

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Relación del gregarismo en el crecimiento y supervivencia de larvas de *Methona confusa* (Lepidoptera: Nymphalidae, Ithomiinae).

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada
en Ciencias Biológicas**

JANETH ELIZABETH RENTERÍA GALLEGOS

Quito, 2019

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Srta. Janeth Elizabeth Rentería Gallegos ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dra. María Fernanda Checa

Directora de la Disertación

Quito, 24 de enero de 2019

DEDICATORIA

A mi familia, pues sin su
apoyo incondicional no
hubiese llegado tan lejos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi familia por ayudarme a seguir mis sueños, especialmente a mi madre, sin la cual esto no sería posible.

A mi directora de tesis, la PhD. María Fernanda Checa, por su paciencia, apoyo, sabiduría y consejo al ayudarme en la realización de este trabajo.

A la PhD. Emma Despland por su tiempo, ayuda y confianza para realizar este trabajo. Gracias a su financiamiento esta investigación fue posible.

Al MSc. Álvaro Barragán y al MSc. Diego Guevara por su ayuda al pulir este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

1. Resumen	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción.....	3
4. Objetivos.....	6
4.1. Objetivo General.....	6
4.2. Objetivos Específicos	6
5. Materiales y Métodos	7
5.1. Área de Estudio.....	7
5.2. Población de Estudio	7
5.3. Ambiente de Exposición.....	7
5.4. Proceso Experimental y Unidad experimental.....	8
5.5. Recolección de Datos.....	9
5.6. Análisis de Datos	9
6. Resultados.....	11
6.1. Supervivencia.....	11
6.2. Tasa de Crecimiento	12
6.3. Peso Final de Pupa	12
6.4. Periodo de Estadio Larvario a Pupa.....	13
7. Discusión	15
7.1. Supervivencia.....	15
7.2. Tasa de Crecimiento	19
7.3. Peso Final de Pupa	21
7.4. Periodo de Estadio Larvario a Pupa.....	22
8. Conclusiones.....	24
9. Recomendaciones	25
10. Referencias Bibliográficas.....	26
11. Figuras	31
12. Tablas.....	42
13. Anexos	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Methona confusa</i>	31
Figura 2. Larvas en ambiente abierto/ transecto de bosque.....	32
Figura 3. Larvas en ambiente controlado (cerrado/ mariposario).....	32
Figura 4. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias del experimento 1 (larvas desde el primer instar en ambiente cerrado/mariposario).....	33
Figura 5. Curva de supervivencia del ambiente cerrado (mariposario) y abierto (bosque) de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	34
Figura 6. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y solitarias del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario).....	35
Figura 7. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en cada ambiente del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario).....	36
Figura 8. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado (mariposario) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	37
Figura 9. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto (bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	37
Figura 10. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto (bosque) y cerrado (mariposario) combinados del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	38
Figura 11. Peso de pupa final de las larvas agregadas y solitarias del experimento 1 (larvas desde el primer instar en ambiente cerrado/mariposario).....	39
Figura 12. Periodo de días que les tomó a las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar) en pupar, en ambiente cerrado (mariposario) y abierto (bosque).....	40
Figura 13. Temperatura tomada con data loggers de los ambientes cerrado (mariposario) y abierto (bosque)	41

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Test de proporción donde se compara la mortalidad de todas las larvas en el ambiente cerrado (mariposario) y el ambiente abierto (bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	42
Tabla 2. Test de proporción donde se compara la mortalidad de las larvas en grupo y las larvas solitarias en el ambiente cerrado (mariposario) y el ambiente abierto (bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	42
Tabla 3. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado (mariposario) del experimento 1 (larvas desde el primer instar).....	42
Tabla 4. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado (mariposario) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	43
Tabla 5. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto (bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	43
Tabla 6. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado (mariposario) y abierto (bosque) combinados del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).....	44
Tabla 7. Anova de la interacción del peso final de la pupa del experimento 1 (larvas desde el primer instar en ambiente cerrado/mariposario).....	44
Tabla 8. Anova de la interacción del peso final de la pupa de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	44
Tabla 9. Anova de la interacción del periodo de días que tomaron las larvas en pupar del experimento 1 (larvas desde el primer instar en ambiente cerrado/mariposario).....	45
Tabla 10. Anova de la interacción del periodo de días que tomaron las larvas en pupar del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	45

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en ambiente cerrado (mariposario) y libre de depredadores del experimento 1 (larvas desde el primer instar)	46
Anexo 2. Análisis de supervivencia del ambiente cerrado (mariposario) y el abierto (bosque) de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	46
Anexo 3. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y solitarias del experimento 2 (larvas desde el tercer instar)	47
Anexo 4. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en cada ambiente (cerrado/mariposario y el abierto/bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).....	48

1. RESUMEN

El comportamiento gregario no es común en las larvas de especies de Lepidoptera (5-15%), pero se puede encontrar particularmente en la familia Nymphalidae. Existen ventajas al ser larvas gregarias, como, por ejemplo, mayores defensas contra depredadores, más supervivencia, facilitación de alimentación, menor tiempo de estadio larvario, entre otros; pero también existen desventajas, como, competencia intraespecífica, transmisión de enfermedades, canibalismo, entre otras. Para este estudio utilizamos a la especie *Methona confusa* (Lepidoptera: Nymphalidae, Ithomiinae) para determinar la influencia del gregarismo y el tipo de ambiente (cerrado/mariposario y abierto/bosque) en el crecimiento y supervivencia de sus larvas. El estudio se realizó en la Reserva Privada Masphi. El estudio se dividió en dos experimentos; el experimento 1 conformado por larvas en primer instar expuestas a un ambiente cerrado; y el experimento 2 conformado por larvas en tercer instar, expuestas a un ambiente abierto y cerrado. Se separó las larvas en grupos de 10 individuos (gregario) y en larvas individuales (solitario). Se realizaron mediciones cada 4 días. Finalmente, se pesó y midió las larvas 24 horas después de pupar. Este estudio proporciona evidencia que el gregarismo es ventajoso, debido a que, las larvas agrupadas del experimento 1 mostraron mayor supervivencia que las solitarias, posiblemente debido a la facilitación de alimentación al estar en grupo. También, se obtuvo que, en la supervivencia del experimento 2, el ambiente cerrado es donde hay mayor supervivencia de las larvas, esto se atribuye a la falta de estrés ambiental y depredadores que tienen las larvas de ambiente cerrado. En el peso final de pupa, en el experimento 1, el peso final es mayor en las larvas solitarias, posiblemente debido a que las larvas solitarias se dedicaron a alimentarse por periodos más largos, pocos días antes de hacerse pupas. En el periodo de larva a pupa, en el experimento 2, las larvas de ambiente cerrado puparon más rápido, posiblemente como consecuencia de temperaturas mayores registradas en ese ambiente en comparación al abierto. Se espera obtener más información para un mejor entendimiento de los costos y beneficios asociados con el comportamiento gregario de *Methona confusa*.

Palabras clave: ambiente, crecimiento, gregario, *Methona confusa*, supervivencia.

2. ABSTRACT

Gregarious behavior is not common in larvae of Lepidopteran species (5-15%), but it is widespread in Nymphalidae. There are several advantages associated with gregarious larvae, such as greater defenses against predators, higher survivorship, food facilitation, faster larval development, among others. However, there are also disadvantages, such as intraspecific competition, transmission of diseases and cannibalism. For this study we used the specie *Methona confusa* (Lepidoptera: Nymphalidae, Ithomiinae) to determine the influence of gregariousness and the type of environment (close/butterfly garden and open/forest) on the growth and survival of its larvae. The study was conducted in the Private Reserve of Masphi. The study was divided into two experiments, experiment 1 which included which included first instar larvae, exposed to a closed environment; and experiment 2 which included third instar larvae, exposed to an open and closed environment. Larvae were separated into groups of 10 individuals (gregarious) and into one individual larvae (solitary). Measurements were made every 4 days. Finally, the larvae were weighed and measured 24 hours after pupation. This study provides evidence that gregariousness is advantageous, because the grouped larvae of experiment 1, showed higher survival rates than solitary larvae, possibly due to the facilitation of feeding that occurs when being in a group. Also, in experiment 2, survival was significantly higher in a closed environment compared to the open environment mainly due to the lack of environmental stress (e.g. weather) and predators. Final pupal weight was significantly higher for solitary larvae compared to gregarious larvae in experiment 1, possibly because the solitary larvae feed for longer periods prior to becoming pupae. Larvae pupated faster in closed environment due to higher temperatures. More information is required to fully understand the cost and benefits associated with gregarious behavior in *Methona confusa*.

Key words: environment, growth, gregarious, *Methona confusa*, survival

3. INTRODUCCIÓN

El comportamiento gregario, que hace que los organismos se mantengan en grupo, se presenta en varios órdenes de insectos en alguna etapa de su vida, puede presentarse durante la alimentación, reproducción y/o oviposición. Se puede considerar al gregarismo como un comportamiento de especies sociales, que viven en colonias, como Himenoptera, pero está representado en varios órdenes de insectos que no se consideran sociales, como Lepidoptera, Ortoptera, Hemiptera, Diptera, entre otros (Capinera, 2008).

Las especies de Lepidoptera, en general, ponen sus huevos de manera individual y sus larvas, igualmente, optan por un comportamiento solitario (Clark y Stanley, 1997), pero la vida gregaria es elegida por el 5%-15% de especies (Inouye y Johnson, 2005), que están distribuidas en cerca de 20 familias. El gregarismo es una característica común en la familia Nymphalidae (Inouye y Johnson, 2005). Al ser comparado con otros insectos, el comportamiento gregario en Lepidoptera es considerado como una estructura social simple, ya que, usualmente el número de individuos dentro del grupo no es muy grande. Además, el grupo está generalmente compuesto por solo una generación y los grupos no son muy longevos (Allen, 2010).

Se ha evidenciado que existen ventajas al vivir en gregarismo. Existen muchas características que se ven influenciadas positivamente debido al gregarismo como, la mayor probabilidad de supervivencia y de dejar descendencia en comparación de las especies solitarias. Las larvas en grupo se alimentan de una manera más eficiente que las solitarias, pues, el costo de competencia es menor al beneficio. Ser gregarios ayuda a los instar tempranos a superar de mejor forma las defensas de la planta mediante un ataque grupal a un solo lugar de la hoja, lo que evita que la planta pueda liberar aleloquímicos, ayuda a superar defensas físicas como tricomas o la dureza de la hoja (Fiorentino et al., 2014) y también defensas químicas (Despland y Simpson, 2005). Alimentarse de manera más efectiva da la posibilidad de reducir el tiempo de estadio larval, disminuyendo la exposición de la larva a causas de mortalidad y, posiblemente, resultando en adultos más grandes que dejarán mayor descendencia (Inouye y Johnson, 2005). También, las larvas tienen una mayor defensa hacia depredadores y parásitos, por ejemplo, las larvas pueden desplegar colores aposemáticos, por lo que estar agregadas tendrían un efecto visual más efectivo contra sus depredadores (Inouye y Johnson, 2005; Despland y Simpson, 2005). Otra ventaja es la termorregulación y prevención de la desecación (Reader y Hochuli, 2003; Lawrence, 1990;

Clark y Faeth, 1998), ya que, al estar todas juntas producen una estructura tipo carpa o invernadero con sus cuerpos, esto logra crear un microclima interno estable, diferente al externo (Joos et al., 1988). No solo existen beneficios para las larvas, también los beneficios se dan a nivel de las hembras adultas. Las hembras reducen el tiempo de búsqueda de un hospedero cuando realizan puestas de mayor tamaño (Janz, 2002), de tal forma que, el gregarismo puede ser una reacción al existir menos hospederos disponibles (Courtney, 1984). Las hembras que ovipositan por más tiempo pueden ser menos conspicuas para sus depredadores, pues no se exponen visiblemente mediante vuelos frecuentes al buscar otra planta hospedera y pueden mantenerse cubiertas por la vegetación (Stamp, 1980). Sin embargo, existen también aspectos negativos que acompañan al gregarismo

El gregarismo tiene algunas desventajas, tanto para los huevos, larvas y adultos, como por ejemplo: tendencia a ser de menor tamaño (Wiklund y Persson, 1983), incremento de los niveles de competencia intraespecífica, la probabilidad de transmisión de enfermedades, el canibalismo y la atracción a depredadores y parásitos (Reader y Hochuli, 2003; Lawrence, 1990).

Las mariposas de la subfamilia Ithomiinae (Nymphalidae) se caracterizan por presentar colores aposemáticos en las alas que emiten señales de alerta sobre su posible toxicidad o peligrosidad a depredadores (Massuda y Trigo, 2009). Es muy común que especies que presentan características aposemáticas tengan comportamientos gregarios (Hatle y Salazar, 2001; Gamberale y Tullberg, 1996; Sillén-Tullberg, 1988; Gagliardo y Gilford, 1993; Despand y Simpson, 2005; Hunter, 2000). El género *Methona* (Ithomiinae) presenta una coloración aposemática también durante el estadio larvario, las larvas son negras con anillos amarillos (Tavares et al., 2013), característica que no es atractiva para depredadores. La información sobre este género de mariposas es aún muy limitada (Hill y Tipan, 2008).

La especie utilizada para este estudio fue *Methona confusa*, esta especie está ampliamente distribuida en Sudamérica, incluyendo Ecuador (Hill y Tipan, 2008); esta se alimenta de plantas del género *Brunfelsia* (Solanacea), aparentemente de manera monófaga. Esta especie oviposita en grandes grupos en el envés de las hojas, los huevos eclosionan después de aproximadamente 5 días, las larvas pasan por 5 instar o fases larvarias hasta llegar a pupar (Hill y Tipan, 2008). El tiempo que se demora la larva en llegar a la fase de pupa desde la eclosión es variable dependiendo la especie, siendo aproximadamente 20 días en *Methona themisto* (Massuda y Trigo, 2009), de 22 a 36 en *Methona confusa confusa* y de 23 a 32 en *Methona curvifascia* (Hill y Tipan, 2008). Se escogió esta especie de Lepidoptera

debido a su comportamiento gregario y a su gran abundancia en el criadero de mariposas del lugar de estudio.

En este estudio se analizó la influencia del gregarismo y el ambiente (cerrado/mariposario vs. abierto/bosque) en el crecimiento y supervivencia de las larvas de *Methona confusa*. Se utilizó algunas variables para determinar el crecimiento y supervivencia: peso larvario, peso final de las pupas, duración del estadio larvario y tasa de mortalidad de las larvas. La hipótesis plantea que las larvas colocadas en grupos gregarios tendrán una mayor supervivencia, mayor peso en el estadio larvario, mayor peso en pupa y una duración más corta del estadio larvario, comparado con las larvas que crecen de manera solitaria. También se plantea que estas variables tendrán mejores valores en un ambiente controlado (mariposario) comparado a un ambiente natural (transectos distribuidos en bosque primario), debido a que dentro del mariposario no experimentarán las fuentes de estrés que las larvas del ambiente natural atraviesan, tales como, depredadores y factores climáticos (lluvia o viento). Al utilizar un ambiente controlado se puede ver de manera más clara la diferencia entre larvas gregarias y solitarias.

Este estudio está orientado a comprender por qué algunas especies de Lepidoptera han adoptado este comportamiento gregario en lugar del comportamiento solitario, el cual es mucho más común. Este estudio es importante porque nos permite analizar el efecto y los beneficios del gregarismo en algunos aspectos de vida y desarrollo de *Methona confusa*, como: peso larvario, peso final de pupa, duración del estadio larvario y supervivencia. En un principio se puede presumir que todas las especies gregarias tienen ventaja sobre las especies solitarias, pero se ha demostrado que esto no sucede en todas las especies, y en algunas solo influye en un aspecto, como el peso de la larva, pero no influye en otros aspectos, como la supervivencia (Denno y Benrey, 1997); por lo que es necesario explorar los aspectos que son influenciados por el comportamiento gregario de todas las especies posibles. Se han realizado estudios donde se intenta comprender el porqué del comportamiento gregario de la subfamilia Ithomiinae (Pinheiro et al., 2008), pero no se han realizado tantos estudios a nivel de especies. La especie *Methona confusa* no está lo suficientemente comprendida (Hill y Tipan, 2008; Murgas et al., 2017), en sí, los aspectos sobre el gregarismo del género *Methona* han sido poco o nulamente estudiados. Por esto es necesario dedicar esfuerzos mayores en comprender el aspecto gregario de *Methona confusa*, lo cual, ayudará a comprender más sobre todo este género y por ende de la subfamilia Ithomiinae.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la influencia del comportamiento gregario en el crecimiento y supervivencia de las larvas de *Methona confusa* en un ambiente cerrado y controlado (dentro del mariposario) y un ambiente abierto y natural (en un transecto en el bosque).

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la influencia del gregarismo en la supervivencia de las larvas de *Methona confusa* hasta llegar a pupa en un ambiente cerrado y uno abierto.
- Establecer si el gregarismo afecta la duración del estadio larvario de *Methona confusa*, en un ambiente cerrado y uno abierto.
- Analizar el efecto del gregarismo en el peso de larvas de *Methona confusa* en diferentes lapsos de tiempo en un ambiente cerrado y uno abierto.
- Examinar la influencia del gregarismo en el peso final de la pupa en un ambiente cerrado y uno abierto.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. ÁREA DE ESTUDIO

Las observaciones fueron realizadas desde el 1ro de marzo al 6 de abril del 2018 en la Provincia de Pichincha, Ecuador, en la Reserva Privada Masphi (0°09'59.3"N 78°52'47.6"W), ubicada en la vía Pacto-Pachijal; esta reserva corresponde a un Bosque Siempreverde Piemontano (Sierra, 1999). El experimento se realizó en el mariposario de la reserva y en un transecto, el cual estuvo ubicado al borde de la carretera camino al mariposario de la reserva.

5.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

El objeto de estudio escogido fue la especie de mariposa *Methona confusa* (Lepidoptera: Nymphalidae, Ithomiinae) (Figura 1), presente entre los especímenes que se producen en el mariposario de la reserva. La hembra de esta especie deposita sus huevos de manera gregaria.

Dividimos a los individuos de nuestra investigación en dos grupos, los cuales llamaremos experimento 1 y experimento 2. El experimento 1 fue conformado por larvas en primer instar, de un día después de la eclosión, con peso entre 0.001g a 0.003g, y solo fueron expuestas a un ambiente cerrado/mariposario. El experimento 2 fue conformado por larvas en tercer instar que tuvieran un peso entre 0.030g a 0.059g, fueron expuestas a un ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario. La razón de esta división es ver la diferencia en los efectos del gregarismo en diferentes etapas larvarias de *Methona confusa*. El experimento 1 no tuvo exposición a ambiente abierto, debido a que, todas las larvas del ambiente abierto murieron antes de obtener cualquier tipo de resultado relevante. Este estudio se realizó en una sola generación (F1).

5.3. AMBIENTE DE EXPOSICIÓN

Se colocó estos grupos dentro de un mariposario, que se clasificó como un área cerrada, y en el transecto, un área natural y abierta. En el mariposario, las larvas se encuentran libres de factores de estrés ambiental presentes en el transecto, como los

depredadores y factores climáticos, como la lluvia y los fuertes vientos, ya que, las larvas serán colocadas en vitrinas ubicadas dentro de un invernadero. Esto permitió ver los efectos del gregarismo sobre las larvas con menos variables (factores de estrés).

En el transecto, las larvas de cada tratamiento se colocaron en ramas de la planta hospedera (*Brunfelsia* sp.), estas ramas se situaron en botellas plásticas a 1.65 metros del piso (Figura 2), las ramas fueron cambiadas pasando dos días al principio, posteriormente, fueron cambiadas diariamente debido al requerimiento nutricional de las larvas. Un plato plástico fue colocado en la boca de la botella para facilitar la obtención de cápsulas cefálicas y para evitar que las larvas se caigan. Las repeticiones en el transecto fueron colocadas a 5 metros de distancia una de otra.

Dentro del mariposario también se colocó cada tratamiento en botellas plásticas con ramas de la planta hospedera (*Brunfelsia* sp.) (Figura 3), las cuales fueron cambiadas pasando dos días al principio y posteriormente fueron cambiadas diariamente debido al requerimiento nutricional de las larvas. Todas las repeticiones fueron colocadas en una vitrina, con una separación suficiente para que no haya contacto una con la otra.

Tanto las larvas de transecto como las del mariposario fueron revisadas diariamente.

5.4. PROCESO EXPERIMENTAL Y UNIDAD EXPERIMENTAL

Para el experimento 1, se colocó 10 larvas por rama para representar el grupo gregario y se hizo 8 repeticiones, dándonos un total de 80 individuos; y para el grupo solitario se colocó una larva por rama y se realizó 16 repeticiones de larvas solitarias, dándonos un total de 16 individuos. No se pudo poner un equivalente de larvas solitarias (16) y larvas gregarias (80) debido a falta de espacio y de larvas. En este experimento solo se utilizó el ambiente cerrado; esto se debe a que todas las larvas del ambiente abierto murieron en los primeros días, sin dejar información relevante.

Para el experimento 2, se colocó 10 larvas por rama para representar el grupo gregario y se hizo 10 repeticiones, dándonos un total de 100 individuos; y para el grupo solitario se colocó una larva por rama y se realizó 20 repeticiones de larvas solitarias, dándonos un total de 20 individuos, dentro del mariposario. En el transecto, se situó 10 larvas por rama para representar el grupo gregario y se hizo 10 repeticiones, dándonos un total de 100 individuos; para el grupo solitario se colocó una larva por rama y se realizó 28 repeticiones de larvas solitarias, dándonos un total de 28 individuos. En el transecto se colocó dos repeticiones solitarias y una grupal en cada tramo de transecto. Las repeticiones fueron distribuidas en el

transecto y en el mariposario cuando las larvas alcanzaron el peso establecido, este proceso tomó 12 días.

5.5. RECOLECCIÓN DE DATOS

Se realizaron mediciones cada 4 días, para tener la mayor cantidad de datos sin perturbar en exceso a las larvas, en estas mediciones se tomó en cuenta el peso y la longitud de las larvas. Finalmente se pesó y midió las larvas 24 horas después de haberse convertido en pupa, tomando también medidas de alto, largo y ancho.

Se revisó diariamente los experimentos, teniendo un registró de las larvas que morían o iban desapareciendo, ambos casos se tomaron como eventos de muerte.

Se colocó un data logger en el transecto y otro en el mariposario desde el 12 de marzo. Estos data loggers fueron usados para el registro de medidas de temperatura y humedad.

5.6. ANÁLISIS DE DATOS

En los dos experimentos, los datos fueron analizados mediante una comparación entre las variables de las larvas en grupos solitarios y gregarios, y en los distintos ambientes (si fuera pertinente), mediante diferentes métodos estadísticos.

Se realizó un test de proporción en “R”, para confirmar si la mortalidad era significativa. Se comparó la mortalidad entre los grupos gregarios y solitarios, se tomaron las larvas del ambiente cerrado/mariposario y abierto/bosque para este análisis; también se comparó la mortalidad entre las larvas del cerrado/mariposario y abierto/bosque. Luego, se ejecutó un análisis de supervivencia en “R”; se analizó la supervivencia entre las larvas de ambiente abierto y cerrado y entre las larvas de los grupos gregarios y solitarios (entre las larvas totales de ambos ambientes). De igual manera, se comparó las supervivencia entre gregarios en ambiente abierto, gregarios en ambiente cerrado, larvas solitarias en ambiente abierto/bosque y larvas solitarias en ambiente cerrado/mariposario. En este análisis se observó el porcentaje de supervivencia en diferentes días, durante todo el experimento.

Se hizo un ANOVA de dos vías en “R” para analizar el peso final de la pupa y ver si el peso de pupa de cada ambiente y tipo de agrupación era significativo. Para obtener el peso final de las pupas, estas se pesaron 24 horas después de que la larva haya pupado. Se relacionó la variable de tipo de agrupación con el peso de la pupa, la variable ambiente con

el peso de la pupa y una combinación de las variables agrupación, ambiente y peso de la pupa. En estos análisis, el peso larvario fue la variable dependiente.

Para analizar el crecimiento de las larvas en cada agrupación y en cada ambiente se utilizó un ANOVA de medidas repetidas, en “PAST”, un software gratuito para análisis científico de datos. Para esto se tomó 5 medidas de peso en 5 tiempos diferentes, siendo la primera medida la de la larva al ingresar al experimento y la última medida el peso de la pupa. Se comparó estas medidas entre el tipo de agrupación y entre tipo de ambiente, para relacionar el crecimiento de las larvas con su tipo de agrupación y el ambiente al que estaban expuestas. Las medidas de peso son las variables dependientes.

Se hizo un ANOVA de dos vías en “R”, para verificar si la temperatura es relevante al periodo de tiempo que le tomó a la larva en convertirse en pupa en cada grupo. Siendo el periodo de tiempo la variable dependiente.

6. RESULTADOS

6.1. SUPERVIVENCIA

En el experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario), se realizó un test de proporción, en el que tenemos una diferencia significativa entre la supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias de ambiente cerrado (p -valor=0.02109; χ^2 : 5.3195; GL: 1); esta diferencia se ve representada en el porcentaje de supervivencia, los cuales fueron 71.2% en larvas agregadas y 37.5% en larvas solitarias. Los porcentajes totales del análisis de supervivencia se encuentra representados en la Figura 4, donde se muestra una diferencia mayoritaria entre ambas variables, resultados que concuerdan con los valores significativos del test de proporción. En conclusión, en el experimento 1, en el que las mediciones se hicieron desde el primer instar, las larvas agregadas tuvieron una supervivencia significativamente mayor que las larvas solitarias.

En el experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), según el test de proporción existe una diferencia significativa en la supervivencia entre las larvas que se encuentran en un ambiente cerrado y abierto (p -valor=2,612e-09 en gregarios y p -valor=0,0008299 en solitarios) (Tabla 1), existiendo menor supervivencia cuando las larvas se encontraban en el ambiente abierto/bosque. Esta diferencia pudo verse claramente en el análisis de supervivencia de todas las larvas (independiente de su agrupación) en ambiente cerrado y abierto, donde, se notó una gran diferencia, obteniéndose un 28.9% en la supervivencia final de las larvas en ambiente abierto, mientras que en el ambiente cerrado fue de 74.1%, en la Figura 5, se pueden observar todos los porcentajes de supervivencia en los diferentes tiempos. Existió una gran diferencia entre la supervivencia de las larvas de ambiente abierto y cerrado, sin ningún solapamiento entre ellas. En el test de proporción, no se encontraron diferencias significativas en la mortalidad si las larvas se encuentran en grupo o de manera solitaria, sea en el ambiente cerrado o abierto (p -valor= 0.852 y p -valor=0.2212, respectivamente) (Tabla 2). Esto se observó en el análisis de supervivencia, en el cual los porcentajes de supervivencia finales fueron de 53,4% en larvas gregarias y de 39,6% para larvas solitarias, los resultados de supervivencia en todos los tiempos se encuentran representados en la Figura 6, donde se observa un vasto solapamiento, por lo que confirmamos que las diferencias no son significativas. Finalmente se realizó un análisis de supervivencia de las larvas en cada

combinación de agrupación y ambiente; donde, el porcentaje de supervivencia final de las larvas en grupo en ambiente abierto fue de 32%, el de las larvas solitarias en ambiente abierto fue de 21,4%, el de las larvas en grupo de ambiente cerrado fue de 74,9% y el de las larvas solitarias en ambiente cerrado fue de 70%. Los datos totales de supervivencia son ilustrados en la Figura 7, donde también se puede apreciar la gran diferencia en porcentajes de supervivencia entre ambiente abierto y cerrado y la mínima diferencia entre las larvas en grupo y las larvas solitarias. Con estos datos concluimos que el ambiente cerrado es donde hubo mayor supervivencia de las larvas, también, que el tipo de agrupación no influye en la supervivencia en las larvas del experimento 2.

6.2. TASA DE CRECIMIENTO

En el experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario), las larvas agrupadas y solitarias no presentaron una diferencia significativa en su crecimiento (p -valor=0.225) (Tabla 3).

El experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), no mostró una diferencia significativa en el Anova de medidas repetidas realizado, entre el crecimiento de las larvas agregadas y solitarias en un ambiente cerrado (p -valor=0.4928) (Tabla 4). En la Figura 8, se observar que el peso de las larvas solitarias tiende a ser mayor a las agregadas en los diferentes tiempos, pero como mencionamos, esta ligera diferencia no es significativa. En el ambiente abierto, el crecimiento entre las larvas agregadas y larvas solitarias tampoco mostró una diferencia significativa (p -valor=0.9947) (Tabla 5). En la Figura 9, se observa que las larvas solitarias tienen un menor peso a las agregadas en los diferentes tiempos, sin este ser significativo. También combinamos los datos de crecimiento de las larvas en grupo y las larvas solitarias en los ambientes cerrado y abierto, se encontró que no existe una diferencia representativa entre el crecimiento de ambas agrupaciones (p -valor=0.8697) (Tabla 6). En la Figura 10, se ilustra que las larvas en grupo tienen un peso mayor a las larvas solitarias en los diferentes tiempos, con una diferencia no significativa.

En conclusión, se observó que las larvas agregadas y solitarias, en ambiente abierto o cerrado, del experimento 1 y 2, no tuvieron ninguna diferencia significativa en su crecimiento.

6.3. PESO FINAL DE PUPA

En el experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario) se observó que la interacción del peso final de la pupa en un ambiente cerrado, con el tipo de agregación, es significativo, por lo tanto, el peso final de la pupa varía si las larvas están agregadas o solitarias (p -valor=0.00425) (Tabla 7). En la Figura 11, se pudo ver que el peso de las pupas provenientes de larvas solitarias es mayor que el de las larvas agregadas. Estos resultados nos indican que, en el experimento 1, el peso final de la pupa varió según la agrupación, siendo significativamente mayor cuando las larvas se encontraban de manera solitaria.

Para el experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), se realizó un Anova para analizar la diferencia entre los pesos de las larvas solitarias y agrupadas; el resultado mostró diferencias no significativas (p -valor=0.6724) (Tabla 8). También, el análisis del peso de las larvas en un ambiente cerrado y un ambiente abierto dio como resultado diferencias no significativas (p -valor=0.1314) (Tabla 8). También se analizó la interacción entre el peso, la agrupación y el tipo de ambiente en el que estaban las larvas, sin establecerse una diferencia significativa (p -valor=0.0855) (Tabla 8). Según los resultados, en el experimento 2, el peso final de pupa no fue influenciado por el tipo de agrupación de las larvas o el tipo de ambiente en el que se encuentran

6.4. PERIODO DE ESTADIO LARVARIO A PUPA

El experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario), se analizó con un Anova, en este se observó la relación de los días de desarrollo de larva a pupa con el tipo de agrupación de las larvas se observó que no es significativa (p -valor=0.596) (Tabla 9). En conclusión, no existió una relación entre el tipo de agrupación y el periodo de estadio larvario a pupa en las larvas del experimento 1.

El experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario) se observó que no existe relación entre el tipo de agrupación y el periodo de estadio larvario a pupa (p -valor=0.496797) (Tabla 10). También, se realizó el Anova con los días y el tipo de ambiente, aquí se pudo observar que el periodo de días de larva a pupa variaba conforme el tipo de ambiente, por lo tanto, existe una relación entre ambas (p -valor=0.00311) (Tabla 10), esta diferencia puede verse representada en la Figura 12, donde las larvas de ambiente cerrado pupan en menos tiempo que las larvas de ambiente

abierto. Se observó que el ambiente cerrado estuvo expuesto a mayores temperaturas que el ambiente abierto (Figura 13). Por último, se analizó con un Anova la interacción entre los días de larva a pupa, el tipo de agregación y el tipo de ambiente, se observa que las tres variables no tienen ninguna correlación (p -valor=0.50697) (Tabla 10). En resumen, en el experimento 2, hubo una diferencia significativa si las larvas se encuentran en ambiente cerrado o abierto, siendo las larvas de ambiente cerrado las que llegaron a pupar más rápido; mientras que no existió diferencia en el periodo de estadio larvario a pupa entre larvas agrupadas y solitarias.

7. DISCUSIÓN

En este estudio se intentó dilucidar los efectos del gregarismo en la especie *Methona confusa* (Lepidoptera), siendo la primera vez que se intenta explicar las ventajas del comportamiento gregario en esta especie. Este estudio ofreció evidencia del efecto positivo del gregarismo en al menos un aspecto de la vida de las larvas (supervivencia); sin embargo, también generó evidencia contradictoria con otros estudios publicados sobre gregarismo donde se reporta beneficios de esta característica en otros aspectos del ciclo de vida como, tasa de crecimiento, peso del individuo y de la pupa, el periodo de estadio larvario a pupa y el instar en el que se encuentra la larva.

Esta investigación puede servir de base para futuros estudios sobre el gregarismo de esta especie y de las especies dentro del género *Methona*, gracias a la evidencia descubierta y al aporte que provee sobre la metodología correcta para trabajar con este género y con especies similares, en factores como, edad de la muestra, tamaño de muestra y forma de toma de datos.

7.1. SUPERVIVENCIA

Se observó que las larvas agregadas tienen una supervivencia significativamente mayor que las larvas solitarias en el experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario). Las larvas gregarias tuvieron una supervivencia final de 71.2% y las larvas solitarias de 37.5%. A diferencia de las larvas del experimento 2 (larvas desde tercer instar), las larvas del experimento 1 sí tuvieron diferencia en su supervivencia. La razón de este resultado se logró dilucidar de mejor manera debido a que se encontraba en un ambiente cerrado y controlado, es decir, se eliminaron otros factores que pudieron afectar los resultados, como depredadores o estrés ambiental, de esta forma, la mayor supervivencia de larvas gregarias con relación a las larvas solitarias pudo deberse específicamente a que en el primer instar estar en grupo ayuda en la alimentación. Las larvas agrupadas pueden sobreponerse a la dureza de las hojas con mayor facilidad y también puede abrumar a las defensas de la planta (Rosa et al., 2017; Fordyce, 2003; Clark y Faeth, 1997; Stamp, 1980). En los experimentos, se utilizaron hojas cortadas para la alimentación de las larvas, por lo que es probable que las defensas químicas de la planta disminuyeran, así que el beneficio de ser gregario sería principalmente sobreponerse a la dureza de las hojas (Jin et al., 2016;

Denno y Benrey, 1997). Gracias a que ser gregario les ayuda a romper las hojas de mejor manera, las larvas solitarias en primer instar solitarias fueron más propensas a morir de inanición. También, se demuestra que la edad de las larvas es un factor muy influyente sobre el efecto del gregarismo, debido a la falta de resultados significativos en el experimento 2 con larvas en tercer instar.

Se encontró una mayor supervivencia de las larvas en ambiente cerrado del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque). Las larvas de ambiente cerrado reflejaron que en un ambiente libre de depredadores y de estrés ambiental las larvas no tienen tanta mortalidad. Esto se puede explicar, ya que, debido a la ausencia de depredadores en el ambiente cerrado, las larvas pueden alimentarse por más tiempo de las hojas, además, pueden alimentarse libremente de cualquier parte de la hoja, a diferencia de una larva bajo presión de depredadores, la cual preferirá alimentarse cerca del tallo, donde la calidad del alimento es menor (Clark y Faeth, 1997). En un ambiente cerrado, las larvas no están expuestas a cambios climáticos, que potencialmente pueden dañarlas, como lluvias muy fuertes o desecación. Por ejemplo, la lluvia es un factor que restringe el tiempo de alimentación de las larvas, especialmente en primer instar, provocando un incremento en mortalidad (Kamata et al., 1994).

En la supervivencia de las larvas agregadas y solitarias del experimento 2, se obtuvo que la supervivencia de las larvas agregadas es ligeramente mayor, pero no es significativo. Estos resultados no se ajustan a la teoría en la que los grupos gregarios tienen menor mortalidad que los grupos solitarios (Lawrence, 1990; Reed, 2005). Se atribuye este resultado principalmente a la edad de las larvas, como se menciona anteriormente, el efecto del gregarismo puede ser más obvio o influyente durante el primer instar y no durante el tercer instar. También, se pueden tomar en cuenta la posible influencia de factores que no se tomaron en cuenta en el diseño experimental o estuvieron fuera del control de los investigadores. Un factor fue el número de larvas agregadas. Al principio, en el planteamiento del experimento, se optó por tener varios grupos con diferentes densidades de larvas, simulando las puestas de *Methona confusa*. Mediante observación se notó que las puestas varían al menos entre 2 y 70 huevos, el tamaño de las puestas dependerá del tamaño de la hembra y de su edad, siendo el número de huevos indirectamente proporcional a estas dos variables (Begon y Parker, 1986), también dependerá de la calidad y cantidad de planta hospedera (Thompson y Pellmyr, 1991). Al realizar el experimento, no disponíamos de suficientes huevos para recrear muestras grandes, como las de 70 huevos, debido a que las puestas de huevos tenían una elevada mortalidad, debido a altos porcentajes de parasitismo.

En el presente experimento se realizaron 2 grupos, uno de 10 larvas y otro de 1 larva. Se consideró que los grupos tenían una cantidad suficiente para obtener los efectos deseados, ya que estos tamaños similares de muestra han sido utilizados previamente (1vs20) (Alekseev et al., 2008). Al no existir estudios previos con esta especie, el tamaño de muestra óptimo era desconocido. Al no obtener resultados significativos en este experimento, se abre la posibilidad de que la cantidad de larvas de nuestro modelo experimental no fue la indicada para esta especie de mariposa o para especies con un aposematismo similar. La posible razón del porqué nuestro modelo pudo no haber funcionado es que, al tener solo dos grupos, uno con 10 y otro con 1 larva, las densidades de estas muestras pudieron haber sido muy bajas y similares, y por lo tanto, probablemente produjeron el mismo efecto. Al tener densidades bajas, una agrupación de 10 y no de 70 larvas no tendría influencia en factores, como defensa visual, defensas químicas, defensas físicas, procesos que constituyen algunas de las ventajas del gregarismo y que disminuyen la mortalidad.

Las larvas de esta especie exhiben colores aposemáticos, los cuales desalientan a los depredadores. Al estar en grupo, las larvas crean un efecto visual mayor que las larvas individuales (Reed, 2005). Debido a este efecto visual, los depredadores pierden el interés en atacarlas o actúan con mayor cautela, ya que, al atacar a uno y darse cuenta de que su sabor es desagradable perdería el interés de atacar al grupo (Clark y Faeth, 1998; Ruxton y Sherratt, 2006; Pinheiro et al., 2008; Costa y Pierce, 1997; Despland y Simpson, 2005). Además, el ataque contra un grupo aposemático no es tan exitoso, debido a que el patrón de los colores tiende a confundir al depredador y falla en acertar a órganos vitales (Nilsson y Forsman, 2003). Es probable que un grupo de 10 individuos con este tipo de aposematismo no pueda crear una defensa visual lo suficientemente intensa para desalentar a los depredadores. Las condiciones del experimento pudieron haber sido más afectadas, ya que se observó que una cantidad considerable de larvas murieron antes de alcanzar instars mayores y muy pocos grupos tenían 10 larvas, por lo que el efecto visual pudo haber sido mucho menor.

De igual manera, estar en grupo mejora defensas químicas y físicas, como: el vomitar, mover la cabeza, glándulas de olor, mover la cabeza y el cuerpo (Greebey et al., 2012).

Una alternativa de tamaño de muestra para esta especie sería optar por varias densidades de agrupación de larvas, al menos una de mayor densidad, una de media densidad y una de baja densidad, mas no una solitaria, porque no se encontraría un comportamiento natural. Con varias densidades se podría apreciar mejor los efectos de ser gregario; como se

observa en algunos estudios (Lawrence, 1990; Rosa et al., 2017; Reader y Hochuli, 2003; Kuussaari y Singer, 2017; Campbell y Stastny, 2015; Goulson y Cory, 1995). También, las repeticiones de larvas solitarias pudieron ser insuficientes, ya que, al tener más información sobre las larvas solitarias se pudo haber realizado una mejor comparación con las larvas agregadas, dándonos datos más congruentes (Rosa et al., 2017). Debido a falta de espacio, no se pudo realizar más repeticiones.

La manipulación de las larvas es otro factor que posiblemente no nos permitió visualizar resultados más significativos. Se realizó mediciones de las larvas cada 4 días, es posible que esto pudo ser excesivo para las larvas y el estrés al que fueron expuestas pudo afectar los resultados finales (Reader y Hochuli, 2003). Otros estudios utilizan un método observacional o mediante fotografías para analizar el crecimiento de las larvas, aunque estos métodos no estresan a las larvas son un tanto imprecisos y pueden resultar en datos inconclusos (Allen, 2010; Fordyce, 2003). La razón de tomar medidas frecuentemente es que, la falta de seguimiento en el crecimiento de las larvas puede crear datos no confiables, como sucede en algunos de los estudios mencionados anteriormente. Se recomienda que para estudios futuros se tomen en cuenta otros métodos de toma de datos, como los de análisis de imagen (programa ImageJ), que pueden tomar medidas mediante imágenes y pueden ser utilizados para analizar cambios morfológicos (Stawarczyk y Stawarczyk, 2015).

Otra posible fuente de estrés es el hecho de que las larvas se encontraban en un mariposario que era utilizado de manera turística, lo que creó un factor de efectos impredecibles para las larvas.

Un factor para tomar en consideración, que pudo influenciar en la falta de resultados significativos en larvas agrupadas, fue la abundancia de la especie *Methona confusa* y su planta hospedera (*Brunfelsia*), estas no son especies que se puedan encontrar fácilmente dentro del bosque, excepto en los lugares cercanos al mariposario, donde se pueden localizar varios individuos. Se considera que, debido a la escasez de esta especie en la zona donde fue conducido el estudio, no se puede conocer exactamente la relación de los depredadores con el gregarismo, ya que, según estudios previos, el efecto del gregarismo varía en distintas áreas geográficas y diferentes especies de depredador (Riipi et al., 2001). Al tener un aumento espontáneo en la abundancia de la especie en nuestra área de estudio, pudimos tener una reacción inesperada en los depredadores. Estos depredadores pueden ser especialmente aves, avispas y mantodeos, que usualmente se guían por el color de la presa (Greebey et al., 2012). Existen casos en que las agregaciones, especialmente si estas no son comunes, pueden atraer mayor número de depredadores como aves locales y aves pasantes (Pinheiro et al.,

2008). Por otro lado, existen estudios donde se expone a larvas agregadas aposemáticas a depredadores que no conocían de las mismas, y se determinó que las aves aprenden a identificar los grupos aposemáticos y a evitarlos, esto sucede rápidamente en un ambiente cerrado, generalmente después de la primera generación de larvas (Beatty et al., 2005). Por otra parte, en un ambiente abierto y solo con una generación es posible que los depredadores intenten atacar larvas agregadas y larvas solitarias de la misma manera, como se ve en algunos estudios (Alatalo y Mappes; Gamberale y Tullberg, 1998; Gamberale-Stille, 2000). Aunque este pudo ser un factor de falla, se usaron larvas de *Methona confusa*, ya que, se tuvo una gran disposición de ellas en mariposario, más que cualquier otra especie gregaria para ser usadas en este tipo de experimento.

Los resultados entre la supervivencia de larvas solitarias y gregarias no fueron significativos, pero en la Figura 6 se muestra cierta tendencia, en la que las larvas gregarias tienen una mayor supervivencia. Esta diferencia no es suficientemente grande para poder aceptar una relación entre mortalidad y ausencia-presencia de agregación, pero tampoco debería ser descartada, ya que, existe la posibilidad de que si se modifica un poco el método experimental se obtengan resultados más claros.

Es importante también mencionar que los efectos del gregarismo son diferentes para cada especie, y en ciertos casos, no existe una ventaja en la supervivencia. En Yang et al. (2014) encontraron que tener una densidad de larvas alta disminuía la supervivencia de estas, debido a que se producía estrés en las larvas por factores como, contacto físico constante con otras larvas (competencia por espacio) y estrés por disminución de alimento, lo que generaba una reducción en la masa corporal de las larvas. Como se evidencia anteriormente si existió un aumento de supervivencia en el grupo de larvas gregarias del experimento 1 (larvas desde el primer instar), así que, la falta de un resultado significativo del experimento 1 (larvas desde el tercer instar) puede deberse principalmente a la edad de las larvas.

7.2. TASA DE CRECIMIENTO

No se encontró una diferencia significativa en la tasa de crecimiento entre las larvas solitarias y agregadas del experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario). Por lo que, pertenecer a un grupo agregado no tendría un efecto en el peso a medida que la larva continúa con su crecimiento. Debido a que es un ambiente cerrado, donde se controlaron otros factores que afectan el crecimiento como la presencia de depredadores y estrés ambiental, se concluye que el gregarismo no tendría una ventaja en

cuanto al crecimiento de las larvas. Es decir, las larvas solitarias y gregarias tienen el mismo periodo de alimentación, a diferencia de otros estudios donde se puede que los depredadores influyen en el tiempo de alimentación de las larvas solitarias y agregadas (Clark y Faeth, 1997).

Se encontró que la tasa de crecimiento de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), no es influenciada por la agregación de las larvas o el tipo de ambiente en el cual se encuentran. Uno de los beneficios de estar agregado es que las larvas pueden ganar peso, gracias a la facilitación de alimento y pueden pasar más tiempo alimentándose, ya que, tienen un menor número de depredadores (Gagliardo y Gilford, 1993; Reader y Hochuli, 2003; Long, 1953). En este experimento, es posible que la facilitación de alimento no fue un beneficio tan grande, ya que es más relevante durante el primer instar de las larvas (Tsubaki, 1981; Clark y Faeth, 1997; Ronnas et al., 2010; Rosa et al., 2017). Como las larvas de tercer instar no necesitan estar en grupo para superar la dureza de una hoja, ambas larvas, agregadas y solitarias, tendrían la misma capacidad de alimentación. Al estar en un ambiente cerrado y no tener el estrés de depredadores y factores climáticos, las larvas solitarias y agregadas pueden alimentarse durante el máximo tiempo posible, por lo que su peso no varía tanto. Pero de igual manera, se apreció que las larvas solitarias obtuvieron mayores pesos en comparación a las larvas agregadas, aunque no sea una diferencia considerable; esto se debe a que las larvas solitarias no tienen competencia al alimentarse.

Se analizó el crecimiento de las larvas agregadas y solitarias del ambiente abierto del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), sin existir diferencias significativas. En torno al ambiente abierto, si existen depredadores y eso puede influir en el tiempo de alimentación de las larvas, como se explica en diversos estudios (Clark y Faeth, 1998), pero debido a que no existe diferencias de supervivencia entre las larvas solitarias y agregadas se puede asumir que ambas han estado expuestas a iguales niveles de estrés y sus tiempos de alimentación pueden ser los mismos. Se notó que las larvas agregadas tienen un crecimiento mayor en peso en contraste a las larvas solitarias, esto pudo haber sido influenciado por la presencia de depredadores, pero esto permanece inconcluso, ya que, los resultados no son significativos.

No se aprecia una diferencia entre el crecimiento de las larvas solitarias y las larvas agregadas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario). Este resultado pudo verse afectado por las razones mencionadas anteriormente (densidad de muestra, manipulación de especímenes, abundancia de la especie

en el bosque, edad de las larvas). También, se ha visto que la planta hospedera influye en cierta manera en los efectos correspondiente a ser gregario (Denno y Benrey, 1997; Bergström, 2006). Denno y Benrey (1997) encontraron que toda ventaja de alimentación se ha perdido cuando las larvas son criadas en un laboratorio con hojas cortadas, debido a que la alimentación depende de características, como, el tipo de hoja, su contenido nutricional, sus defensas estructurales y sus defensas químicas son importantes en el desarrollo de la larva (Coley et al., 2006). Las características de las hojas cambian, disminuyen o desaparecen al ser cortadas las ramas (Tsubaki, 1981; Fordyce, 2003), por lo que es posible que los resultados de crecimiento no sean confiables o definitivos. Se utilizó hojas cortadas en este experimento debido a la escasez de la planta hospedera dentro del bosque. Se consideró que cambiar las hojas diariamente podría evitar un poco el cambio en las propiedades de las hojas.

7.3. PESO FINAL DE PUPA

El peso final de la pupa del experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario) varía significativamente según la agrupación, siendo mayor cuando las larvas se encuentran de manera solitaria. Se notó que las pupas de las larvas solitarias son las que alcanzan pesos finales mayores que las agregadas. El peso final de la pupa difiere entre especies gregarias, en algunos casos un desarrollo acelerado en las larvas agregadas resulta en un peso de pupa inferior al que se obtendría en una larva solitaria, en otros casos se ve que la larva al alimentarse en mayor cantidad y de manera frecuente tendría un peso mayor al de las larvas solitarias, por último, puede ocurrir que pertenecer a un grupo de larvas agregadas o no, no presente ningún efecto en el peso de la pupa, como se ve en otros estudios (Goulson y Cory, 1995; Fiorentino et al., 2014; Inouye y Johnson, 2005; Yang et al., 2014). Aunque las larvas agregadas exhibieron mayores pesos durante su crecimiento, las larvas solitarias son las que tienen un peso de pupa mayor. Esto pudo deberse, a que, durante la experimentación se observó que pocos días antes de pupar, las larvas solitarias se dedicaban a alimentarse por periodos mayores que las larvas gregarias. También, la falta de predadores permite que las larvas agregadas y las solitarias no tengan estrés y puedan alimentarse de igual manera. Estas razones pueden ser una posible explicación del peso de pupa mayor en larvas solitarias, pero es necesario realizar investigaciones más extensas para poder concluir algo con certeza.

El peso final de la pupa del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario), no es influenciado por el tipo de agrupación de las larvas o el tipo de ambiente en el que se encuentran, por lo que no existe correlación entre estas variables y el peso de la pupa. Debido a que las larvas estaban en tercer instar, no hay facilitación de alimento, de igual forma no existen diferencias correspondientes al tiempo de alimentación. La tasa de alimentación tiende a aumentar durante el primer instar, pero disminuye y llega a ser igual a la que presentan las larvas solitarias en los otros instar, fenómeno que se ve en otros estudios (Inouye y Johnson, 2005). Se puede considerar que las larvas se encontraban en condiciones similares, lo que puede explicar que no exista ninguna relación entre el peso de la pupa y el ser agregado o no, y de manera similar entre los ambientes abiertos y cerrados.

En el experimento 2, que fue realizado con larvas del tercer instar, no tenemos tantos resultados significativos, debido a que los efectos del gregarismo son mejor expresados desde instar tempranos, como se ve en diversos estudios, (Kuussaari y Singer, 2017; Fordyce, 2003; Inouye y Johnson, 2005; Tsubaki, 1981). Pero de todas formas se utilizaron larvas desde el tercer instar, ya que, las larvas de primer instar eran muy vulnerables y no sobrevivían lo suficiente para poder ver resultados en el ambiente abierto/bosque. Kamata et al. (1994) describe que la mayoría de las larvas recién eclosionadas muere de inanición si se presentaran condiciones de lluvias abundantes y frecuentes y en la reserva en la que el estudio se realizó (Mashpi), se puede encontrar estas lluvias abundantes de manera frecuente.

7.4. PERIODO DE ESTADIO LARVARIO A PUPA

Se encontró que no existe una interacción entre ser gregario y solitario con los días que le toma a una larva llegar a ser pupa en el experimento 1 (larvas desde el primer instar de ambiente cerrado/mariposario). Ya que este experimento empezó en el primer instar, se debería encontrar una diferencia en el periodo de días hasta llegar a pupa, pero no fue el caso. Este resultado pudo darse por varias razones, como: la densidad de larvas agregadas pudo ser demasiado pequeña, las repeticiones no fueron suficientes, la condición de la planta hospedera no fue adecuada o el gregarismo no tiene efecto en esta variable.

Se observó que la interacción entre las larvas agregadas y solitarias del experimento 2 (larvas desde el tercer instar de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario) con los días de larva a pupa no resultaron ser significativos; mientras que, entre ambiente cerrado y abierto y los días de larva a pupa si hubo una interacción, siendo las larvas del ambiente

cerrado las que pupan más deprisa. El que no existiera interacción entre el periodo de larva a pupa y el tipo de agregación es un resultado no esperado, ya que, teóricamente las larvas agregadas debieron pupar en menos tiempo que las solitarias. Al estar agrupadas, las larvas tienden a crecer de manera más acelerada y llegan a pupar en menos días que las larvas solitarias (Yang et al., 2014). Esto se considera un beneficio debido a que, al tener un peso menor en su etapa de larvas existe una menor probabilidad de que sean alimento de los depredadores. Este desarrollo acelerado puede causar que el adulto que emerja no tenga un tamaño óptimo (Weed, 2010; Tsubaki, 1981; Lawrence, 1990). Consecuentemente, el crecimiento acelerado puede darse porque las larvas agregadas tienden a ser más activas (Long, 1953), en estudios previos se ha visto que tienen mayores concentraciones de ácido láctico por movimiento muscular (Matthée, 1946). También puede darse debido a que las larvas gregarias tienen menos estrés por depredadores, lo que les permite desarrollarse de manera acelerada (Denno y Benrey, 1997). Pero, al igual que las secciones analizadas previamente de este experimento, el que las larvas empezaran en el tercer instar hace que los efectos de ser gregario no se aprecien tanto, ya que, estos son más visibles en el primer instar. Por otra parte, la diferencia entre ambiente abierto y cerrado se puede explicar con la temperatura. Se midió la temperatura a la que estuvieron expuestas las larvas en los diferentes ambientes y el ambiente cerrado presentó temperaturas mayores (Figura 13); la temperatura influye directamente en el tiempo de desarrollo, por lo que, a una óptima temperatura mayor, el tiempo de desarrollo será más rápido (Pimentel et al., 2011; Coley, 1998), y es justamente lo que se observó en el experimento, que las larvas de ambiente cerrado puparon más rápido.

8. CONCLUSIONES

Este estudio presenta evidencias de que el gregarismo es ventajoso para algunos aspectos de vida de las larvas de *Methona confusa*. Ser gregario aumenta la supervivencia de las larvas que fueron puestas en el experimento desde el primer instar, esto se debió posiblemente a la facilitación de alimentación que se da al estar en grupo, lo que posiblemente disminuyó la principal causa de mortalidad en las larvas solitarias en primer instar, la inanición.

Existió mayor supervivencia y un periodo de estadio larvario a pupa menor en las larvas que se encontraban en un ambiente cerrado/mariposario, esto se atribuye a la falta de estrés ambiental y depredadores y temperaturas óptimas para el crecimiento de las larvas.

La tasa de crecimiento y el periodo de estadio larvario no fueron significativos en ambos experimentos. Posiblemente el gregarismo de esta especie no tiene efectos en estos factores.

El peso final de pupa en el experimento 1 (primer instar/ambiente cerrado) fue menor en las larvas agrupadas, esto es un efecto frecuente del gregarismo según varía bibliografía. En el experimento 2 (tercer instar/ambiente abierto), el peso final de pupa no tuvo ningún efecto, de nuevo, posiblemente por la edad de las larvas.

Existe la posibilidad de que los resultados no esperados o no significativos de nuestro estudio pueden verse atribuidos a factores del diseño experimental como, al tamaño de la muestra, a la manipulación frecuente de las larvas, uso de hojas cortadas y al desconocimiento de la larva a depredadores locales, haciendo el efecto aposemático de la misma nulo ante depredadores. También se puede argumentar que al no tener resultados significativos tanto en ambiente cerrado como abierto pueden evidenciar que el gregarismo no es necesariamente beneficioso en todos los aspectos de vida de *Methona confusa*.

9. RECOMENDACIONES

Este estudio tuvo algunas limitaciones, pero se considera una fuente muy rica en información sobre los pasos a considerar al realizar una investigación sobre el gregarismo. Como puntos principales se recomienda tomar en cuenta la disponibilidad de la especie, la densidad de las muestras, la edad de las muestras, la condición de la planta hospedera y realizar un experimento con más de una generación, para obtener resultados más certeros.

Por todo lo mencionado, se espera obtener más información respecto al comportamiento gregario de *Methona confusa* en estudios futuros para lograr obtener un consenso más certero de sus beneficios. También es importante considerar que esta especie no adquiera ventajas del gregarismo en todos los aspectos de su vida. Es necesario explorar la posibilidad de que la mayor ventaja de un comportamiento gregario lo obtenga la hembra adulta al colocar huevos en grupo y un menor beneficio a nivel de larva.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alatalo, R., y Mappes, J. (1996). Tracking the evolution of warning signals. *Nature*, 382, 708–710.
- Alekseev, A., Serebrov, V., Gerber, O., Dubovskii, I., Glupov, V., Ushakova, M., y Rauschenbach, Y. (2008). Physiological and Biochemical Distinctions between Solitary and Gregarious Caterpillars of the Meadow Moth *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Doklady Biological Sciences*, 422, 316–317.
- Allen, P. (2010). Group size effects on survivorship and adult development in the gregarious larvae of *Euselasia chrysippe* (Lepidoptera, Riodinidae). *Insectes Sociaux*, 57, 199–204.
- Beatty, C., Bain, R., y Sherratt, T. (2005). The evolution of aggregation in profitable and unprofitable prey. *Animal Behaviour*, 7, 199–208.
- Begon, M., y Parker, G. A. (1986). Should Egg Size and Clutch Size Decrease with Age? *Oikos*, 47(3), 293.
- Bergström, A., Janz, N., y Nylin, S. (2006). Putting more eggs in the best basket: clutch-size regulation in the comma butterfly. *Ecological Entomology*, 31, 255–260.
- Campbell, S., y Stastny, M. (2015). Benefits of gregarious feeding by aposematic caterpillars depend on group age structure. *Oecologia*, 177, 715–721.
- Capinera, J. (2008). Encyclopedia of Entomology. *Springer Science & Business Media*
- Clark, B., y Faeth, S. (1997) The consequences of larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. *Ecological Entomology*, 22, 408–415.
- Clark B., y Faeth, S. (1998). The evolution of egg clustering in butterflies: A test of the egg desiccation hypothesis. *Evolutionary Ecology*. 12, 543-552.
- Clark, B., y Stanley, F. (1997). The consequences of larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. *Ecological Entomology*, 22, 408-415.
- Coley, P. (1998). Possible Effects of Climate Change on Plant/Herbivore Interactions in Moist Tropical Forests. *Climatic Change*, 39(2-3), 455-472.
- Coley, P., Bateman, M., y Kursar, T. (2006). The effects of plant quality on caterpillar growth and defense against natural enemies. *Oikos*, 115, 219-228.

Costa, J., y Pierce, M. (1997). Social evolution in the Lepidoptera: ecological context and communication in larval societies. *The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids Cambridge, Cambridge University Press*, 407-442.

Courtney, S.P. (1984) The evolution of egg clustering by butterflies and other insects. *The American Naturalist*, 123, 276-281.

Denno, R., y Benrey, B. (1997). Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology*, 22(2), 133–141.

Despland, E., y Simpson, S. J. (2005). Surviving the change to warning colouration: density-dependent polyphenism suggests a route for the evolution of aposematism. *Chemoecology*, 15(2), 69–75.

Despland, E., & Simpson, S. J. (2005). Food choices of solitary and gregarious locusts reflect cryptic and aposematic antipredator strategies. *Animal Behaviour*, 69(2), 471–479.

Fiorentino, V., Murphy, S., Stoepler, T., y Lill, J. (2014). Facilitative Effects of Group Feeding on Performance of the Saddleback Caterpillar (Lepidoptera: Limacodidae). Source: *Environmental Entomology*, 43(1), 131-138.

Fordyce, J. (2003). Aggregative feeding of pipevine swallowtail larvae enhances hostplant suitability. *Oecologia*, 135, 250–257.

Gagliardo, A. y Gilford, T. (1993). Why do warningly coloured prey live gregariously? *Proceedings of the Royal Society London B*, 251, 69–74.

Gamberale-Stille, G. (2000). Decision time and prey gregariousness influence attack probability in naive and experienced predators. *Animal Behaviour*, 60(1), 95–99.

Gamberale G, Tullberg B. (1996). Evidence for a more effective signal in aggregated aposematic prey. *Animal Behaviour*. 52, 597-601.

Gamberale G, Tullberg B. (1998). Aposematism and gregariousness: the combined effect of group size and coloration on signal repellence. *Proceedings of the Royal Society London B*, 265, 889- 894.

Goulson, D., y Cory, J. (1995). Responses of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) to crowding: interactions with disease resistance, colour phase and growth. *Oecologia*, 104, 416-423.

Greebey, H., Dyer, L., y Smilanich. (2012). Feeding by lepidopteran larvae is dangerous: A review of caterpillars' chemical, physiological, morphological, and behavioral defenses against natural enemies. *Invertebrate Survival Journal*, 9, 7-34.

Hatle, J., y Salazar, B. (2001). Aposematic Coloration of Gregarious Insects Can Delay Predation by an Ambush Predator. *Environmental Entomology*, 30(1), 51-54.

Hill, R., y Tipan, L. (2008). Description of the immature stages of *Methona confusa* butler, 1873 and *Methona curvifascia* weymer, 1883 (Nymphalidae, Ithomiinae) from eastern Ecuador. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 62(2), 89-98.

Hunter, A. (2000). Gregariousness and repellent defences in the survival of phytophagous insects. *Oikos*, 91(2), 213–224.

Inouye, B., y Johnson, D. (2005). Larval Aggregation Affects Feeding Rate in *Chlosyne poecile* (Lepidoptera: Nymphalidae). *The Florida Entomologist*, 88(3), 247-252

Janz, N. (2002). Evolutionary ecology of oviposition strategies. *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*, 349-376.

Jin, X., Ma, Tao., Chang, M., Wu, Y., Liu, Z., Sun, Z., Shan, T., Chen, X., Wen, X., y Wang, C. (2016). Aggregation and Feeding Preference of Gregarious *Heortia vitessoides* (Lepidoptera: Crambidae) Larvae to *Aquilaria sinensis* (Thymelaeaceae). *Journal of Entomological Science*, 51(3), 209-218.

Joos, B., Casey, T., Fitzgerald, T., y Buttemer, W. (1988). Roles of the Tent in Behavioral Thermoregulation of Eastern Tent Caterpillars. *Ecology* 69(6), 2004-2011.

Kamata, Naoto y Igarashi, Y. (1994). Influence of rainfall on feeding behavior, growth, and mortality of larvae of the beech caterpillar, *Quadricalcarifera punctatella* (Motschulsky) (Lep., Notodontidae). *Journal of Applied Entomology*, 118, 347-353.

Kuussaari, M., y Singer, M. (2017). Group Size, and Egg and Larval Survival in the Social Butterfly *Melitaea cinxia*. *Annales Zoologici Fennici*, 54(1–4), 213-223.

Lawrence, W. (1990). The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota caryae* (Lepidoptera: Arctiidae). *Ecological Entomology*, 15, 513-562.

Massuda, K., y Trigo, J. (2009). Chemical defence of the warningly coloured caterpillars of *Methona themisto* (Lepidoptera: Nymphalidae: Ithomiinae). *European Journal of Entomology*, 106: 253–259.

Matthée, J. J. (1946). Biochemical Differences between the solitary and gregarious Phases of Locusts and Noctuids. *Bulletin of Entomological Research*, 36(3), 343.

Nilsson, M., y Forsman, A. (2003). Evolution of conspicuous colouration, body size and gregariousness: a comparative analysis of lepidopteran larvae. *Evolutionary Ecology*, 17, 51–66.

Pimentel, C., Santos, M., Ferreira, C., y Nilsson, J. (2011). Temperature, size, reproductive allocation, and life-history evolution in a gregarious caterpillar. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105, 340–349.

Pinheiro, C., Medri, I., y Moreyra, A. (2008). Why do the ithomiines (Lepidoptera, Nymphalidae) aggregate? Notes on a butterfly pocket in central Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52(4), 610-614.

Reader, T., y Hochuli, D. (2003). Understanding gregariousness in a larval Lepidopteran: the roles of host plant, predation, and microclimate. *Ecological Entomology*, 28, 729–737.

Reed, R. (2005). Gregarious oviposition in butterflies. *Journal of the Lepidopterists' Society*, 59(1), 40–43.

Riipi, M., Alatalo, R., Lindstrom, L., y Mappes, J. (2001). Multiple benefits of gregariousness cover detectability costs in aposematic aggregations. *Nature*, 413.

Rosa, E., Van Nouhuys S., y Saastamoinen, M. (2017). The more the merrier: Conspecific density improves performance of gregarious larvae and reduces susceptibility to a pupal parasitoid. *Ecology and Evolution*, 7, 10710–10720.

Ronnas, C., Larsson, S., Pitacco, A., y Battisti, A. (2010). Effects of colony size on larval performance in a processionary moth. *Ecological Entomology*, 35, 436–445.

Ruxton, G., y Sherratt, T. (2006). Aggregation, defence and warning signals: the evolutionary relationship. *Proceedings of the Royal Society. B*, 273, 2417–2424.

Sierra, R. (1999). Propuesta preliminar de un sistema de clasificación de la vegetación del Ecuador continental. Proyecto INEFAN/GEF-BRIF y Ecociencia. Quito

Sillén-Tullberg B. (1988). Evolution of gregariousness in aposematic butterfly larvae: a phylogenetic analysis. *Evolution*, 42, 293-305.

Stamp, N. (1980). Egg deposition patterns in butterflies: why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? *The American Naturalist*, 115, 367-380.

Stawarczyk, M., & Stawarczyk, K. (2015). Use of the ImageJ Program to Assess the Damage of Plants By Snails. *Chemistry Didactics Ecology Metrology*, 20(1-2), 67–73.

Tavares, W., Hansson, C., Mielke, O., Serrão, J., y Zanuncio, J. (2013). Parasitism of *Palmistichus elaeisis* Delvare LaSalle, 1993 on pupae of *Methona themisto* (Hübner, [1818]) reared on two hosts (Lepidoptera: Nymphalidae; Hymenoptera: Eulophidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología*, 41 (161), 43-48.

Thompson, J., y Pellmyr, O. (1991). Evolution of Oviposition Behavior and Host Preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36(1), 65–89.

Tsubaki, Y. (1981). Some beneficial effects of aggregation in young larvae of *Pryeria sinica moore* (Lepidoptera: Zygaenidae). *Researches on Population Ecology*, 23(1), 156–167.

Weed, A. (2010). Benefits of larval group feeding by *Chrysolina aurichalcea asclepiadis* on *Vincetoxicum*: improved host location or feeding facilitation? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137(3), 220–228.

Wiklund, C. y Persson, A. (1983) Fecundity, and the relation of egg weight variation to offspring fitness in the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*, or why don't butterfly females lay more eggs? *Oikos*, 40, 53–63.

Yang, F., Hu, G., Shi, J y Zhai, B. (2014). Effects of larval density and food stress on life-history traits of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Applied Entomology*, 139.

11. FIGURAS



Figura 1. Ciclo de vida de *Methona confusa*. a) Puesta de huevos; b) Eclosión/primer instar; c) Segundo instar; d) Tercer instar; e) Cuarto instar; f) Quinto instar; g) Pupa; h) Hembra adulta.



Figura 2. Larvas en ambiente abierto/ transecto de bosque.



Figura 3. Larvas en ambiente controlado (cerrado/ mariposario).

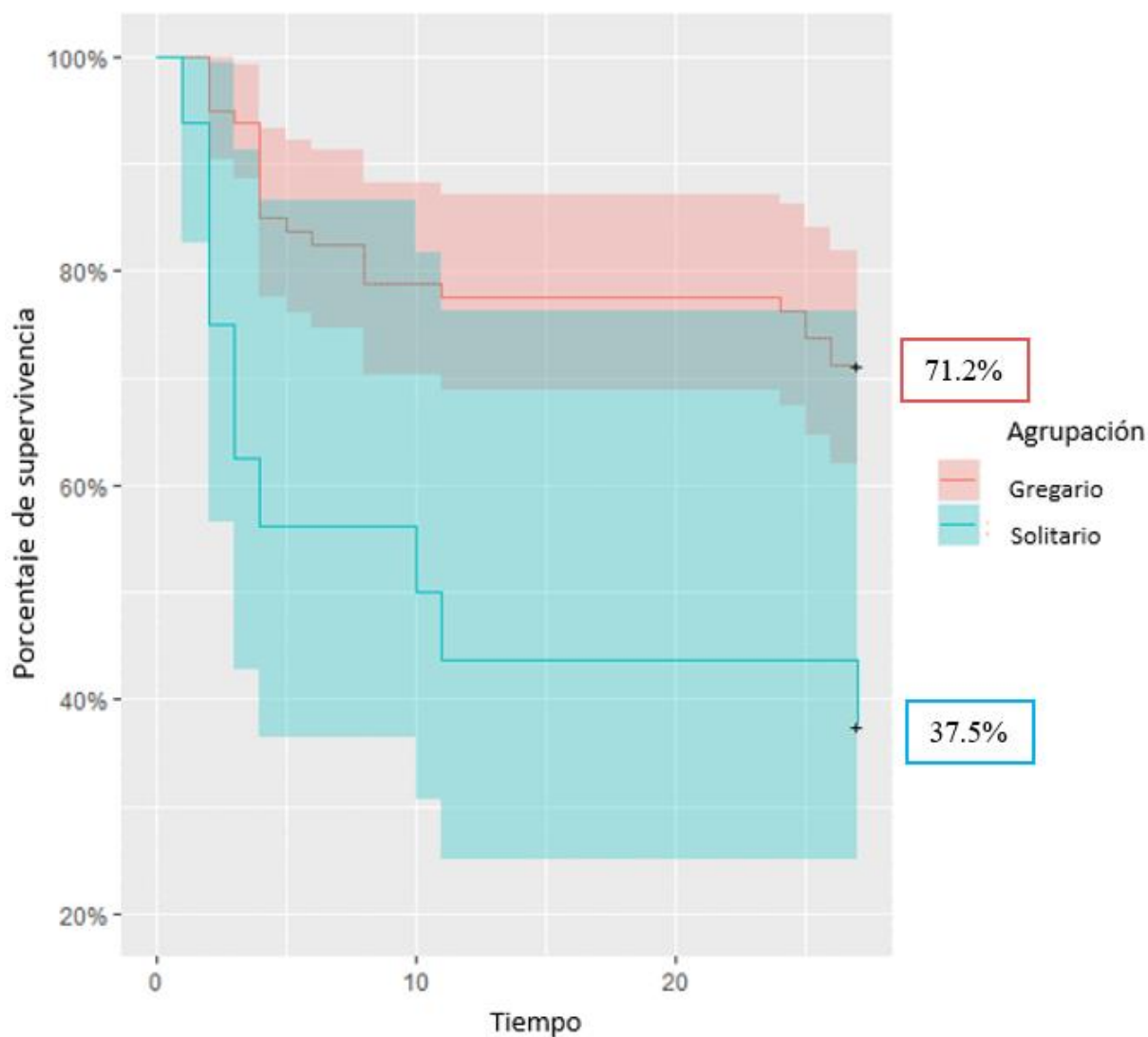


Figura 4. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en ambiente cerrado/mariposario y libre de depredadores (con un sombreado que representa el intervalo de confianza de 95%) del experimento 1 (larvas desde el primer instar). La diferencia en la supervivencia es significativa según el test de proporción ($\chi^2=5.3195$, $P\text{-valor}= 0.02109$, $GL= 1$), siendo las larvas agregadas las que tienen mayor supervivencia.

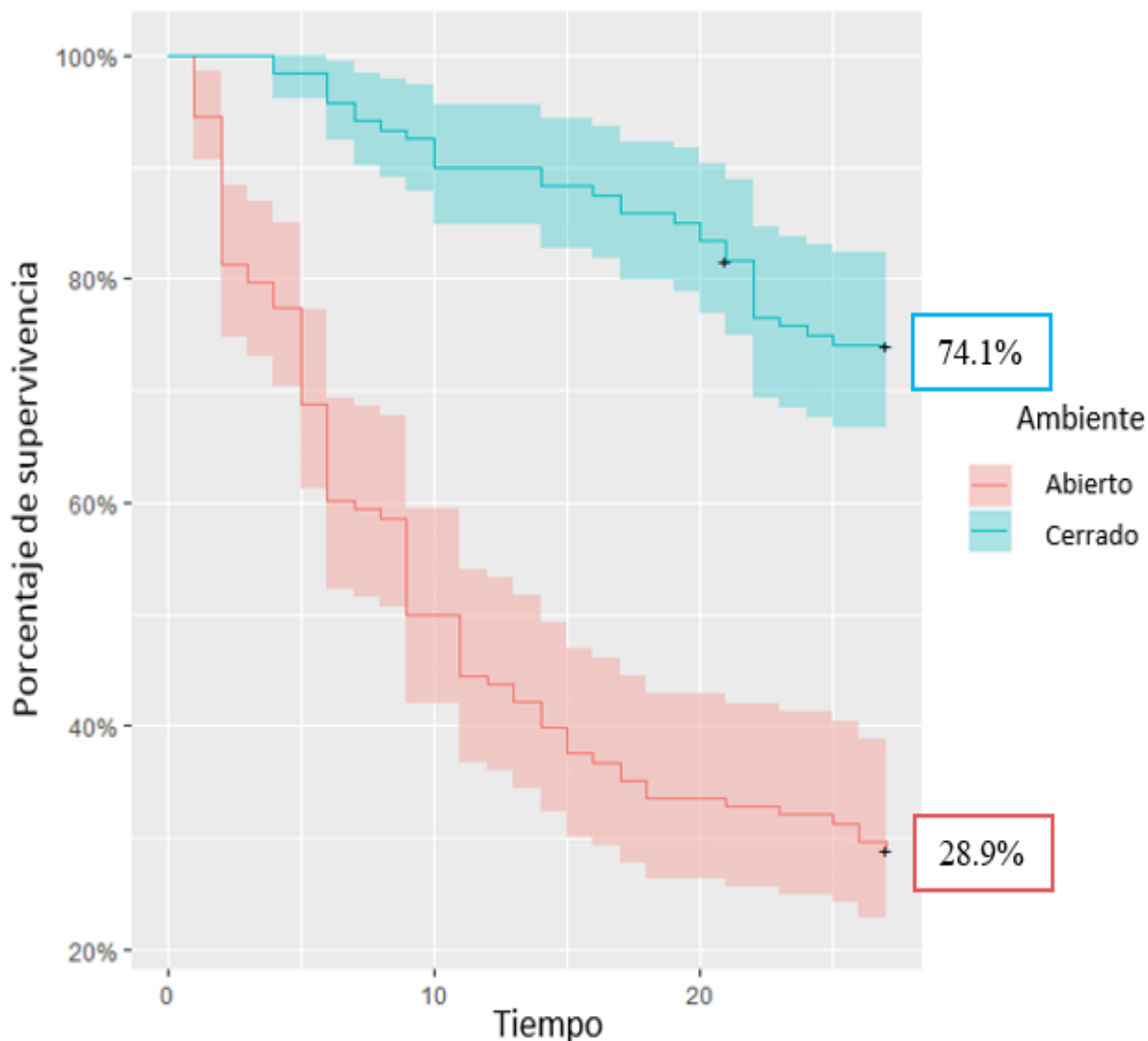


Figura 5. Curva de supervivencia del ambiente cerrado/mariposario y el abierto/bosque de las larvas (con un sombreado que representa el intervalo de confianza de 95%) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). La diferencia en la supervivencia es significativa, según el test de proporción de la Tabla 1, siendo las larvas del ambiente cerrado las que tienen mayor supervivencia.

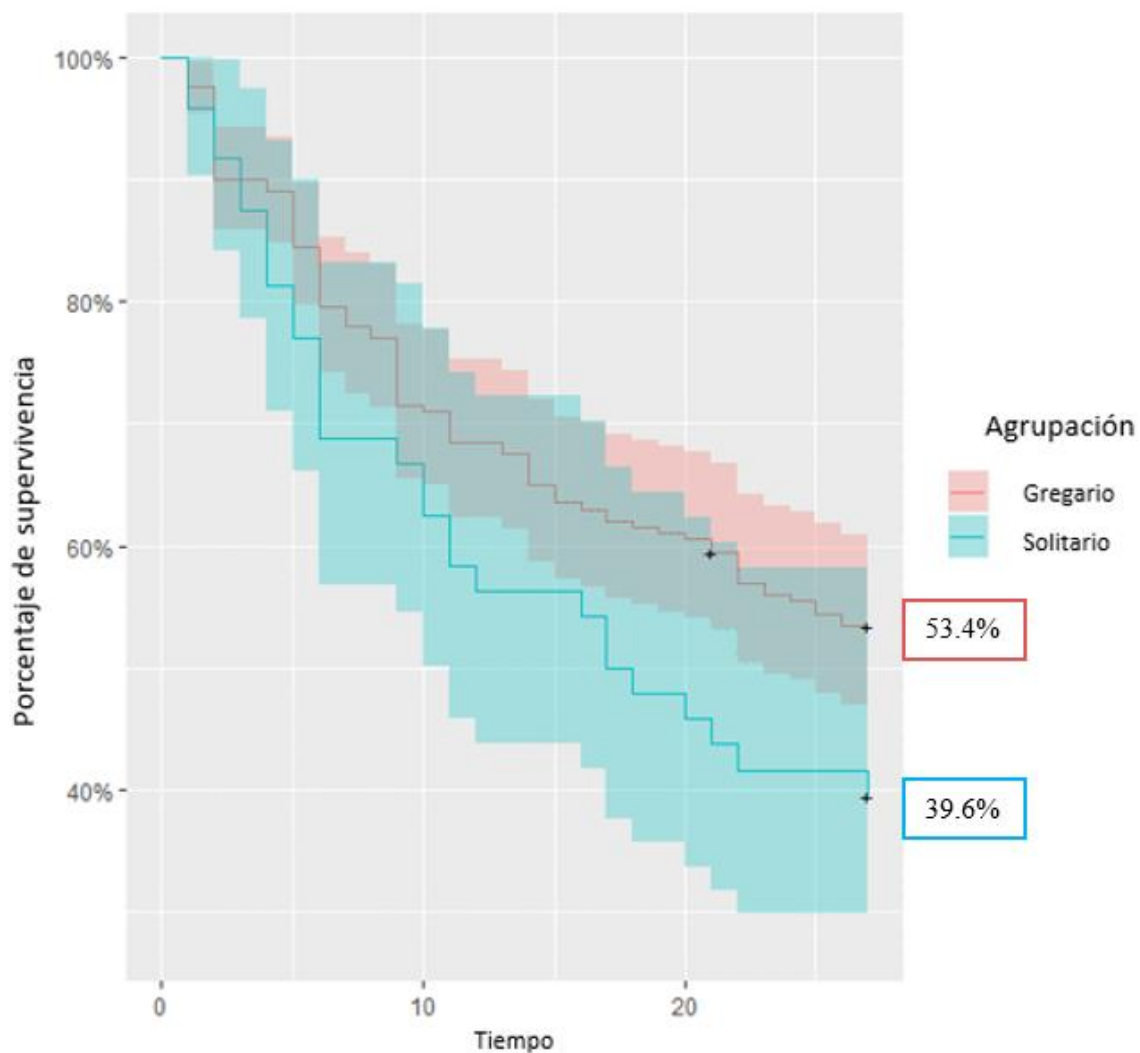


Figura 6. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y solitarias (con un sombreado que representa el intervalo de confianza de 95%) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). La diferencia en la supervivencia no es significativa según el test de proporción de la Tabla 2, los intervalos de confianza también muestran lo mismo.

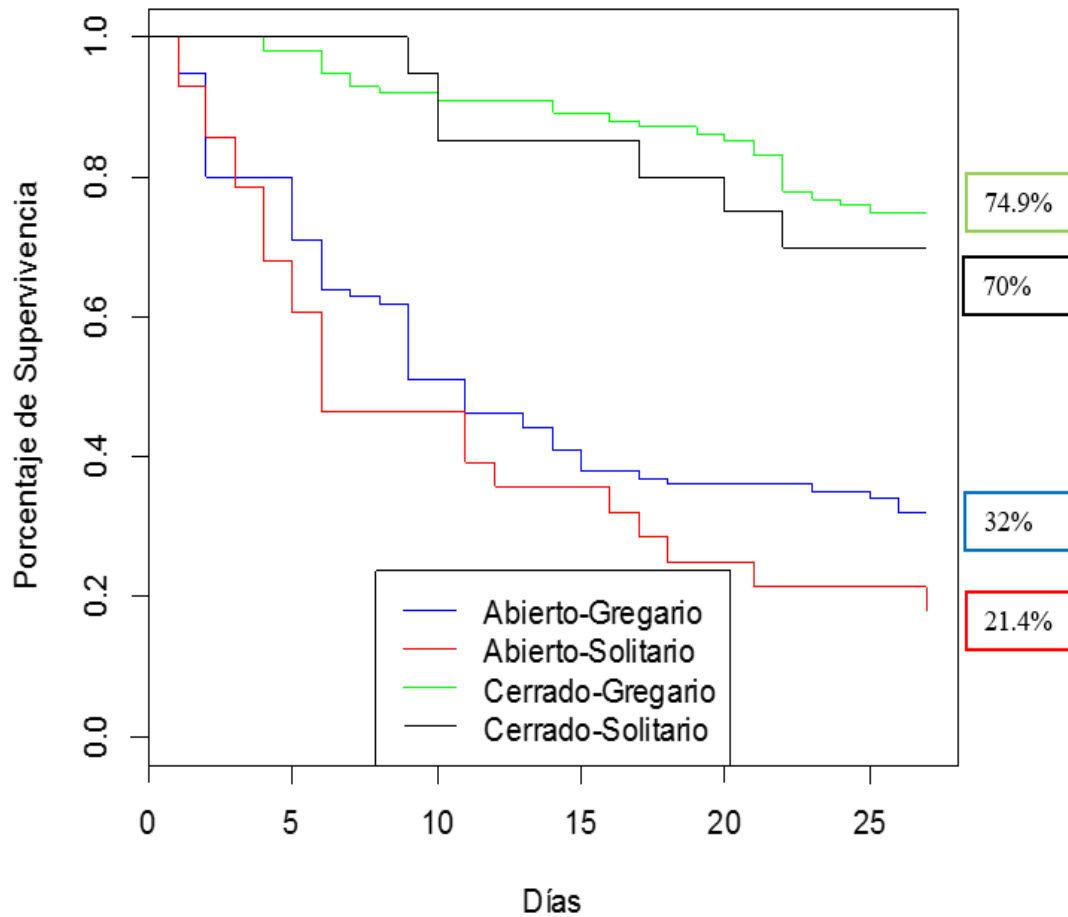


Figura 7. Curva de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en cada ambiente (cerrado/mariposario y el abierto/bosque) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). Las larvas de ambiente cerrado son las que tienen mayor supervivencia.

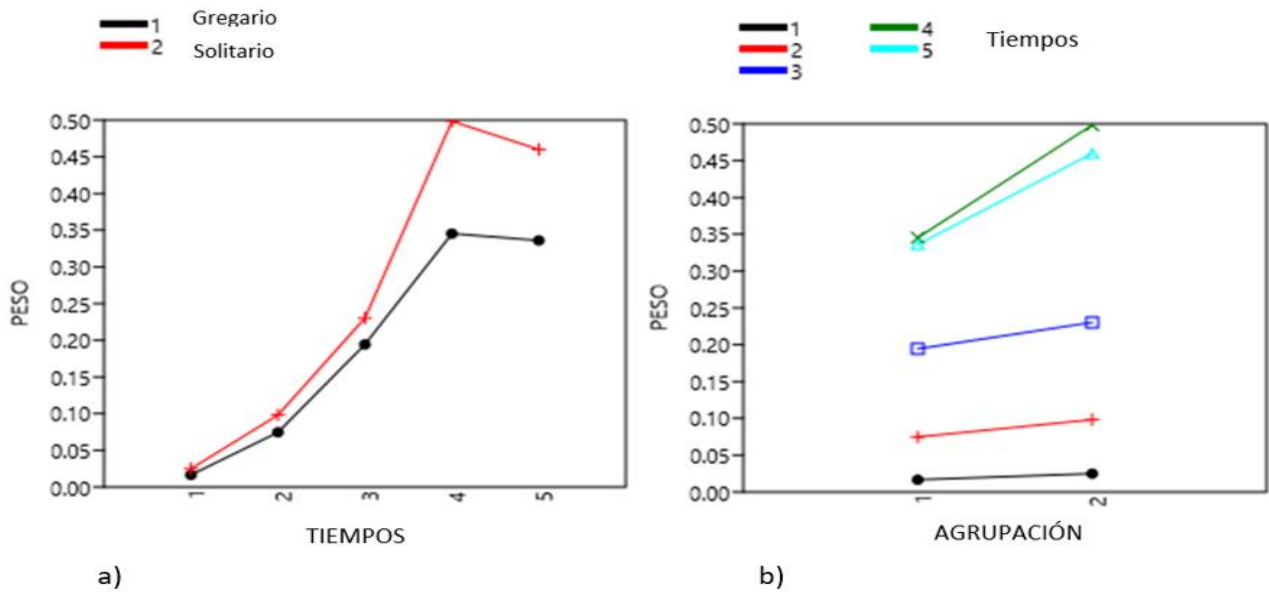


Figura 8. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado/mariposario del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). La figura a) nos muestra el crecimiento de las larvas; la figura b) nos muestra la diferencia entre el peso de las larvas en grupo y las larvas solitarias en los 5 tiempos en las que se tomó el peso.

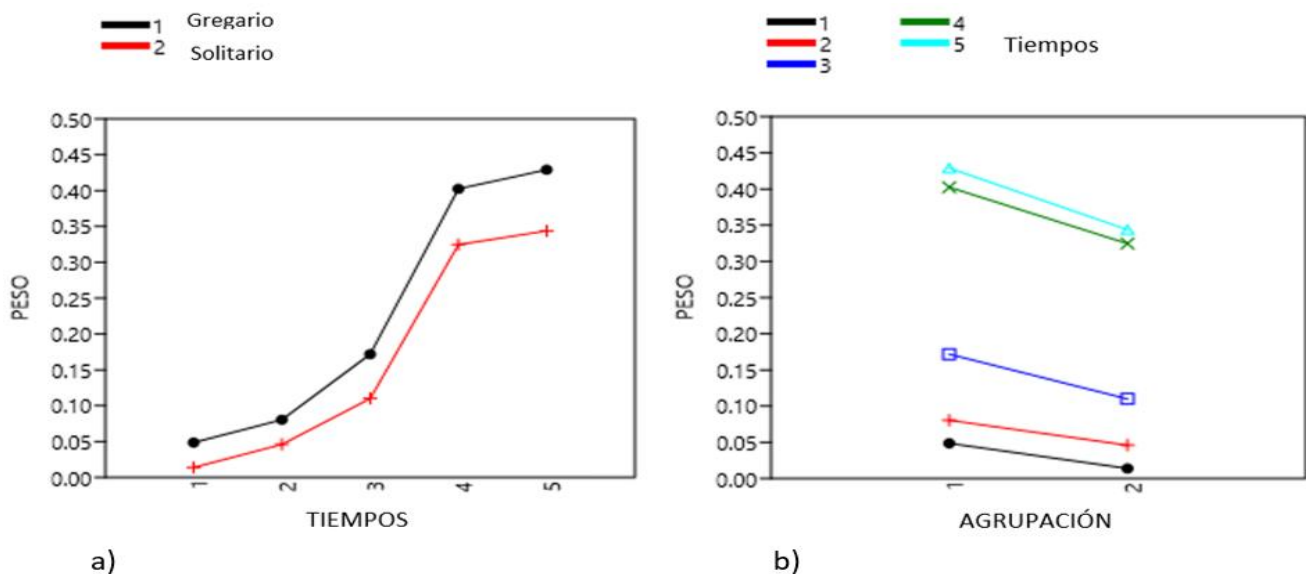
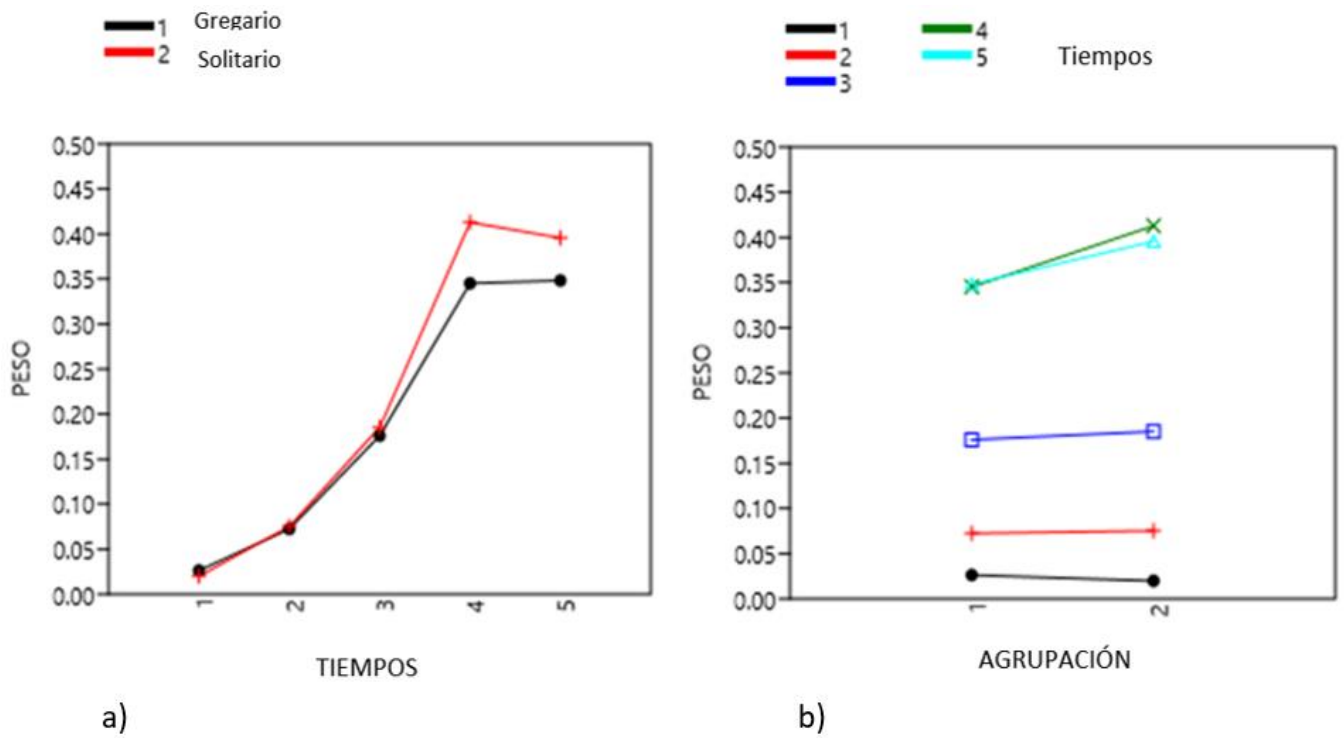


Figura 9. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto /bosque del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). La figura a) de nos muestra el crecimiento de las larvas; figura b) nos muestra la diferencia entre el peso de las larvas en grupo y las larvas solitarias en los 5 tiempos en las que se tomó el peso.



a) b)

Figura 10. Figuras correspondientes al Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto/bosque y cerrado/mariposario combinados del experimento 2 (larvas desde el tercer instar). La figura a) nos muestra el crecimiento de las larvas; la figura b) nos muestra la diferencia entre el peso de las larvas en grupo y las larvas solitarias en los 5 tiempos en las que se tomó el peso.

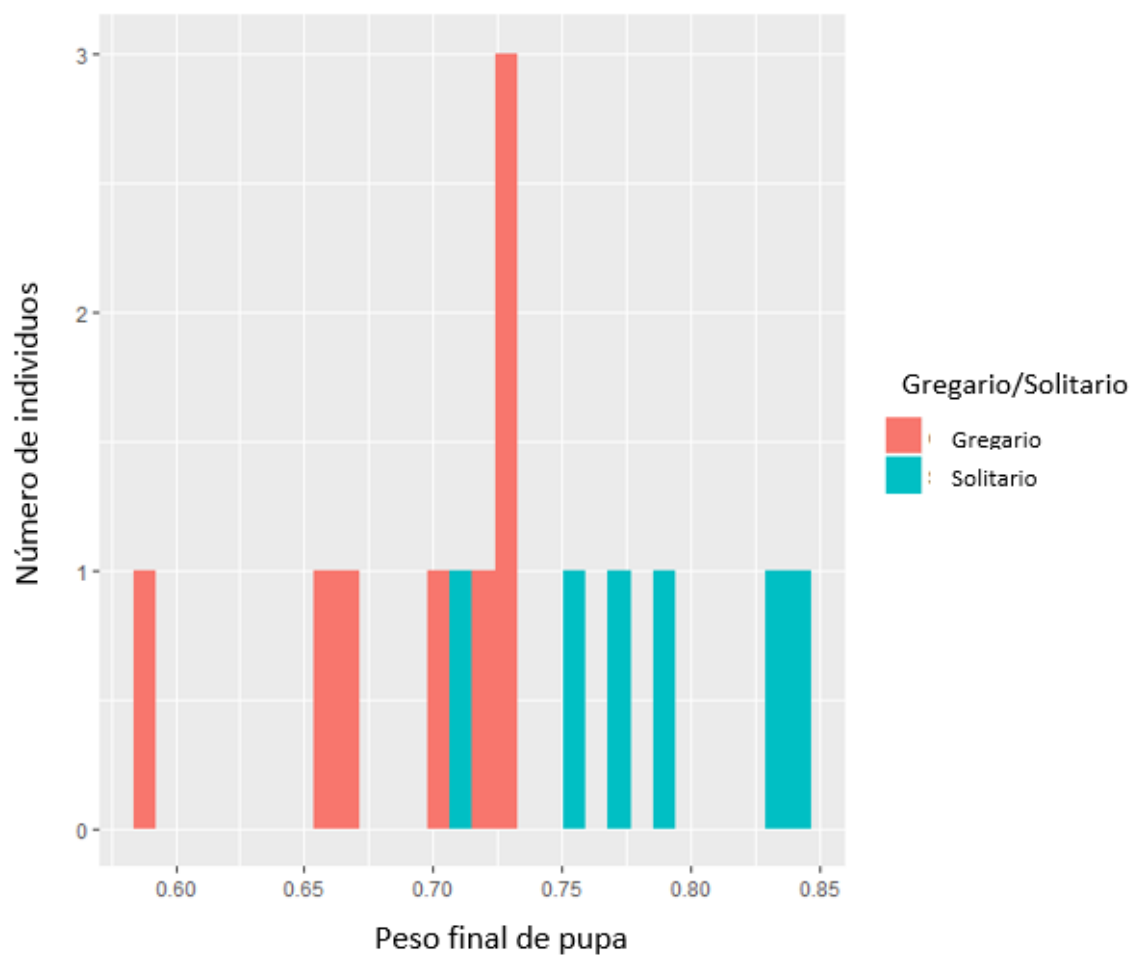


Figura 11. Peso de pupa final de las larvas agregadas y solitarias del experimento 1 (larvas desde el primer instar en ambiente cerrado/mariposario). La diferencia en el peso es significativa según el Anova de la Tabla 8, siendo las larvas solitarias las que presentan pesos mayores.

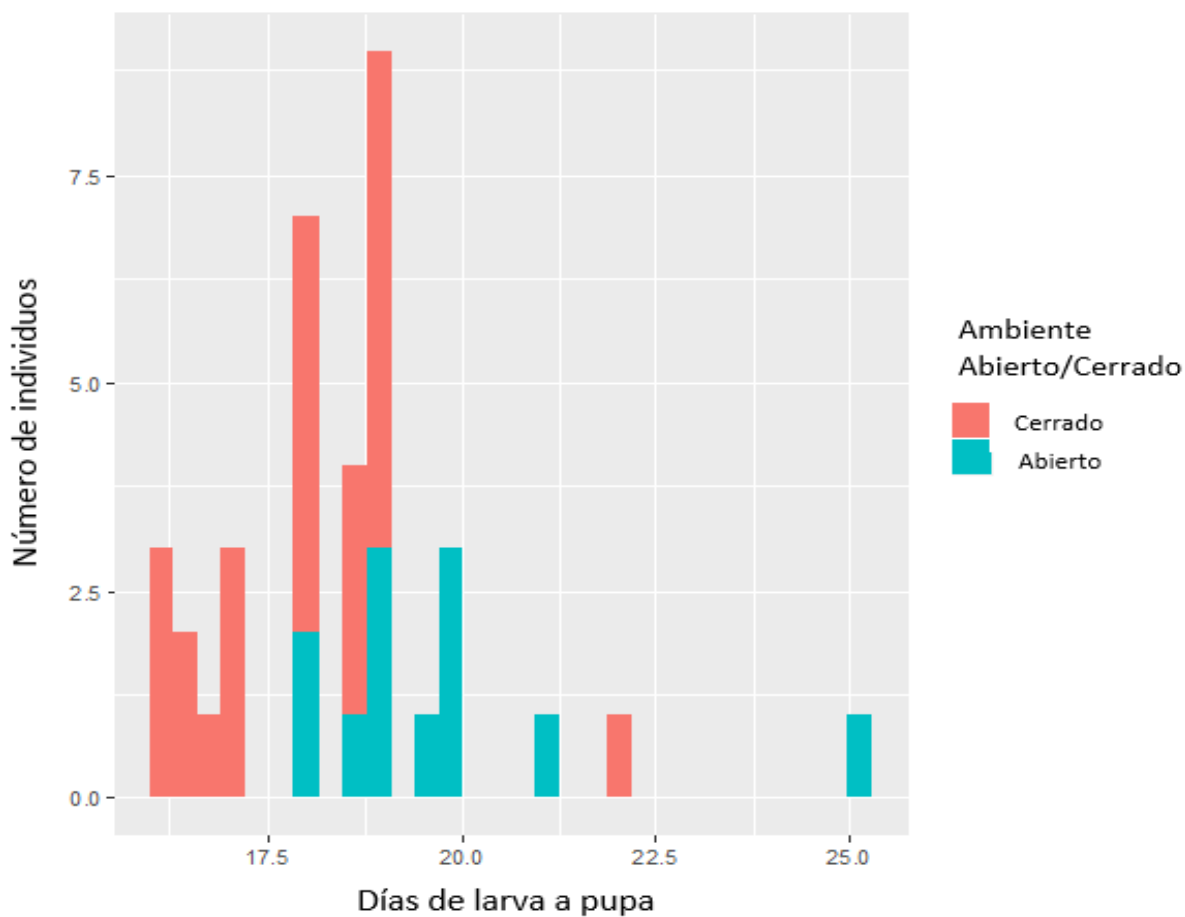


Figura 12. Periodo de días que les tomó a las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar) en pupar, en ambiente cerrado/mariposario y abierto/bosque. La diferencia en el periodo de días es significativa según el Anova de la Tabla 9, siendo el ambiente cerrado el que presentó un periodo más corto.

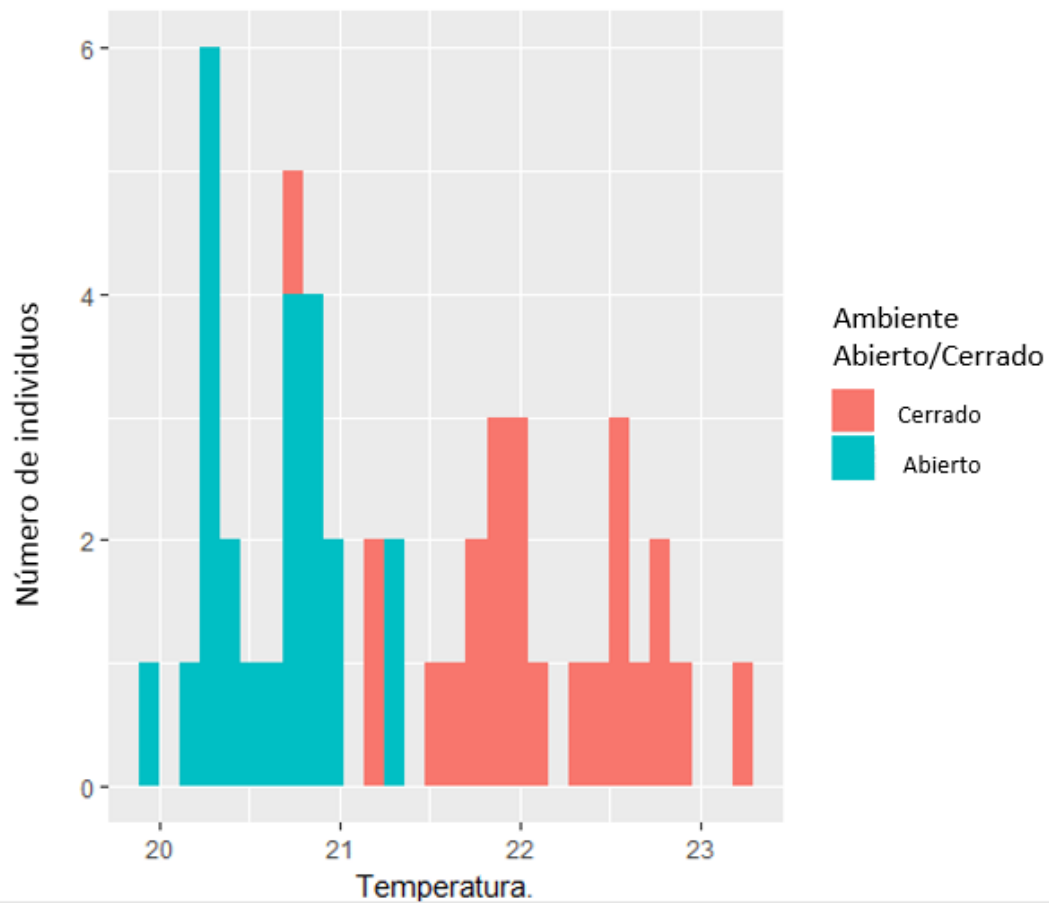


Figura 13. Temperatura tomada con data loggers de los ambientes cerrado/mariposario y abierto/bosque durante los mismos días (12/03/18 al 04/04/18). El ambiente cerrado estuvo expuesto a temperaturas mayores.

12. TABLAS

Tabla 1. Test de proporción donde se compara la mortalidad de todas las larvas (agrupadas y solitarias) en el ambiente cerrado/mariposario y el ambiente abierto/bosque del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

Abierto vs Cerrado			
	Chi-cuadrado	P-valor	GL
Gregario	35,454	2,612e-09	1
Solitario	11,173	0,0008299	1

Tabla 2. Test de proporción donde se compara la mortalidad de las larvas en grupo y las larvas solitarias en el ambiente cerrado/mariposario y el ambiente abierto/bosque del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

Gregario vs Solitario			
	Chi-cuadrado	P-valor	GL
Cerrado	0,034795	0,852	1
Abierto	1,4965	0,2212	1

Tabla 3. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado/mariposario del experimento 1 (larvas desde el primer instar).

Cerrado				
	GL	Media cuadrática	F	P
G/S	1	0.00909	0.463	0.509
Tiempo	6	8.444	533.469	2,00E-16
G/SxTiempo	6	0.024	1.496	0.225

Se tomó medidas de peso de las larvas en grupo y solitarias en 5 tiempos diferentes para analizar su crecimiento. El factor G/S corresponde a si las larvas están en grupo o solitarias, mientras G/S x Tiempo, corresponde a relación entre el Tiempo y la agrupación de la larva.

Tabla 4. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado/mariposario del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

Cerrado					
	Suma cuadrados	GL	Media cuadrática	F	P-valor
Factor A(G-S):	0,261499	1	0,261499	0,6134	0,4422
Factor B(Tiempo):	5,7084	4	1,4271	270,1	4,442E-47
A x B:	0,186006	4	0,0465015	0,8579	0,4928

Se tomó medidas de peso de las larvas en grupo y solitarias en 5 tiempos diferentes para analizar su crecimiento. El factor A corresponde a si las larvas están en grupo o solitarias y el factor B corresponde al tiempo, mientras A x B, corresponde a relación entre el Tiempo y la agrupación de la larva.

Tabla 5. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente abierto/bosque del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

Abierto					
	Suma cuadrados	GL	Media cuadrática	F	P-valor
Factor A(G-S):	0,103712	1	0,103712	0,2464	0,6294
Factor B(Tiempo):	2,69057	4	0,672644	189,2	4,129E-27
A x B:	0,0134332	4	0,00335831	0,05215	0,9947

Se tomó medidas de peso de las larvas en grupo y solitarias en 5 tiempos diferentes para analizar su crecimiento. El factor A corresponde a si las larvas están en grupo o solitarias y el factor B corresponde al tiempo, mientras A x B, corresponde a relación entre el Tiempo y la agrupación de la larva.

Tabla 6. Anova de medidas repetidas de los individuos de ambiente cerrado/mariposario y abierto/bosque combinados del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

Cerrado / Abierto					
	Suma cuadrados	GL	Media cuadrática	F	P-valor
Factor A(G-S):	0,052224	1	0,052224	0,1187	0,7326
Factor B(Tiempo):	7,85078	4	1,96269	717,4	3,657E-92
A x B:	0,0727014	4	0,0181753	0,3118	0,8697

Se tomó medidas de peso de las larvas en grupo y solitarias en 5 tiempos diferentes para analizar su crecimiento. El factor A corresponde a si las larvas están en grupo o solitarias y el factor B corresponde al tiempo, mientras A x B, corresponde a relación entre el Tiempo y la agrupación de la larva.

Tabla 7. Anova de la interacción del peso final de la pupa del experimento 1 (larvas desde el primer instar) en un ambiente cerrado/mariposario, según si se encontraban en una agrupación o de manera solitaria.

ANOVA peso pupa				
	P-valor	GL	F	Media cuadrática
Greg/Sol	0,00425	1	12,37	0,030742

Tabla 8. Anova de la interacción del peso final de la pupa de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar), según si se encontraban en una agrupación o de manera solitaria y según si se encontraban en un ambiente cerrado/mariposario o abierto/bosque.

ANOVA peso pupa			
	P-valor	GL	F
Greg/Sol	0,6724	1	0,182
Cerrado/Abierto	0,1314	1	2,397
Greg/Sol:Cerrado/Abierto	0,0855	1	3,148

Tabla 9. Anova de la interacción del periodo de días que tomaron las larvas en pupar en un ambiente cerrado/mariposario del experimento 1 (larvas desde el primer instar), según si se encontraban en una agrupación o de manera solitaria.

ANOVA días pupa			
	P-valor	GL	F
Greg/Sol	0,596	1	0,297

Tabla 10. Anova de la interacción del periodo de días que tomaron las larvas en pupar, según si se encontraban en una agrupación o de manera solitaria y según si se encontraban en un ambiente cerrado/mariposario o abierto/bosque del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

ANOVA días pupa			
	P-valor	GL	F
Greg/Sol	0,496797	1	0,473
Cerrado/Abierto	0,000311	1	16,464
Greg/Sol:Cerrado/Abierto	0,50697	1	0,452

13. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en ambiente cerrado/mariposario y libre de depredadores del experimento 1 (larvas desde el primer instar).

IN-GREGARIO				IN-SOLITARIO			
Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia	Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia
2	80	4	0,95	1	16	1	0,938
3	76	1	0,937	2	15	3	0,75
4	75	7	0,85	3	12	2	0,625
5	68	1	0,837	4	10	1	0,563
6	67	1	0,825	10	9	1	0,5
8	66	3	0,787	11	8	1	0,438
11	63	1	0,775	26	7	1	0,375
24	62	1	0,762				
25	61	2	0,737				
26	59	2	0,712				

Anexo 2. Análisis de supervivencia del ambiente cerrado/mariposario y el abierto/bosque de las larvas del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

OUT TOTAL				IN TOTAL			
Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia	Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia
1	128	7	0,945	4	120	2	0,983
2	121	17	0,812	6	118	3	0,958
3	102	2	0,797	7	115	2	0,942
4	99	3	0,773	8	113	1	0,933
5	88	11	0,688	6	112	1	0,925
6	77	11	0,602	10	111	3	0,9
7	76	1	0,594	14	108	2	0,883
8	75	1	0,586	16	106	1	0,875
9	64	11	0,5	17	105	2	0,858
11	64	7	0,445	19	103	1	0,85
12	57	1	0,437	20	102	2	0,833
13	56	2	0,422	21	100	2	0,817
14	54	3	0,398	22	97	6	0,766
15	51	3	0,375	23	91	1	0,758
16	48	1	0,367	24	90	1	0,749
17	47	2	0,352	25	89	1	0,741
18	45	2	0,336				
21	43	1	0,328				
23	42	1	0,32				
25	41	1	0,312				
26	40	2	0,297				
27	38	1	0,289				

Anexo 3. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y solitarias del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

GREGARIO TOTAL				SOLITARIO TOTAL			
Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia	Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia
1	200	5	0,975	1	48	2	0,958
2	195	15	0,9	2	46	2	0,917
4	180	2	0,89	3	44	2	0,875
5	178	9	0,845	4	42	3	0,813
6	169	10	0,795	5	39	2	0,771
7	159	3	0,78	6	37	4	0,688
8	156	2	0,77	9	33	1	0,667
9	154	11	0,715	10	32	2	0,625
10	143	1	0,71	11	30	2	0,583
11	142	5	0,685	12	28	1	0,563
13	137	2	0,675	16	27	1	0,542
14	135	5	0,65	17	26	2	0,5
15	130	3	0,635	18	24	1	0,479
16	127	1	0,63	20	23	1	0,458
17	126	2	0,62	21	22	1	0,438
18	124	1	0,615	22	21	1	0,417
19	123	1	0,61	27	20	1	0,396
20	122	1	0,605				
21	121	2	0,595				
22	118	5	0,7				
23	113	2	0,56				
24	111	1	0,55				
25	110	2	0,545				
26	108	2	0,534				

Anexo 4. Análisis de supervivencia de las larvas en grupo y las solitarias en cada ambiente (cerrado y el abierto) del experimento 2 (larvas desde el tercer instar).

OUT-GREGARIO				OUT-SOLITARIO			
Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia	Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia
1	100	5	0,95	1	28	2	0,929
2	95	15	0,8	2	26	2	0,857
5	80	9	0,71	3	24	2	0,786
6	71	7	0,64	4	22	3	0,679
7	64	1	0,63	5	19	2	0,607
8	63	1	0,62	6	17	4	0,464
9	62	11	0,51	11	13	2	0,393
11	51	5	0,46	12	11	1	0,357
13	46	2	0,44	16	10	1	0,321
14	44	3	0,41	17	9	1	0,286
15	41	3	0,38	18	8	1	0,25
17	38	1	0,37	21	7	1	0,214
18	37	1	0,36				
23	36	1	0,35				
25	35	1	0,34				
26	34	2	0,32				
IN-GREGARIO				IN-SOLITARIO			
Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia	Tiempo	Individuos en riesgo	Número de eventos	Supervivencia
4	100	2	0,98	9	20	1	0,95
6	98	3	0,95	10	19	2	0,85
7	95	2	0,93	17	17	1	0,8
8	93	1	0,92	20	16	1	0,75
10	92	1	0,91	22	15	1	0,7
14	91	2	0,89				
16	89	1	0,88				
17	88	1	0,87				
19	87	1	0,86				
20	86	1	0,85				
21	85	2	0,83				
22	82	5	0,779				
23	77	1	0,769				
24	76	1	0,759				
25	75	1	0,749				