



UNIVERSIDAD METROPOLITANA  
DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA  
Magister en Ciencias mención Entomología



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA

Tesis:

**“Divergencia fenotípica de hembras de *Manuelia postica*  
(Hymenoptera: Apidae) asociada a factores físicos de los  
hospederos de desarrollo”**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS MENCIÓN ENTOMOLOGÍA

Por:

FERNANDO ENRIQUE SPICHIGER INOSTROZA

Director de Tesis

DR. LUIS FLORES PRADO

Santiago - Chile

Marzo 2015



UNIVERSIDAD METROPOLITANA  
 DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
 FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
 INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA  
 Magister en Ciencias mención Entomología



**INSTITUTO DE ENTOMOLOGIA**

**UMCE**

**INFORME DE APROBACIÓN**

**TESIS DE MAGISTER**

Se informa al instituto de entomología que la Tesis de Magister presentada por el candidato,

**FERNANDO ENRIQUE SPICHIGER INOSTROZA**

Ha sido aprobada por la comisión de evaluación de la tesis como requisito para optar al Grado de Magister en Ciencias con mención en Entomología en el examen de Defensa de Tesis rendido el día....., de mes..... del año.....

**Director de Tesis:**

Dr. Luis Flores-Prado .....

**Comisión de Evaluación de la Tesis:**

Dr. Cristián Villagra Gil .....

Mg. Elizabeth Chiappa Tapia .....



## Agradecimientos

Durante la elaboración de esta investigación quisiera agradecer a muchas personas que colaboraron de alguna forma en este proceso, en especial a mi pareja Natalia, quien siempre me motivó y apoyó en la decisión de continuar estudios de postgrado además de soportar con paciencia, incontables noches de estudio y trabajo. A mi padres, quienes con su formación crearon en mi una curiosidad y perseverancia que agradeceré por el resto de mi vida.

A mis amigos más cercanos (y compañeros de magister) Enzo Abarca y Álvaro Villa, con los cuales he vivido grandes satisfacciones tanto en lo académico como lo personal y siempre han sido un apoyo incondicional en todos momentos de mi vida. Espero poder seguir trabajando junto a ustedes desarrollando nuevas líneas de investigación que aporten al mejor conocimiento de las dinámicas y fenómenos en insectos.

Agradezco muy profundamente a todos los profesores que durante mi formación de pregrado fomentaron en mi seguir desarrollándome en la investigación científica. Me refiero a los profesores Marcial Beltrami y Luis Flores, quienes con paciencia guiaron mis procesos de tesis (Pregrado y magister respectivamente) y me incentivaron a desarrollar habilidades investigativas que agradeceré por siempre. No puedo dejar de mencionar al profesor Cristian Villagra, quien hace algunos años me invitó a participar en el curso de Ecología de este magister y fue en parte gracias él que pude desarrollar un nuevo gusto por los sistemas biológicos que incluyen insectos.

También quisiera agradecer al profesor Camilo Toncio, quien me ayudó en cuanto pudo para realizar las hidrólisis mandibulares. A Paulina Quevedo (encargada de laboratorio) y el profesor Rodrigo Espinoza (profesor a cargo de laboratorio de análisis de materiales de la Universidad de Chile) quienes tan amablemente permitieron las mediciones de dureza realizadas en este trabajo.

Este trabajo fue financiado gracias al proyecto Fondecyt N° 11110075



## Índice

RESUMEN .....	5
I. INTRODUCCIÓN.....	6
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
III. HIPÓTESIS DE TRABAJO. ....	12
IV. OBJETIVOS .....	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
VI. RESULTADOS.....	23
VII. DISCUSIÓN .....	32
VIII. CONCLUSIONES.....	46
IX. LITERATURA CITADA.....	47



## RESUMEN

La diferenciación fenotípica asociada al uso de diferentes hospederos de desarrollo y alimentación, ha sido estudiada en insectos fitófagos, pero escasamente abordada en insectos que utilizan madera como sitios de nidificación. Más aún, las investigaciones relacionadas con la variación fenotípica asociada a propiedades físicas de los hospederos de nidificación considerando características de la arquitectura de nidos no ha sido estudiada en abejas carpinteras, que se caracterizan por construir sus nidos en sustratos vegetales secos, como ramas, tallos o troncos. En este estudio se utilizó como modelo a *Manuelia postica* (Hymenoptera: Apidae). Esta abeja carpintera construye nidos lineales en ramas secas en tres hospederos vegetales, los cuales poseen variación en sus atributos físicos como la densidad medular. En este contexto, se exploró la divergencia fenotípica de hembras de *M. postica* en asociación a factores físicos de sus hospederos de nidificación, de rasgos mandibulares y de atributos arquitectónicos de los nidos. Además, dado que evidencia reciente ha establecido que la selección natural opera sobre el tamaño mandibular en *M. postica* que utiliza un hospedero de nidificación considerado como óptimo, fue posible demostrar la existencia de heredabilidad en sentido amplio de los rasgos fenotípicos mandibulares en los hospederos de nidificación alternativos. Este estudio entrega conocimiento básico indispensable para comprender fenómenos como el de coevolución con hospederos vegetales y diversificación de abejas carpinteras.



## I. INTRODUCCIÓN

La diferenciación fenotípica de los insectos que utilizan diferentes hospederos está asociada con la obtención y el uso de recursos alimenticios y de hábitat. Estas interacciones insecto-planta podrían estar relacionadas con características fenotípicas que por medio de selección natural, conduzcan a diferenciación genética dependiendo del uso de estos hospederos (Berlocher & Feder, 2002). En este sentido, estudios de variación fenotípica asociada al uso de diferentes hospederos son muy escasos en insectos que utilizan madera para nidificar, como las especies de abejas carpinteras. Sin embargo, se ha propuesto en una de estas especies que algunos hospederos podrían ser considerados agentes selectivos que conducen a diferenciación fenotípica de los rasgos vinculados con la construcción del nido, situación que aumenta la adecuación biológica de hembras que nidifican en el hospedero considerado como óptimo, pero no en los hospederos alternativos (Flores-Prado *et al.*, 2014).

Las abejas carpinteras pertenecen principalmente a la subfamilia Xylocopinae (*Apoidea: Apidae*) han sido situadas como un grupo hermano de otras subfamilias de Apidae (Michener, 2007). Esta subfamilia se caracteriza por presentar especies solitarias hasta eusociales (Michener, 2007). Está compuesta por cuatro tribus: Allodapiini, Ceratinini, Xylocopini y Manueliini (Michener, 2007; Flores-Prado *et al.*, 2010). La tribu Manueliini está compuesta solo por solo tres especies, hipotetizadas como relictuales (Michener 1979; Daly *et al.*, 1987): *Manuelia gayi*, *M. gayatina* y *M. postica*.

*M. postica* construye nidos en ramas secas o en internodos secos de una rama viva, en Quila (*Chusquea quila*, Poaceae), en Maqui (*Aristotelia chilensis*, Elaeocarpaceae) y en Zarzamora (*Rubus ulmifolius*, Rosaceae) (Flores-Prado *et al.*, 2008a). Los nidos consisten en un túnel con un orificio de entrada en la parte media, y celdas dispuestas en uno o



ambos lados del túnel, dentro de las cuales elaboran una masa de alimento (principalmente de polen) sobre la cual ponen un huevo para luego sellar la celda con material del mismo tejido vegetal que han excavado. La construcción de los nidos ocurre a comienzos y fines de los meses de primavera (Flores-Prado *et al.*, 2008a).

Las especies del género *Manuelia* son consideradas como abejas solitarias en cuanto a la construcción del nido y el aprovisionamiento de alimento (Michener, 1985; 2007). A pesar de lo anterior, se ha observado que en el caso *M. postica* existen agrupaciones hibernantes entre individuos de la progenie y la hembra madre (Flores-Prado, *et al.*, 2008a). Adicionalmente, en observaciones de campo se ha determinado que en un porcentaje menor de nidos existe coexistencia de más de una hembra adulta durante la etapa de construcción de nido y desarrollo de los inmaduros. Estas características está presente en insectos comunales o quasisociales, de modo que en algunos nidos de *M. postica* podría existir una cooperación de tareas de nidificación, aprovisionamiento y ovoposición (Castillo & Cornejo, 2013).

El principal componente del aparato bucal relacionado en la construcción de nidos en Hymenoptera es la mandíbula, dado que les permiten penetrar en sustratos duros, como es el caso de ramas secas, hojarasca o suelo. En algunos himenópteros se ha descrito que existe una relación entre la forma y/o estructuras de la mandíbula y el tipo de material utilizado para construir los nidos (Heraty & Schauff, 1998; Jarvis, 1998). Se ha evidenciado además que mandíbulas más cortas y anchas están asociadas al uso de materiales duros y que mandíbulas más largas y delgadas están asociadas al uso del barro (Hansell, 1987). En abejas en particular, se ha propuesto que el uso de diferentes sustratos de nidificación puede estar limitado por caracteres morfológicos de las mandíbulas de la hembra (Hurd, 1978). En este sentido, las mandíbulas muestran diferencias en especies de abejas que manipulan diferentes tipos de materiales (Williams & Goodell, 2000). Sin embargo, no se



conoce cuáles son las características de las mandíbulas en abejas carpinteras respecto de la utilización de madera seca. Por otra parte, el tamaño corporal podría presentar una relación de isometría con el tamaño mandibular. En tal sentido, la longitud alar y/o la amplitud intertegular han sido utilizadas como indicadores del tamaño corporal de las abejas (Daly & Ballin, 1978; Smith & Weller, 1989; Flores-Prado *et al.*, 2008b). En cuanto a las consecuencias derivadas de la manipulación y procesamiento del sustrato de nidificación, se ha planteado la existencia de un costo energético asociado, que podría afectar el tamaño de la prole (Sarmiento, 2004) y al desgaste de las mandíbulas de las hembras que construyen los nidos, desgaste que a su vez tendría consecuencias en la arquitectura del nido (Acosta *et al.*, 1982; Schaber *et al.*, 1993).

Respecto del valor adaptativo de los tamaños mandibulares en relación al hospedero de nidificación, son escasos los estudios en insectos que se desarrollan en madera. Al respecto, en una especie de abeja carpintera, *M. postica*, se ha determinado la ocurrencia de selección direccional sobre el área mandibular en hembras que nidifican en Quila, pero no en un hospedero alternativo: Zarzamora (Flores-Prado *et al.*, 2014). Junto con esto, se ha determinado que la adecuación biológica es mayor en abejas que nidifican en Quila, en comparación con abejas que nidifican en Zarza. Esto permite sugerir un valor adaptativo en el área mandibular de abejas que construyen sus nidos en el hospedero óptimo, que le confiere mayor adecuación biológica (Flores-Prado *et al.*, 2014). Adicionalmente, se ha observado que abejas que nidifican en Quila tienen un desgaste mandibular menor y mayor área mandibular que las abejas que nidifican en Maqui y Zarzamora. Esto podría ser explicado por una relación inversa entre el tamaño de la mandíbula y su desgaste. En este caso, el hospedero Quila es el que presenta la médula más densa de las tres especies hospederas, y parece ocasionar menor desgaste mandibular por efecto de la construcción de nidos en abejas con mandíbulas más grandes (Castillo & Cornejo, 2013). Por esta razón, evaluar las características físicas de la madera de las plantas hospederas, como su dureza



medular y de corteza, además de la densidad, podría entregar antecedentes respecto de una asociación con la variación en tamaños mandibulares.

Otro factor de importancia radica en la composición química del exoesqueleto de los insectos que utilizan hospederos vegetales para construir sus nidos. Diferentes regiones de la cutícula tienen diferentes propiedades mecánicas que proviene de procesos de esclerotización, donde compuestos fenólicos se incorporan a proteínas de la cutícula (Andersen, 2010). La dureza de la cutícula estimada por medio del grado de esclerotización depende del número de enlaces entre las proteínas, estos se producen gracias a moléculas de ortoquinonas derivadas de la tirosina. El proceso tiende a dejar un residuo cuyos compuestos provocan el oscurecimiento de la cutícula (Toro *et al.*, 2009). Las artropodinas en asociación con ortoquinonas forman la esclerotina (Dale, 2004). Dado que las mandíbulas de los insectos son importantes para la obtención y manipulación de recursos, analizar químicamente su dureza mediante la obtención de compuestos como ortoquinonas y artropodinas (esclerotina) mandibulares podría evidenciar posibles diferencias entre abejas que nidifican en distintos hospederos. En este sentido, las estimaciones de la dureza, concentración proteica o esclerotización mandibular, pueden aportar mayor información para comprender de mejor manera cuáles características de *M. postica* favorecerían, o estarían asociadas con, el uso de un determinado hospedero de nidificación.

Por último, un aspecto relevante para la comprensión del fenómeno de variación fenotípica asociada al uso de diferentes hospederos de nidificación, en abejas carpinteras, está representado por un posible componente de heredabilidad de los rasgos vinculados con la construcción de nidos, como los tamaños mandibulares y el grado de dureza o esclerotización en las mandíbulas de las hembras. Se entiende a la heredabilidad en un sentido amplio como la relación entre el valor del rasgo de los padres y el de su progenie,



y en un sentido estricto como la proporción de la varianza fenotípica de un carácter particular que es atribuible a una variación genética aditiva de la población (Visscher *et al.*, 2008). La estimación de heredabilidad permite dimensionar la importancia relativa tanto de los genes como del medio ambiente en la variación de los rasgos dentro de las poblaciones (Visscher *et al.*, 2008). Por esto, la heredabilidad de los rasgos mandibulares de importancia para la construcción de nidos, tales como área y dureza o esclerotización mandibular, hace posible evaluar si la variación de estos rasgos depende fundamentalmente de factores ambientales. Estos últimos, en el caso de estudio, estarían representados por el hospedero de nidificación pudiendo tener además un componente de heredabilidad. Dado que establecer el grado de heredabilidad en sentido estricto es prácticamente imposible en este sistema, considerando que para ello se requiere la crianza de abejas, la identificación de los padres (además de las madres) de la generación filial, y la formación de familias manipuladas, en las cuales existan medios hermanos y hermanos completos, resulta interesante explorar la heredabilidad en sentido amplio, es decir, la asociación positiva entre los valores de los rasgos de las hembras y de sus hijas, sin estimar la magnitud de la heredabilidad de estos rasgos, o fracción de la varianza fenotípica del rasgo explicada por variación genética aditiva (Visscher *et al.*, 2008).

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El fenómeno de diferenciación fenotípica (y divergencia genética) asociada a el uso de diferentes hospederos de desarrollo y alimentación, ha sido extensamente estudiado en insectos fitófagos, pero escasamente abordado en insectos que utilizan plantas como sitios de nidificación (Flores-Prado *et al.*, 2014). Las abejas carpinteras son un grupo de especies de abejas que utilizan material vegetal para construir sus nidos (Flores-Prado *et al.*, 2014). Solo recientemente existe información publicada que entrega evidencia



respecto de rasgos mandibulares que podrían estar sujetos a selección natural, asociado al uso de un hospedero de nidificación en una especie de abeja carpintera; *Manuelia postica* (Flores-Prado *et al.*, 2014), especie que nidifica en tres plantas hospederas que coexisten: *Chusquea quila*, *Rubus ulmifolius* y *Aristolelia chilensis* (Flores-Prado *et al.*, 2008a). En tal sentido, los hospederos de nidificación representarían un componente ambiental fundamental en las variaciones de rasgos mandibulares. Por otra parte, en especies de Hymenoptera existe evidencia que indica que el esfuerzo empleado por las hembras en la construcción de nidos puede tener un efecto en el resultado del proceso de nidificación representado, entre otros atributos, por características arquitectónicas de los nidos (Flores-Prado *et al.*, 2014). En este contexto se plantea la problemática de si la variación en el tamaño y la dureza o esclerotización mandibular de las hembras de una especie de abeja carpintera, *M. postica*, y en los parámetros arquitectónicos de los nidos construidos por estas hembras, está asociada a la variación de propiedades físicas, como la dureza, de las diferentes especies de hospederos utilizados para nidificar. Por otra parte, considerando la evidencia de selección natural actuando sobre el área mandibular en *M. postica*, resulta interesante preguntarse por la existencia de heredabilidad en sentido amplio de los rasgos fenotípicos mandibulares (área y concentración proteica mandibular). En este contexto surgen las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Qué diferencias fenotípicas mandibulares tendrán individuos de *M. postica* que nidifican en hospederos distintos, los que a su vez presentan variación en dureza de la corteza?
2. ¿Qué diferencias en variables arquitectónicas, tendrán los nidos construidos por abejas de *M. postica* que nidifican en hospederos distintos?
3. ¿Los rasgos mandibulares en abejas que nidifican en tres hospederos distintos presentan heredabilidad en sentido amplio?



### III. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

1. Dado que existirían factores físicos de los hospederos tales como dureza y densidad que pueden influir en la elección que efectúan las abejas para nidificar en ellos, aquellas hembras de *M. postica* con mayor área o esclerotización mandibular (o mayor concentración de compuestos proteicos mandibulares) pueden penetrar con mayor éxito en sustratos de nidificación más duros, en comparación con individuos con mandíbulas más pequeñas en área y menos esclerotizadas (o con menor concentración de compuestos proteicos mandibulares) las que podrían elegir sustratos más blandos. De acuerdo a esta hipótesis, se espera que:

- a. El hospedero Quila tenga mayor dureza en la corteza, comparado con Maqui y Zarzamora. A su vez, las abejas que nidifican en Quila tendrán mandíbulas con mayor área o más esclerotizadas (o con mayor concentración de compuestos proteicos mandibulares) en comparación con las abejas que nidifican en Maqui y Zarza.

2. Aunque una mayor dureza del sustrato de nidificación pueda exigir un mayor esfuerzo o inversión energética para la construcción de nidos, las hembras de *M. postica* que posean mandíbulas con mayor área o esclerotización (o concentración de compuestos proteicos mandibulares) tendrán menores costos energéticos asociados con el uso de dichos hospederos y una adecuación biológica mayor, en comparación con abejas con mandíbulas de menor área o esclerotización (o concentración de compuestos proteicos mandibulares). En consecuencia, se espera que:

- a. El hospedero Quila presente nidos con túneles más largos que alberguen mayor número de celdas, independiente del diámetro de túnel y de rama, en comparación con Maqui y Zarza.



3. Considerando que en *M. postica* se ha determinado previamente selección natural actuando sobre el área mandibular de las hembras que nidifican en Quila y que éste representaría el hospedero óptimo, tanto el área mandibular como la concentración de compuestos proteicos mandibulares exhiben un componente de heredabilidad en sentido amplio, a diferencia de las hembras que nidifican en Maqui y en Zarza. En tal sentido se espera que:

a. Los análisis de regresión mostrarán una asociación significativa y positiva entre los rasgos mandibulares de las madres que nidifican en Quila y los de sus hijas, a diferencia de madres e hijas que nidifican en los otros hospederos en los cuales no se exhibirá una asociación significativa.

## IV. OBJETIVOS

### Objetivo General

Explorar la divergencia fenotípica de hembras de *Manuelia postica* en asociación a factores físicos de sus hospederos de nidificación, de rasgos mandibulares y de atributos arquitectónicos de los nidos.

### Objetivos Específicos

1. Comparar rasgos fenotípicos importantes para la construcción de nidos (área de las mandíbulas y concentración de compuestos proteicos mandibulares) con dureza de la corteza de los sustratos de nidificación entre las hembras de *M. postica* que utilizan diferentes hospederos para nidificar.
2. Comparar atributos de la arquitectura de los nidos (longitud y diámetro del túnel, diámetro de la rama y número de celdas) entre las hembras de *M. postica* que utilizan diferentes hospederos para nidificar.



3. Determinar si existe heredabilidad en sentido amplio en rasgos fenotípicos de importancia para la construcción de nidos.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS.

Para desarrollar los tres objetivos específicos planteados en este proyecto se efectuaron los siguientes procedimientos:

### 1. Área de muestreo y colecta de nidos.

Se realizaron salidas a terreno durante el periodo comprendido entre Diciembre de 2013 y Marzo de 2014, a dos sectores contiguos a la Reserva Nacional Altos de Lircay (Comuna de San Clemente, Provincia de Talca, Séptima Región del Maule), localizado al sureste de Talca en la Cordillera de los Andes, a 2.200 msnm (Ver Figura 6).

En esta localidad se colectaron nidos construidos en tallos y ramas secas de Quila (*Chusquea quila*), Zarzamora (*Rubus ulmifolius*) y Maqui (*Aristotelia chilensis*). Estas tres especies representan los únicos sustratos de nidificación publicados para *M. postica* (Flores-Prado *et al.*, 2008a).

Se realizó una inspección visual de nidos de los tres hospederos, cerciorándose de la presencia de agujeros circulares y madres resguardando los orificios de entrada a los nidos. Una vez identificados los nidos habitados se procedió a sellar los orificios de entrada con teflón y sobre éste se puso cinta de enmascarar, para evitar la contaminación de la muestra y una posible fuga de las abejas, respectivamente. Posteriormente, cada nido de cada rama y tallo fue rotulado considerando sector, número de rama y número de



nido. Fueron puestos en bolsas de papel para luego ser trasladadas al laboratorio para su estudio.

## **2. Extracción y selección de la muestra.**

Las ramas y tallos con nidos fueron seccionados longitudinalmente, manteniendo el orificio de entrada en la parte superior respecto al corte realizado. Una vez abierto el nido se extrajeron, dependiendo del período de colecta, las hembras adultas de la generación parental, individuos recién emergidos (de ambos sexos) y masas de alimento. Los individuos inmaduros (huevos con masas de alimento, larvas y pupas) se mantuvieron a temperatura ambiente hasta completar su desarrollo. En cada ocasión en que se disecó un nido éste fue dibujado en una bitácora con su respectivo rótulo y contenido: individuos, masas de alimento y celdas.

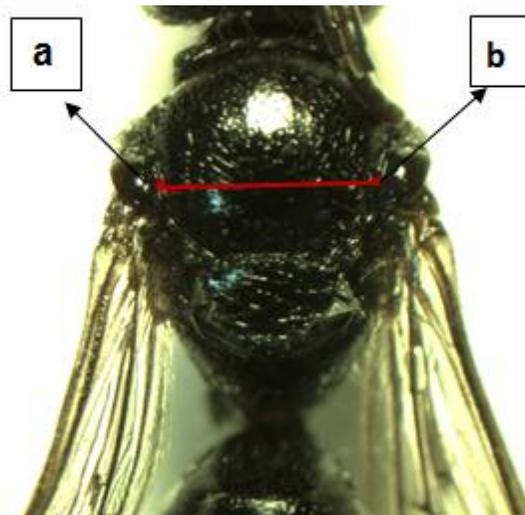
Se seleccionaron 23 hembras madre del hospedero Maqui, 30 hembras madre del hospedero Quila y 30 hembras madre del hospedero Zarzamora. Las muestras fueron seleccionadas en el período reproductivo (que abarca desde la construcción del nido hasta la emergencia de los adultos de la generación filial) incluido entre los meses de Diciembre de 2013 a Marzo de 2014. Además, en el mes de abril se abrieron nuevamente los nidos y se extrajeron todas las hembras de la generación filial que completaron su desarrollo, para los posteriores análisis de heredabilidad en sentido amplio de las variables mandibulares obteniéndose 15 hembras hija en el hospedero Zarzamora, 10 en el hospedero Maqui y 17 en el hospedero Quila.



### 3. Rasgos fenotípicos de las abejas importantes para el proceso de nidificación.

#### Medición de la Talla Corporal:

Las abejas que fueron colectadas por hospedero se mantuvieron en alcohol etílico a 99% (P.A.). Todas fueron sometidas a disecciones mandibulares. Se determinó el tamaño corporal de cada abeja madre por medio de la medición de la amplitud intertegular (Fig. 1), la que ha sido utilizada como indicador del tamaño corporal de las abejas (Daly & Ballin, 1978; Flores-Prado *et al.*, 2008b). Para ello se utilizó una lupa estereoscópica acoplada a una cámara digital de 9 Mpx, conectada a un computador que permitió analizar las fotografías capturadas por medio del software MShot Digital y realizar las medidas.



**Fig. 1.** Medición de la distancia entre la tegula izquierda (a) y la tegula derecha (b), en aumento 0,67x. Imagen obtenida desde Castillo & Cornejo, 2013.

Considerando que distancia intertegular es un buen estimador de tamaño corporal, y que éste resulta interesante como una variable que puede estar asociada con los tamaños



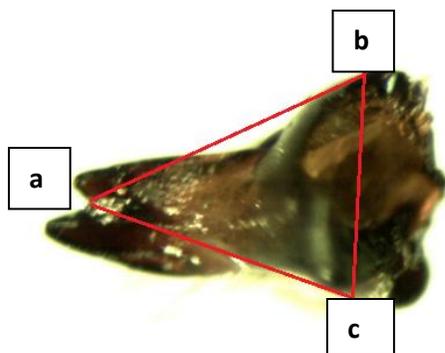
mandibulares, el área mandibular resultante fue entonces dividida por el tamaño corporal de cada abeja.

### Medición del Área Mandibular:

Se estimó el área mandibular de cada abeja excluyendo las carinas, que corresponden a las estructuras que pueden sufrir desgaste debido a la construcción de nidos. Para ello se utilizó una lupa estereoscópica y el programa de procesamiento de imágenes antes mencionado. Esta variable se determinó colocando la mandíbula derecha de cada abeja en una capsula Petri y sobre ella un cubreobjeto que permitió que esta se apoye sobre la cara mandibular exterior. Primero se midió la distancia desde el punto más superior de la Trimma (a) hasta el punto más inferior de la Cresta Condilar (b), luego se midió desde este último punto hasta el punto de bifurcación de las carinas inferior y superior (c). A continuación se midió desde (c) hasta el punto más superior de la Trimma (a) y luego se estimó la altura del triángulo formado (Figura 2). De esta forma se midió el área del triángulo utilizando la fórmula de Herón definida por:

$$Vs (s - a) (s - b) (s - c)$$

donde “s” corresponde al semiperímetro del triángulo y, “a”, “b” y “c” cada uno de sus lados.



**Fig. 2:** Determinación del área mandibular. Distancia del punto más superior de la Trimma (a) al punto más inferior de la cresta condilar (b), distancia desde punto inferior de cresta condilar a bifurcación de carinas superior e inferior (b) y distancia entre la bifurcación de las carinas y punto más superior de la Trimma.



### **Medición de contenido proteico mandibular:**

Una de las sustancias que otorgan dureza a las mandíbulas es la presencia de esclerotina (artropodinas + ortoquinonas) dentro de la estructura del exoesqueleto de los insectos (Dale 2004) en conjunto con la presencia de la quitina. Esta matriz proteica determina entonces las características específicas de las mandíbulas en cuanto a su dureza. Se procedió a aplicar una técnica de cuantificación de concentración de extractos proteicos mandibulares en función del peso seco mandibular (Van Alstyne & Paul, 1992). Esta técnica de cuantificación representa una medida directa del grado de concentración proteica mandibular. No obstante, después de intentar aplicar la técnica en las mandíbulas de una muestra de hembras (N=30), se descartó el procedimiento debido a que el peso seco mandibular (Promedio = 0,017 mg) fue considerablemente menor al mínimo necesario para poder efectuar la medición. De igual manera, al intentar obtener los extractos proteicos mandibulares del conjunto de hembras contenidas en un nido, el peso seco mandibular continuó siendo insuficiente para proseguir con el análisis. Alternativamente, se dio inicio a un procedimiento que permite hidrolizar la mandíbula con ácido acético para extraer los compuestos proteínicos y/o aminoacídicos. Estos compuestos pueden ser analizados en un espectrofotómetro por medio de procedimientos estándar que involucran la obtención de una curva de calibración. Se aplicaron soluciones sobre dos mandíbulas (izquierda y derecha) de la misma abeja utilizándose un total de 24 pares de mandíbulas. Se efectuaron hidrólisis de acuerdo con los siguientes protocolos en cuanto a concentración de ácido acético e hidróxido de potasio y tiempo de acción:

Se aplicó un mL de solución de KOH a 0,1 molar, uno molar y 10 molar durante 24 horas. Además se utilizó ácido acético (glacial) en las mismas concentraciones y tiempos de hidrólisis no obteniéndose proteínas en solución. Al no obtener resultados satisfactorios

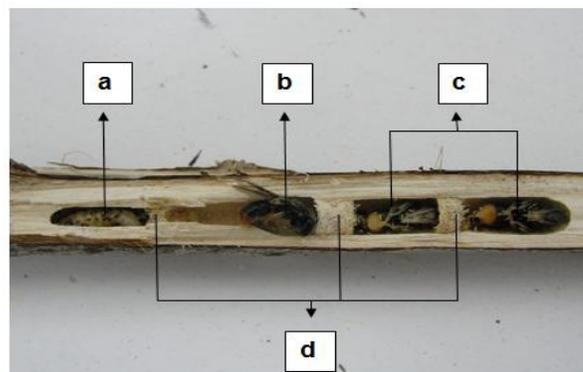


se procedió a utilizar un mL de ácido sulfúrico a una concentración de uno molar durante 24 y 48 horas, obteniéndose mandíbulas más blandas y decoloradas a las 48 horas pero sin proteínas en solución. Utilizar una concentración más alta y durante más tiempo habría desnaturalizado las proteínas de la matriz cuticular mandibular.

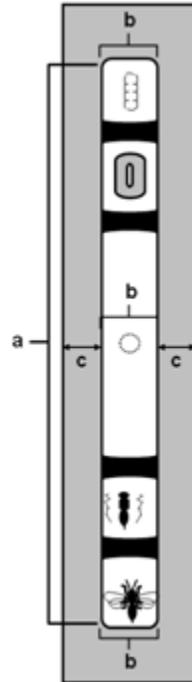
#### 4. Mediciones de los nidos:

Cada nido consiste en un túnel con celdas organizadas linealmente a través del tallo o rama de la planta y separados por tabiques bicóncavos hechos de partículas de madera (Flores-Prado et al., 2008a) (Fig.3). Se contaron los individuos presentes en cada nido en sus diferentes estados fenológicos generándose una tabla para el número de larvas, pupas (blancas y pigmentadas) y abejas recién emergidas, indicando además la presencia de huevos y masas. Se registró además el número de celdas que ha construido cada abeja.

Posteriormente se utilizó un pie de metro digital (precisión de 0.01 mm) para medir las siguientes dimensiones: longitud del túnel, ancho del túnel y ancho de rama. Para estas dos últimas dimensiones se consideraron tres secciones a medir; los dos extremos y el centro del nido (Fig.4).



**Fig. 3.** Nido de *M. postica* construido en rama seca de maqui. Se distingue una larva (a), dos pupas (c), una hembra madre (b) y tres tabiques (d).



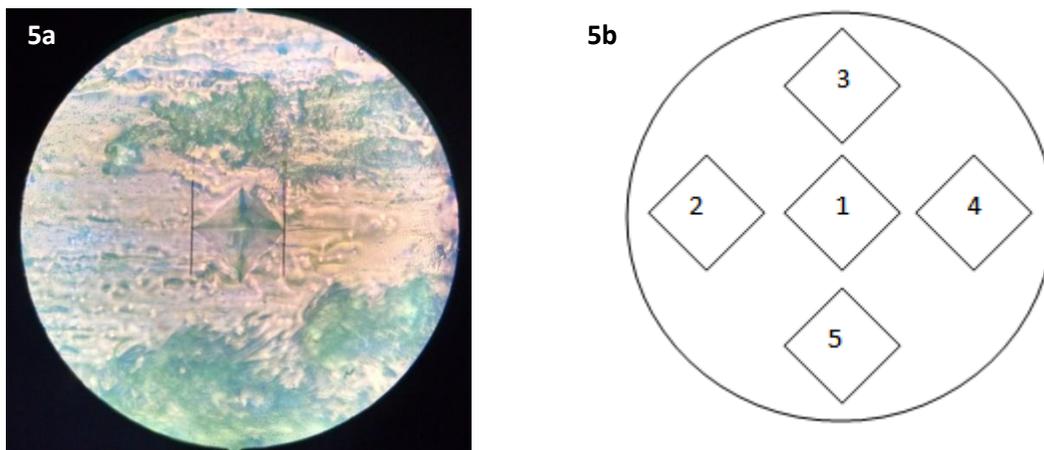
**Fig. 4** Longitud del nido(a), Diámetro del nido, (b) y Ancho de la rama (b+c). (Obtenido de Flores-Prado & Niemeyer, 2012)

### 5. Atributos físicos de los hospederos:

Se extrajeron 30 fragmentos de dos centímetros de largo de cada planta hospedera, donde se encontró un nido y se procedió a evaluar la dureza de la corteza. Estas mediciones fueron efectuadas en el Laboratorio de Análisis de Materiales de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas (Universidad de Chile). Para esto se utilizó un microdurómetro que permite indicar la dureza en la escala Vickers, utilizada para materiales blandos. Estas mediciones se ajustan a la norma ISO 3350:1975 para la determinación de dureza estática en maderas. Este instrumento consiste en un microidentador de precisión que genera una huella en la superficie de la madera (Figura 5a) en base a una carga de fuerza preestablecida para este material. Este instrumento



mide el área de la huella dejada por el microidentador en relación con la fuerza ejercida. Para la obtención de los datos de dureza se realizaron cinco mediciones sobre cada muestra como lo indica la figura 5b



**Figura 5. a.** Observación microscópica de huella dejada por identador sobre la superficie de la corteza de una rama de Quila. (Aumento 40x) y **b.** Método de obtención de réplicas de dureza.

### 6. Estimación de Heredabilidad de rasgos mandibulares en sentido amplio:

Como fue mencionado anteriormente, se colectaron abejas madre en el inicio del proceso de nidificación (desde diciembre a marzo) las cuales construyeron su nido, esperándose encontrar fases inmaduras de desarrollo.

El procedimiento de extracción consistió en abrir cada nido, extraer a la hembra madre, para estimar su área mandibular (corregida por tamaño corporal). Posteriormente los nidos fueron sellados y mantenidos a temperatura ambiente y revisados cada semana para luego extraer solo a hembras de la primera generación filial, a las que se les midió las



variables mandibulares, de la misma manera en que tales variables se midieron en la madre al igual que el tamaño corporal.

## **7. Análisis Estadísticos:**

Para llevar a cabo los análisis estadísticos, cuando las variables cumplieron con los supuestos para aplicar estadística paramétrica, o en su defecto transformando los valores de las variables a fin de cumplir los requerimientos de normalidad y homocedasticidad, se efectuaron Análisis Multivariados de Varianza de una vía para explorar si existen diferencias en las siguientes comparaciones:

### **1. En relación con el objetivo 1**

a. Área mandibular de las hembras que construyeron nidos y dureza de la corteza de las plantas que los contienen, entre los tres hospederos utilizados por *M. postica*.

### **2. En relación con el objetivo 2**

a. Longitud y diámetro del túnel y diámetro de la rama de los nidos construidos por las hembras de *M. postica*, entre los tres hospederos utilizados.

b. La variable número de celdas no cumplió con el requerimiento de normalidad por lo que se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar posibles diferencias entre los nidos construidos en los tres hospederos.

### **3. En relación con el objetivo 3**

Se utilizó una prueba de regresión lineal, considerando como variable independiente el área mandibular de las madres de cada hospedero y como variable dependiente el promedio del área mandibular de las abejas hija de cada hospedero, ambas corregidas por

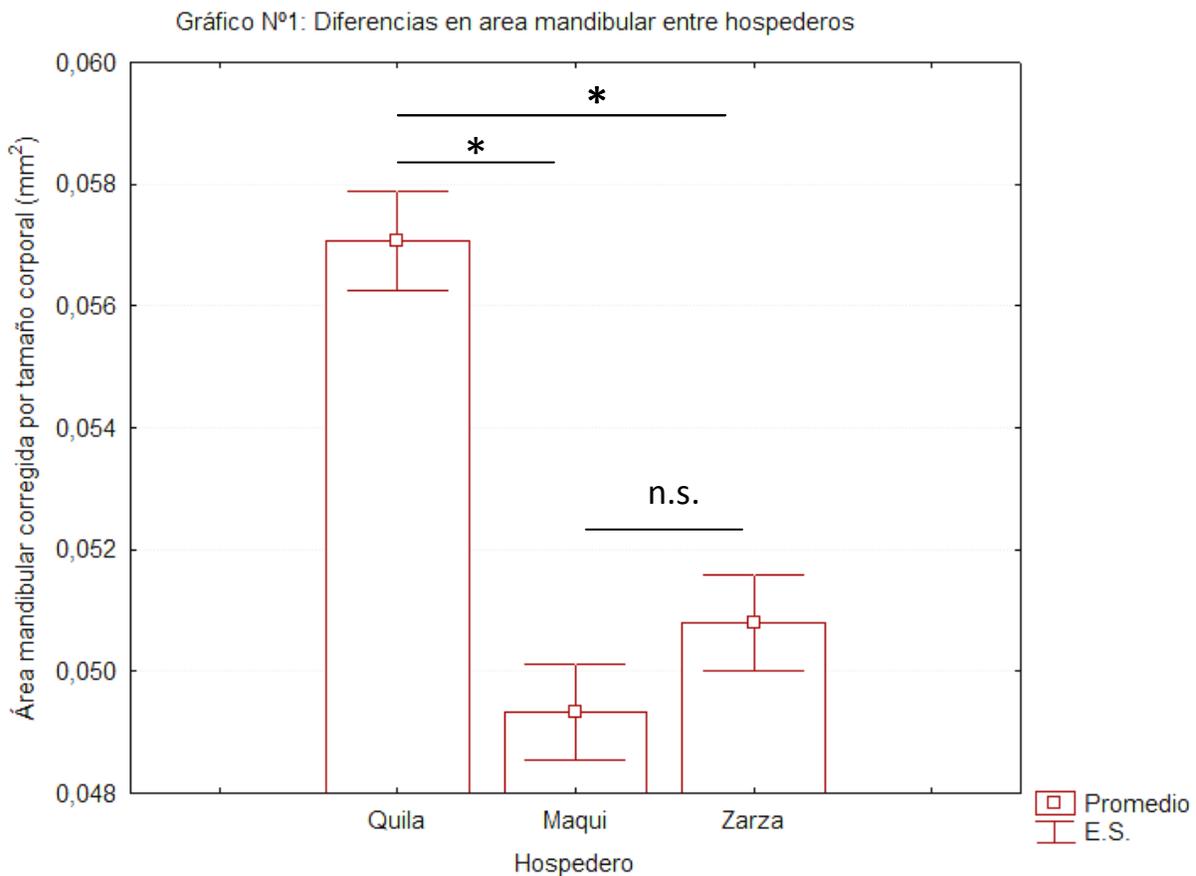


tamaño corporal. Para el hospedero Maqui se contó con 10 nidos con una o más abejas hijas, 15 nidos en el caso del hospedero Zarzamora y en Quila 17 nidos.

## VI. RESULTADOS.

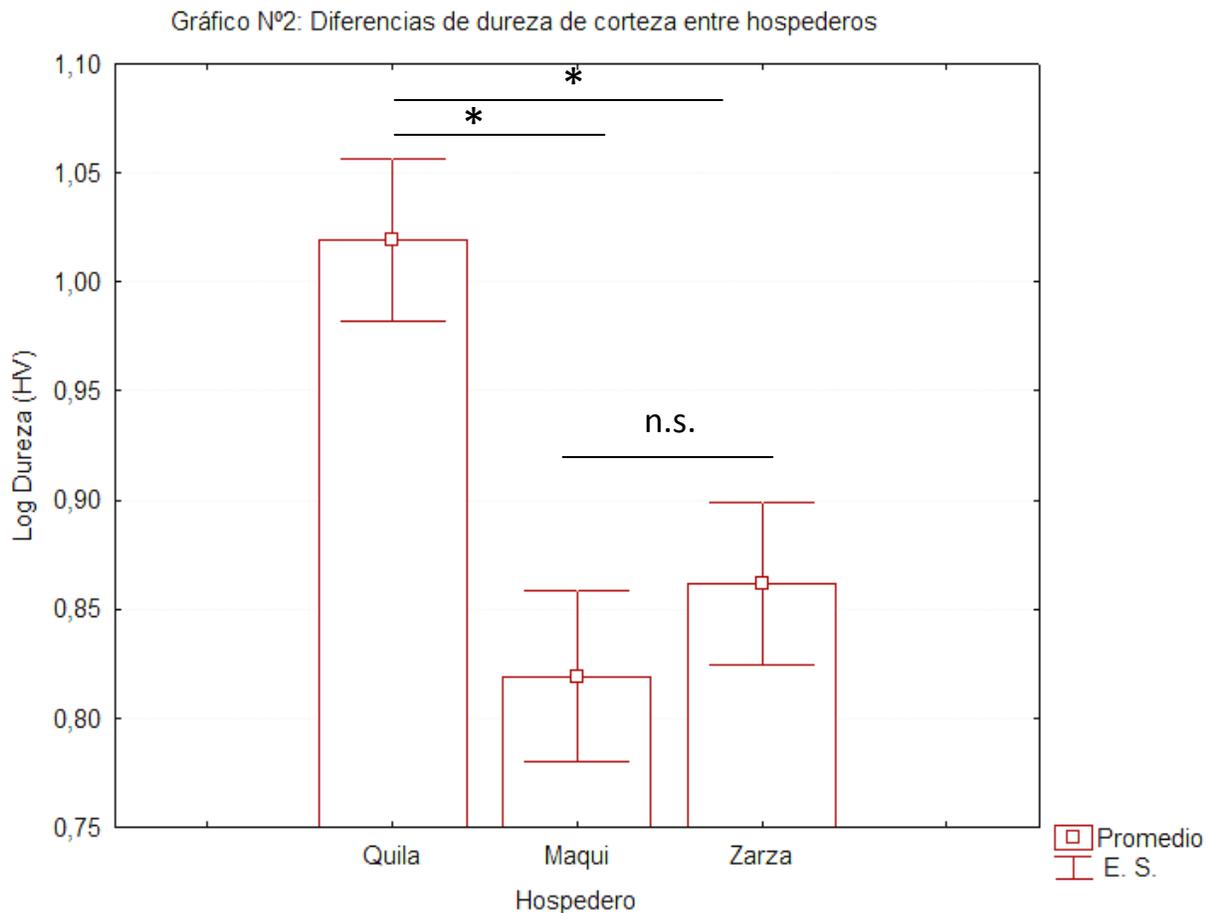
### 1. En relación con el objetivo 1

La prueba de MANOVA arrojó diferencias significativas entre los hospederos en cuanto a dureza de la corteza y al área mandibular de las hembras que construyen sus nidos en éstos ( $F=14,545$ ;  $p<0,01$ ). Luego, de efectuar dos pruebas de ANOVA, una para cada variable, se evidenció que las mandíbulas de *M. postica* en Quila son significativamente más grandes ( $p<0,01$ ) que las encontradas en el hospedero Maqui y Zarzamora ( $p<0,01$ ). Además entre estas últimas no se presentan diferencias significativas ( $p= 0,459$ ) en cuanto al área mandibular (Gráfico 1).





La variable dureza de la corteza fue significativamente mayor en el hospedero Quila respecto de Maqui ( $p < 0,01$ ) y Zarzamora ( $p < 0,01$ ), pero no entre estos últimos hospederos ( $p = 0,744218$ ) (Gráfico 2).



### Resultados del Análisis de estimación de la concentración proteica mandibular:

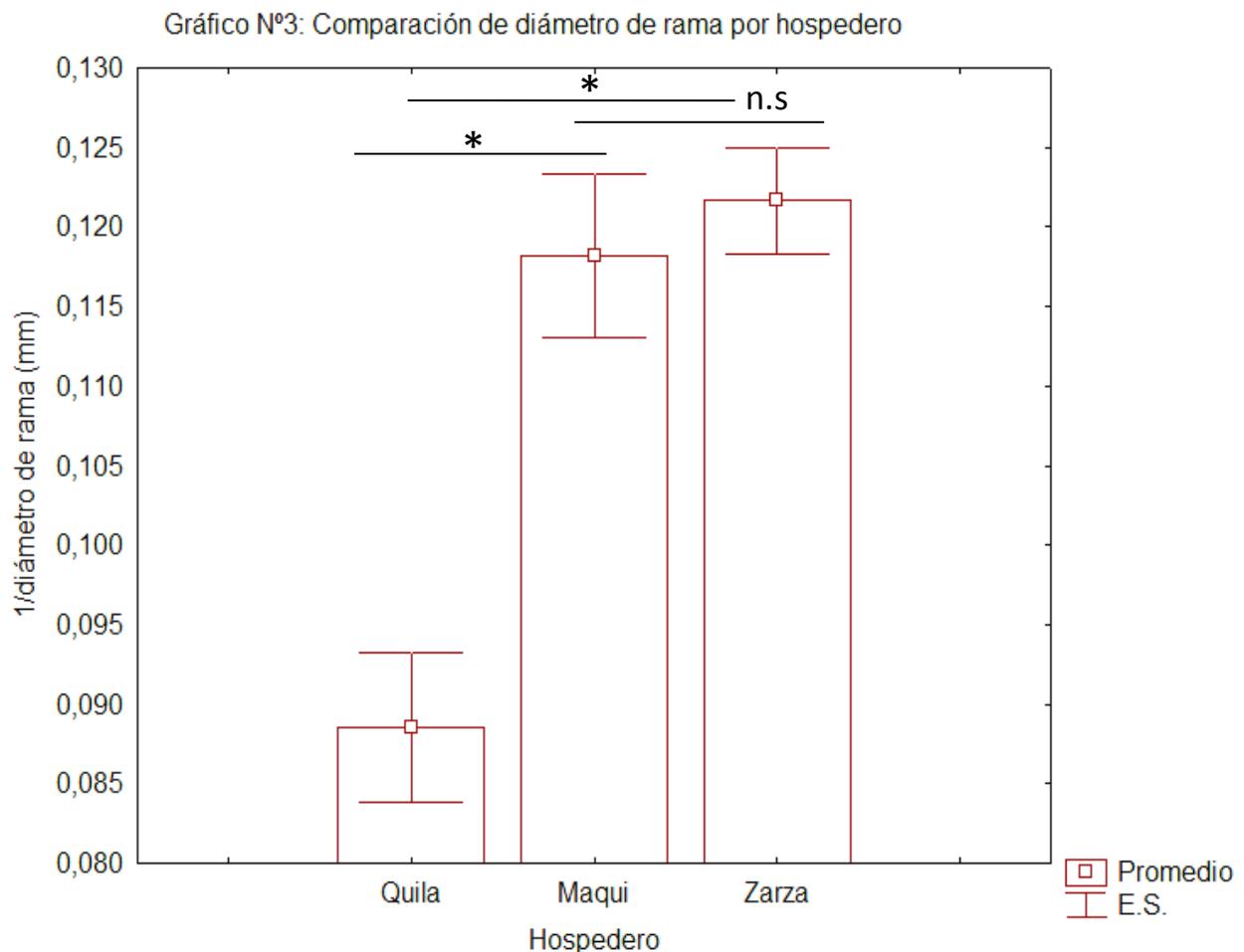
Los resultados obtenidos fueron insuficientes en cuanto al grado de hidrólisis necesario para analizar mediante espectrofotometría, debido a la nula o escasa presencia de proteínas (sensibilidad mínima del espectrofotómetro utilizado) en los sobrenadantes y el escaso peso seco por cada muestra mandibular. Al parecer soluciones acidas y alcalinas



solo distienden las matrices de la cutícula, la que sumada a la potente fuerza de enlace de estas proteínas impiden su extracción en sobrenadante.

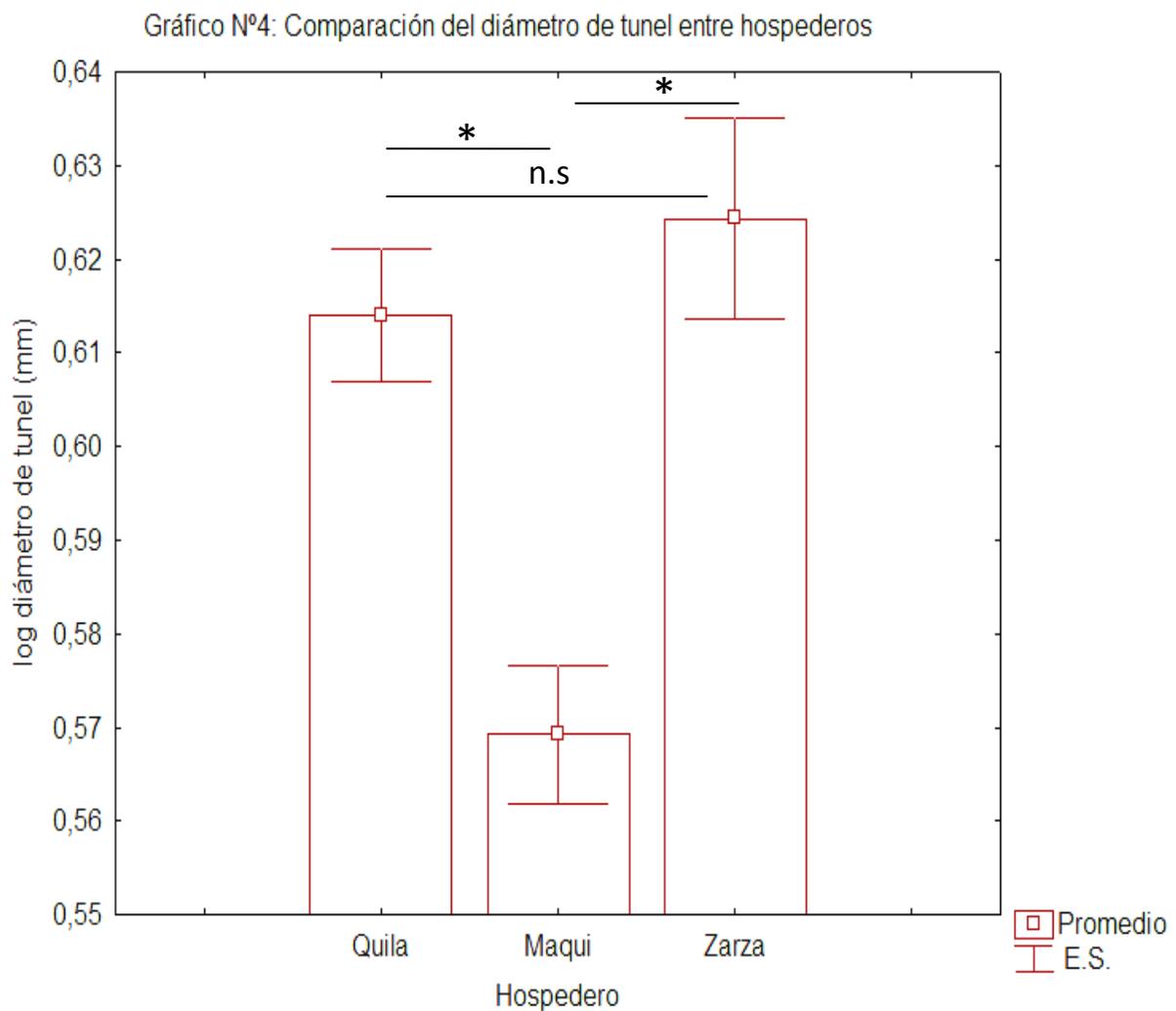
## 2. En relación con el objetivo 2

La prueba de MANOVA arrojó diferencias significativas en cuanto a diámetro de rama, diámetro de túnel y longitud de túnel ( $F= 10,021, P<0,01$ ) entre cada hospedero. Luego, se realizaron tres pruebas de ANOVA, una para cada variable, las que arrojaron diferencias significativas del diámetro de rama de Quila con respecto a Maqui ( $p<0,01$ ) y Zarza ( $p<0,01$ ). No se observaron diferencias significativas entre el diámetro de rama entre Maqui y Zarza ( $p= 0,866$ ) (Gráfico 3).



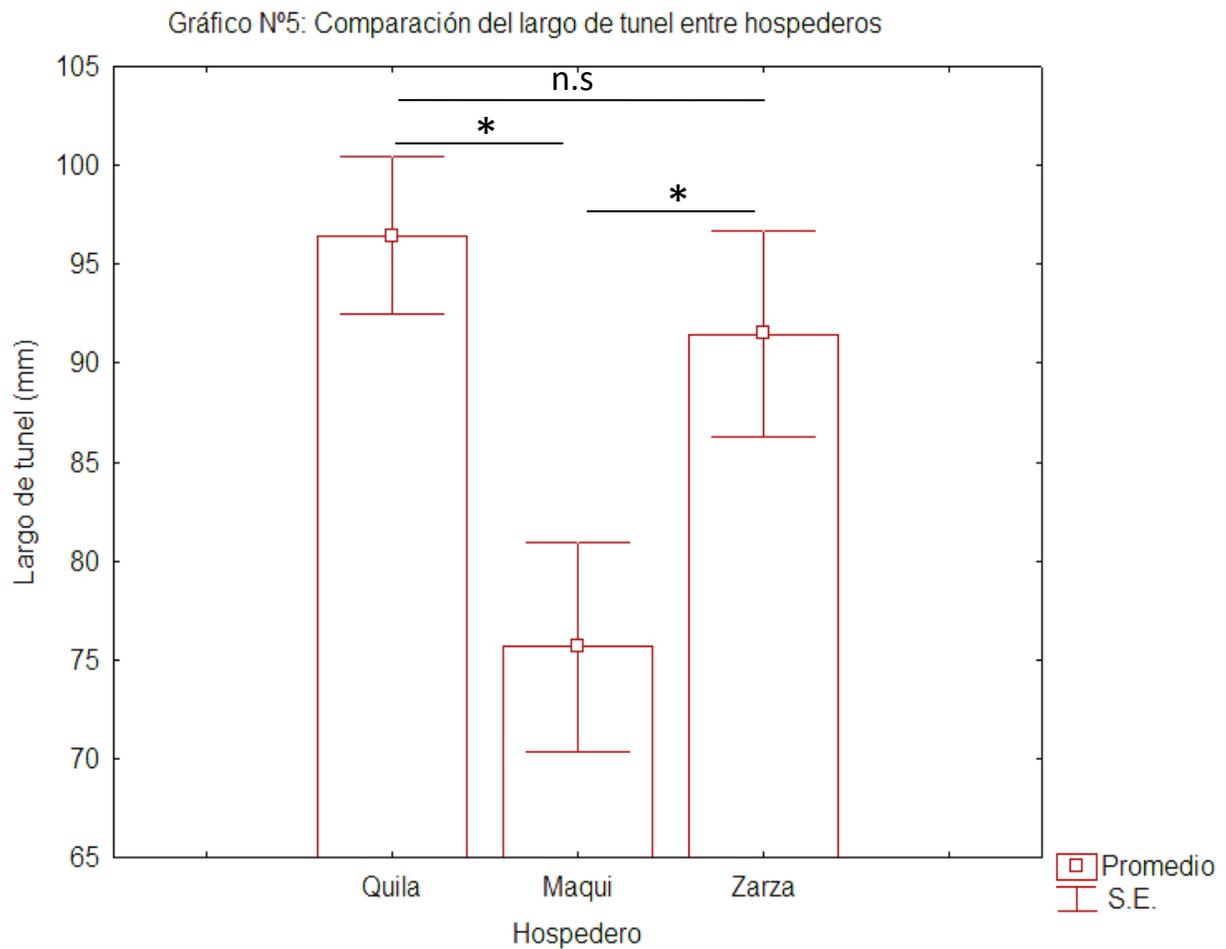


En cuanto al diámetro de túnel se obtuvieron diferencias significativas en Quila con respecto a Maqui ( $p < 0,01$ ) pero no con respecto a Zarza ( $p = 0,68$ ). Se estimó además que existen diferencias significativas entre Maqui y Zarza ( $p < 0,01$ ) (Gráfico 4).





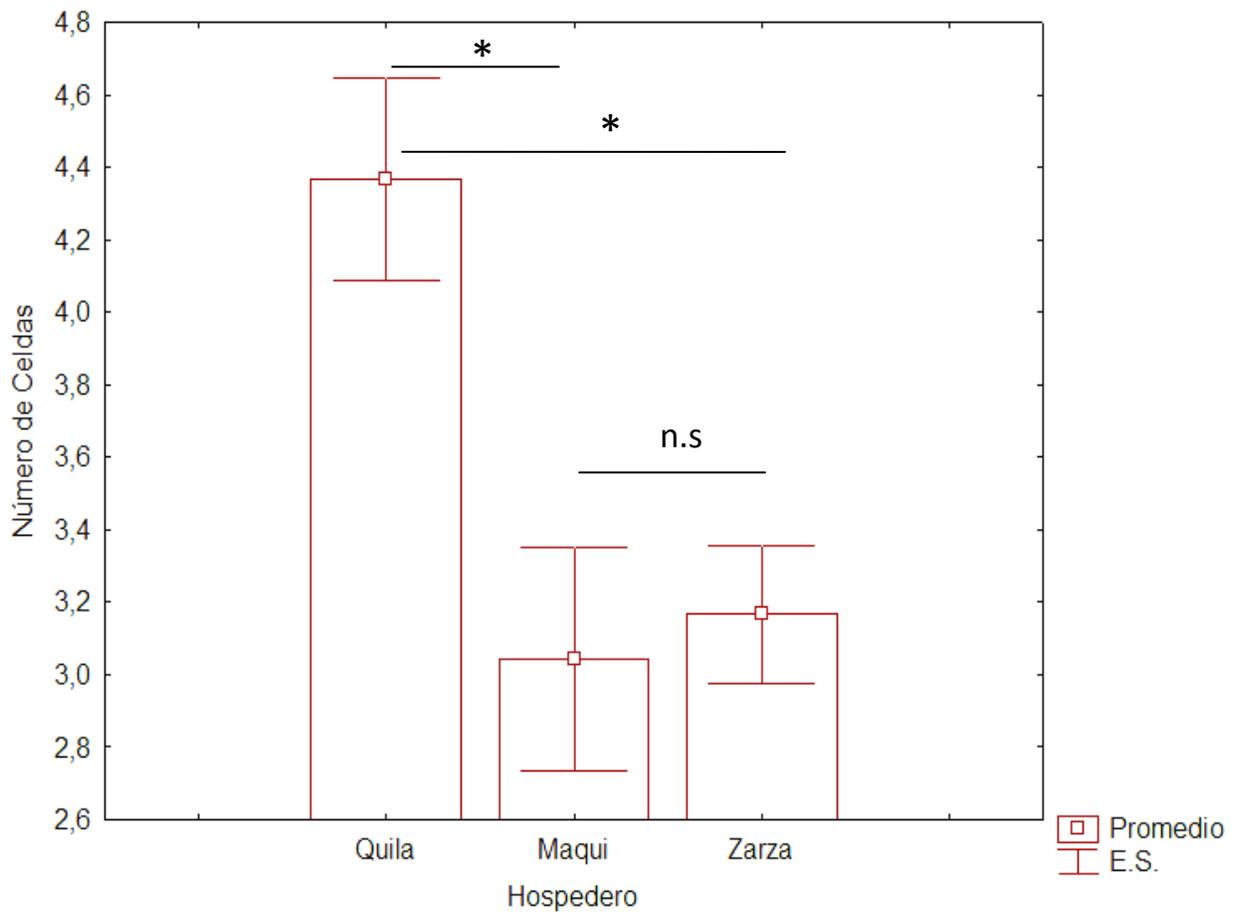
En relación al largo del túnel, el hospedero Quila difiere significativamente de Maqui ( $p < 0,01$ ) pero no respecto a Zarza ( $p = 0,75$ ). No existen diferencias significativas entre el hospedero Maqui y Zarza ( $p = 0,0872$ ) (Gráfico 5).





La Prueba de Kruskal-Wallis para la variable “número de celdas” evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los nidos construidos en los diferentes hospederos ( $H=16,918$ ;  $p < 0,01$ ). Los nidos construidos en Quila difieren significativamente de Maqui ( $p=0,00066$ ) y de Zarza ( $p=0,0077$ ). No existen diferencias significativas entre Maqui y Zarzamora ( $p=1,00$ ) (Gráfico 6).

Gráfico N°6: Comparación del número de celdas por hospedero

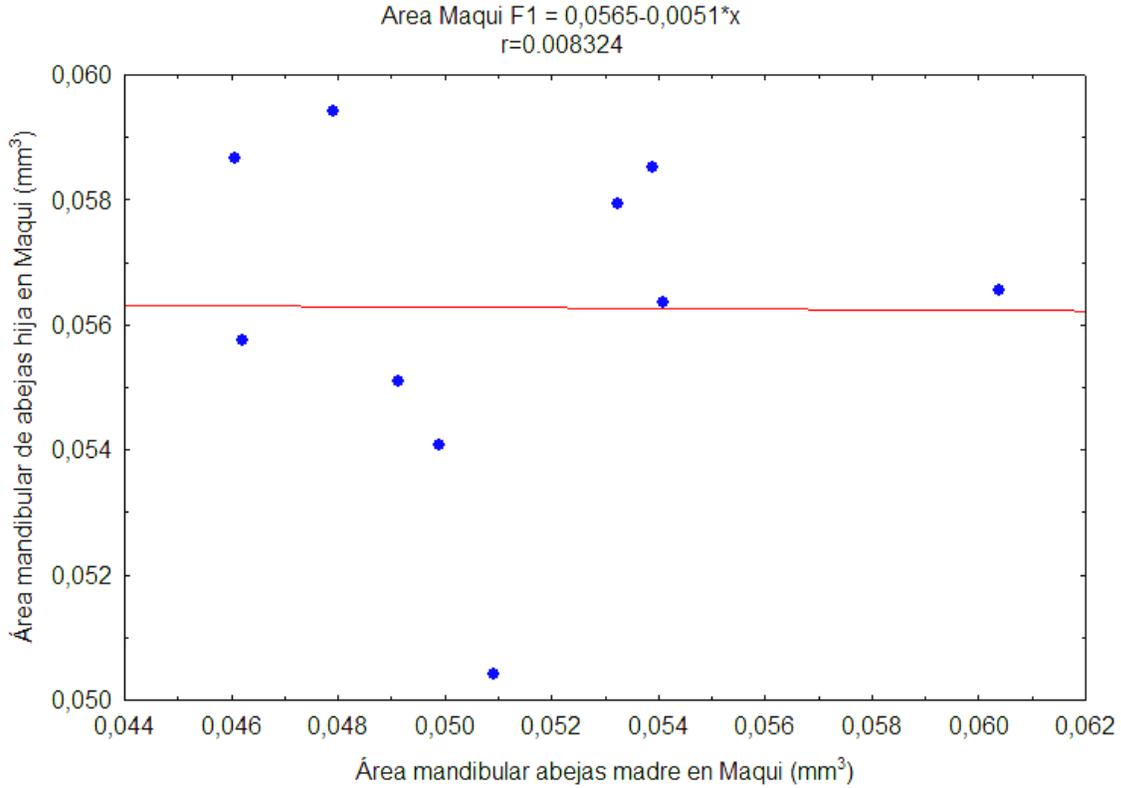




### 3. En relación al objetivo 3

Las pruebas regresión lineal no mostraron una asociación significativa ( $p=0,981$ ) ni significativamente positiva ( $r=0,008$ ) en relación al área mandibular de las madres que nidifican en Maqui versus sus hijas (ambas mediciones corregidas por tamaño corporal) (Gráfico 7).

Gráfico N°7: Área Mandibular de abejas Madres en Maqui versus Área mandibular de abejas hija

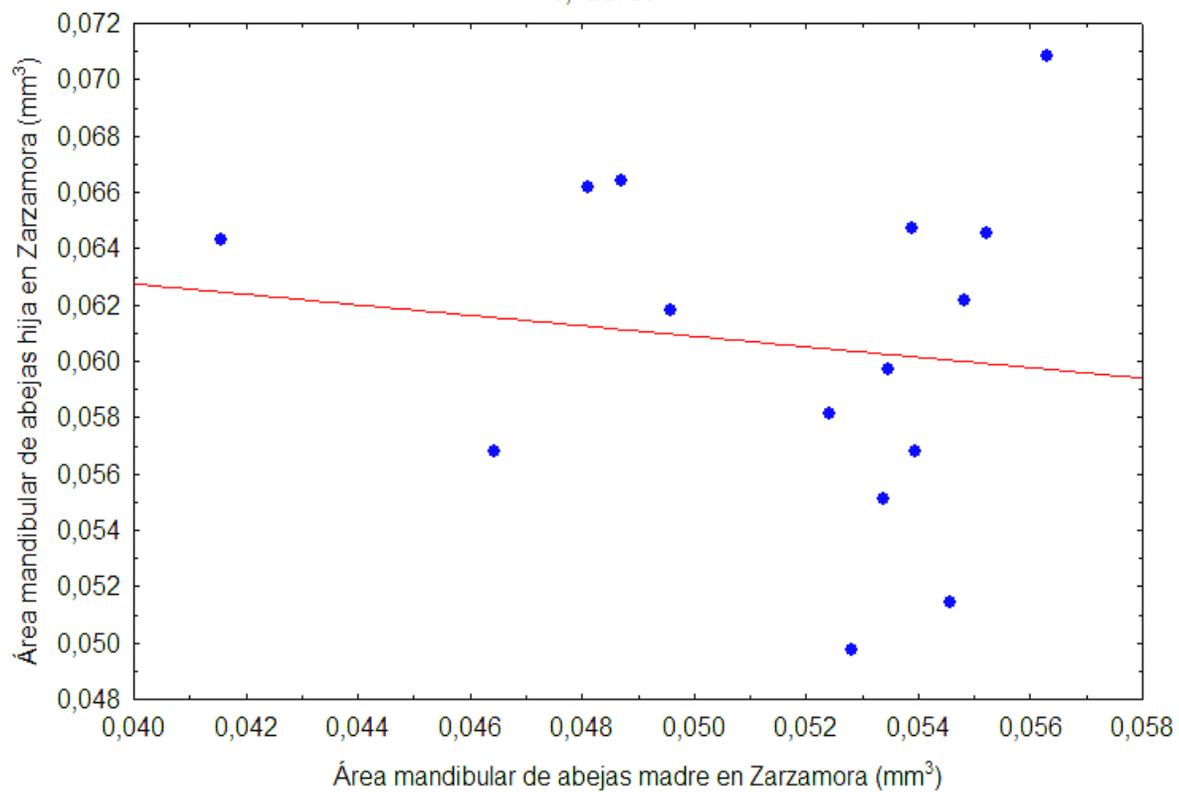




En el caso del área mandibular de las abejas que nidifican en Zarzamora y sus hijas no se observó una asociación significativa ( $p=0,652$ ) ni tampoco positiva sino negativa ( $r=0,126$ ). (Gráfico 8).

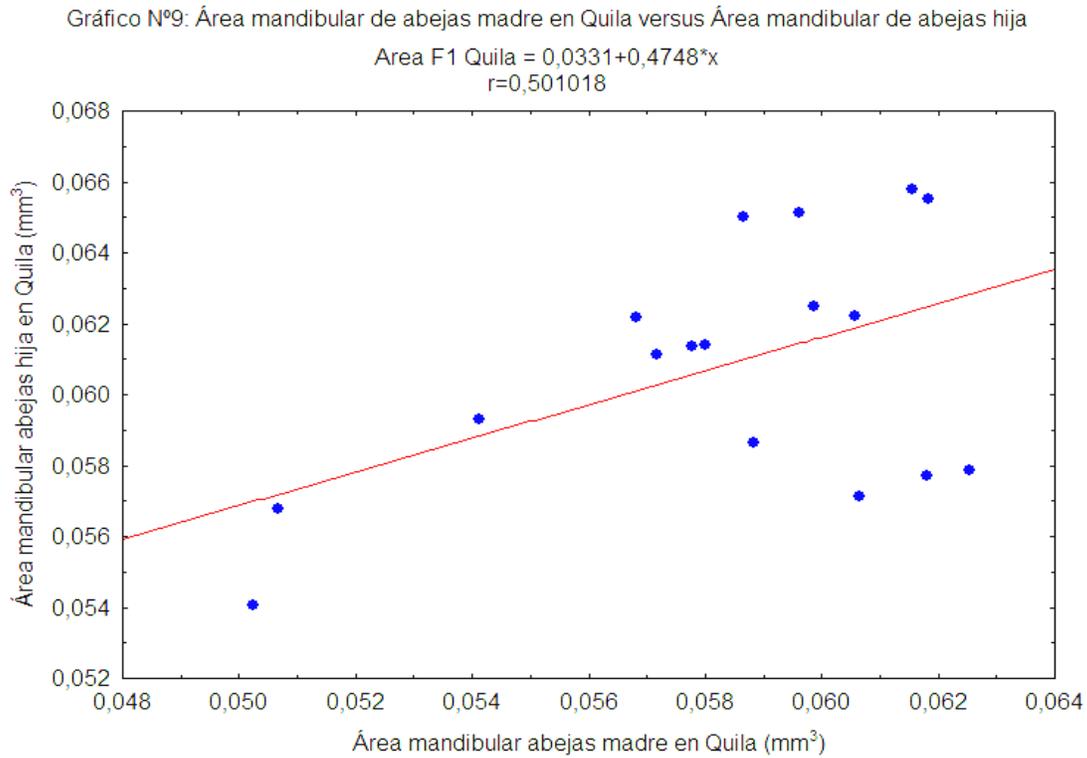
Gráfico N°8: Área mandibular de abejas madre en Zarzamora versus Área mandibular de abejas hija

$$\text{Area F1 zarza} = 0,0702 - 0,1862 * x$$
$$r = 0,126795$$





En el caso del hospedero Quila si se observa una asociación significativa ( $p=0,04$ ) y positiva ( $r=0,501$ ) en cuanto al área mandibular (Gráfico 9).





## VII. DISCUSIÓN

### 1. En relación con el objetivo 1

#### a. Respecto de los atributos mandibulares.

Los resultados obtenidos relacionados con el primer objetivo permiten establecer que el área mandibular de las abejas madre de *M. postica* que nidifican en el hospedero Quila poseen mandíbulas más grandes, por lo cual pueden penetrar sustratos más duros en comparación con abejas madres que tienen mandíbulas más pequeñas, las cuales utilizan sustratos significativamente más blandos, que es el caso de Maqui y Zarzamora. Estos resultados son concordantes con la selección natural direccional que podría estar influyendo sobre el área mandibular de abejas que nidifican en Quila, hospedero considerado como óptimo, y no así en abejas que nidifican en otros hospederos (Flores-Prado *et al.*, 2014). Adicionalmente, a partir de observaciones de campo (Spichiger y Flores-Prado, datos no publicados) se ha evidenciado que es frecuente encontrar muescas y orificios en construcción, en la superficie de tallos de Quila donde abejas han perforado el sustrato vegetal, las cuales no continúan excavando un túnel durante todo el período de nidificación descrito para la especie (Flores-Prado *et al.*, 2008a). Más aún, dichos orificios o muescas permanecen en el mismo estado, en los mismos tallos, durante toda la temporada de nidificación del siguiente año. Posiblemente las abejas que seleccionan dichas ramas poseen tamaños mandibulares más pequeños que no les permiten utilizar el un sustrato de mayor dureza.

#### 2. Respecto de los atributos físicos del hospedero.

En el caso de la dureza de la corteza del hospedero se obtuvieron resultados que reflejan una tendencia similar a la observada en el área mandibular. Es así como el hospedero



Quila es significativamente más duro que Maqui y Zarzamora. Por otra parte, no existen diferencias significativas de la dureza entre Maqui y Zarzamora.

Se podría entender que el uso de un hospedero de nidificación con un mayor valor de dureza pueda implicar un gasto energético, o un costo mayor en cuanto al tiempo de penetración y/o de construcción, pero las abejas madres que nidifican en Quila poseen mandíbulas de mayor área, comparadas con las abejas madres que nidifican en Zarza y Maqui, lo cual sugiere una reducción en el esfuerzo empleado y/o un beneficio en cuanto a utilizar el hospedero óptimo dado que las hembras que lo seleccionan para nidificar exhiben mayor adecuación biológica (Flores-Prado *et al.*, 2014). Esta interpretación es soportada por los datos obtenidos en relación a las comparaciones arquitectónicas entre los nidos construidos en los diferentes hospederos, discutidos a continuación.

### **3. Respecto a las variables arquitectónicas del hospedero.**

#### **a. Diámetro de rama y diámetro de túnel.**

Los nidos construidos en el hospedero Quila poseen un diámetro de rama mayor que en Maqui y Zarzamora, y no existe diferencia en esta variable entre Maqui y Zarzamora. En el caso del diámetro del túnel, los nidos construidos en Quila presentan túneles más anchos en comparación con aquellos construidos en Maqui, pero no respecto de Zarzamora. Estos resultados muestran que las abejas que nidifican en Quila se enfrentan a ramas con mayor diámetro y mayor dureza, pero construyen túneles más anchos que en Maqui (hospedero de menor dureza), probablemente dado que poseen mayor área mandibular. Sin embargo, los valores de ancho de túnel son similares entre los nidos construidos en Quila y Zarzamora aún cuando sus áreas mandibulares difieran. Estos nidos son similares en cuanto al ancho de túnel posiblemente por la escasa resistencia medular del hospedero Zarza que ofrece a la abeja madre la que podría aumentar el



espacio de circulación además de lograr nidos más largos. En el caso del hospedero Quila la situación es distinta ya que posiblemente la abeja madre posea un tamaño corporal mayor y por tanto deba construir un nido de mayor ancho.

### **b. Longitud del Túnel y Número de celdas.**

Con respecto a la longitud del túnel se detectó que los nidos observados en los hospederos Zarzamora y Quila son significativamente más largos que aquellos construidos en Maqui. En relación al número de celdas, se encontró que los nidos construidos en Quila poseen un mayor número de celdas respecto de Maqui y Zarzamora. El número de celdas entre estos dos últimos hospederos es similar. Es así como Quila representaría al hospedero óptimo puesto que las abejas que nidifican en él tienen un mayor valor de adecuación biológica, pues de acuerdo con esta investigación, tales nidos exhiben mayor número de celdas, y sobre la base de datos previos, en tales nidos sobreviven más individuos de la progenie (Flores-Prado *et al.*, 2014). En este contexto, aquellas hembras con mayor área mandibular tendrían mayor posibilidad de construir sus nidos en este hospedero, que es el de corteza más dura. Por lo tanto, hospederos con cortezas más blandas podrían ser utilizados por abejas que posean un área mandibular menor, no obteniendo necesariamente una mayor adecuación biológica. Estos datos son concordantes con resultados previos que evidenciaron selección natural direccional sobre la longitud de los túneles de *M. postica* en Quila y Zarzamora, pero solo mayor adecuación biológica en Quila (Flores-Prado *et al.*, 2014).

### **3. Respecto de la heredabilidad del área mandibular.**

La heredabilidad en sentido estricto de un rasgo, o de un conjunto de ellos, se puede estimar determinando la proporción de la varianza fenotípica que se atribuye a factores genéticos aditivos (Visscher *et al.*, 2008). Además, la heredabilidad se entiende como un



parámetro poblacional que depende de la frecuencia de alelos, de los efectos de las variantes genéticas y de la variación por factores del ambiente (Visscher *et al.*, 2008). Sin embargo, en ocasiones no es posible estimar la heredabilidad en sentido estricto y sólo es posible hacerlo, con menor precisión, en sentido amplio. Existen por tanto dos métodos para estimar heredabilidad de rasgos:

En primer lugar, la heredabilidad en sentido estricto, entendida como la relación de la varianza genética aditiva en la varianza fenotípica total, que dimensiona el grado en que los fenotipos están determinados por la transmisión de genes de los individuos parentales, lo cual puede ser muy variable dependiendo del fenotipo evaluado y su historia evolutiva, de modo que es posible obtener valores mínimos de heredabilidad, (lo que indica que en la expresión del fenotipo en cuestión influye fundamentalmente el ambiente) o valores mayores de heredabilidad (lo que implica una contribución genética-aditiva mayor en la expresión de tal fenotipo) (Falconer & Mackay, 1996). En segundo lugar, se entiende por heredabilidad en sentido amplio la relación de la varianza genotípica total (no solo aditiva) en la varianza fenotípica total, y se refiere al grado en que los fenotipos individuales están determinados por su genotipo. Al igual que en el caso anterior, el resultado final de tal estimación puede tener una mayor contribución ambiental o genética (Falconer & Mackay, 1996). Por otra parte, la heredabilidad de cualquier rasgo ha sido un concepto discutido dado que ésta puede estar explicada por otros mecanismos distintos a los componentes de antes mencionados, de modo que se debe considerar como un sistema de herencia más complejo (Lewontin, 2006). Dentro de éstos se encuentran a) mecanismos epigenéticos, debido a la ocurrencia de metilaciones y acetilaciones de ADN que participan en el control de la expresión del rasgo en cuestión (Maleszka, 2008), b) fenómenos de plasticidad fenotípica que pueden determinar la variabilidad de un rasgo (West-Eberhard, 1989), c) expresión proteica diferencial dependiendo de la ontogenia del individuo (Wolschin & Amdam, 2007) y d) cambios conductuales que determinan



variaciones fenotípicas y bioquímicas (Robert & Elekonich, 2005). Estos mecanismos, que contribuirían a explicar de manera más precisa el sistema de herencia de los rasgos fenotípicos en *M. postica*, no fueron evaluados en esta investigación debido a que se alejan de las posibilidades de estudio dado el conocimiento que se tiene de la expresión de los rasgos analizados, pero no pueden ser descartados.

El sistema estudiado en esta investigación presenta dificultades metodológicas para estimar heredabilidad en sentido estricto, debido a que se requiere de la crianza de abejas, la identificación de los padres y madres de la generación filial y la formación de familias manipuladas, disponiendo de medios hermanos y hermanos completos, a los cuales una vez emergidos como adultos se les pudiera medir los rasgos fenotípicos y compararlos entre sí. Dado que *M. postica* es una especie solitaria, resulta inviable la obtención de los individuos padres, ya que la cópula ocurre en las flores y las hembras luego comienzan a buscar y seleccionar sustratos de nidificación, de modo que cuando se colectan los nidos en formación, sólo se puede obtener las abejas madres y sus hijos e hijas. Por ello la manipulación artificial de la reproducción para la obtención de familias manipuladas resulta igualmente inviable. Alternativamente, existe una manera de estimar la heredabilidad en sentido amplio de rasgos particulares que pueden conferir valores adaptativos diferenciales en una población (o una muestra). Esta consiste en la determinación de la existencia de asociación positiva entre los valores de los rasgos de las hembras y de sus hijas (o hijos, independiente del sexo), por medio de un análisis de regresión lineal, lo cual impide estimar el componente específico de la varianza genética aditiva y, por lo tanto, evaluar la magnitud de la heredabilidad de estos rasgos (Visscher *et al.*, 2008). De esta manera se puede estimar si un rasgo fenotípico es o no heredable a la generación filial sin necesariamente determinar su intensidad. Es así como este procedimiento es el único posible de utilizar en el presente sistema de estudio.



Existen investigaciones sobre heredabilidad en sentido amplio que han explorado la asociación de uno o más caracteres fenotípicos de importancia para adecuación biológica, y que además se presumen heredables, estimando valores de estos rasgos en individuos parentales y su progenie. Este es el caso de una especie parasitoide, *Anagrus delicatus* (Hymenoptera: Mymaridae), que parasita a Homoptera, donde se estimó heredabilidad en sentido amplio en cuanto a la fecundidad y la longitud del ovopositor. Para ello se utilizaron análisis de regresión lineal entre los valores observados en los individuos madre versus hijas para estimar las variaciones de estos rasgos (Cronin & Strong, 1995).

Los resultados de las regresiones lineales sobre la asociación del área mandibular de las abejas madre e hijas de *M. postica* demuestran que este rasgo no es heredable en sentido amplio en las abejas que nidifican en hospederos más blandos en términos de la dureza de su corteza, las cuales a su vez exhiben una menor área mandibular. Sin embargo, existe un componente de heredabilidad en las abejas que nidifican en el hospedero Quila, el cual podría alcanzar como máximo teórico un 50% (dado el valor de  $r$ ). No obstante, dicho valor es altamente esperable que sea menor si se descompone la varianza genética sobre la varianza fenotípica debido a que en la varianza genética están incluidos tres componentes: varianza genética aditiva (que explica la heredabilidad en sentido estricto), varianza genética de dominancia (que no es heredable) y varianza de interacción genotipo ambiente (que tampoco es heredable) (Falconer & Mackay, 1996). Estos resultados son concordantes con la selección natural direccional que estaría operando sobre el área mandibular de las abejas madre que nidifican en el hospedero Quila, mecanismo evolutivo que no estaría operando sobre el área mandibular de las abejas que nidifican en otros hospederos (Flores-Prado *et al.*, 2014). Por tanto las abejas de *M. postica* que tienen la posibilidad de nidificar en este hospedero poseen mandíbulas de mayor área, sufrirían un menor desgaste (Castillo & Cornejo, 2013), podrían heredar su área mandibular, parcialmente, y tendrían un éxito reproductivo diferencial mayor, en comparación con



hembras cuyos valores de área mandibular sean menor, las que mayoritariamente solo podrían nidificar en hospederos de menor dureza, pero que les reportan menor adecuación biológica.

En este contexto resulta de interés discutir el escenario en el que se encuentra esta especie bajo dos modelos evolutivos: el Modelo de Paisajes Adaptativos y el Modelo de Mosaico Coevolutivo.

#### **a) Modelo de Paisaje Adaptativo**

La metáfora de paisaje adaptativo fue introducida por Sewall-Wright en 1932. Esta consiste en una forma de visualizar la evolución en términos de la geometría de las relaciones espaciales. En ellos los puntos más elevados se les denomina “peaks” adaptativos y los más bajos son llamados “valles” adaptativos (McGhee, 2007). Se entiende entonces al paisaje adaptativo como una superficie multidimensional que representa la adecuación biológica promedio de una población, donde un individuo representa un punto de la superficie y la población como una nube de puntos (Futuyma, 1998). En el presente sistema de estudio se dispone de una muestra de una población de *M. postica* que exhibe distintos niveles de adecuación biológica promedio según el hospedero que se ha utilizado, siendo Quila el hospedero óptimo, donde se ha propuesto un mayor valor adaptativo para las mandíbulas de las hembras que lo utilizan para nidificar, las cuales exhiben mayor adecuación biológica en comparación con las abejas que nidifican en Zarza (Flores-Prado *et al.*, 2014). Los resultados de esta investigación también refuerzan la idea de una mayor adecuación biológica en las abejas que utilizan Quila, respecto de aquellas que utilizan Zarza y Maqui como hospederos de nidificación. Esto debido a que el número de celdas construidas por las hembras, el cual es un parámetro utilizado como estimador de fecundidad en abejas carpinteras (Watmough, 1983), fue mayor en las hembras que nidificaron en Quila comparadas con aquellas que lo



hicieron en los otros hospederos. La evidencia publicada para esta especie, junto con los resultados obtenidos en esta investigación, permite entonces sugerir que las mandíbulas de las abejas que nidifican en Zarza y Maqui exhibirían un menor (o tal vez nulo) valor adaptativo, comparado con aquellas que lo hacen en Quila, dado que: a) el área mandibular de las abejas que construyen sus nidos en Zarza y Maqui no poseen un componente de heredabilidad, condición fundamental para que opere la Selección Natural conducente a adaptación fenotípica (Futuyma, 1998), b) efectivamente no se ha evidenciado Selección Natural sobre las mandíbulas de las hembras que nidifican en Zarza (Flores-Prado *et al.*, 2014) y c) los valores de adecuación biológica, estimada por medio de su fecundidad, son significativamente menores en abejas que nidifican en Zarza y Maqui comparadas con aquellas que nidifican en Quila (Flores-Prado *et al.*, 2014). En este escenario el sistema de estudio podría ajustarse, al menos parcialmente, con el modelo de paisaje adaptativo.

#### **b. Modelo de Mosaico Coevolutivo.**

Este modelo evolutivo sostiene que la dinámica general de las interacciones coevolutivas esta accionada por tres componentes de la estructura geográfica: mosaicos de selección, hotspots coevolutivos y mezcla de caracteres (Thompson 1994: 1997). La selección de mosaicos se produce cuando la selección natural de las interacciones varía entre las diferentes comunidades. Los hotspots son comunidades en donde las especies que interactúan tienen efectos recíprocos en cuanto a adecuación biológica. Por último, una combinación del flujo de genes, la deriva genética aleatoria, y los procesos de extinción/colonización, remodela continuamente el paisaje genético sobre el que la futura selección se lleva a cabo, provocando una recombinación del rasgo. Este proceso de coevolución tripartito debe producir tres patrones ecológicos generales: diferentes combinaciones de rasgos coevolucionado en diferentes regiones, la mala adaptación local



dentro de algunas interacciones, y pocos rasgos coevolucionando geográficamente de forma uniforme (Gomulkiewicz *et al.*, 2000). Según las evidencias obtenidas en el sistema de estudio *M. postica*-hospederos de nidificación, y considerando que dicha especie de abeja presenta dos especies de parasitoides de la familia Ichneumonidae; *Grotea gayi* y *Labena sp.* (Flores-Prado & Niemeyer, 2012), resulta interesante considerar los alcances involucrados en un contexto de mosaico coevolutivo, que pudieran estar asociados a este conjunto de especies, desde una perspectiva coevolutiva difusa (Futuyma, 1998).

**Sistema *M. postica*-hospederos-parasitoides:** Ambos parasitoides insertan sus huevos en las celdas de desarrollo en ramas de los tres hospederos vegetales descritos para *M. postica*. Se ha observado que la hembra parasitoide camina por la rama de arriba abajo y viceversa, tocándola con sus antenas antes de curvar abdomen para insertar su ovopositor, poniendo un huevo directamente en una celda que contiene alimento (Flores-Prado *et al.*, 2008a). Aunque no se ha descrito de manera detallada cómo estos parasitoides son capaces de perforar la corteza de los hospederos utilizados por *M. postica* se ha determinado en otras especies de Ichneumonidae, como es el caso de género *Megarhyssa*, que son capaces de taladrar varios centímetros de madera. La entrada del estilo en la madera es ayudada por una secreción producida en la punta de la valva la cual tendría un efecto lítico sobre las fibras de la madera (LeLanni & Nénon, 1999). Por otra parte, se ha determinado que los nidos parasitados de *M. postica* poseen mayor longitud y diámetro, además de menor grosor de la pared del nido, en comparación con los no parasitados (Flores-Prado & Niemeyer, 2012). De acuerdo a los antecedentes presentados previamente se esperaría encontrar una mayor cantidad de nidos parasitados en el hospedero que presenta una menor dureza de corteza o densidad de médula, como es el caso de Maqui y Zarzamora. Es esperable también que estos parasitoides requieran de un mayor esfuerzo de penetración para ovopositar en las celdas de nidos construidos en ramas de Quila y, por tanto, su incidencia de ataque del ectoparásito sea menor, lo que



constituye además una forma de explicar la mayor viabilidad de la progenie de *M. postica* cuando nidifica en Quila.

**Hipótesis co-evolutiva:** Bajo un escenario coevolutivo, en los hospederos han evolucionado varias características que les permite evadir o escapar del ataque de parasitoides; por ejemplo defensas que pueden incluir ataques a potenciales parasitoides u ocultarse dentro de los tejidos de plantas (Hawkins, 1994; Kraaijeveld & Godfray, 2008). Los parasitoides por su parte, evolucionan contra medidas hacia la resistencia del hospedero o algunas especializaciones que les permiten localizar a sus hospederos (Godfray, 1994). La localización de los hospederos ocultos puede lograrse aprovechando sustancias químicas (Xiaoyi & Zhongqi, 2008; Cusumano *et al.*, 2010; González *et al.*, 2011), señales vibratorias que provienen del hospedero (Meyhöfer & Casas, 1999, Joyce *et al.*, 2011) o por medio de ecolocalización. Este mecanismo se caracteriza por despliegues conductuales cuando las hembras localizan un sitio adecuado de ovoposición; las hembras censan el sustrato con las antenas y detectan los ecos reflejados con los órganos subgenales de sus patas (Broad & Quicke, 2000). Las dos especies de ichneumónidos que han sido encontradas en nidos de *M. postica*, fueron observados detectando individuos ocultos en desarrollo dentro de sus nidos por medio de ecolocalización, aunque el uso de semioquímicos para la ubicación de hospedero no debe descartarse (Flores-Prado & Niemeyer, 2012). La ecolocalización ha sido hipotetizada como un carácter filogenéticamente basal en parasitoides (Gauld 1988: Gauld & Wahl 2000: Broad & Quicke, 2000), y *Labena* y *Grotea* son géneros pertenecientes a Labeninae, una familia basal dentro de la familia Ichneumonidae (Quicke *et al.*, 1999; Broad & Quicke, 2000). Por otro lado, el género *Manuelia* ha sido propuesto como el grupo hermano de las demás tribus de Xylocopinae (Flores-Prado *et al.*, 2010), la que por su parte es la subfamilia más basal de Apidae (Michener, 2007). Labeninae comprende a especies que exhiben varios caracteres plesiomórficos (Gauld & Holloway, 1986) y también el género *Manuelia* posee



varios caracteres ancestrales (Michener, 2007). Adicionalmente, se ha hipotetizado un origen Gondwánico para Labeninae y Xylocopinae (Gauld & Holloway, 1986; Engel, 2001). Finalmente, ambas especies de parasitoides y las especies hospederas han sido propuestas como linajes primitivos que han quedado geográficamente aislados (Gauld & Holloway, 1986; Daly *et al.*, 1987). Por lo tanto, se puede inferir una relación coevolutiva hospedero-parasitoide entre *Manuelia*, y *Labena* sp. y *G. gayi*, de larga data. Bajo la hipótesis de que efectivamente *M. postica* y las especies de parasitoides se enmarquen en una asociación coevolutiva, y considerando como marco explicativo parte del Modelo de Mosaico Coevolutivo, se pueden proponer al menos dos posibles escenarios: a) la diversificación en el uso de diferentes hospederos de nidificación y b) el aumento del tamaño mandibular asociado al uso del hospedero considerado como óptimo, *Chusquea quila*. Respecto a la primera situación, es razonable plantear que *M. postica* haya diversificado en la búsqueda de hospederos, considerando que presentaban diferentes propiedades físicas durante la construcción del nido, y aquellos en que disminuía el ataque de los parasitoides por su mayor dureza y/o densidad medular. Estos resultaron ser hospederos que actualmente se consideran como óptimos, cual es el caso de *C. quila* para *M. postica* (Flores-Prado *et al.* 2014). Junto con lo anterior, pudo haber evolucionado un aumento del tamaño mandibular que posibilitaba el uso de tales hospederos. Un mecanismo evolutivo propuesto ha sido la selección natural direccional sobre el área mandibular (Flores-Prado *et al.* 2014). En este contexto se propone que no todas las abejas de la especie exhiben altos valores de tamaños mandibulares, si no que existe una gran variación en los valores de este rasgo, ya que las mandíbulas de las hembras que nidifican en Maqui y Zarzamora son significativamente menores en su área mandibular, respecto a las que nidifican en Quila (Castillo & Cornejo, 2013; Flores-Prado *et al.*, 2014). Estos antecedentes son concordantes con los resultados obtenidos en esta investigación en cuanto a la heredabilidad en sentido amplio, ya que solo las hembras madres e hijas

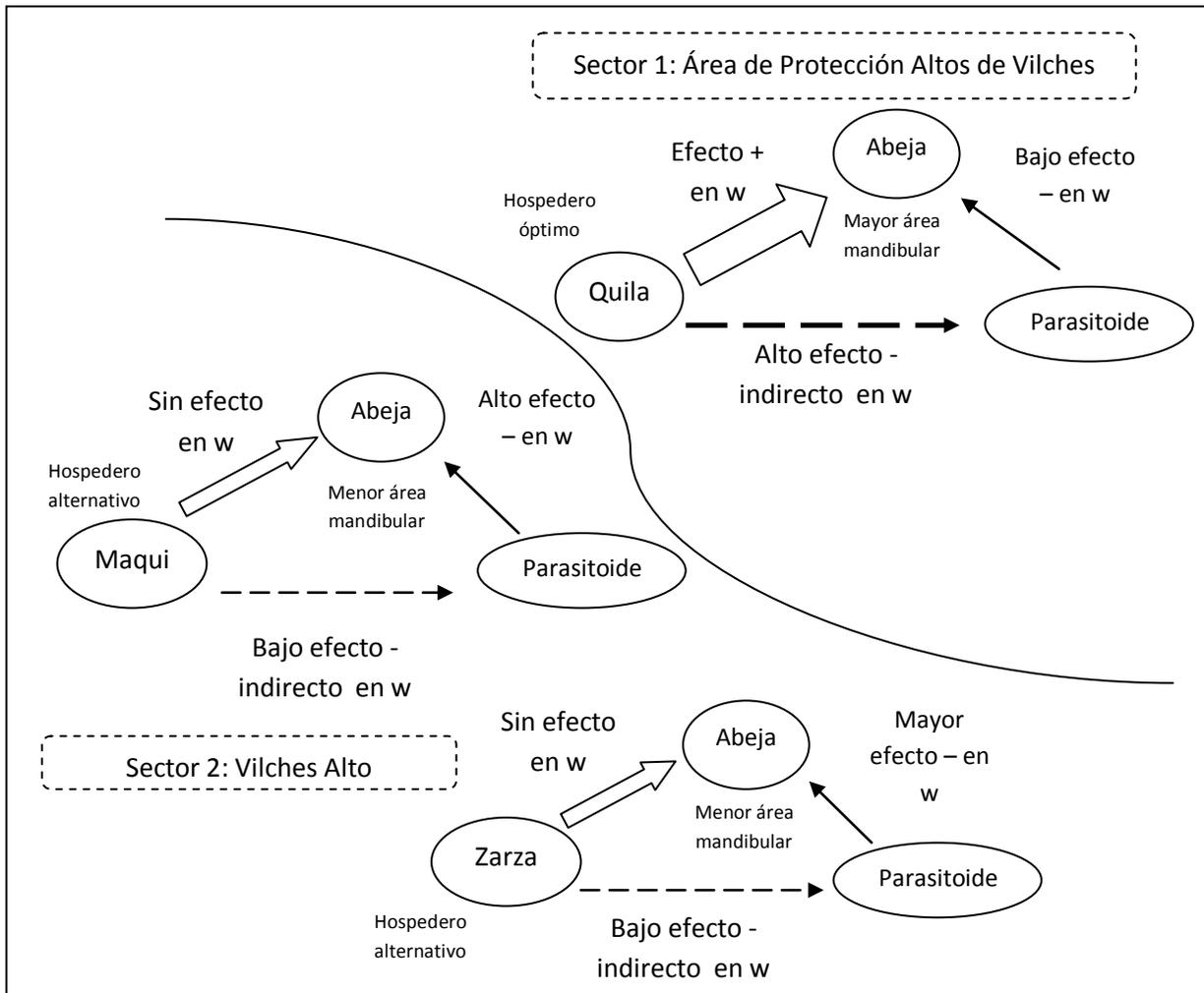


que nidifican en el hospedero Quila exhibieron una asociación positiva y significativa en los valores de área mandibular, resultante del análisis de regresión lineal. Complementariamente, el coeficiente de correlación exhibió un valor intermedio ( $r=0,500$ ) lo cual implica que existiendo un componente de heredabilidad en el rasgo, este como máximo alcanza el 50%. Es probable que si se realizara la descomposición de la varianza genética y se estimara la varianza genética aditiva sobre la varianza fenotípica poblacional (procedimiento estándar para determinar heredabilidad en sentido estricto) (Futuyma, 1998) este valor sea aún menor.

La implicancia de esto resulta interesante dado que aquellas abejas en las cuales se han desarrollado mandíbulas de menor área no puedan acceder a construir sus nidos en el hospedero óptimo, el cual presenta mayores valores de dureza de corteza y de densidad de la médula. En consecuencia, es muy probable que estas abejas al llegar a reproducirse, utilicen hospederos alternativos donde puedan construir sus nidos. Así, bajo un modelo de mosaico coevolutivo, la variación de los rasgos mandibulares y de búsqueda y elección de hospederos de nidificación, podrían corresponder a diferentes combinaciones de rasgos coevolucionados en diferentes regiones. Estos lugares pueden presentar también distinta oferta de recursos de nidificación, inferencia que resultaría importante explorar en futuros estudios. Adicionalmente, la variación de tales rasgos ocurriría parcialmente por el mecanismo de selección natural en abejas que utilizan el hospedero óptimo, pero también en buena medida por otros mecanismos no selectivos en un sistema que además involucra parasitoide-abeja-hospedero de nidificación. Este conjunto de mecanismos evolutivos podría dar cuenta de la mala adaptación local de algunos rasgos fenotípicos involucrados en algunas de las interacciones mencionadas, el cual es uno de los componentes del Modelo de Mosaico Coevolutivo, dado que aquellas poblaciones o subpoblaciones de abejas que nidifican preferentemente en hospederos alternativos, podrían corresponder a poblaciones localizadas en regiones geográficas con baja



abundancia de hospederos óptimos y, probablemente, con valores bajos de adecuación biológica o de crecimientos finitos poblacionales. Así mismo pueden existir efectos indirectos negativos de los hospederos sobre los parasitoides, debido a sus propiedades físicas (como dureza de corteza) que podrían determinar una incidencia de parasitismo diferencial. De la misma manera, las conductas de elección de hospedero podrían estar condicionadas por los tamaños mandibulares de las abejas y la dureza de los hospederos afectando así a la adecuación biológica de las abejas (ver Figura 6).





**Fig. 6.** Cuadro Sinóptico de interacciones sistema Hospedero-Abeja-Parasitoide en dos sectores de colecta contiguos a la Reserva Nacional Altos de Lircay. Las flechas blancas indican efectos directos sobre la adecuación biológica ( $w$ ) de las abejas al nidificar en distintos hospederos. Las flechas negras continuas indican efectos directos de los parasitoides sobre la adecuación biológica ( $w$ ) de las abejas que nidifican en distintos hospederos. Las flechas negras discontinuas indican efectos indirectos sobre la adecuación biológica ( $w$ ) de los parasitoides que ponen sus huevos en los estados inmaduros de las abejas que se desarrollan en distintos hospederos. La línea que separa los dos sectores de colecta representa un sendero. El sector 1 corresponde a un área de amortiguación adyacente a la Reserva Nacional Altos de Lircay, denominado “Área de protección Altos de Vilches”. El sector 2 corresponde a un área contigua al Área de protección Altos de Vilches denominada Vilches Alto.

Estos mecanismos no selectivos también están involucrados en la variación de estos rasgos morfológicos y conductuales bajo el modelo de paisaje adaptativo como fue discutido previamente.



## VIII. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos en el estudio se pueden desprender las siguientes conclusiones:

1. El hospedero Quila presenta ramas con nidos de mayor dureza de corteza que los hospederos Maqui y Zarzamora, y las abejas madre de *M. postica* que nidifican en este hospedero presentan mayor área mandibular que las encontradas en los restantes hospederos de nidificación.
2. Aunque utilizar un sustrato de nidificación de mayor dureza pueda requerir un mayor gasto energético en su construcción, según los resultados obtenidos las abejas de *M. postica* que posean una mayor área mandibular pueden disminuir ese efecto y construir nidos más largos y con mayor número de celdas en el hospedero Quila, considerado de este modo como el óptimo para esta especie.
3. Se ha evidenciado que el área mandibular de las abejas de *M. postica* que nidifican en el hospedero Quila presenta un componente de heredabilidad en sentido amplio, pero no así en el área mandibular de las hembras que nidifican en los otros hospederos.
4. Existe divergencia fenotípica entre hembras de *M. postica* que nidifican en diferentes sustratos de nidificación, los cuales impondrían distintas restricciones para su utilización, como por ejemplo la dureza de sus cortezas. Por tanto las abejas que posean tamaños mandibulares mayores podrían utilizar el hospedero óptimo, que probablemente sea más resistente a la ovoposición de parasitoides y construir nidos con más celdas. En cambio abejas que no dispongan de estos tamaños mandibulares podrían completar sus ciclos de vida en hospederos de menor dureza. En estos sustratos construyen nidos con menos celdas donde posiblemente exista mayor incidencia de ectoparásitos.



5. La asociación entre *M. postica* y sus hospederos de nidificación, podría constituirse como un sistema que aporte evidencias relacionadas con la evolución de rasgos fenotípicos en abejas relacionados con el uso de hospederos de nidificación. Estos hospederos exhiben diferentes propiedades físicas, como la dureza del sustrato caracterizado en este estudio.

## IX. LITERATURA CITADA

- Acosta, F. Morales, M. & Zorrilla, J. (1982). Polimorfismo y desgaste en la pieza mandibular de *Messorbarbarus* (Hymenoptera: Formicidae). *Graellsia* 38: 167–173.
- Andersen, S.O. (2010). Insect cuticular sclerotization: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 40: 166-178.
- Berlocher, S.H. & Feder, J.L. (2002). Sympatric speciation in phytophagous insects: Moving beyond controversy?. *Annual Review of Entomology*. 47: 773-815.
- Broad, G.R. & Quicke D.L. (2000). The adaptive significance of host location by vibrational sounding in parasitoid wasps. *Proc Roy Soc London*. 267, 2403–2409.
- Castillo, N. & Cornejo, T. (2013). Estudio del potencial de sociabilidad de *Manuelia postica* (Hymenoptera: Apidae), Una especie solitaria que nidifica en plantas hospederas alternativas. Tesina para optar al Título de Profesor de Biología, Universidad Metropolitana de Ciencias de la Educación.
- Cronin, J.I. & Strong, D.R. (1995). Genetics of oviposition success of a thelytokous fairy fly parasitoid, *Anagrus delicatus*. *Heredity* 76, 1996: 43-54.



- Cusumano, A. Gonzalez, J.M. Colazza, S. & Vinson, S.B. (2010). Behavioral responses of the parasitoid *Melittobia digitata* to volatiles emitted by its natural and laboratory hosts. *Entomol. Exp. Appl.* 136, 301-307.
- Dale, W.E. (2004). Anatomía fisiología Insectos. [monografía de internet]. Perú, 2004. En: [http://www.lamolina.edu.pe/profesores/wdale/anat\\_fisio\\_insect/2/ANATOM%20%8DA%20FISIOLOG%20%8DA%20INSECTOS.%20GENERALIDADES.%20%20VERSI%20%93N%2001.TO1.%20WILLIAM%20E.%20DALE%20PHD.pdf](http://www.lamolina.edu.pe/profesores/wdale/anat_fisio_insect/2/ANATOM%20%8DA%20FISIOLOG%20%8DA%20INSECTOS.%20GENERALIDADES.%20%20VERSI%20%93N%2001.TO1.%20WILLIAM%20E.%20DALE%20PHD.pdf), última consulta: 25 febrero de 2014.
- Daly, H.V. Balling, S.S. (1978). Identification of Africanized honey bees in the Western Hemisphere by discriminant analysis. *Journal of the Kansas Entomological Society* 51:857-69.
- Daly, H.V. Michener, C.D. Moure, J.S. & Sakagami, S.F. (1987).The relictual bee genus *Manuelia* and its relation to other Xylocopinae (Hymenoptera: Apoidea). *Pan-Pacific Entomologist* 63: 102–124.
- Engel, M.S. (2001) A monograph of the Baltic amber bees and evolution of the Apoidea. *B. Am. Mus. Nat. Hist.* 259, 1-192.
- Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th edn. Longman, New York
- Flores-Prado, L. Chiappa, E. & Niemeyer, H.M. (2008a). Nesting biology, life cycle, and interactions between females of *Manuelia postica*, a solitary species of the Xylocopinae (Hymenoptera: Apidae). *New Zealand Journal of Zoology* 35: 93-102.



- Flores-Prado, L. Aguilera-Olivares, D., Niemeyer, H. (2008b). Reconocimiento de compañeros de nido en *Manuelia postica* (Apidae: Xylocopinae). Un rasgo eusocial presente en una abeja solitaria. *Proceedings of the Royal Society B* 275: 285-291.
- Flores-Prado, L. Flores, S.V. & McAllister, B. (2010). Phylogenetic relationships among tribes in Xylocopinae (Apidae) and implications on nest structure evolution. *Mol. Phyl. Evol.* 57, 237-244.
- Flores-Prado, L. & Niemeyer, H. (2012) Host location by ichneumonid parasitoids is associated with nest dimensions of the host bee species. *Neotrop. Entomol.* 41, 283-287.
- Flores-Prado, L. Pinto, C.F. Rojas, A. & Fonturbel, F.E. (2014). Strong selection on mandible and nest features in a carpenter bee that nests in two sympatric host plants. *Ecology and Evolution* 4: 1820–1827.
- Futuyma, D.J. (1998). *Evolutionary Biology*. 3rd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 403.
- Gauld, I.D. (1988) Evolutionary patterns of host utilization by ichneumonoid parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae and Braconidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 35, 351-377.
- Gauld, I.D. & Holloway, G.A. (1986) Australian ichneumonids of the tribes Labenini and Poecilocryptini. *B. Brit. Mus. (Nat Hist)*: 53, 107-149
- Gauld, I.D. & Wahl, D.B. (2000) The Labeninae (Hymenoptera: Ichneumonidae): a study in phylogenetic reconstruction and evolutionary biology. *Zool. J. Linn. Soc.* 129, 271-347.



- Godfray H.J.C. (1994) Parasitoids: Behavioural and evolutionary ecology. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ. 480 pp.
- Godfray, H.J. (1994) Parasitoids: Behavioural and evolutionary ecology. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ. 480 pp.
- Gomulkiewicz, R. J. N. Thompson, R. D. Holt, S. L. Nuismer & Hochberg M. E. (2000). Hot spots, cold spots, and the geographic mosaic theory of coevolution. *The American Naturalist*. 156:156-174.
- Gonzalez, J.M., Cusumano, A., Williams, H.J., Colazza, S. & Vinson, S.B. (2011) Behavioral and chemical investigations of contact kairomones released by the mud dauber wasp *Trypoxylon politum*, a host of the parasitoid *Melittobia digitata*. *J Chem. Ecol.* 37, 629-639.
- Hansell, M. (1987). Nest building as a facilitating and limiting factor in the evolution of eusociality in the Hymenoptera In: Oxford Surveys in Evolutionary Biology (P. Harvey and L. Partridge, Eds). New York, Oxford University Press. pp. 155–181.
- Heraty, J. & Schauff, M. (1998). Mandibular teeth in Chalcidoidea: function and phylogeny. *Journal of Natural History*. 32: 1227–1244.
- Hawkins, B.A. (1994). Pattern and process in host-parasitoid interactions. Cambridge Univ. Press, Cambridge. 200 pp.
- Hurd, P.D. Jr. (1978). Bamboo-nesting carpenter bees (genus *Xylocopa* (Latreille) of the subgenus *Stenoxylocopa* Hurd and Moure. *Journal of the Kansas Entomological Society* 51:746-764.



- Jervis, M. (1998). Functional and evolutionary aspects of mouthpart structure in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society*. 63: 461–493.
- Joyce, A.L. Millar, J.G. Gill, J.S. Singh, M. Tanner, D. & Paine, T.D. (2011) Do acoustic cues mediate host finding by *Syngaster lepidus* (Hymenoptera: Braconidae)? *Biocontrol.*, 56, 145-153.
- Kraaijeveld, A.R. & Godfray, H.C.J. (2008) Linking behavioral ecology to the study of host resistance and parasitoid counter-resistance. En: Wajnberg, E., Bernstein, C. & van Alphen, J. (eds). *Behavioral ecology of insect parasitoids. From theoretical approaches to field applications*. Blackwell Publishing, Oxford. pp 315-445.
- Le Lanni, J. & Nénon, P (1999). Morfología funcional del ovipositor en *Megarhyssa atrata* (Hymenoptera ,Ichneumonidae) y su penetración en la madera. *Zoomorphology* Volumen 119: 73-79.
- Leweontin, R.C (2006). The analyses of variance and the analysis of causes.1974.*Int. J. Epidemiol* 35:520:525
- Maleszka, R. (2008). Epigenetic integration of the environmental and genomic signals in honey bees. *Epigenetics* 3: 188-192.
- McGhee, G.R (2007). *The Geometry of Evolution: Adaptive Landscapes and Theoretical Morphospaces*. Cambridge University Press: 2-3
- Meyhöfer, R. & Casas, J. (1999) Vibratory stimuli in host location by parasitic wasps. *J. Insect Physiol.* 45, 967-971.



- Michener, C.D. (1979). Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66: 277–347.
- Michener, C.D. (1985). From solitary to eusocial: need there be a series of intervening species? In: Hölldobler B, Lindauer M ed. *Experimental behavioral ecology*. Stuttgart, Fischer Verlag. Pp. 293–305.
- Michener, C.D. (2007). *The Bees of the World*. The John Hopkins University Press. Baltimore, Maryland.
- Quicke, D.L.J., López-Vaamonde, C. & Belshaw, R. (1999). The basal Ichneumonidae (Insecta, Hymenoptera): 28S D2 rDNA considerations of the Brachycyrtinae, Labeninae, Paxylommatinae and Xoridinae. *Zool. Scr.* 28, 203-210.
- Roberts, S.P. & Elekonich, M.M. (2005). Muscle biochemistry and the ontogeny of flight capacity during behavioral development in the honey bee, *Apis mellifera*. *J Exp Biol* 2008: 4193-4198.
- Schaber, B. Kokko, E. Entz, T. Richards, E. (1993). The effect of spring burning of seed alfalfa fields on leaf characteristics and on mandibular wear of female leafcutter bees, *Megachile rotundata* (F.) (Hymenoptera: Megachilidae). *Canadian Entomologist* 125: 881–886.
- Smith, B. Weller, C. (1989). Social competition among gynes in Halictine bees: The influence of bee size and pheromones on behavior. *Journal of Insect Behavior* 2: 397-411.
- Thompson, J. N. (1994). *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, Chicago.



- Thompson, J. N. (1997). Evaluating the dynamics of coevolution among geographically structured populations. *Ecology* 78: 1619–1623.
- Toro, H. Chiappa, E. & Tobar, C. (2003). *Biología de insectos*. Tercera Edición 2009. Ediciones Universitarias de Valparaíso, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
- Van Alstyne, K & Paul, V. (1992). Chemical and structural defenses in the sea fan *Gorgonia ventalina*: effects against generalist and specialist predators. *Journal of the International Society for Reef Studies* 11:155-159.
- Visscher, P. Hill, W & Wray, N, (2008). Heritability in the genomics era —concepts and misconceptions. *Nature Review: Genetics* 9: 225.
- Watmough, R.H. (1983). Mortality, sex ratio and fecundity in natural populations of large carpenter bees (*Xylocopa* spp.). *Journal of Animal Ecology* 52: 111-125.
- West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic Plasticity and the Origins of Biodiversity. *Annu Rev Ecol Syst* 20: 249-278.
- Williams, N., Goodell K. (2000). Association of mandible shape and nesting material in *Osmia panzer* (Hymenoptera: Megachilidae): a morphometric analysis. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 318–325.
- Wolschin, F. & Amdam, G.V. (2007). Plasticity and robustness of protein patterns during reversible development in the honey bee (*Apis mellifera*). *Anal Bioanal Chem* 389: 1095-1100.
- Wright, S. (1932). The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding, and selection in evolution. *Proceedings of the Sixth International Congress on Genetics*: 355-366



UNIVERSIDAD METROPOLITANA  
DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA  
Magister en Ciencias mención Entomología



-Xiaoyi, W. & Zhongqi, Y. (2008) Behavioral mechanisms of parasitic wasps for searching concealed insect hosts. *Acta Ecol. Sinica*. 28, 1257-1269.



UNIVERSIDAD METROPOLITANA  
DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
INSTITUTO DE ENTOMOLOGÍA  
Magister en Ciencias mención Entomología

