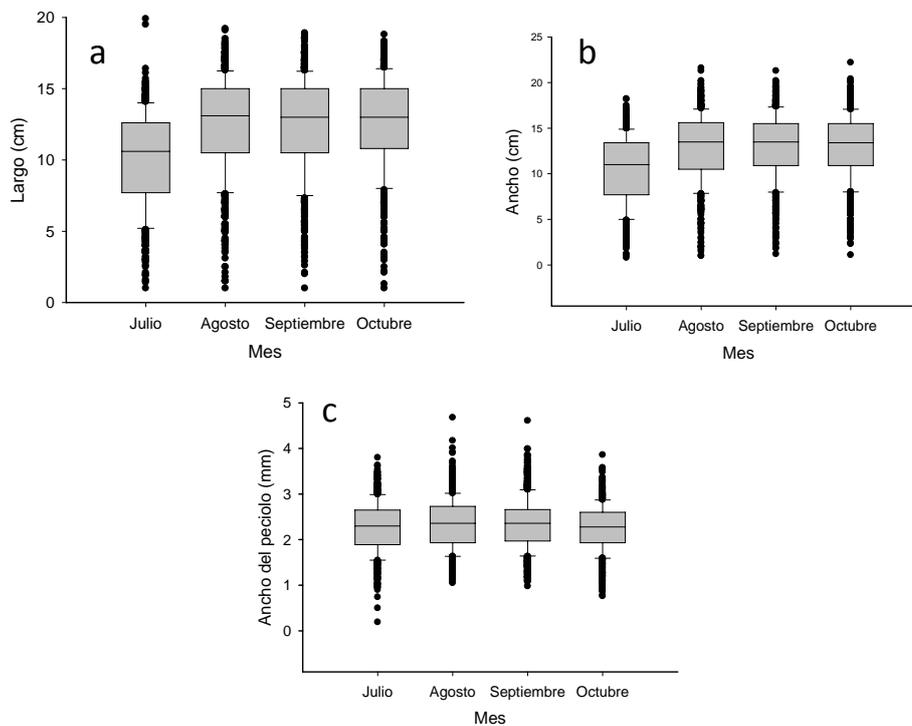


Figura 1.12. a) Largo, b) ancho y c) ancho del peciolo de las hojas de *P. stipulaceum*, $n = 3083$ (la línea horizontal corresponde a la mediana, la caja al intervalo entre el 25 y el 75 % y los bigotes al intervalo entre el 10 y el 90 %).

Discusión

Las larvas de *G. cynisca* fueron abundantes durante casi toda la temporada de lluvias, pero en agosto su densidad fue menor. Se observaron tres generaciones en el periodo de julio a principios de noviembre; sin embargo, es muy probable que en Chamela esta especie tenga cuatro generaciones al año, ya que el follaje de *P. stipulaceum* está disponible también durante diciembre. No se sabe en qué etapa del desarrollo pasan la época de secas, pero es muy probable que sea en pupa, como lo hacen la mayoría de las especies de lepidópteros en otra selva seca, en la región de Santa Rosa, Costa Rica (Janzen 1993), ya que el suelo puede proveerles un ambiente con temperatura y humedad relativamente estables para pasar este periodo.

Es común que los microlepidópteros que construyen refugios pasen toda la etapa larvaria protegidos, algunos son minadores o se alimentan en el interior de ramas y tallos cuando son pequeños y posteriormente, cuando alcanzan el tamaño necesario, construyen refugios (Gaston et al. 1991). *Gephyra cynisca* pasa toda la etapa larvaria protegida sin tener que cambiar de hábito gracias a que los huevos son depositados en refugios previamente contruidos, o en el sitio de unión de dos hojas, que posteriormente se aseguran con seda. El comportamiento de oviposición de los adultos no se observó de manera directa, sino que se dedujo dada la posición de las larvas de los primeros estadios. La oviposición en el sitio de unión de las hojas se ha reportado también en polillas que construyen refugios en encinos (Lill y Marquis 2004; Lill et al. 2007). Además, se conocen otros casos de microlepidópteros constructores que ovipositan en refugios preexistentes o cerca de ellos (Carroll y Kearby 1978; Carroll et al. 1979), donde la supervivencia de sus larvas es mayor que en otras hojas (Cappuccino 1993).

El único momento en que las larvas de *G. cynisca* están expuestas en la superficie de la planta es durante la construcción de refugios. Este proceso las hace más vulnerables y conspicuas para los depredadores por un periodo de alrededor de tres horas. Las actividades en las que invierten más tiempo durante este periodo son poner seda en el haz y descansar. Poner seda en el haz las hace aún más conspicuas porque se están moviendo y su cuerpo negro contrasta con el verde de la hoja, por lo que probablemente ésta es la etapa más peligrosa de la construcción. Se encontró una relación inversamente proporcional entre el tiempo que las orugas pasaban alimentándose y cortando el peciolo durante la construcción de refugios y su probabilidad de supervivencia. Sin embargo, la causa de esta relación no es clara, ya que también se encontró que las orugas más pequeñas tenían una mayor probabilidad de estar parasitadas. Existen dos posibles explicaciones de este patrón. La primera es que probablemente las orugas más pequeñas necesitan alimentarse más tiempo durante la construcción del refugio y se tardan más en terminar el corte del peciolo porque tienen las mandíbulas más pequeñas, independientemente del parasitoidismo. La segunda explicación es que el parasitoidismo provoca este patrón, ya que todas las orugas pequeñas que fueron incluidas en este análisis estuvieron parasitadas. Aunado a esto, se observó que las orugas parasitadas nunca alcanzaron los dos últimos estadios de cabeza rojiza, por lo que sólo las orugas pequeñas tendrían la posibilidad de estar parasitadas.

Por otro lado, las orugas mostraron una clara preferencia por el tamaño más común de las hojas (alrededor de 12 cm de largo y de ancho) ya que en julio, cuando éstas no estaban

completamente expandidas, prefirieron las más grades, que son del tamaño más común de las totalmente expandidas, que se presentaron el resto de los meses.

Con base en las observaciones de historia natural no se puede determinar cuáles son las funciones del atrincheramiento en este sistema; sin embargo, se puede discutir la viabilidad de las hipótesis que se han planteado al respecto. Es muy probable que en este caso el atrincheramiento tenga una función estructural, ya que la pérdida de turgencia que ocasionan los cortes y perforaciones hace a las hojas más maleables (Ide 2004; Hansell 2005), por lo que posiblemente facilita el proceso de doblado, que es la etapa más tardada de la construcción. Las orugas pasan la mayor parte del tiempo en la cápsula, que es una estructura simple que podría construirse sin necesidad del atrincheramiento, tal como en el caso de otras orugas constructoras de cápsulas que dejan el peciolo intacto (Lind et al. 2001; Greeney y Jones 2003). Sin embargo, la oruga atrinchera el peciolo de la hoja, aún con el costo que podría suponer la atracción de colonizadores a la capa externa del refugio. Esta capa externa frecuentemente es colonizada por insectos y por potenciales depredadores, como las arañas, por lo que podría resultar contraproducente desde el punto de vista de la supervivencia. Es muy probable que la trinchera tenga también una función nutricional ya que durante la ocupación del refugio la oruga se alimenta de la capa externa del mismo. Ya se ha probado la efectividad de las trincheras para impedir la inducción o el flujo de sustancias defensivas a la hoja (Dussourd y Denno 1991, 1994; Chambers et al. 2007) y ese podría ser el caso en este sistema, a pesar de que *P. stipulaceum* no produzca látex ni savia, ya que se sabe que otras especies del género *Piper* presentan inducción de alcaloides en respuesta al ataque por los herbívoros (Dodson et al. 2000).

Sin embargo, en este caso particular el atrincheramiento podría tener una función que no había sido mencionada antes: impedir la exportación de nutrientes de la hoja a la planta. Las hojas que hospedaban a las larvas de los primeros estadios mostraron signos de deterioro y de exportación de nutrientes (cambio en la coloración) después de algunos días de ocupación, además de que posteriormente se desprendieron de la planta. Los herbívoros pueden provocar senescencia prematura en las hojas. Este proceso incluye la exportación de nitrógeno y se manifiesta con un cambio de coloración que va de verde oscuro a amarillo y posteriormente café y que termina con la abscisión de las hojas (Morath et al. 2006), se sabe que incluso las hojas jóvenes pueden presentar abscisión por herbivoría (Blundell y Peart 2000). La abscisión prematura de las hojas tiene el potencial para ser una fuente importante de mortalidad larvaria en los casos

en que las plantas tienen los medios para llevarla a cabo, es decir, plantas de vida larga que producen muchas hojas y de herbívoros que tienen una movilidad limitada (Faeth et al. 1981). Este podría ser el caso de *P. stipulaceum*, a pesar de ser una planta estacional. De esta manera, la construcción de la trinchera y el posterior aseguramiento del sitio de corte con seda, podrían permitir que por un lado, los nutrientes se queden en la hoja y por el otro, que la hoja permanezca unida a la planta.

En el parque nacional de Santa Rosa, Costa Rica, el 37 % de las especies estudiadas de orugas se alimentan expuestas en la superficie de la hoja, mientras que el resto son minadores o construyen refugios (Janzen 1988); por lo que es muy probable que el entorno biótico y abiótico de esta selva baja, similar a la de Chamela, ejerza presiones sobre las orugas que las obliguen a llevar una vida protegidas. La función de los refugios como mejoradores del microambiente (Hunter y Willmer 1989; Larsson et al. 1997) es probable en este caso ya que aún durante el periodo de lluvias se pueden encontrar días muy calientes y secos. Los refugios podrían ayudar a mantener la humedad. Por otro lado, los refugios podrían también conferir cierta protección en contra del ataque por depredadores (Eubanks et al. 1997), hipótesis que se evalúa en la siguiente sección de este trabajo.

El hábito de construcción de refugios se ha asociado con altas tasas de parasitoidismo, posiblemente porque las orugas ocultas sufren tasas de depredación menores, representando de esta manera un hospedero seguro para los parasitoides, o tal vez esto se debe a que en los refugios se concentran pistas químicas para los parasitoides (Gentry and Dyer 2002). Hay orugas constructoras que excretan fuera de su refugio o lanzan sus heces hacia el exterior (Caveney et al. 1998), un comportamiento que se asocia a minimizar la concentración de señales químicas que detectan los enemigos naturales (Weiss et al. 2003). Sin embargo, *G. cynisca* no presenta este comportamiento. Los refugios suelen tener heces en la capa externa, pero no en la cápsula.

El ataque por parasitoides es muy importante, ya que pueden ser los mayores consumidores de insectos herbívoros en general (Hawkins et al. 1997). En los pirálidos que construyen refugios en *P. stipulaceum* en los parches estudiados (*G. cynisca* y la especie desconocida) se registró una tasa de parasitoidismo alta (alrededor del 20 %), en comparación con la que presentan otros grupos que habitan en ecosistemas similares. Por ejemplo, Janzen y Gauld (1997) encontraron tasas de parasitoidismo del 1 al 6 % en esfíngidos y saturnidos de la región de Guanacaste, Costa Rica. Los niveles registrados en este estudio son más parecidos a la tasa de

31 % que reportan Gentry y Dyer (2002) en una selva húmeda. Sin embargo, las poblaciones de parasitoides podrían variar año con año, por lo que es necesario realizar un estudio a largo plazo. Lill y Marquis (2001) encontraron que los niveles de parasitoidismo sufridos por *Psilocorsis quercicella* (Oecophoridae) variaron de 6.7 a 21.8 % entre años.

La incidencia de parasitoidismo fue mayor al principio de la temporada, durante julio y agosto, un patrón que concuerda con el que encontraron Hopkins y Memmott (2003) al estudiar los niveles de parasitoidismo en la región de Guanacaste, Costa Rica. En este estudio se identificaron dos morfoespecies de parasitoides; sin embargo no se sabe si ambas atacan a las dos especies de lepidópteros (*G. cynisca* y especie desconocida) que coexisten en los parches de *P. stipulaceum* o si alguna es específica.

La especie desconocida fue menos abundante al principio de la temporada, como sucede con otras especies de lepidópteros de bosque seco (Janzen 1993). Este patrón podría ser el resultado de la competencia interespecífica con *G. cynisca*, cuya abundancia es menor en agosto, o que este retraso sea en respuesta a las presiones de depredación de los parasitoides, ya que estos son un factor que puede afectar la fenología de los herbívoros (Myers 1981).

Parte II. Evaluación de los costos y beneficios de la conducta de construcción de refugios de *Gephyra cynisca*

La construcción de refugios tiene repercusiones importantes en distintos aspectos de la vida de las orugas e involucra costos y beneficios a diferentes niveles. Los beneficios incluyen el mejoramiento de factores climáticos como la temperatura y la humedad, ya que las hojas enrolladas pueden funcionar como aislantes ante el viento y la insolación (Hunter y Willmer 1989; Larsson et al. 1997); además de que habitar dentro de una exclusión de este tipo reduce el riesgo que corren las orugas de caer de la planta (Loeffler 1996). Por otro lado, la función de los refugios como mecanismo de defensa ante los depredadores está ampliamente documentada (Damman 1987; Hunter 1987; Bowers 1993; Fitzgerald 1993; Montllor y Bernays 1993; Loeffler 1996; Dyer 1997; Eubanks et al. 1997). Por ejemplo, los refugios de las larvas del género *Polohymno* (Gelechiidae) en las acacias de las que se alimentan, reducen significativamente la probabilidad de depredación por hormigas (Eubanks et al 1997), de la misma manera, Damman (1987) encontró que las larvas de *Omphalocera munroei* (Pyrilidae) tenían mayor supervivencia dentro de los refugios que fuera de ellos. Sin embargo, no se trata de una estrategia infalible, ya que algunos depredadores como aves y avispas pueden aprender a desenrollarlos y utilizarlos como pistas para ubicar a sus presas (Murakami 1999; Weiss et al. 2004).

Por último, los refugios pueden mejorar la calidad alimentaria de la planta porque involucran cambios físicos en las hojas que pueden alterar su composición química (Sagers 1992). Los refugios pueden reducir las defensas anti-herbívoro de las plantas interrumpiendo el paso de luz (Sagers 1992), además de que si se trata de refugios atrincherados, la interrupción del flujo de sustancias entre la hoja y la planta podría evitar el desarrollo de mecanismos de defensa inducidos, tales como la exportación de nutrientes. Las defensas inducidas son respuestas fisiológicas y morfológicas de las plantas que se desencadenan cuando son atacadas por los herbívoros (Karban y Baldwin 1997; Agrawal 1999). Estas respuestas pueden afectar caracteres como el contenido de agua y nitrógeno, la dureza de las hojas y la producción de metabolitos secundarios (Agrawal 1999; Heil et al. 2001) y pueden reducir la cantidad de daño subsecuente que sufren las plantas (Boege 2004) y atraer a los depredadores de los herbívoros (Thaler 1999).

El atrincheramiento se ha documentado en distintos grupos de insectos, entre ellos los lepidópteros (Dussourd 1999) y los escarabajos (Becerra 1994; Evans et al. 2000; Darling 2007). En

general, se observa en plantas con conductos laticíferos y resiníferos, en las que la trinchera, elaborada por los herbívoros, reduce considerablemente la concentración de látex y aceites esenciales (Dussourd y Denno 1991, 1994; Clarke y Zalucki 2000). Sin embargo, los beneficios del atrincheramiento pueden cambiar con el tiempo ya que las plantas pueden tener la capacidad de reemplazar las toxinas perdidas a causa de este comportamiento. Este es el caso de *Pastinaca sativa* (Umbeliferaceae) cuyo follaje reduce significativamente su concentración de defensas cuando es atrincherado por *Trichoplusia ni* (Noctuidae), pero al cabo de un día aumenta la concentración de aceites esenciales en las hojas atrincheradas a niveles incluso mayores que los de las hojas intactas (Chambers et al. 2007), por lo que los herbívoros se ven forzados a cambiar de hoja continuamente.

En ocasiones los herbívoros pueden preferir habitar hojas con las mejores características para hacer refugios, aunque sean de mala calidad nutricional (Hunter 1987; Larsson et al. 1997), de esta manera, el hábito de construir refugios tendría un costo relacionado con la calidad de la planta, que se traduce en tasas de crecimiento bajas en comparación con las que un herbívoro tendría con una dieta de hojas fuera del refugio (Damman 1987; Loeffler 1996). Otro costo importante de la construcción de refugios es que este hábito se asocia con altos niveles de parasitoidismo en comparación con orugas de vida expuesta (Dyer y Gentry 1999; Gentry y Dyer 2002), incluyendo avispas, moscas y nemátodos, que son tres grupos de parasitoides con diferentes mecanismos de infección (Gentry y Dyer 2002). Los refugios pueden hacer a las orugas más propensas al parasitoidismo porque concentran señales que las hacen más fáciles de localizar (Dyer y Gentry 1999). Estas señales pueden ser visuales o químicas, como la presencia de seda y heces (Agelopoulos et al. 1995; Mattiacci y Dicke 1995). Por otro lado, es posible que los parasitoides elijan orugas constructoras de refugios porque son menos propensas al ataque por otros depredadores, siendo así un hospedero más conveniente (Gentry y Dyer 2002). En este sentido, otro costo que debe ser tomado en cuenta es la vulnerabilidad ante el ataque por enemigos naturales por permanecer en el haz de la hoja durante el proceso de construcción (Bergelson y Lawton 1988; Loader y Damman 1991).

Existen también costos ecológicos y fisiológicos asociados con la construcción de refugios porque se trata de un proceso que involucra la inversión de tiempo y energía (Fitzgerald et al. 1991; Berenbaum et al. 1993; Fitzgerald y Clark 1994), además de que las orugas utilizan una gran cantidad de seda en la fabricación y mantenimiento de los refugios (Lill et al. 2007). De acuerdo

con Berenbaum et al. (1993), en el caso particular de *Depressaria pastinacella*, la construcción de estructuras con seda involucra la inversión de más del 20% del presupuesto de tiempo, nitrógeno y energía.

Las presiones ecológicas que enfrentan las orugas a lo largo de su desarrollo, pueden cambiar drásticamente debido a las diferencias en tamaño (Reavey 1993). Los estadios más pequeños son más susceptibles que los grandes al ataque de depredadores invertebrados (Weseloh 1993), por lo que éste podría promover una reducción en el tiempo de desarrollo de los herbívoros (Weis et al. 1992; McGregor 1996; Lill 2001). Es por esta razón que las presiones de selección sobre los comportamientos de construcción y atrincheramiento están limitadas a ciertos estadios, en función de cuándo los herbívoros son capaces de realizarlos. Por ejemplo, hay reportes de que el atrincheramiento está limitado a los estadios larvales más grandes (Ide 2004) porque las orugas pequeñas no tienen la fuerza ni el tamaño de las mandíbulas requerido para llevarlo a cabo (Hochuli 2001). De esta manera, tanto las presiones de selección ascendentes (calidad de la planta) como las descendentes (ataque de enemigos naturales) podrían acelerar el desarrollo de las larvas hasta que puedan expresar el comportamiento que minimiza sus efectos, como el atrincheramiento y la construcción de refugios. Se sabe que hay atributos de la historia de vida de los herbívoros, como la tasa de crecimiento, el tamaño corporal y la duración del desarrollo, que pueden ser influenciados simultáneamente por estos dos tipos de fuerzas (Lill y Marquis 2001). En los párrafos anteriores se explicaron los posibles costos y beneficios del hábito de construcción de refugios y existe una aparente contradicción en el sentido de que los refugios pueden mejorar, pero también empeorar la calidad del alimento. En el caso de la depredación, sucede algo similar, ya que pueden bajar la probabilidad de depredación pero aumentar el riesgo de parasitoidismo. De esta manera, la permanencia de este hábito dependerá del beneficio neto que los refugios confieren a las orugas, que a su vez depende de los costos y beneficios asociados a los diferentes niveles. Es posible que en algunos casos las presiones ascendentes y descendentes se manifiesten en sentidos opuestos y que en otros actúen de manera sinérgica. En el caso particular de *P. stipulaceum* y *G. cynisca*, los refugios podrían brindar beneficios al mantener el valor nutricional de la hoja mediante la interrupción del flujo de nutrientes de ésta a la planta y reduciendo su toxicidad, al impedir los mecanismos de inducción de metabolitos secundarios. Al mismo tiempo, es posible que se reduzca la calidad del follaje porque las hojas de los refugios pierden agua y las orugas siguen alimentándose de ellas aún cuando están secas. En esta sección

se cubren los últimos dos objetivos particulares, que se refieren a determinar el efecto del atrincheramiento sobre la calidad alimenticia del follaje de *Piper stipulaceum* y la efectividad de los refugios como defensa ante los enemigos naturales de *G. cynisca*.

Métodos

1. **Atrincheramiento y calidad alimentaria del follaje de *P. stipulaceum*.** Las trincheras pueden alterar la calidad alimenticia de las hojas por medio de dos mecanismos relacionados; el primero es la interrupción del flujo de sustancias entre la planta y la hoja y el segundo es el deterioro de la hoja por estar separada de la planta. Para determinar si el atrincheramiento tiene un efecto sobre la calidad nutricional de *Piper stipulaceum*, se realizó un análisis del contenido de nitrógeno, fósforo y agua del follaje, se hicieron dos pruebas de aceptabilidad y se evaluó el desempeño de las larvas sometidas a distintas dietas.

a. *Contenido de agua en el follaje.* Se comparó el contenido de agua de 79 hojas recién cortadas (follaje fresco) y 77 hojas que después de cortarse se dejaron tres días a la intemperie (follaje seco), que corresponde al tipo de follaje que las larvas de *G. cynisca* consumen normalmente en el campo. Cada hoja pertenecía a una planta diferente; todas ellas se secaron a la sombra y se almacenaron en bolsas de papel. Para determinar el contenido de agua, las muestras se pesaron antes y después del proceso de secado en una balanza digital (Acculab Sartorius group, modelo vic-303). El contenido de agua de las hojas entre tratamientos se comparó con un Anova Welch para varianzas desiguales.

b. *Contenido de nitrógeno y fósforo en el follaje.* Una muestra de las hojas utilizadas para determinar el contenido de agua en el follaje fue analizada posteriormente para determinar su contenido de nitrógeno y fósforo totales por medio del método industrial Technicon No. 329/74 (Technicon Industrial Systems 1997). Se analizaron 25 hojas por tratamiento y el contenido de fósforo y nitrógeno de las hojas entre tratamientos se comparó con una prueba de Wilcoxon/ Kruskal-Wallis, cada hoja provenía de una planta diferente.

c. *Aceptabilidad.* Para determinar si las orugas de *G. cynisca* prefieren el consumo de follaje fresco (recién cortado) o seco (con tres días de atrincheramiento), se realizaron dos pruebas de aceptabilidad. La primera utilizando el tejido de hojas maduras, mientras en la segunda se utilizaron hojas jóvenes, por si la concentración de defensas químicas en las

hojas cambia a lo largo del desarrollo de las mismas. Para ambos experimentos las orugas fueron sometidas a 7 horas de ayuno antes de su inicio. Cada una se colocó al centro de una caja petri con seis círculos de 3 cm², tres de tejido fresco y tres de tejido seco colocados de manera intercalada (Figura 2.1). Las orugas se dejaron en las cajas por un periodo de seis horas, al término del cual fueron retiradas y se fotografiaron los círculos remanentes. El área consumida se estimó por medio del análisis de estas imágenes con el programa Sigma scan Pro 5 (SPSS 1999). El primer ensayo (con tejido maduro) se realizó con 46 orugas de los estadios larvales de cabeza rojiza, mientras que el segundo (con tejido joven) se realizó con 29 orugas del segundo estadio de cabeza rojiza. En ambos casos los datos se analizaron por medio de una prueba de t pareada.

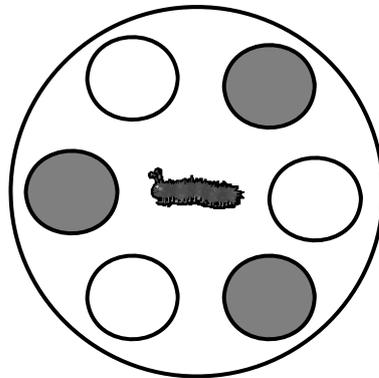


Figura 2.1. Esquema del experimento de aceptabilidad. Se colocó una oruga al centro de una caja petri con tres círculos de follaje fresco (blanco) y tres de follaje seco (gris).

En los incisos d y e se describen dos experimentos con orugas en los que se compara la calidad del tejido fresco vs. seco (d) y atrincherado vs. no atrincherado (e). En el primer caso (fresco vs. seco) ambos tipos de follaje han sido separados de la planta y difieren en el tiempo que ha pasado a partir de esa separación. Se trata de una diferencia importante, porque el tejido pierde agua con el paso del tiempo. En el segundo caso, el tejido atrincherado ha sido separado de la misma, mientras que el no atrincherado se refiere a hojas que continúan unidas a la planta. En ambos casos se midieron el peso de las pupas y el tiempo de desarrollo como variables de respuesta. El peso de las pupas está correlacionado con la adecuación (Roff 1992) y es un atributo que puede variar con el paso del tiempo, ya que las pupas pierden humedad, por esta razón el peso de las pupas de todos los experimentos se registró el día en que puparon.

d. *Desempeño de las orugas alimentadas con dieta fresca y seca.* Para determinar si el tipo de dieta (fresca vs. seca) tiene algún efecto sobre el peso final o la duración de la etapa larvaria de *G. cynisca*, se realizó un experimento en el que 20 orugas nacidas en cautiverio fueron alimentadas con hojas cortadas con anterioridad (dos a tres días), mientras que otras 20 fueron alimentadas con hojas frescas (cortadas el mismo día). Todas las orugas iniciaron el experimento al mismo tiempo, cuando alcanzaron el primer estadio macroscópico (cabeza de alrededor de 0.2 mm); y los tratamientos se mantuvieron hasta el momento de pupar. Al inicio del experimento, las orugas eran demasiado pequeñas como para pesarlas, por lo que el primer peso se registró a los 10 días de iniciado el tratamiento, posteriormente se registró el peso de las pupas y el tiempo de desarrollo. Se aplicó un Manova con el sexo, la dieta y la interacción de éstos como variables independientes y el peso de las pupas, el peso uno (10 días después de comenzado el experimento) y el tiempo de desarrollo como variables dependientes. Posteriormente se hicieron tres Anovas de dos vías. Uno por cada variable de respuesta (peso uno, peso final y tiempo de desarrollo); en todos los análisis se incluyeron al tipo de dieta y al sexo como variables independientes, ya que las hembras son más grandes y tienen un tiempo de desarrollo ligeramente mayor al de los machos. Se realizó una transformación box cox a los datos del peso de las pupas para normalizar su distribución.

e. *Desempeño de las orugas alimentadas con dieta atrincherada y no atrincherada.* Para comparar la calidad alimentaria de las hojas atrincheradas y no atrincheradas, se realizó un experimento con 30 pares de orugas del segundo estadio rojizo. Todas las orugas fueron criadas en cautiverio, eran de la misma edad y fueron colectadas de la misma hoja, por lo que probablemente provenían de la misma puesta. Se eligieron de este estadio porque durante este periodo consumen la mayor cantidad de follaje (M. Abarca obs. pers.). Cada par de orugas se colocó en una planta del campo, en la que se seleccionaron dos hojas de ramas opuestas y equivalentes en cuanto a edad y filotaxia. Una de las hojas se atrincheró artificialmente con una navaja, mientras que la otra se mantuvo intacta. Los extremos del peciolo de la hoja atrincherada que fueron separados se unieron posteriormente por medio de un hilo de nylon. Las orugas fueron obligadas a permanecer en su hoja correspondiente durante cuatro días por medio de jaulas fabricadas con cajas petri. Cada jaula estaba hecha por dos tapas o dos fondos unidos por medio de una pinza y

tenía dos orificios cubiertos con malla de tul para favorecer la ventilación. Para asegurar que la jaula no se cayera de la hoja se aseguró con una liga (Fig. 2.2). Después de cuatro días se llevaron al laboratorio y se alimentaron con una dieta fresca uniforme hasta el momento de pupar.

Para evitar que las orugas fueran depredadas por hormigas se aplicó vaselina en el peciolo de la hoja. Este procedimiento incrementó la tasa de supervivencia de las orugas en pruebas previas. Durante este experimento se registró el peso inicial, el peso al cabo de los 4 días que duró el tratamiento y el peso de las pupas. Se aplicó un Manova en el que se incluyeron como variables de respuesta el incremento en peso al cabo del tratamiento, el peso de las pupas y el tiempo de desarrollo, y como variables independientes el tipo de dieta, el sexo y su interacción. Posteriormente se realizaron tres Anovas de dos vías con las mismas variables independientes, uno por cada variable de respuesta. Todas las variables de respuesta se sometieron a una transformación box cox para normalizar su distribución (SAS Institute 2001).

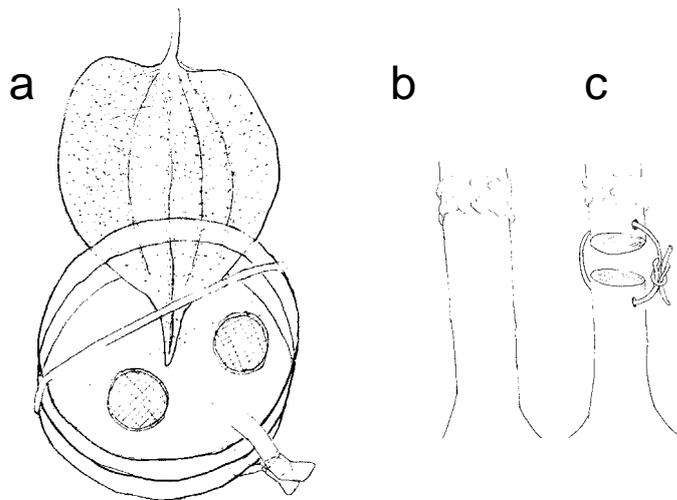


Figura 2.2. a) Jaula para mantener a las orugas en la hoja de su tratamiento correspondiente (atrincherada o no atrincherada). b) Peciolo de las hojas del tratamiento no atrincherado, al que se aplicó vaselina. c) Peciolo de las hojas del tratamiento atrincherado, al que además de aplicársele vaselina, se cortó y sus extremos se unieron con hilo de nylon.

2. Papel de los refugios como defensa. Para determinar la eficacia de los refugios como defensa ante los enemigos naturales se realizaron experimentos con orugas artificiales y con orugas vivas. Las orugas artificiales se moldearon con plastilina negra, del tamaño correspondiente a

las orugas de los últimos tres estadios larvales. Las orugas vivas se criaron en cautiverio desde el momento de su concepción, para asegurar que estuvieran libres de parasitoides.

- a) *Orugas vivas*. Se realizó una prueba piloto, en la que se colocaron 39 pares de orugas en 39 plantas distribuidas de manera uniforme en un parche. Una oruga de cada par se encontraba en un refugio construido en cautiverio (tratamiento en refugio), amarrado a una rama de la planta, mientras que la otra se colocó sobre el haz de una hoja en una rama opuesta (tratamiento expuesto). Las orugas se dejaron en las plantas durante siete horas, de las 9 am a las 4 pm. Dado que las orugas expuestas comenzaban la construcción de un refugio, el parche fue monitoreado cada hora para interrumpir la construcción y volver a exponerlas sobre el haz. La incidencia de depredación fue muy baja durante esta prueba, por lo que el experimento se repitió en las mismas plantas y con el mismo número de orugas, pero esta vez, durante tres días, como se describe a continuación.

Se dejó que las orugas expuestas construyeran un refugio, por lo que el tiempo de exposición a los depredadores se limitó a las horas que les llevara construirlo. Cada día en la mañana, las orugas del tratamiento “expuesto” eran sacadas de su refugio y expuestas ante los depredadores durante la construcción de uno nuevo; al cabo de tres horas se realizaba un monitoreo para registrar los eventos de depredación. Al término de los tres días, todas las orugas que sobrevivieron fueron colectadas y se llevaron al laboratorio, donde se alimentaron con una dieta uniforme hasta el momento de pupar.

El destino de las orugas se clasificó en cuatro categorías: **Polillas**, que se refiere a las orugas que sobrevivieron hasta pupar y emerger de manera exitosa. **Depredadas**, que son aquellas cuyo evento de depredación fue observado, o que dejaron alguna prueba del mismo, como seda o el refugio a medio construir. **Desaparecidas**: que son aquellas que se perdieron y no dejaron pruebas de haber sido depredadas, por lo que pudieron haber caído de la planta. Y por último, las **muertas** son aquellas cuyo cadáver fue encontrado completo y por lo tanto es poco probable que su muerte se deba a un evento de depredación. Para comparar el destino de las orugas entre tratamientos, todas las larvas que no puparon exitosamente se agruparon en una sola categoría y la comparación se realizó con una prueba de χ^2 . Todas las bajas registradas en el tratamiento “expuesto” sucedieron en los periodos en que las orugas estaban fuera del refugio.

b) *Orugas artificiales.* Se realizó un experimento con tres repeticiones, una por mes en julio, agosto y octubre de 2008. Se colectaron hojas maduras, frescas y secas, con las que se construyeron refugios artificiales, imitando la forma de los naturales. En julio y agosto se utilizó hilo para construirlos, mientras que en octubre se utilizó pegamento de contacto líquido transparente. Dentro de cada refugio se colocó una oruga de plastilina en la posición en que normalmente se encuentran en el campo, dentro de una cápsula, que también fue cosida o pegada, según el mes.

Se colocaron 40 pares de orugas en plantas distribuidas de manera uniforme dentro de un parche. Una oruga de cada par estuvo expuesta en el haz de una hoja, cerca del peciolo, que es un punto donde pasan gran parte del tiempo cuando construyen refugios, mientras que la otra se colocó dentro del refugio artificial, amarrado a la planta. Las orugas se dejaron en el campo por un periodo de tres días, al cabo del cual se colectaron y se registraron como depredadas (las que presentaban mordidas o piquetes) y no depredadas (que no mostraban evidencia de haber sido atacadas). Mediante este procedimiento se subestiman los eventos de detección por parte de los depredadores, porque algunos de ellos pueden detectar a la presa, pero no la atacan a menos de que haya un segundo estímulo, como el movimiento (Macías y Drummond 1990), del que carecen las orugas artificiales.

3. Costos fisiológicos de la construcción de refugios. Para determinar si las orugas pierden peso debido al gasto en seda asociado a la construcción de refugios, se pesaron 26 orugas antes de construir un refugio, después de haberlo hecho y al día siguiente. Las orugas se pesaron a las 10:30 am, a las 6:30 pm y por último, a las 10:30 am del siguiente día. Los refugios fueron contruidos entre las 12:00 y las 4:00 pm. Las diferencias en peso fueron comparadas con una prueba de t pareada.

Para estimar los costos fisiológicos de la construcción de refugios se realizó un experimento en el que 60 orugas fueron forzadas a construir el número de refugios correspondiente con uno de los siguientes tres tratamientos: “varios” (3 a 4 refugios) “uno” y “ninguno” éstos tratamientos fueron aplicados de manera continua hasta que las larvas puparon, se registró el peso de las pupas. En una prueba piloto se determinó que las condiciones de vida de las orugas asociadas a estos tratamientos, como la dieta, tienen una influencia importante en el peso de las pupas; por lo que todas las orugas se alimentaron con tejido fresco y se mantuvieron en cajas petri, de las que sólo salían para construir los refugios. Los datos se analizaron con un Manova, en el que se incluyó

al tiempo de desarrollo y al peso de las pupas como variables de respuesta y al sexo, al tratamiento de construcción y la interacción de éstos como variables independientes. Posteriormente se hicieron dos Anovas de dos vías, uno por cada variable de respuesta, en los que se incluyeron al sexo y al tratamiento de construcción como variables independientes.

4. Los refugios como mediadores de las presiones ecológicas ascendentes y descendentes. A lo largo de este trabajo se investigó cómo el hábito de construcción de refugios disminuye o aumenta el impacto de las presiones ecológicas que ejercen sobre *G. cynisca* la planta que le sirve de alimento y los depredadores que la consumen; utilizando tres variables: El tiempo de desarrollo de las larvas; el peso de las pupas, que tiene una fuerte relación con la adecuación, y la probabilidad de depredación, cuya relación con la adecuación es directa. Para determinar en qué medida los refugios alteran las presiones ascendentes y descendentes a las que están sometidas las orugas, se hizo una comparación de las tres variables descritas anteriormente en la situación dentro y fuera del refugio. Se utilizaron los datos de varios de los experimentos anteriores, como se especifica más adelante, porque es imposible obtener todos los datos a partir de la misma muestra de orugas. La magnitud de los efectos ascendentes y descendentes sobre el peso de las pupas (*PP*), el tiempo de desarrollo (*TD*) y la probabilidad de depredación (*PD*) se determinó de acuerdo con Denno et al. (2003), comparando las tres variables dentro del refugio (*R*) y fuera del refugio (*F*) de la siguiente manera: $PP = \ln(\text{peso promedio de las pupas } F / \text{peso promedio de las pupas } R)$, $TD = \ln(\text{tiempo desarrollo promedio } F / \text{tiempo desarrollo promedio } R)$ y $PD = \ln(\% \text{ depredación } F / \% \text{ depredación } R)$. En el denominador se colocó la situación dentro del refugio (*R*) y en el numerador la situación fuera del refugio (*F*). Los promedios se obtuvieron de los experimentos 1d para el tiempo de desarrollo (orugas alimentadas con dieta fresca vs. dieta seca); 1e, para el peso de las pupas (orugas alimentadas con dieta atrincherada vs. no atrincherada) y 2a para el porcentaje de depredación (orugas expuestas vs. orugas dentro de un refugio). El signo de los efectos indica si de acuerdo con la variable medida, la conducta de construcción de refugios confiere un costo (-) o un beneficio (+). El efecto *PP* se multiplicó por (-1) para que tuviera un signo positivo, ya que se encontró que la dieta dentro del refugio confiere un beneficio. La significancia de cada efecto se obtuvo a partir del análisis original del experimento del que se obtuvieron los datos.

Resultados

1. Atrincheramiento y calidad alimenticia del follaje de *P. stipulaceum*

- a. *Contenido de agua en el follaje.* Como era de esperarse, las hojas secas tuvieron significativamente menos agua que las frescas ($F_{1,95,6} = 72.9, P < 0.0001$). El contenido de agua en las hojas secas fue en promedio, de $0.72 \pm \text{e.e. } 0.006$ g de agua por gramo de tejido ($n = 77$), mientras que en las hojas frescas fue de 0.78 ± 0.002 g de agua por gramo de tejido ($n = 79$, Fig. 2.3).

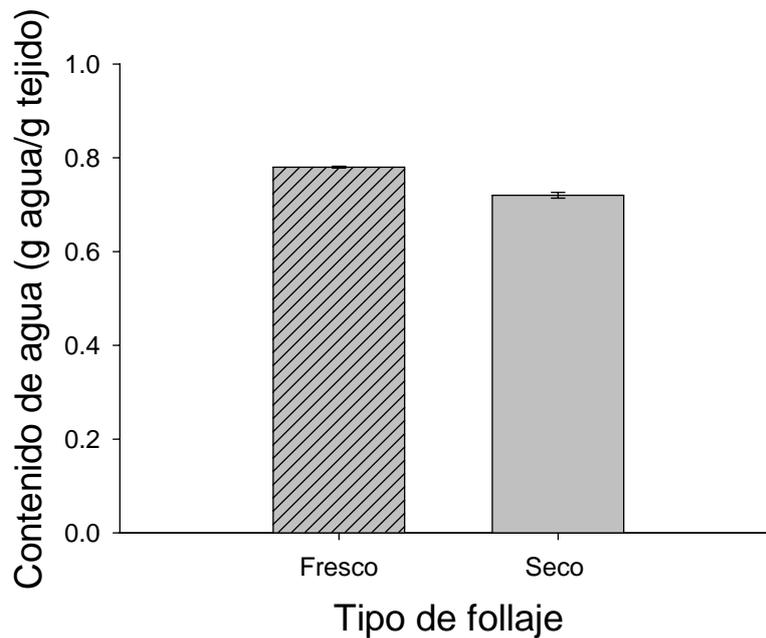


Figura 2.3. Contenido de agua en las hojas atrincheradas y no atrincheradas (promedio \pm e.e.).

- b. *Contenido de nitrógeno y fósforo en el follaje.* No se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de nitrógeno y fósforo en el follaje (Nitrógeno: $\chi_1^2 = 0.86, P = 0.35$; Fósforo: $\chi_1^2 = 1.7, P = 0.19, n = 50$). Los niveles encontrados de estos nutrientes fueron de 15 y 0.015 % respectivamente (Fig. 2.4).

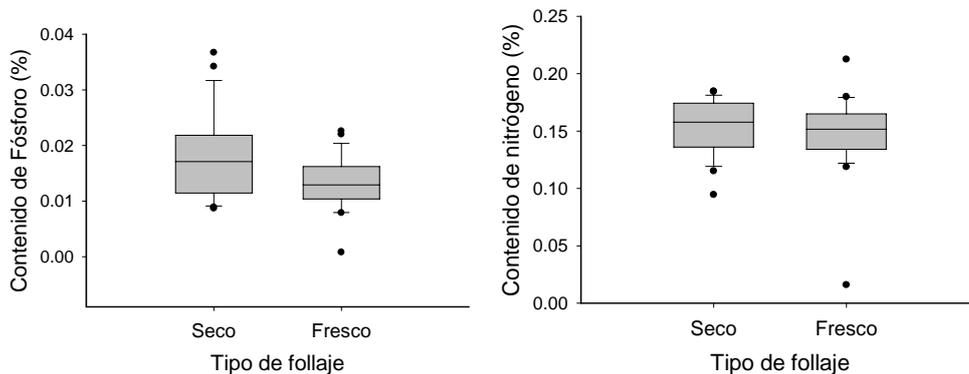


Figura 2.4. Contenido de fósforo y nitrógeno en el follaje fresco y seco (la línea horizontal corresponde a la mediana, la caja al intervalo entre el 25 y el 75 % y los bigotes al intervalo entre el 10 y el 90 %).

- c. *Aceptabilidad.* Como se muestra en la figura 2.5, las orugas no mostraron una preferencia por el consumo del tejido fresco o seco, independientemente de que las hojas fueran jóvenes ($t_{28} = 1.36$, $P = 0.185$, $n = 29$) o maduras ($t_{43} = 0.34$, $P = 0.736$, $n = 44$).

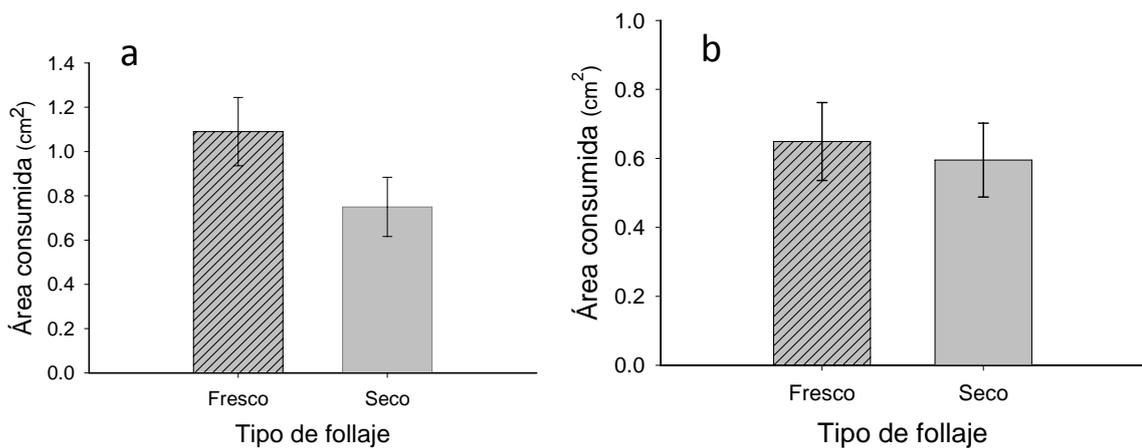


Figura 2.5. Área consumida en los experimentos de aceptabilidad empleando a) hojas jóvenes y b) hojas maduras (promedio \pm e.e.).

- d. *Desempeño de las larvas alimentadas con dieta fresca y seca.* El Manova (Wilks' $\lambda = 0.31$, $F_{9,75.6} = 5.2$, $P = 0.0001$) reveló efectos significativos de la dieta ($F_{3,31} = 0.59$, $P = 0.0022$, $n = 37$) y el sexo ($F_{3,31} = 0.93$, $P = 0.0001$), pero no de su interacción ($F_{3,31} = 0.07$, $P = 0.52$) sobre el modelo. Los análisis de covarianza individuales indicaron que el tipo de dieta (fresca vs. seca) tuvo un efecto significativo sobre el tiempo de desarrollo, ya que las larvas alimentadas con follaje fresco puparon dos días antes que las que se alimentaron de follaje seco (Fig. 2.6a, Tabla 2.1). De la misma manera, el tipo de dieta tuvo un efecto significativo sobre el peso

después de 10 días de tratamiento ya que las larvas alimentadas con follaje fresco pesaron casi el doble que las larvas alimentadas con follaje seco (Fig. 2.6b, Tabla 2.1). En contraste, el peso de las pupas no se vio afectado por el tipo de dieta ($F_{3,33} = 6.04$, $P = 0.0021$, $n = 37$; Fig. 2.6c, Tabla 2.1).

El sexo tuvo un efecto en el tiempo de desarrollo y el peso de las pupas, ya que las hembras son más pesadas que los machos y tienen una etapa larvaria más larga; sin embargo, este efecto fue independiente del tratamiento (Tabla 2.1).

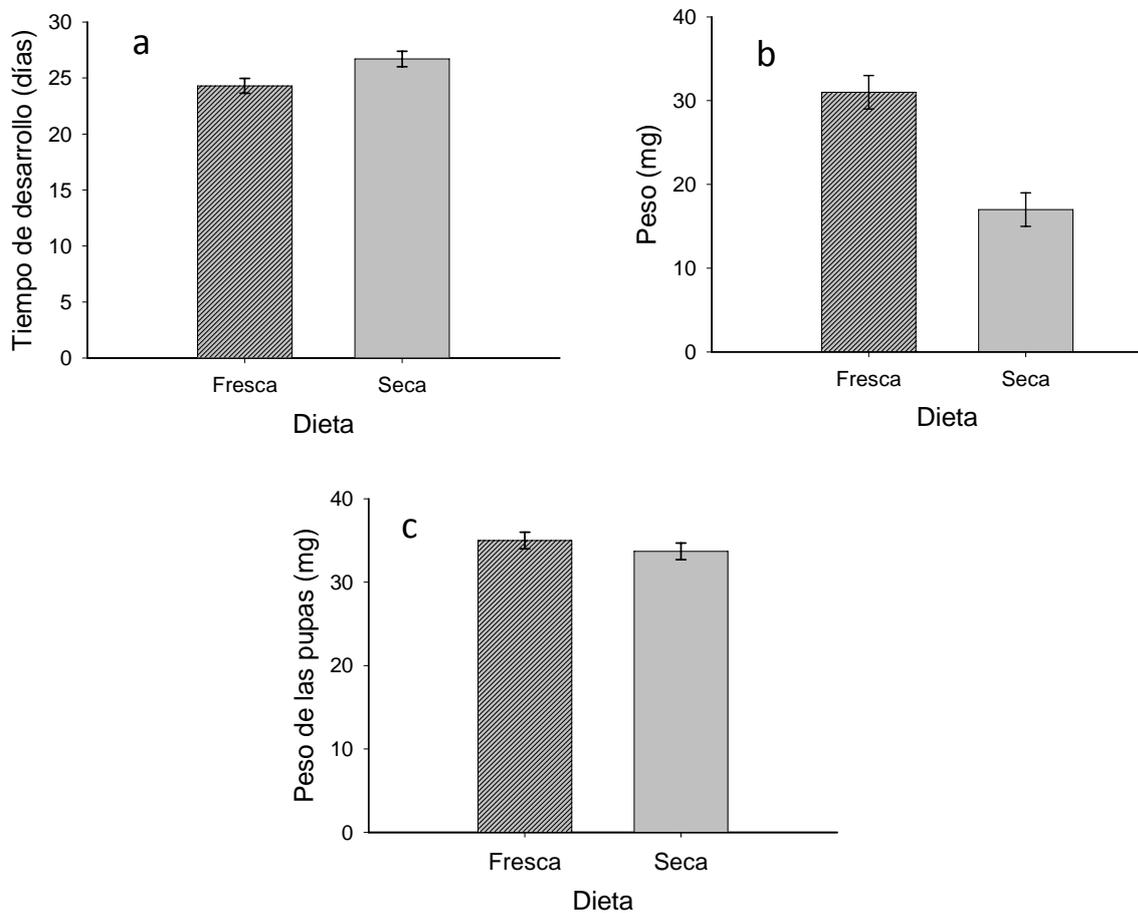


Figura 2.6. Efecto del tipo de dieta (fresca vs. seca) en a) el tiempo de desarrollo, b) el peso de las larvas después de 10 días de tratamiento y c) el peso de las pupas ($n = 37$; promedio \pm e.e.).

Tabla 2.1. Anova de dos vías del efecto del tratamiento (dieta fresca vs. seca) y el sexo sobre 1) el peso 1 de las larvas, 2) el peso de las pupas y 3) el tiempo de desarrollo.

1) Efecto del tratamiento en el peso 1 de las larvas

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	F	p
Dieta	1	0.0015	18.438	< 0.001
Sexo	1	5.1×10^{-5}	0.632	0.43
Dieta × Sexo	1	4×10^{-7}	0.005	0.94

2) Efecto del tratamiento en el peso de las pupas

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	F	p
Dieta	1	5.31×10^{-8}	0.002	0.96
Sexo	1	0.0004	17.18	< 0.001
Dieta × Sexo	1	5.31×10^{-6}	0.229	0.63

3) Efecto del tratamiento en el tiempo de desarrollo

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	F	p
Dieta	1	58.642	10.434	0.002
Sexo	1	89.040	15.843	< 0.001
Dieta × Sexo	1	3.841	0.683	0.41

e. *Desempeño de las larvas alimentadas con dieta atrincherada vs. no atrincherada.* El Manova reveló efectos significativos de la dieta ($F_{3,36} = 0.37$, $P = 0.0092$) y el sexo ($F_{3,36} = 1.06$, $P < 0.0001$), pero no de su interacción ($F_{3,36} = 0.02$, $P = 0.8441$, $n = 42$). Cuando se analizaron los efectos por separado por medio de análisis de covarianza, la dieta no explicó de manera significativa la variación en el incremento en peso de las larvas ($F_{2,39} = 0.92$, $P = 0.41$, $n = 42$, Fig. 2.7a) ni en el tiempo de desarrollo de las mismas ($F_{2,39} = 0.62$, $P = 0.54$, $n = 42$, Fig. 2.7b). Sin embargo, el tipo de dieta sí tuvo un efecto significativo sobre el peso de las pupas (Tabla 2.2), siendo las larvas alimentadas con tejido atrincherado 3 mg más pesadas que las alimentadas con tejido no atrincherado (Fig. 2.7c). Al igual que en el experimento anterior, el sexo tuvo un efecto importante, sin embargo la interacción entre éste y el tratamiento no fue significativa (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Anova de dos vías del efecto de la dieta (hojas atrincheradas vs. no atrincheradas) sobre el peso de las pupas.

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	F	P
Dieta	1	0.00023	12.850	< 0.001
Sexo	1	0.00071	39.197	< 0.0001
Dieta × Sexo	1	0.00001	0.622	0.440

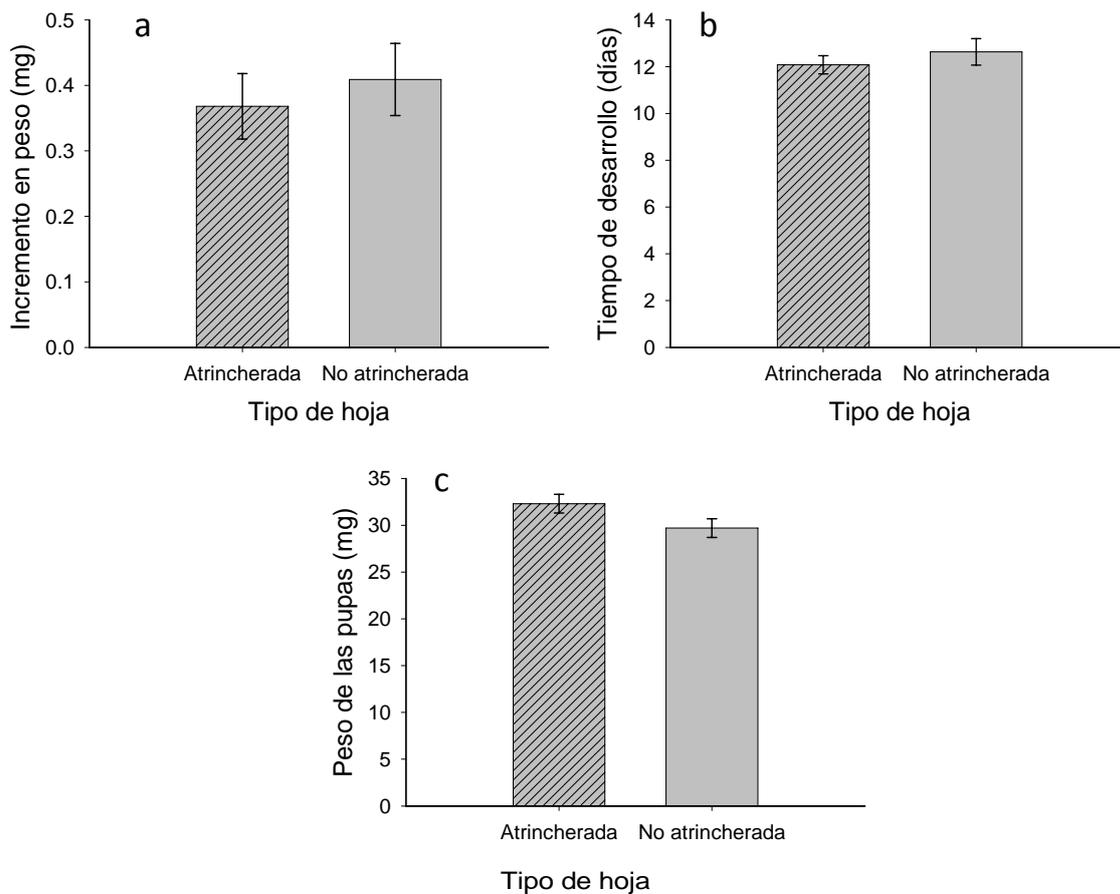


Figura 2.7. Efecto del tipo de dieta (atrincherada vs no atrincherada) sobre a) el incremento en peso después de 4 días de tratamiento, b) el peso de las pupas y c) el tiempo de desarrollo (promedio \pm e.e.).

2. Papel de los refugios como defensa

- a. *Orugas vivas*. En la tabla 2.3 se muestra el destino de las orugas sometidas al experimento de depredación de acuerdo con su tratamiento, no se registró ningún evento de parasitoidismo. La proporción de larvas que no sobrevivieron fue significativamente mayor en el grupo de las expuestas que en el de las que se encontraban dentro del refugio ($\chi^2 = 12.41$, $P = 0.0004$; Fig.

2.8). La única oruga que fue depredada dentro del refugio fue consumida por una larva de coleóptero.

Tabla 2.3. Destino de las orugas sometidas al experimento de depredación.

Tratamiento	Supervivientes	Depredadas	Desaparecidas	Parasitadas	Muertas	Total
Refugio	35	1	3	0	0	39
Expuestas	21	11	5	0	2	39

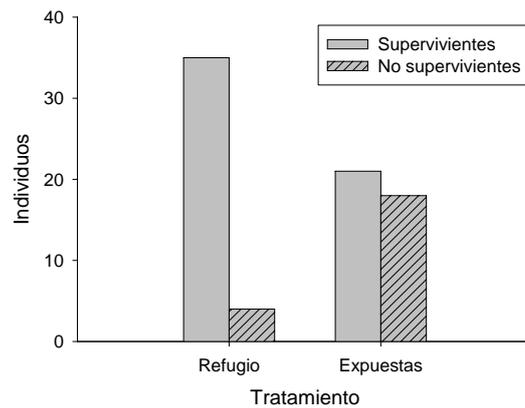


Figura 2.8 Orugas supervivientes (emergieron exitosamente como polillas), vs orugas no supervivientes (murieron, fueron depredadas o desaparecieron) $n = 78$.

b. *Orugas artificiales.* En los experimentos de julio y agosto tanto las orugas en refugio como las expuestas fueron atacadas con la misma intensidad (Julio: $\chi^2_{\text{Pearson}} = 0.704$; $P = 0.401$; 1 gl; Agosto: $\chi^2_{\text{Pearson}} = 2.621$; $P = 0.105$; 1 gl; Fig. 2.9) mientras que en octubre las orugas expuestas fueron más atacadas que las cubiertas ($\chi^2_{\text{Pearson}} = 8.66$; $P = 0.003$; 1 gl; Fig. 2.9).

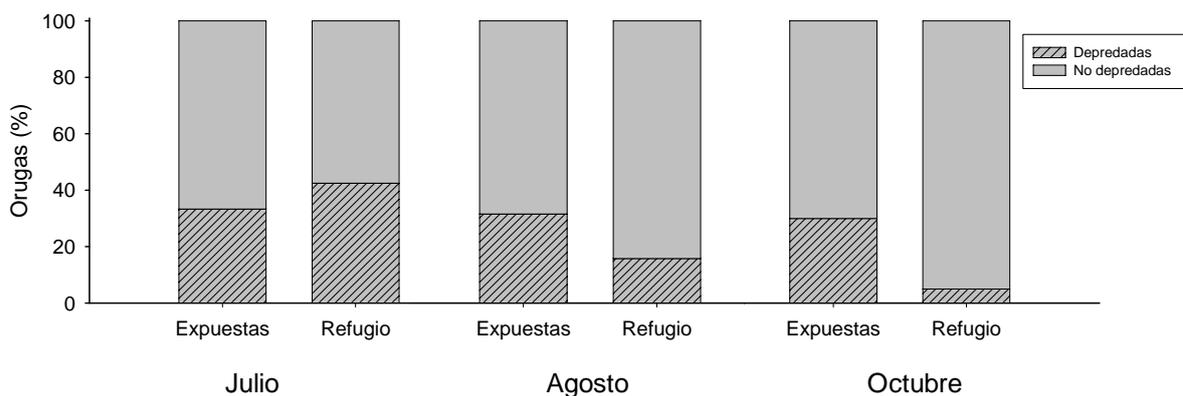


Figura 2.9. Destino de las orugas de plastilina en julio, agosto y octubre. La sección lisa de las barras representa el porcentaje de orugas de plastilina encontradas intactas, mientras que la sección rayada a las que fueron depredadas; $n = 40$ cada mes.

3. Costos fisiológicos de la construcción de refugios

Las orugas no perdieron ni ganaron peso durante la construcción de un refugio ($t_{24} = 1.023$; $P = 0.317$; Fig. 2.10), pero su peso sí se incrementó al día siguiente a este proceso ($t = 7.11$; 25 gl; $n = 26$; $P < 0.0001$; Fig. 2.10).

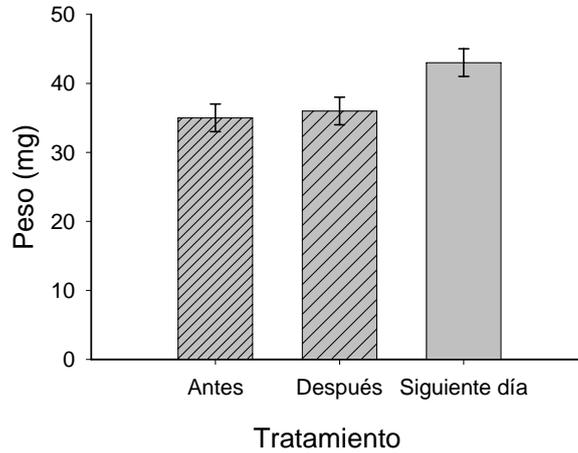


Figura 2.10. Peso de las larvas antes, después y al día siguiente de la construcción de un refugio $n = 26$ (promedio \pm e.e.).

De acuerdo con el Manova (Wilks' $\lambda = 0.43$, $F_{10,136} = 7.14$, $P = 0.0001$), se encontró un efecto del sexo ($F_{2,68} = 1.06$, $P < 0.0001$) pero no del tratamiento de construcción ($F_{2,68} = 0.09$, $P = 0.214$) ni de la interacción de éste con el sexo ($F_{2,68} = 0.027$, $P = 0.76$) en el modelo. Los análisis individuales mostraron que el tratamiento de construcción de refugios (varios, ninguno, uno) no tuvo un efecto significativo sobre el peso de las pupas (Tabla 2.4, Fig. 2.11 a), ni sobre el tiempo de desarrollo de las larvas (Tabla 2.4, Fig. 2.11.). El sexo fue la única variable del modelo que explicó la variación encontrada (Tabla 2.4) ya que el peso de las pupas así como el tiempo de desarrollo de los machos es menor al de las hembras.

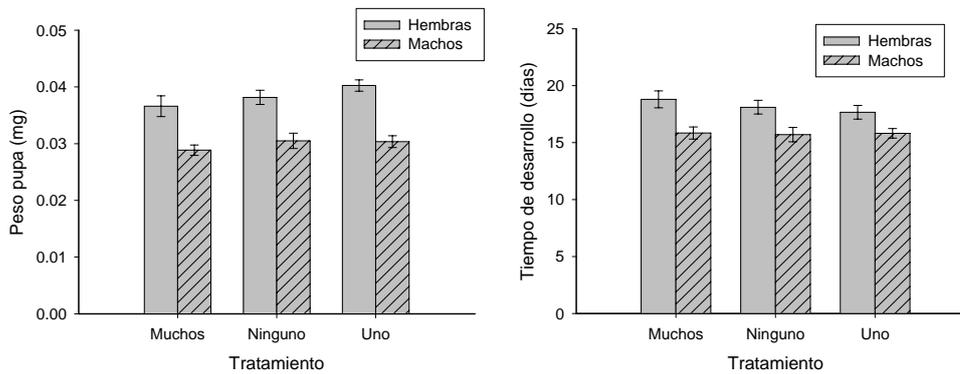


Figura 2.11. Efecto del tratamiento de intensidad de construcción de refugios (varios, uno, ninguno) sobre a) el peso de las pupas y b) el tiempo de desarrollo de las larvas (promedio \pm e.e.).

Tabla 2.4. Efecto del tratamiento de construcción (varios, uno, ninguno) sobre 1) el peso de las pupas y 2) el tiempo de desarrollo de las larvas.

1) Efecto del tratamiento de construcción sobre el peso de las pupas

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	<i>F</i>	<i>p</i>
Tratamiento	2	0.000076	2.042	0.138
Sexo	1	0.00127	66.06	< 0.0001
Tratamiento \times Sexo	2	0.000015	0.387	0.680

2) Efecto del tratamiento de construcción en el tiempo de desarrollo

Fuente de variación	Gl	Suma de cuadrados	<i>F</i>	<i>p</i>
Tratamiento	2	2.926	0.35	0.706
Sexo	1	97.79	23.394	< 0.0001
Tratamiento \times Sexo	2	2.8597	0.3421	0.712

4. Los refugios como mediadores de las presiones ecológicas ascendentes y descendentes

En la figura 2.12 se presentan las magnitudes de los efectos del hábito de construcción de refugios de *G. cynisca* sobre el tiempo de desarrollo, el peso de las pupas y la probabilidad de depredación. Los efectos se calcularon a partir de individuos diferentes sometidos a distintos experimentos. El efecto más grande fue positivo y se refiere a la probabilidad de depredación (*PD*). Considerando la calidad del alimento, los refugios tuvieron un efecto negativo sobre el tiempo de desarrollo (*TD*) y positivo sobre el peso de las pupas (*PP*).

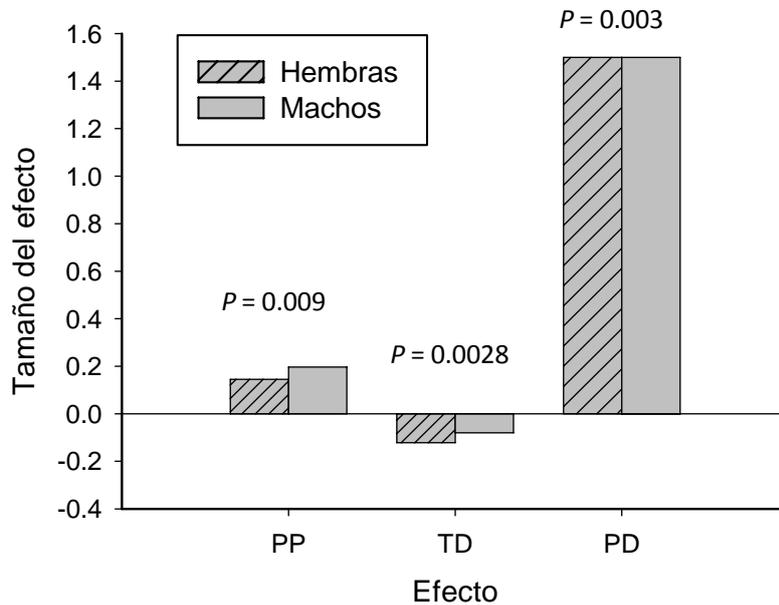


Figura 2.12. Tamaño del efecto del hábito de construcción de refugios sobre el peso de las pupas (PP), el tiempo de desarrollo (TD) y la probabilidad de depredación (PD). Los niveles de significancia se muestran sobre las barras y se obtuvieron a partir de los análisis de los experimentos 1e para PP, 1d para TD y 2a para PD. El signo de los efectos indica si la conducta de construcción de refugios confiere un costo (-) o un beneficio (+). En el experimento de depredación no se consideró el sexo de las orugas, ya que fue imposible determinarlo, por eso se asignó el mismo valor del efecto PD a hembras y machos.

Discusión

Este estudio muestra que los refugios atrincherados que construyen las orugas de *G. cynisca* son un mecanismo que les permite lidiar simultáneamente con las presiones ecológicas ascendentes y descendentes a las que están sometidas. Por un lado, los refugios atenúan las presiones descendentes al disminuir la probabilidad de depredación de las larvas y por otro, las trincheras interfieren con las presiones ascendentes ya que disminuyen el efecto de los mecanismos de defensa de su planta hospedera. El atrincheramiento tuvo dos efectos principales; por un lado, mejoró la calidad del tejido foliar, ya que las pupas de las orugas alimentadas con tejido atrincherado alcanzaron un mayor peso que las que se alimentaron de tejido no atrincherado y por otro, provocó la pérdida de agua en el tejido, que tuvo como consecuencia un incremento en el tiempo de desarrollo de las larvas. No se encontraron costos asociados a la construcción de refugios por medio de los experimentos diseñados para este fin, pero no se descarta que existan.

El atrincheramiento provocó alteraciones en la calidad alimenticia del follaje de *P. stipulaceum* por medio de dos mecanismos diferentes. Por un lado, provoca la desecación del tejido foliar; y ésta podría ser la causa de que las orugas que se alimentaron con tejido seco

tardaran más tiempo en desarrollarse. Kursar et al. (2006) demostraron que el tiempo de desarrollo de 39 morfoespecies de orugas que se alimentan de *Inga* sp. (Fabaceae) se correlaciona con el contenido de agua en las hojas que ingieren, pero no con el de nitrógeno. Por otro lado, los resultados indican que el atrincheramiento confiere algún beneficio nutricional porque las pupas de las orugas alimentadas con hojas atrincheradas alcanzaron un peso mayor que el de las que se alimentaron con hojas no atrincheradas. Sin embargo, con este estudio no es posible determinar la causa de este patrón, ya que no se encontraron diferencias en el contenido de nutrientes entre el follaje seco y el fresco. Existen al menos dos posibilidades, la primera es que el atrincheramiento evite la exportación de nutrientes de la hoja al resto de la planta, maximizando así la ingestión de nitrógeno por las orugas. La segunda es que el atrincheramiento minimice la importación de metabolitos secundarios en las hojas, que son inducidos en el momento en que la planta detecta que está siendo consumida; en este caso lo más probable es que se trate de alcaloides, ya que su producción ha sido reportada en otras especies de éste género (Dodson et al. 2000). Para determinar si la función principal del atrincheramiento es interrumpir la importación de defensas o la exportación de nutrientes sería necesario hacer comparaciones del contenido de nutrientes y alcaloides en el follaje atrincherado y no atrincherado, sometido al daño por herbívoros. La función del atrincheramiento como mecanismo de sabotaje de defensas ha sido ampliamente estudiada (Dussourd y Denno 1991, 1994, Clarke y Zaluki 2000, Chambers et al. 2007), pero su papel al impedir la exportación de nutrientes de las hojas no se había considerado.

El tiempo de desarrollo de las orugas alimentadas con dieta atrincherada no se incrementó, pero sí el de las alimentadas con dieta seca. Probablemente esto se debe a que por razones logísticas las orugas del experimento que involucra dieta atrincherada y no atrincherada estuvieron sometidas al tratamiento durante sólo cuatro días, mientras que las orugas que se alimentaron de dieta fresca o seca se sujetaron al tratamiento respectivo durante toda la etapa larvaria. En este sentido también es importante señalar que se observaron diferencias significativas en el peso de las pupas de orugas sometidas a dieta atrincherada vs. no atrincherada, a pesar de que el periodo de tratamiento fue de sólo cuatro días, probablemente gracias a que el tratamiento se aplicó durante el periodo ontogenético en que las larvas consumen más follaje. Estos resultados son similares a los de Chambers et al. (2007), que también encontraron que las larvas de *Trichoplusia ni* (Noctuidae) alimentadas con tejido atrincherado de *Pastinaca sativa*

(Umbelliferae) tuvieron un mayor peso que las alimentadas con tejido no atrincherado. No se encontraron otros reportes sobre el efecto de las trincheras en la duración del desarrollo.

El ataque de los enemigos naturales ejerce una presión sobre la duración del desarrollo larval, ya que mientras menor sea su duración, menor será también el periodo de exposición a los depredadores (Lindroth y Bloomer 1991; Benrey y Denno 1997). Por esto, se esperaría que las orugas prefirieran el consumo de tejido fresco, que minimiza el tiempo de desarrollo. Esa preferencia no se encontró en este estudio, probablemente porque los refugios representan una mejor opción para escapar de los enemigos naturales que el escape en el tiempo. La elección de las plantas hospederas puede estar influida por factores como la competencia, el parasitismo y la disponibilidad de las plantas (Dicke 2000; Lill et al. 2002; Kursar et al. 2006), de esta manera, los herbívoros pueden preferir el consumo de hojas de peor calidad nutricional porque les confieren protección ante los depredadores (Singer et al. 2004).

Al igual que en *Omphalocera munroei* (Pyrilidae; Damman 1987) y *Polyhymno* sp. (Gelechiidae; Eubanks et al. 1997), los refugios sí brindaron una protección efectiva ante los depredadores, ya que la supervivencia de las orugas fue mayor dentro que fuera de ellos. Ninguna de las orugas del experimento de depredación fue parasitada. Es posible que esto se deba a que el experimento de depredación se realizó en septiembre, cuando los parasitoides eran menos abundantes, o a que las avispas no atacan a las larvas de los estadios constructores. Se sabe que los parasitoides pueden preferir atacar orugas pequeñas porque las grandes son capaces de defenderse y mutilarlos o incluso matarlos (Reavey 1993).

Las orugas artificiales fueron atacadas de la misma manera dentro que fuera de los refugios cuando éstos se construyeron con hilo. En contraste, cuando los refugios fueron contruidos con pegamento, las orugas dentro de los refugios fueron menos atacadas. El hilo es un mal material de construcción porque las puntadas dejan huecos por los que caben los depredadores, a diferencia de la seda, que no daña la hoja y sella todo el contorno de la cápsula. Las diferencias en la depredación de las orugas de plastilina en los dos tipos de refugio podrían indicar la importancia de la cápsula, ya que una cápsula bien sellada brinda protección eficaz en contra de los depredadores. Sin embargo, es importante considerar que el pegamento podría emitir señales químicas que alejen a los depredadores, por lo que no es posible asegurar que la mayor eficacia de las cápsulas contruidas con pegamento se debe a que están mejor selladas.

Entre los costos fisiológicos que se han atribuido a la construcción de refugios están la disminución en la tasa de crecimiento y el incremento en la duración del desarrollo, ya que durante el proceso de construcción los organismos no se alimentan (Damman 1987; Hunter y Willmer 1989). Sin embargo, en este estudio no se encontraron dichos costos. Las orugas no bajaron de peso durante la construcción, probablemente porque durante este proceso sí ingieren un poco de tejido foliar, al cortar el peciolo y al morder la base de la hoja. Existen otros estudios que tampoco han encontrado costos fisiológicos en la construcción de refugios por orugas. En un experimento muy similar con *Psilocorsis quericella* (Oecophoridae) Lill et al. (2007) encontraron que las orugas sometidas al tratamiento de mayor construcción tuvieron menor supervivencia, pero el peso de las pupas de las supervivientes no se afectó. De la misma manera, Loeffler (1996) encontró que el tratamiento de construcción no afectó la tasa de crecimiento, pero sí la supervivencia de las larvas de *Dichomeris leucontella* (Gelechiidae). En el caso de *G. cynisca* la supervivencia de las larvas no se vio afectada. Sin embargo, estos experimentos no necesariamente indican que los costos no existen, porque tal vez la manera de medirlos no fue adecuada. Probablemente la asignación de recursos a la producción de seda es fija y por eso no se encontraron diferencias en el peso ni en el tiempo de desarrollo de las orugas sometidas a los distintos tratamientos. De esta manera, la comparación tendría que ser entre el éxito reproductivo y la supervivencia de especies o grupos de especies con diferentes patrones de asignación de recursos.

El análisis del papel de los refugios como mediadores de los efectos ascendentes y descendentes reveló que aunque brindan beneficios al mitigar ambos tipos de fuerzas, el efecto más importante de los refugios fue sobre la depredación. Este análisis reveló también un efecto negativo de los refugios sobre el tiempo de desarrollo. El incremento en la duración del periodo de desarrollo puede considerarse un costo cuando se relaciona con una mayor probabilidad de depredación, pero en este caso las orugas están protegidas, por lo que a pesar de ser un efecto negativo de la construcción de refugios, su papel como costo no está claro. Dado que el mayor beneficio que obtienen las larvas de *G. cynisca* de la construcción de refugios atrincherados está relacionado con la depredación, es probable que este comportamiento esté moldeado en mayor medida por las presiones descendentes.

Discusión general y conclusiones

Las consecuencias del hábito de construcción de refugios en *G. cynisca* cambian a través del tiempo. En la figura 3.1 se muestra de manera gráfica el cambio de la calidad del alimento y la vulnerabilidad ante los depredadores durante el periodo de construcción y ocupación de los refugios. Esta gráfica se construyó con base en las observaciones de historia natural y en los resultados de los experimentos de la segunda sección de este trabajo.

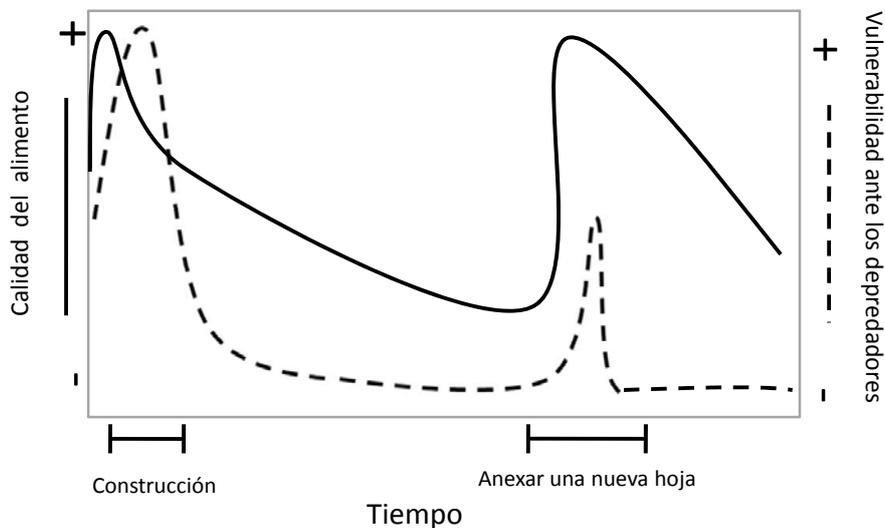


Figura 3.1. Patrón de variación temporal en la calidad del alimento y la vulnerabilidad ante los depredadores durante el periodo de construcción y ocupación de los refugios de las orugas.

La gráfica comienza en un punto en el que la calidad del alimento es baja porque las orugas vienen de una puesta y las hojas que forman las puestas muestran signos de exportación de nutrientes, por lo que es razonable suponer que tienen una calidad alimenticia menor a la de las hojas intactas. Los refugios frescos ofrecen el alimento de mayor calidad porque brindan los beneficios del atrincheramiento (mayor cantidad de nutrientes y/o menor cantidad de metabolitos secundarios) conservando un alto contenido de agua. Después la calidad de la hoja disminuye conforme pasan los días porque va perdiendo agua. Posteriormente, si las orugas anexan otra hoja atrincherada, la calidad del alimento vuelve a subir al punto máximo.

En cuanto a la protección ante los depredadores, al inicio las orugas provienen de un sitio protegido (la puesta) y durante el proceso de construcción alcanzan el punto de exposición

máximo. Posteriormente, cuando el refugio está terminado, la vulnerabilidad baja al mínimo y ahí se mantiene hasta que la oruga tiene que abandonar su refugio momentáneamente para anexar una nueva hoja. El incremento en la vulnerabilidad dependerá del tiempo que pase fuera del refugio, pero es menor al de la construcción de uno nuevo, porque el atrincheramiento y la unión con seda de la nueva hoja son actividades más sencillas y menos tardadas que la construcción de un refugio completo.

Desde el punto de vista ontogenético es más difícil hacer aseveraciones, ya que no se realizaron experimentos con las orugas pequeñas; sin embargo, las observaciones de historia natural sugieren que los estadios de cabeza negra son los más vulnerables a la depredación ya que las puestas y los refugios abandonados parecen ser menos efectivos que los refugios individuales porque carecen de cápsula. Además es muy probable que los estadios más grandes no sean atacados por parasitoides porque en el experimento de depredación ninguna oruga fue parasitada, además de que en las observaciones de historia natural no se registraron orugas de los últimos dos estadios de cabeza rojiza con parasitoidismo, por lo que lo más probable es que la infección se dé en una etapa anterior, muy posiblemente en la de cabeza negra, cuando las larvas tienen menos posibilidades de defenderse. En cuanto a las presiones ascendentes, los primeros estadios también son los más vulnerables, ya que se alimentan de follaje de peor calidad y se enfrentan con el riesgo de caer de la planta por la abscisión de la hoja que habitan. Probablemente es resultado de estas presiones que la etapa larvaria de cabeza negra dure alrededor de siete días, mientras que la etapa de cabeza rojiza dura alrededor de 20 días.

A partir de este estudio no es claro cuál es el papel de los parasitoides como depredadores de *G. cynisca*, ya que la presencia de la especie desconocida impidió determinar con seguridad la tasa de parasitoidismo, además, es posible que las orugas encapsulen a los parasitoides dentro de su cuerpo y continúen desarrollándose (Bukobinszky et al. 2009), por lo que algunos eventos de depredación pasarían desapercibidos. A pesar de esto, las observaciones de historia natural y el experimento de depredación indican que los parasitoides atacan a las larvas antes de la construcción del refugio y aprovechan la protección que éste les brinda, ya que lo ocupan hasta el momento de emerger.

Este trabajo demuestra que los refugios de *G. cynisca* brindan protección ante los depredadores, con la consecuencia negativa de incrementar el tiempo de desarrollo. Parece claro que proveen un beneficio nutricional al interrumpir el flujo de sustancias entre la hoja y la planta,

y no se encontraron costos fisiológicos asociados a la construcción. No se descarta que los refugios puedan conservar la humedad, sin embargo su función como mejoradores del microclima no fue evaluada. En conclusión, los refugios parecen ser una buena estrategia para lidiar con las presiones ascendentes que enfrenta *G. cynisca*, sin embargo su principal función parece ser brindar protección ante los depredadores. Finalmente, es importante señalar que el estudio de la construcción de refugios y el atrincheramiento se ha estudiado desde el punto de vista ecológico y descriptivo, sin embargo hacen falta estudios formales sobre la evolución de estos comportamientos.

Referencias

- Agelopoulos, N. G., M. Dicke, y P. M. A. 1995. Role of volatile infochemicals emitted by feces of larvae in host-searching behavior of parasitoid *Cotesia rubecula* (hymenoptera: Braconidae): A behavioral and chemical study. *Journal of Chemical Ecology* 21:1789-1811.
- Agrawal, A. A. 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology* 80:1713-1323.
- Becerra, J. 1994. Squirt-gun defense in *Bursera* and the Chrysomelid Counterploy. *Ecology* 75:1991-1996.
- Benrey, B., y R. F. Denno. 1997. The slow-growth-high-mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. *Ecology* 78:987-999.
- Berenbaum, M. R., E. S. Green, y A. R. Zangerl. 1993. Web costs and web defense in the parsnip webworm (Lepidoptera: Oecophoridae). *Environmental Entomology* 22:791-795.
- Bergelson, J. M., y J. H. Lawton. 1988. Does foliage damage influence predation on the insect herbivores of birch? *Ecology* 69:434-445.
- Blundell, A. G., y D. R. Peart. 2000. High abscission rates of damaged expanding leaves: field evidence from seedlings of a bornean rain forest tree. *American Journal of Botany* 87:1693-1698.
- Boege, K. 2004. Induced responses in three tropical dry forest plant species: direct and indirect effects on herbivory. *Oikos* 107:541-548.
- Boege, K., y R. Dirzo. 2004. Intraspecific variation in growth, defense and herbivory in *Dialium guianense* (Caesalpinaceae) mediated by edaphic heterogeneity. *Plant Ecology* 175:59-69.
- Bowers, M. D. 1993. Aposematic caterpillars: life-styles of the warningly colored and unpalatable. Pp. 331-371 in N. E. Stamp, and T. M. Casey, eds. *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints and foraging*. Chapman and Hall, New York.
- Brattsten, L. B., C. F. Wilkinson, y T. Eisner. 1977. Herbivore-Plant Interactions: Mixed-Function Oxidases and Secondary Plant Substances. *Science* 196:1349-1352.
- Brower, L. P., W. N. Ryerson, L. L. Coppinger, y S. C. Glazier. 1968. Ecological chemistry and the palatability spectrum. *Science* 161:1349-1351.
- Campo, J., y R. Dirzo. 2003. Leaf quality and herbivory response to soil nutrient addition in secondary tropical dry forest of Yucatán, México. *Journal of Tropical Ecology* 19:525-530.
- Cappuccino, N. 1993. Mutual use of leaf-shelters by lepidopteran larvae on paper birch. *Ecological Entomology* 18:287-292.
- Carroll, M. R., y W. H. Kearby. 1978. Microlepidopterous oak leaf-tiers (Lepidoptera: Gelechiidae) in central Missouri. *Journal of the Kansas Entomological Society* 51:457-471.
- Carroll, M. R., M. T. Wooster, W. H. Kearby, y D. C. Allen. 1979. Biological observations on three oak leaf-tiers: *Psilocorsis quercicella*, *P. reflexella*, and *P. cryptolechiella* in Massachusetts and Missouri. *Annals of the Entomological Society of America* 72:441-447.
- Caveney, S., H. McLean, y D. Surry. 1998. Faecal firing in a skipper caterpillar is pressure-driven. *The Journal of Experimental Biology* 201:121-133.
- Clarke, A. R., y M. P. Zalucki. 2000. Foraging and vein-cutting behaviour of *Euploea core corinna* (W. S. Macleay) (Lepidoptera: Nymphalidae) caterpillars feeding on latex-bearing leaves. *Australian Journal of Entomology* 39:283-290.
- Coley, P. D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53:209-233.

- Coley, P. D., y J. A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27:305-335.
- Costa, A. A., y E. M. Varanda. 2002. Building of leaf shelters by *Stenoma scitiorella* Walker (Lepidoptera:Elaschistidae): Manipulation of host plant quality? *Neotropical Entomology* 31:537-540.
- Chambers, J. L. E., M. R. Berenbaum,yA. R. Zangerl. 2007. Benefits of trenching behavior in the context of an inducible defense. *Chemoecology* 17:125-130.
- Damman, H. 1987. Leaf quality and enemy avoidance by the larvae of a Pyralid moth. *Ecology* 68:88-97.
- Darling, D. C. 2003. Morphology and behaviour of the larva of *Calindoea trifascialis* (Lepidoptera:Thyrididae), a chemically-defended retreat-building caterpillar from Vietnam. *Zootaxa* 225:1-16.
- Darling, D. C. 2007. Holey aroids: circular trenching behavior by a leaf beetle in Vietnam. *Biotropica* 39:555-558.
- De la Cruz, M.,yR. Dirzo. 1987. A survey of the standing levels of herbivory in seedlings from a mexican rain forest. *Biotropica* 19:96-106.
- Denno, R. F., C. Gratton, H.Döbel,yD.L. Finke. 2003. Predation risk affects relative strength of top-downybottom-up impacts on insect herbivores. *Ecology* 84:1032-1044.
- DeVries, P. J. 1987. *The Butterflies of Costa Rica*. Princeton University Press, Princeton.
- Dicke, M. 2000. Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. *Biochemical Systematics and Ecology* 28:601-617.
- Dodson, C. D., L. A. Dyer, J. Searcy, Z. Wright,yK. Letourneau. 2000. Cenocladamide, a dihydropyridone alkaloid from *Piper cenocladum*. *Phytochemistry* 53:51-54.
- Dugatkin, L. A. 2004. *Principles of animal behavior*. W. W. Norton And company inc, New York.
- Dussourd, D. E. 1993. Foraging with finesse: Caterpillar adaptations for circumventing plant defenses. Pp. 92-131 *in* N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. *Caterpillars: Ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman & Halle, London.
- Dussourd, D. E. 1999. Behavioral sabotage of plant defense: do vein cuts and trenches reduce insect exposure to exudate? *Journal of Insect Behavior* 12.
- Dussourd, D. E., y R. F. Denno. 1991. Deactivation of plant defense: Correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. *Ecology* 72:1383-1396.
- Dussourd, D. E., y R. F. Denno. 1994. Host range of generalist caterpillars:trenching permits feeding on plants with secretory canals. *Ecology* 75:69-78.
- Dyer, L. A. 1997. Effectiveness of caterpillar defenses against three species of invertebrate predators. *Journal of research on the Lepidoptera* 34:48-68.
- Dyer, L. A., y G. Gentry. 1999. Predicting natural-enemy responses to herbivores in natural and managed systems. *Ecological Applications* 9:402-408.
- Eubanks, M. D., K. A. Nesci, M. K. Petersen, y Z. Liu. 1997. The exploitation of an ant-defended host plant by a shelter-building herbivore. *Oecologia* 109:454-460.
- Evans, P. H., J. X. Becerra, D. L. Venable, y W. S. Bowers. 2000. Chemical analysis of squirt-gun defense in *Bursera* and counterdefense by chrysomelid beetles. *Journal of Chemical Ecology* 26:745-754.
- Faeth, S. H., E. F. Connor, y D. Simberloff. 1981. Early leaf abscission: A neglected source of mortality for folivores. *The American Naturalist* 117:409-415.

- Fitzgerald, T. D. 1993. Sociality in caterpillars. Pp. 372-403 in N. E. Stamp, and T. M. Casey, eds. Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman and Hall, New York.
- Fitzgerald, T. D., y K. L. Clark. 1994. Analysis of leaf-rolling behavior of *Caloptillia serotinella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Journal of Insect Behavior* 7:859-872.
- Fitzgerald, T. D., K. L. Clark, R. Vanderpool, and C. Phillips. 1991. Leaf shelter-building caterpillars harness forces generated by axial retraction of stretched and wetted silk. *Journal of Insect Behavior* 4:21-32.
- Fordyce, J. A., C. C. Nice, y A. M. Shapiro. 2006. A novel trade-off of insect diapause affecting a sequestered chemical defense. *Plant Animal Interactions* 149:101-106.
- Fukui, A. 2001. Indirect interactions mediated by leaf shelters in animal- plant communities. *Population Ecology* 43:31-40.
- Fukui, A., M. Murakami, K. Konno, M. Nakamura, y T. Ohgushi. 2002. A Leaf-rolling Caterpillar Improves Leaf Quality. *Entomological Science* 5:263-266.
- García-Oliva, F., A. Camou, y J. M. Maass. 2002. El clima de la región central de la costa del pacífico mexicano. Pp. 3-10 in A. N. Nogüera Aldrete, J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete, y M. Quesada Avendaño, eds. *Historia natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM, Mexico City.
- Gaston, K. J., D. Reavey, y G. R. Valladares. 1991. Changes in feeding habit as caterpillars grow. *Ecological Entomology* 16:339-344.
- Gentry, G. L., y I. A. Dyer. 2002. On the conditional nature of neotropical caterpillar defenses against their natural enemies. *Ecology* 83:3108-3119.
- Grant, J. B. 2007. Ontogenetic colour change and the evolution of aposematism: a case study in panic moth caterpillars. *Journal of Animal Ecology* 76:439-447.
- Greeney, H., y M. T. Jones. 2003. Shelter building in the Hesperidae: A classification scheme for larval shelters. *Journal of Research on the Lepidoptera* 37:27-36.
- Gurevitch, J., S. M. Scheiner, y G. A. Fox. 2002. *The ecology of plants*. Sinauer associates, Sunderland.
- Hansell, M. H. 2005. *Animal architecture*. Oxford University, Oxford.
- Hawkins, B. A., H. V. Cornell, y M. E. Hochberg. 1997. Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology* 78:2145-2152.
- Heil, M., T. Koch, A. Hilpert, B. Fiala, W. Boland, y K. E. Linsenmair. 2001. Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:1083-1088.
- Heinrich, B. 1993. How avian predators constrain caterpillar foraging. Pp. 224-247 in N. E. Stamp, ed. *Caterpillars: Ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman & Hall, New York.
- Hochuli, D. F. 2001. Insect herbivory and ontogeny: How do growth and development influence feeding behaviour, morphology and host use? *Austral Ecology* 26:563-570.
- Hopkins, G. H., y J. Memmott. 2003. Seasonality of a tropical leaf-mining moth: leaf availability versus enemy-free space. *Ecological Entomology* 28:687-693.
- Huertas, D. M. 2006. Estados inmaduros de lepidoptera (xxv). *Endotricha flammealis* ((Denis & Schiffermüller), 1775) y el curioso refugio de la oruga (Lepidoptera:pyralidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología* 34:163-170.
- Hunter, M. D. 1987. Sound production in larvae of *Diurnea fagella* (Lepidoptera: Oecophoridae). *Ecological Entomology* 12:355-357.

- Hunter, M. D., y P. G. Willmer. 1989. The potential for interspecific competition between two abundant defoliators on oak: leaf damage and habitat quality. *Ecological Entomology* 14:267-277.
- Ide, J. Y. 2004. Leaf trenching by indian red admiral caterpillars for feeding and shelter construction. *Population Ecology* 46:275-280.
- Ide, J. Y. 2006. Inter- and intra-shoot distributions of the ramie moth caterpillar, *Arcte coerulea* (Lepidoptera: Noctuidae), in ramie shrubs. *Applied Entomology and Zoology* 41:49-55.
- Ishihara, M., y M. Shimada. 1995. Trade-Off in Allocation of Metabolic Reserves: Effects of Diapause on Egg Production and Adult Longevity in a Multivoltine Bruchid, *Kytorhinus sharpianus*. *Functional ecology* 9.
- Janzen, D. H. 1988. Ecological Characterization of a Costa Rican Dry Forest Caterpillar Fauna. *Biotropica* 20:120-135.
- Janzen, D. H. 1993. Caterpillar seasonality in a Costa Rican dry forest. Pp. 448-447 in N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. *Caterpillars Ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman & Hall, New York.
- Janzen, D. H., y I. D. Gauld. 1997. Patterns of use of large moth caterpillars (Lepidoptera: saturniidae and sphingidae) by ichneumonid parasitoids (Hymenoptera) in costa rican dry forest in A. D. Watt, N. E. Stork, and M. D. Hunter, eds. *Forests and insects*. Chapman & Hall, Cambridge.
- Karban, R., y I. T. Baldwin. 1997. *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Kursar, T. A., B. T. Wolfe, M. J. Epps, y P. D. Coley. 2006. Food quality, competition, and parasitism influence feeding preference in a neotropical lepidopteran. *Ecology* 87:3058-3069.
- Langenheim, J. H., C. A. Macedo, M. K. Ross, y W. H. Stubblebine. 1986. Leaf development in the tropical leguminous tree *Biochemical Systematics and Ecology* 14:51-59.
- Larsson, S., H. E. Haggstrom, y R. F. Denno. 1997. Preference for protected feeding sites by larvae of the willow-feeding leaf beetle *Galerucella lineola*. *Ecological Entomology* 22:445-452.
- Lill, J. T., y R. J. Marquis. 2001. The effects of leaf quality on herbivore performance and attack from natural enemies. *Oecologia* 126:418-428.
- Lill, J. T., y R. J. Marquis. 2004. Leaf ties as colonization sites for forest arthropods: an experimental study. *Ecological Entomology* 29:300-308.
- Lill, J. T., R. J. Marquis, y R. E. Ricklefs. 2002. Host plants influence parasitism of forest caterpillars. *Nature* 417.
- Lill, J. T., R. J. Marquis, M. A. Walker, y L. Peterson. 2007. Ecological consequences of shelter sharing by leaf-tying caterpillars. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124:45-53.
- Lill, T. L. 2001. Selection on herbivore life-history traits by the first and third trophic levels: the devil and the blue sea revisited. *Evolution* 55:2236-2247.
- Lind, E. M., M. T. Jones, J. D. Long, y M. R. Weiss. 2001. Ontogenetic changes in leaf shelter construction by larvae of *Epargyreus clarus* (Hesperiidae), the silver-spotted skipper. *Journal of the Lepidopterists' Society* 54:77-82.
- Lindroth, R. L., y M. S. Bloomer. 1991. Biochemical ecology of the forest tent caterpillar: responses to dietary protein and phenolic glycosides. *Oecologia* 86:408-413.
- Loader, C., y H. Damman. 1991. Nitrogen content of food plants and vulnerability of *Pieris rapae* to natural enemies. *Ecology* 72:1286-1290.
- Loeffler, C. C. 1996. Adaptive trade-offs of leaf folding in *Dichomeris* caterpillars on goldenrods. *Ecological Entomology* 21:34-40.

- Lott, E. J., y T. H. Atkinson. 2002. Biodiversidad y fitogeografía de Chamela-Cuixmala Jalisco in F. Nogüera, J. H. Vega Rivera, A. N. García Aldrete, y M. Quesada Avendaño, Lanner. R., eds. Historia natural de Chamela. Instituto de Biología UNAM, Mexico City.
- Lott, E. J., S. H. Bullock, y A. Solis- Magallanes. 1987. Floristic diversity and structure of upland and arroyo forests of coastal Jalisco. *Biotropica* 19:228-232.
- Macías, G. C., y H. Drummond. 1990. Population differences in fish-capturing ability of the mexican aquatic garter snake (*Thamnophis melanogaster*). *Journal of Herpetology* 24:412-416.
- MathWorks, T. 2007. MATLAB in I. The Math Works, ed. R2007a. The Math Works, Inc., Natick.
- Mattiacci, L., y M. Dicke. 1995. The parasitoid *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae) discriminates between first and fifth larval instars of its host *Pieris brassicae*, on the basis of contact cues from frass, silk, and herbivore-damaged leaf tissue. *Journal of Insect Behavior* 8:485-498.
- McClellan, Q. C., y J. A. Logan. 1994. Instar Determination for the Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Vased on the Frequency Distribution of Head Capsule Widths. *Environmental Entomology* 23:248 -253.
- McGregor, R. 1996. Phenotypic selection by parasitoids on the timing of life history in a leafmining moth. *Evolution* 50:1579-1584.
- McKey, D. B. 1979. The distribution of secondary compounds within plants. Pp. 55-133 in G. A. Rosenthal, y D. H. Janzen, eds. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York.
- Montllor, C. B., y E. A. Bernays. 1993. Invertebrate predators and caterpillar foraging. Pp. 170-202 in N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman and Hall, New York.
- Morath, S. U., P. D. Pratt, C. S. Silvers, y T. D. Center. 2006. Herbivory by *Boreioglycaspis melaleuca* (Hemiptera: Psyllidae) accelerates foliar senescence and abscission in the invasive tree *Melaleuca quinquenervia*. *Environmental Entomology* 35:1372-1378.
- Murakami, M. 1999. Effect of avian predation on survival of leaf rolling lepidopterous larvae. *Researches on Population Ecology* 41:135-138.
- Myers, J. H. 1981. Interactions between western tent caterpillars and wild rose: a test of some general plant herbivore hypotheses. *The Journal of Animal Ecology* 50:11-25.
- Noguera, F. A., R. J. H. Vega, y A. A. N. García. 2002. Introducción. Pp. XV-XXI in F. A. Noguera, R. J. H. Vega, A. A. N. García, y A. M. Quesada, eds. *Historia natural de Chamela*. Instituto de Biología, UNAM, México, D. F.
- Oliveira, M. N., y A. A. Mellender. 2008. Do caterpillars of *Dryas iulia alcionea* (Lepidoptera, Nymphalidae) show evidence of adaptive behaviour to avoid predation by ants? *Journal of Natural History* 42:129-137.
- Pescador- Rubio, A., A. Rodríguez- Palafox, y F. A. Noguera. 2002. Diversidad y estacionalidad de Arthropoda. Pp. 183-202 in F. A. Noguera, R. J. H. Vega, A. A. N. García, y A. M. Quesada, eds. *Historia Natural de chamela*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Powell, J. A. 2003. Lepidoptera (Moths, Butterflies). Pp. 1266 in V. H. Resh, y R. T. Cardé, eds. *Encyclopedia of Insects*. Elsevier Science, Orlando.
- Prudic, K. L., J. C. Oliver, y F. A. H. Sperling. 2007. The signal environment is more important than diet of chemical specialization in the evolution of warning coloration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:19381-19386.

- Reavey, D. 1993. Why body size matters to caterpillars. Pp. 248-282 in N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. Caterpillars. Ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman and Hall, London.
- Reichstein, T., J. von Euw, J. A. Parsons, y M. Rothschild. 1968. Heart poisons in the monarch butterfly. *Science* 161:861-866.
- Roff, D. A. 1992. The evolution of life histories: Theory and analysis. Chapman & Hall, New York.
- Rota, J., y D. L. Wagner. 2008. Wormholes, sensory nets and hypertrophied tactile setae: the extraordinary defence strategies of *Brenthia* caterpillars. *Animal Behaviour* 76:1709-1713.
- Sagers, C. L. 1992. Manipulation of host plant quality: Herbivores keep leaves in the dark. *Functional ecology* 6:741-743.
- SAS Institute. 2001. JMP. Version 4.0.4. Cary, North Carolina, USA.
- Scoble, M. J. 1992. The Lepidoptera. Oxford University Press, New York.
- Schoonhoven, L. M., J. J. A. van Loon, y M. Dicke. 2005. Insect-plant biology, New York.
- Singer, M. S., D. Rodrigues, J. O. Stireman, y Y. Carrière. 2004. Roles of food quality and enemy-free space in host use by a generalist insect herbivore. *Ecology* 85:2747-2753.
- Slanski, F. 1993. Nutritional Ecology: The fundamental quest for nutrients. Pp. 29-91 in N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. Caterpillars Ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman & Hall, New York.
- Speed, M. P., y G. D. Ruxton. 2005. Aposematism: what should our starting point be? *Proceedings of the Royal Society B* 272:431-438.
- SPSS. 1999. SigmaScan Pro 5.0 User's Guide. SPSS Science, Chicago.
- Stamp, N. E., y R. T. Wilkens. 1993. On the cryptic side of life: being unapparent to enemies and the consequences for foraging and growth of caterpillars. Pp. 224-247 in N. E. Stamp, ed. Caterpillars: Ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman & Hall, New York.
- StatSoft, Inc. 1995. STATISTICA for Windows (computer program manual). Tulsa, OK.
- Stehr, F. W. 1987. Immature insects. Kendall/ Hunt Publishing Company, Dubuque.
- Thaler, J. 1999. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature* 399:686-688.
- Weis, A. E., W. G. Abrahamson, y M. C. Andersen. 1992. Variable selection on Eurosta's gall size: I. The extent and nature of variation in phenotypic selection. *Evolution* 46:1674-1697.
- Weiss, M. R., E. M. Lind, M. T. Jones, J. D. Long, y M. J. L. 2003. Uniformity of leaf shelter construction by larvae of *Epargyreus clarus* (Hesperiidae), the silver-spotted skipper. *Journal of Insect Behavior* 16:465-480.
- Weiss, M. R., E. E. Wilson, y I. Castellanos. 2004. Predatory wasps learn to overcome the shelter defences of their larval prey. *Animal Behaviour* 68:45-54.
- Weseloh, R. M. 1993. Potential effects of parasitoids on the evolution on caterpillar foraging behavior. Pp. 203-223 in N. E. Stamp, y T. M. Casey, eds. Caterpillars. Ecological and evolutionary constraints on foraging. Chapman and Hall, London.
- Zalucki, M. P., y L. P. Brower. 1992. Survival of first instar larvae of *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Danainae) in relation to cardiac glycoside and latex content of *Asclepias humistrata* (Asclepiadaceae). *Chemoecology* 3:81-93.
- Zalucki, M. P., S. B. Malcolm, T. D. Paine, C. C. Hanlon, L. P. Brower, y A. R. Clarke. 2001. It's the first bites that count: Survival of first-instar monarchs on milkweeds. *Austral Ecology* 26:547-555.
- Zovi, D., M. Stastny, A. Battisti, y S. Larsson. 2008. Ecological costs on local adaptation of an insect herbivore imposed by host plants and enemies. *Ecology* 89:1388- 1398.