Influencia de la selección de planta hospedadora, de los parasitoides y de la competencia intraespecífica en el desarrollo y mortalidad de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*)

Tomás Pérez Contreras

Tesis Doctoral

Granada, 2004

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Biología Animal y Ecología

Influencia de la selección de planta hospedadora, de los parasitoides y de la competencia intraespecífica en el desarrollo y mortalidad de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*).

TESIS DOCTORAL

TOMÁS PÉREZ CONTRERAS

GRANADA, 2004

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Biología Animal y Ecología

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Estación Experimental de Zonas Áridas

Influencia de la selección de planta hospedadora, de los parasitoides y de la competencia intraespecífica en el desarrollo y mortalidad de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*).

Memoria presentada por Tomás Pérez Contreras para optar al Grado de Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada.

Los Directores

Fdo. Juan José Soler

Fdo. Manuel Soler

El Doctorando

Fdo. Tomás Pérez Contreras

Granada, 2004

La Fuerza del Mundo actúa siempre de forma circular. El cielo es redondo y he oído decir que la Tierra es redonda como una pelota, al igual que las estrellas. El viento nunca sopla más fuerte que cuando da vueltas. Los pájaros hacen nidos circulares, pues su religión es la misma que la nuestra. El sol se alza y vuelve a caer en círculo. Lo mismo hace la luna, y ambos son redondos. Hasta las estaciones forman un círculo con sus cambios, y siempre vuelven al punto de partida. La vida de un hombre es un círculo que va de niñez en niñez. Y así sucede con cuanto lleva fuerza en su interior.

Alce Negro,

Sioux oglala (1863-1950)

A mis padres, a mi tío Tomás (†), a mi hijo Tomás y a Pili

AGRADECIMIENTOS

Han pasado muchos años desde que en 1993 Manolo Soler me propuso el tema que hoy se plasma en esta tesis. Como consecuencia de todo el tiempo transcurrido, debería de adjuntar un anexo, del grosor de otra tesis, sólo para mostrar mi agradecimiento a todas las personas que, en mayor o menor medida, han contribuido a lo que hoy tienes entre manos. Por otro lado, lamento profundamente que durante todo este tiempo haya habido personas a las que seguro que hubiera hecho ilusión ver terminado este proyecto y que la mala fortuna o el destino se lo ha impedido llevándoselos de éste mundo ..... lo siento!

En primer lugar, y debido simplemente a un orden cronológico, al Dr. Felipe Pascual Torres, Director durante muchos años del Departamento de Biología Animal y Ecología, por permitir mi incorporación al Departamento en 1991 como alumno interno y poner a mi disposición el material y las instalaciones del mismo. A partir de junio de 2002, la Estación Experimental de Zonas Áridas de Almería, dependiente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, fue el lugar donde he llevado a cabo el proceso de redacción de ésta tesis. Agradezco a Lali Moreno, Directora de dicho Instituto, la amabilidad con la que me aceptó y permitió mi estancia allí.

Aunque hay quien dice que tengo un "culo de mal asiento", el Departamento de Biología Animal y Ecología ha sido como mi segunda casa, no por la comodidad sino por la cantidad de años que he estado en él. Dentro han sido muchas las personas con las que he pasado buenos momentos, y a los cuales considero mis compañeros y amigos. Eduardo Romero, Adeli, Montaña, Paqui, Alberto, Ignacio, Miguel, Mounim, Manolo Tierno, Pepe, Eva, Roca, Dani, Mani, Javier Alba, Juan Manuel Pleguezuelos, Antonino (†), Amelia y al resto de la gente del Departamento. Además, personas del Departamento como José Antonio y Manolo Martín han supuesto el apoyo logístico tan necesario para el trabajo diario. Con el primero de ellos he mantenido muchas conversaciones que, aunque nunca trataron de trabajo, la verdad es que servían para desconectarte un poco y hacer más llevadero algún que otro día duro. A José Miguel Ramos López, responsable de Cromatografía y Espectrometría de Masas del Centro de Instrumentación Científica de la

Universidad de Granada, por su ayuda e interpretación de los resultados de los análisis de aceites esenciales.

En la EEZA (Almería), aunque no he pasado tanto tiempo, la verdad es que desde el primer día fui acogido con cariño por todas y cada una de las personas que trabajan allí. A todas, sin excepción, desde el personal de portería, pasando por el personal de limpieza hasta el último de los investigadores que trabaja allí, muchas gracias, y especialmente a Carmen, Paco Valera y Javier Cuervo.

Todos mis compañeros del grupo de Investigación "Comportamiento y Ecología Animal" siempre se han mostrado dispuestos a prestar su ayuda en todo lo que hiciera falta. Eduardo Ramírez, Javi, Julio, Jacob, Mourad, Filippe, Gregorio, Magdalena, Lola. Liesbeth me apoyó en mis muchas paranoyas y me dio el impulso en ocasiones tan necesario para "darle caña" al trabajo. David me ayudó en temas informáticos y del idioma, y revisó parte de los manuscritos. Pepa y Maritxu soportaron y me apoyaron animicamente con los últimos problemas informáticos que sufrieron las últimas versiones de la tesis. Juan Gabriel Martínez me ayudó a solucionar muchos de los problemas informáticos y estadísticos con los que me he enfrentado durante estos años, además de haber leído y comentado casi todos los manuscritos. Con él he salido mucho al campo y me enseñó a disfrutar de día del campo y de Guadix de noche. Manuel Martín-Vivaldi también ha leído y comentado varios manuscritos y me ha servido muchas veces como modelo a seguir dado el entusiasmo y empeño que pone en todo lo que se embarca. Carmen Zamora, miembro de honor del grupo, me prestó su ayuda siempre que se lo pedí, además, su compañía y sus consejos han sido siempre estupendos. También quiero agradecer los buenos momentos que he pasado con las personas relacionadas con el grupo de investigación de una u otra forma: Gabriele Sorci, Jesus Avilés, Juan Moreno, Mari Lola, Maria del Mar, Lola, Teresa (†), Antonio, Chemi, Miki y Javier Minguela.

Anders Pape Møller, D. Wiggins y P. Jordano aportaron muchas sugerencias y acertadas correcciones al manuscrito de la asimetría. Ian Hardy revisó el manuscrito referente a los parasitoides. Desde aquí quiero expresar mi satisfacción por contar con la revisión de los manuscritos por parte de tan importantes investigadores.

No sería justo dejar de nombrar a todas las personas que he conocido en Guadix con muchos de los cuales he llegado a entablar una muy buena amistad: Gregorio y Carlos del "Manjón", a la gente del SEPRONA, al guarda de la CHG y a su hijo, con los que tuve muchas conversaciones acerca de la procesionaria, a Carmelo "el vecino" y a su madre, al Che, a los de la churrería "San Miguel", a "Cato"(†), a los del "Brasilia", a Manolo "Tirapiedras" por el trato tan cariñoso que siempre nos ha deparado a todos los del grupo, a "Cato" de La Fuente, a toda la gente del Restaurante "Andrés" que nos acogió a todos los del grupo como si fuéramos de la familia. Todos ellos me han ayudado en todo lo posible, y han hecho que mi estancia en Guadix y su comarca, sea muy agradable y que tenga un cariño especial por un pueblo que no conocía.

A la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir por concederme el permiso para trabajar en los terrenos de su propiedad.

A los alumnos de la asignatura de Etología, de la promoción 1995-96 y 1996-97, por el interés mostrado en las prácticas y a los muchos amigos que me han visitado y acompañado al campo, haciendo más agradable los meses que pasaba cada año en Guadix. A Luismi por su inusitado interés acerca de las investigaciones realizadas, Sergio, Elena, Faustino, Roger, Oscar Marzo, Santi, Damián, Jesús y Mari, África y Fernando, Javier y Graciela, Jesús López, Juan Carlos y Elsa, Emilio "Albeitar" por su sincero entusiamo cada vez que hablamos, Ana y Pepe, Oscar y Eva, Paco, Humberto y Víctor.

A Luis y Pilar por su preocupación y el interés mostrado a pesar de tratarse sólo de "subirme a los pinos a ver mariposas", a Rafa y a Victoria.

También quiero agradecer la preocupación y el interés mostrado por mi familia, porque este trabajo no parecía acabarse nunca, y siempre me han apoyado en todo: A mis padres, Juan Ignacio y Rosa, siendo su afición por los paseos campestres lo que desde pequeño me ha conducido a amar y respetar la Naturaleza y, afortunadamente, a trabajar (por ahora) en este tema; además, mi padre ha tenido el valor de corregir algunos manuscritos; a mis hermanas Rosa y Mª Carmen, ésta última me ayudó en alguna ocasión a meter interminables listas de datos en el ordenador, mis hermanos Juan y Kiko, que me acompañaron alguna vez al campo, Fernando y Belén me permitieron utilizar sin problemas

su casa como centro de operaciones, a Enrique, José Ramón y, por supuesto, a Pili, que siempre me ha apoyado y aconsejado cuando han surgido problemas (y cuando no también), mostrando un gran interés por este trabajo, además de haberme acompañado al campo en muchas ocasiones y haber revisado el manuscrito de esta tesis.

Por último, mis codirectores de tesis, Juan José Soler y Manolo Soler, a los que considero verdaderamente amigos y compañeros. El primero de ellos ha sido el responsable del "achuchón" final que ha permitido que acabara la tesis. Sus comentarios siempre acertados han permitido enfocar y mejorar en gran medida este trabajo. Nunca podré agradecerle lo suficiente el tiempo que ha pasado conmigo y la paciencia que sé que ha tenido, resolviendo innumerables problemas informáticos, estadísticos y sobre todo, compartiendo sus conocimientos enciclopédicos y consiguiendo despertar mi interés por este tema. Además, siempre me ha mostrado su interés y su apoyo para que siguiera con este trabajo. Gracias a su confianza me proporcionó una beca en la EEZA que es la que me ha permitido tener la tranquilidad suficiente para terminar éste proyecto.

Manuel Soler ha sido mi tutor y el codirector de la tesis. Tengo que agradecerle que me aceptara como alumno interno del Departamento en 1991, y que me permitiera trabajar, además de con la procesionaria, con algo que había sido mi ilusión desde pequeño, los pájaros. Gracias a él disfruté durante unos años de varias becas financiadas por los fondos del grupo de investigación "Comportamiento y Ecología Animal". También he de agradecerle que desde entonces haya confiado en mí, poniendo a mi disposición todo el material que fue necesario y dándome cada vez más responsabilidad, permitiéndome trabajar paralelamente con distintos proyectos, lo que ha servido para motivarme. Además, su enorme capacidad de trabajo y optimismo, al igual que la de su hermano Juan, me ayudó a seguir trabajando en los momentos difíciles (que han sido muchísimos), permitiendo que llegara el día en el que este trabajo ha podido finalizarse.

A todos ellos, mi más sincero AGRADECIMIENTO

CONTENIDOS

MANUSCRITOS INDIVIDUALES

INTRODUCCIÓN

Distintas cuestiones ecológicas y evolutivas han proporcionado el principal motivo para muchos estudios sobre las relaciones entre insectos fitófagos y plantas. Como consecuencia de la gran diversidad y abundancia de insectos fitófagos, éstos suponen el eslabón más importante entre los productores primarios, las plantas verdes, y una multitud de animales de niveles tróficos superiores. Por un lado, la abundancia de insectos parasitoides y predadores es una consecuencia directa de la abundancia de insectos fitófagos, y por otro lado, muchos vertebrados, desde los peces hasta los mamíferos, dependen de ellos para su sustento. Además, los insectos fitófagos influyen muy directamente en la evolución de las plantas, dando lugar a procesos coevolutivos. Este último aspecto es un tema interesante en los estudios de las relaciones entre insectos y plantas y, en general, se acepta que la gran diversidad de metabolitos secundarios producidos por las plantas son la respuesta al ataque de los herbívoros, particularmente los insectos, y que muchos insectos evolucionan en respuesta a los cambios en sus plantas hospedadoras. El modelo de Ehrlich & Raven (1964) constituye la exposición más común del cambio evolutivo recíproco. Dicho modelo, modificado posteriormente por Berembaum (1983), establece en siete pasos el proceso de coevolución planta-fitófago. De manera resumida, en un primer paso, muchas especies de plantas fabrican sustancias fitoquímicas que son ligeramente nocivas para los insectos y que pueden tener una función autoecológica o fisiológica en la planta. Algunas especies de insectos se alimentan de estas plantas, reduciendo la eficacia biológica de las mismas. Posteriormente, una mutación en la planta causa la producción de una nueva sustancia más nociva, que puede aparecer independientemente en distintos grupos de plantas relacionados. Por tanto, la alimentación del insecto se reduce a causa de esta nueva sustancia, por lo que las plantas que incrementen las sustancias nocivas serán seleccionadas por la presión de la herbivoría de los insectos. El paso siguiente es que se produce una radiación evolutiva de las plantas y los insectos evolucionan tolerancia, o incluso atracción y utilización del nuevo compuesto, de manera que un insecto puede especializarse en comer sólo plantas con el nuevo compuesto. El ciclo puede repetirse, resultando en la producción de más sustancias fitoquímicas y una posterior especialización de los insectos.

Otro campo de estudio está centrado en el hecho de que algunos insectos son muy importantes en actividades humanas. Muchas especies se alimentan en un rango muy limitado de plantas y, con el desarrollo de grandes áreas de cultivo, algunos de éstos especialistas se han convertido en importantes plagas. Otras especies, sin embargo, constituyen plagas, pero precisamente por su falta de especialización, debido a que presentan una elevada fecundidad y, dada su falta de selectividad en la alimentación, saturan con gran rapidez cualquier hábitat. En este sentido, el estudio de la selección de hospedador por parte de insectos herbívoros es muy importante, tanto desde el punto de vista aplicado como desde el evolutivo.

Factores que influyen en la selección de hospedador

Muchos insectos adultos holometábolos, como los lepidópteros, ponen sus huevos en una planta hospedadora apropiada para el posterior desarrollo larvario. La selección de la planta hospedadora implica no sólo escoger la verdadera especie de planta, sino seleccionar un pie de planta que está o estará disponible para la alimentación, desarrollo y supervivencia de su descendencia (Bernays & Chapman 1994). El éxito reproductor de una hembra va a depender mucho del lugar donde realice la puesta, y éste será máximo en las plantas más adecuadas, que son aquellas que presentan una mayor calidad y una menor competencia intraespecífica (Rhainds *et al.* 1996).

Distintas especies de insectos herbívoros a menudo seleccionan distintas especies de plantas hospedadoras y una misma especie de insecto puede seleccionar activamente distintas especies de plantas, siendo el número de especies hospedadoras posibles un carácter específico. Además, dentro de una misma especie de planta hospedadora, existe variabilidad individual en la calidad alimenticia y en el nivel de defensas mostradas frente a la herbivoría, lo que conlleva una posible selección óptima de hospedador si el nivel de defensas o la calidad como alimento de los distintos pies de planta es detectable por los herbívoros. En este sentido, algunos estudios han mostrado que individuos, o incluso poblaciones enteras pertenecientes a especies de insectos, pueden rechazar plantas aunque formen parte del rango "normal" de esa especie (Heard 2000, Holmgren & Getz 2000). Por tanto, el rango de planta hospedadora y las preferencias dentro de este rango, a menudo varían dentro y entre poblaciones, por lo que asumir que los insectos fitófagos poseen

preferencias claras de planta hospedadora fijadas a nivel de especie y sin diferenciar entre individuos de la misma especie es erróneo (Schoonhoven *et al.* 1998).

Las diferencias en la búsqueda y en la selección de plantas hospedadoras, por parte de los insectos, pueden estar determinadas genéticamente o pueden resultar de la experiencia previa. La diferenciación genética individual en la preferencia de hospedador es probablemente más común que los pocos registros que hay sobre este fenómeno (Futuyima & Peterson 1985, Gould 1993). Es decir, cada insecto, como individuo, puede desviarse de la moda y poseer sus propias preferencias y aversiones alimenticias. La relación entre preferencias alimenticias con un componente genético y el diferencial en eficacia biológica entre distintos fenotipos nos explicarían tanto la norma poblacional como un posible cambio en la misma a través de generaciones sucesivas. Haldane ya expuso, en 1949, la importancia de los procesos de selección de hospedador en los procesos evolutivos y constituye actualmente un importante aspecto de la investigación biológica. Una de las principales razones del interés por la variación genética en la selección de hospedador es que la variabilidad a escala individual dentro de una población proporciona una medida del potencial para la selección natural y para una rápida evolución. También el estudio de cómo diferentes poblaciones varían y cómo una sola población puede dividirse proporciona información sobre cómo pueden surgir nuevas especies con diferentes características de hospedador.

Los patrones de selección de planta hospedadora para las especies herbívoras vienen dados por la especificidad de planta y por los caracteres físico-químicos de la misma. En insectos con larvas fitófagas la relación entre la preferencia ovopositora del adulto y el desarrollo de su descendencia es el punto clave para comprender la evolución de las asociaciones insecto-planta (Thompson 1988a). En el caso de las especies fitófagas, las características de la especie de planta seleccionada (composición química y valor nutricional, entre otras) influyen en el desarrollo larvario, por lo que se producen fenómenos de especialización más o menos estrechos. En la planta cualquier aumento en defensas (por ejemplo químicas) disminuirá los daños producidos por los insectos, mientras que en los insectos, cualquier característica que les permita contrarrestar las defensas de la planta sería rápidamente seleccionada. Esta es la esencia, tanto de la teoría coevolutiva como de la evolución secuencial, de las interacciones insecto-planta hospedadora (Ehrlich

& Raven 1964, Jermy 1984, Ronquist & Nylin 1990). Cuando no se detecta una relación entre desarrollo larvario y preferencia de planta por parte del adulto, se interpreta como evidencia de que otros factores ecológicos, tales como la elección de un hábitat libre de enemigos (parasitoides, parásitos y depredadores), son los que determinan principalmente el lugar (planta) de ovoposición (p. e. Atsatt 1981, Bernays & Graham 1988; pero ver también Strong 1988), aunque no se puede eliminar la posibilidad de una "equivocación" al seleccionar hospedador (Papaj 1986, Scriber *et al.* 1991, Larsson & Ekbom 1995, Hódar *et al.* 2002).

Polimorfismo en la selección de hospedador

En los insectos fitófagos normalmente existe un hospedador primario y otros secundarios que usarán cuando el primario no esté disponible (p. e. Wiklund 1981, Thompson 1988b). Una hembra fecundada puede suspender totalmente la ovoposición si no encuentra una planta adecuada, o migrar hasta encontrar un hospedador adecuado (Tammaru *et al.* 1995) corriendo el riesgo de morir antes de realizar la puesta, por lo que el uso de hospedadores subóptimos es, en muchos casos, la mejor de una serie de malas opciones (Leather *et al.* 1983, Ward *et al.* 1983). Varios estudios experimentales han demostrado la existencia de polimorfismo en la selección de plantas como lugar de ovoposición y en las preferencias alimenticias de sus larvas (Schneider & Roush 1986, Thompson 1988b). Por tanto, al menos en estos casos, no se podría hablar de errores o de selección de hospedadores subóptimos. Cada fenotipo estaría seleccionando una planta como alimento de sus larvas para la que deben de existir adaptaciones que maximicen su tasa de crecimiento o supervivencia. Además, es importante destacar que un polimorfismo en la selección de hospedador implicaría la no-desaparición de estas especies aun cuando desaparecieran del ambiente todos los individuos hospedadores primarios (Schoonhoven *et al.* 1998).

Variación en el nivel de defensas frente a herbívoros en plantas hospedadoras

Una de las cuestiones claves en coevolución es estudiar si las plantas ejercen presiones selectivas sobre los insectos. En este sentido, una de las principales líneas de investigación es estudiar las adaptaciones de los insectos a las defensas químicas y físicas de las plantas. Aunque existen numerosos ejemplos de insectos que se alimentan de plantas

con altos niveles de defensas, una opción para los insectos es seleccionar individuos o especies con bajos niveles de defensa. Es decir, que la selección de hospedadores con bajos niveles de defensas podría considerarse como una reacción frente a las defensas del hospedador. Se han realizado numerosos estudios sobre los factores que determinan la elección de la planta para depositar la puesta. Entre ellos se han destacado factores físicos, como la forma, el tamaño y color de la planta (Rausher 1979, Renwick & Chew 1994, Stanton 1984); y factores químicos, que son probablemente la fuente más importante de información de calidad de la planta, y que más puede contribuir a la decisión final de la hembra de ovopositar o no en una planta determinada (Schultz 1988).

Desde la perspectiva de la planta, los mecanismos de defensa han sido clasificados en tres categorías (Strong *et al.* 1984): (i) armamento físico (ganchos, espinas, tricomas, dureza de las hojas); (ii) calidad nutricional, tales como bajos niveles de nitrógeno disponible, o una baja razón agua / nitrógeno; y (iii) armamento químico, tales como sustancias químicas nocivas que provocan repulsión, no son comestibles o son venenosas, o que impiden una correcta asimilación por los insectos. El nivel de los mecanismos de defensa varía entre individuos, y se ha propuesto que el estrés durante el desarrollo de las plantas disminuye su calidad individual y su nivel de defensa contra los herbívoros (Rhoades 1979, Coley *et al.* 1985). Por lo tanto, las hembras deberían seleccionar aquellas plantas con bajos niveles de defensa para maximizar el crecimiento y supervivencia de la descendencia.

El estrés sufrido durante el desarrollo es relativamente fácil de detectar puesto que la mayoría de seres vivos tienen características morfológicas simétricas, y el nivel de desviación con respecto al valor óptimo (normalmente caracteres simétricos) es una medida fiel del estrés que un individuo ha sufrido durante su desarrollo (Møller & Pomiankowski 1993). Varios estudios han mostrado que la asimetría fluctuante en estructuras morfológicas de plantas está relacionada con la calidad individual y su capacidad para superar el estrés sufrido durante el desarrollo (Møller 1996, Sherry & Lord 1996). Como consecuencia, el nivel de asimetría fluctuante de una planta individual debería indicar su calidad, y los insectos pueden usar esta variación en la asimetría de la planta en su decisión de elegir o no una planta para ovopositar (Møller & Eriksson 1994, 1995, Møller 1995a,b, Wiggins 1997).

Respuestas de las plantas frente a herbívoros

Otro aspecto de las interacciones herbívoro-planta que ha recibido mucha atención es el estudio de las respuestas de las plantas a la herbivoría, ya que estas son variables y, generalmente, dependen del tiempo de duración de la relación animal-planta, del tipo y magnitud de la herbivoría, de la disponibilidad de recursos en el ambiente que permitan a la planta sobreponerse a sus efectos (McNaughton 1983, Rosenthal & Kotanen 1994), y del historial de ataque sufrido por ésta (McNaughton 1983, Paige 1992, Lennartsson *et al.* 1998). Concretamente, una de las cuestiones más interesantes en tales interacciones es el efecto del herbívoro en la reducción del éxito reproductor de la planta, ya que el grado de reducción es indicativo de la presión selectiva que el herbívoro ejerce sobre la planta, que es uno de los factores que dirigen los procesos coevolutivos existentes entre el herbívoro y la planta seleccionando adaptaciones en las plantas que contrarresten los efectos negativos de los herbívoros, los cuales seleccionaran contra-adaptaciones en los herbívoros (Ehrlich & Raven 1964).

En general, estas respuestas tienen lugar por medio de mecanismos de tolerancia, compensación, y/o defensas directas frente a herbívoros. La tolerancia es la capacidad de la planta para resistir y sobrevivir a los efectos negativos de la herbivoría. La compensación es el incremento en la tasa de crecimiento de la planta después de una pérdida de tejidos como consecuencia de la herbivoría. Por último, los mecanismos directos defensivos frente a herbívoros pueden ser, tanto físicos (espinas, inclusión de cristales minerales en sus tejidos, etc), como químicos (incorporación de sustancias químicas que, por su carácter repelente o venenoso, repelen en mayor o menor medida a los herbívoros) (Coley *et al.* 1985). Por tanto, las plantas responden a la herbivoría directamente produciendo defensas contra los herbívoros (ver Zangerl & Rutledge 1996), e indirectamente tolerándoles mediante rasgos intrínsecos de compensación, tanto fisiológicos como morfológicos (p.e. aumento en la tasa fotosintética, movilización de reservas almacenadas) (Rosenthal & Kotanen 1994).

Las condiciones ambientales, principalmente el estrés hídrico, también juegan un papel importante en las relaciones de la planta y el herbívoro. Por ejemplo, en los casos de sequía natural, los herbívoros ejercen sobre las coníferas un efecto positivo sobre el crecimiento del pino (Waring & Cobb 1992), ya que al desprenderse de las hojas se reduce

el área foliar y, por tanto, la pérdida de agua por transpiración, disminuyendo así el estrés hídrico e incrementando el ciclado de nutrientes (Clancy *et al.* 1995). De hecho, en estos ambientes, la caída de productos relacionados con la defoliación es grande en volumen y beneficiosa debido a la excepcionalmente alta concentración de nutrientes en los cuerpos de insectos muertos, excrementos y residuos vegetales de la propia planta hospedadora. Esto explica cómo los insectos herbívoros pueden actuar como reguladores de la productividad primaria y en el ciclado de nutrientes en los ecosistemas forestales (Battisti *et al.* 1986, Edenius *et al.* 1993, Clancy *et al.* 1995, Hunter 2001, Chapman *et al.* 2003).

El crecimiento compensatorio a la herbivoría generalmente implica la estimulación de la fotosíntesis, el incremento en la acumulación de nitrógeno y carbohidratos, principalmente en las hojas (Clancy *et al.* 1995), favoreciendo el crecimiento individual de la planta (McNaughton & Chapin 1985, Oesterheld & McNaughton 1988). Otras especies, como algunas coníferas (p.e. *Pinus resinosa*), una vez afectadas por defoliadores, almacenan diferencialmente los carbohidratos no estructurales en sus raíces, estrategia que tiende a minimizar las pérdidas producidas por la defoliación (Reich *et al.* 1993).

En general, las repuestas de las plantas a la defoliación dependen sobre todo de la cantidad total del área foliar que se ha perdido. La distribución del daño dentro del follaje puede también afectar a la recuperación del daño ejercido por los herbívoros. Estos distintos patrones de daño surgen porque los herbívoros varían en su comportamiento alimenticio. Muchos invertebrados comen de forma que provocan un daño disperso en la planta, posiblemente porque los daños inducen cambios en la composición química de la planta que provocan que los herbívoros se cambien de sitio tras comer una pequeña porción de la hoja (Edwards & Wratten 1983). Sin embargo, algunos insectos se alimentan de forma que concentran el daño en hojas enteras. Algunas orugas, como la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*), consumen completamente una hoja antes de cambiarse a otra, mientras que otras consumen parcialmente la hoja pero luego cortan el peciolo, causando a la planta la pérdida de la hoja entera (Heinrich 1993). Varios estudios han mostrado que el daño disperso sobre muchas hojas es menos perjudicial que el daño concentrado en pocas hojas (Lowman 1982, Marquis 1992) y que otros factores, como la posición y la edad de las acículas en las coníferas, pueden influir en el impacto de las pérdidas. Si las hojas que son consumidas están situadas a la sombra y en las zonas más bajas (correspondiendo estas a

las ramas más antiguas), su pérdida debería tener menor impacto a efectos de ganancia de nutrientes puesto que estas hojas contribuyen menos metabólicamente que las hojas pertencientes a ramas nuevas y en situación abierta (soleada) (Reich *et al.* 1990).

Por tanto, los herbívoros afectan a la tasa de asimilación y distribución futura de los recursos de las especies de las que se alimentan, afectando a funciones fisiológicas vitales para la planta, tales como el crecimiento, la reproducción y la producción de defensas, entre otras. Debido a que estas funciones estan relacionadas con otras funciones vitales mediante compromisos (Reznick 1985), los herbívoros deben de influir en la resolución óptima de tales compromisos, de manera que para una planta en concreto le resulte más beneficioso en una situación determinada invertir recursos en recuperar el sistema foliar que invertir en reproducción.

Factores que afectan al éxito reproductor de insectos fitófagos

Otro campo de estudio muy interesante se refiere al éxito reproductor de los insectos fitófagos y cómo influyen en él diversos factores. Estos factores pueden estar relacionados con la elección de planta hospedadora (expuestos anteriormente), con otros factores relacionados con su hábitat (parasitoides y competencia con coespecíficos, entre otros), o con parámetros de estrategias vitales (tamaño de puesta, tamaño de huevo, patrones de desarrollo, etc.) que pueden interaccionar con los anteriores.

Tamaño de puesta, tamaño de huevo y parasitoides

En especies que no proporcionan cuidados parentales, como la mayoría de los insectos holometábolos, el ajuste de rasgos de las estrategias vitales como el tamaño de puesta y el tamaño de huevo son de gran importancia, ya que influyen directamente en el desarrollo óptimo de la descendencia (Bernays & Chapman 1994). El éxito de eclosión está influenciado por factores abióticos (temperatura, humedad, etc.) y bióticos (predadores, parasitoides, viabilidad de los huevos, etc.). Por ejemplo, pequeñas variaciones en temperatura y/o humedad dentro del huevo son la principal causa de la muerte del embrión en los insectos (Browder *et al.* 1991, Wolpert 1991). Sin embargo, existen adaptaciones que minimizan los efectos de los cambios en las variables ambientales abióticas sobre el

embrión. Una de ellas es el aumento del tamaño de huevo, ya que implicaría un mayor aislamiento del embrión y una mayor cantidad de nutrientes que facilitan un menor tiempo de desarrollo del mismo (Parker & Begon 1986, Kooijman 1993). Por tanto, estas variables tienen un efecto en la eficacia biológica de la progenie, ya que el tamaño de la larva recién eclosionada incrementa con el tamaño de huevo, aumenta la probabilidad de supervivencia y su tasa de crecimiento (Roff 1992, Fox & Czesak 2000). Muchos estudios han examinado las relaciones entre el tamaño de huevo y componentes del fitnes de la progenie. La mayoría han demostrado que los huevos de menor tamaño eclosionan más rápidamente (Azevedo *et al.* 1997, Fox 1997) o necesitan menor tiempo de incubación (Wittmann 1981), pero tienen una menor probabilidad de eclosión (Curtsinger 1976, McClain & Mallard 1991, Fox 1993, 1994, Azevedo *et al.* 1997, pero ver también Marshall 1990, Toda *et al.* 1995, Guisande *et al.* 1996).

Otra posibilidad, quizás más efectiva, es la construcción, por parte de las hembras, de microhábitats para depositar la puesta. Éste podría ser el caso de algunos lepidópteros que aíslan su puesta de las condiciones ambientales externas al cubrirlas de capas protectoras (Montoya & Robredo 1972, Floater 1998, Schmidt *et al.* 1999).

Dentro de los factores bióticos, los parasitoides son quizás el factor más importante que afecta al éxito de eclosión en insectos (DeBach & Rosen 1991, Wajnberg & Hassan 1994, Hoballah & Turlings 2001). Generalmente, los parasitoides matan o impiden la reproducción al hospedador, por lo que la selección natural favorecerá aquellos rasgos del hospedador que reduzcan la probabilidad de parasitismo. Una posible adaptación para contrarrestar el parasitismo podría estar relacionada con el tamaño de puesta (Richner & Heeb 1995). En insectos, un incremento en el tamaño de puesta puede compensar las pérdidas producidas durante el estado de huevo y larvario (Hamilton 1971, Parker & Courtney 1984). Sin embargo, los parasitoides no sólo deben encontrar las puestas del hospedador sino que deben acceder a los huevos, por lo que podrían haber evolucionado también adaptaciones en el hospedador para prevenir la accesibilidad a los huevos (Hawkins 1994). En éste contexto, añadir algún material o capas protectoras podría ser otra posible adaptación del hospedador que redujera la probabilidad de que la puesta sea encontrada por el parasitoide y/o acceda a los huevos.

Si los parasitoides ejercieran una presión selectiva sobre el tamaño de puesta, la selección natural debería favorecer entre otras cosas: (i) pequeños tamaños de puesta en el caso de que el tamaño estuviese relacionado positivamente con la probabilidad de que los parasitoides encuentren la puesta, aunque también se podría esperar lo contrario: que en grandes puestas el riesgo de los parasitoides esté diluido (Hamilton 1971), ya que la probabilidad de que un huevo en concreto sea parasitado será menor cuanto mayor sea el número de huevos en la puesta; (ii) puestas crípticas a los parasitoides, tanto en apariencia como en olor; y (iii) puestas con capas protectoras que dificulten el acceso físico del parasitoide a los huevos.

La mayoría de los estudios que han mostrado la influencia de los parásitos en la evolución de características de las estrategias vitales del hospedador (ver revisiones en Clayton & Moore 1997) han sido desarrollados en aves. Sin embargo, debido a que muchos insectos sólo se reproducen una vez y algunos de ellos, como es el caso de la procesionaria del pino, ponen todos sus huevos reunidos en un grupo, los sistemas insecto-parasitoide son modelos ideales para testar algunas de las predicciones relacionadas con la hipótesis de que los parásitos afectan características de las estrategias vitales del hospedador.

Tamaño de grupo y eficacia forrajeadora

Otro aspecto interesante que afecta al éxito reproductor es la relación de parámetros de la puesta con el comportamiento gregario posterior de las larvas, ya que el tamaño óptimo de grupo en las larvas de especies gregarias debe de ser el resultado de un compromiso entre los costos y beneficios que afectan a los individuos que viven en grupos de diferente tamaño. Por tanto, si diferentes tamaños de grupo implican una variación en la eficacia forrajeadora o en la probabilidad de supervivencia de las larvas que lo forman, como se ha visto en muchas especies (Krebs & Davies 1993), las hembras deberían ajustar el tamaño de puesta para conseguir un tamaño de grupo larvario óptimo. Sin embargo, debido a la posibilidad de que más de una hembra realice la puesta en la misma planta, este ajuste a un tamaño de grupo óptimo resultaría bastante difícil, pudiendo en muchos casos superarlo. Sin embargo, aunque existen unos límites al tamaño de grupo óptimo relacionados con la cantidad de alimento disponible y, por tanto, con los niveles de competencia, en general se cree que existe una relación positiva entre tamaño de grupo y

eficiencia forrajeadora individual de los individuos que lo componen, por lo que los costos de un elevado tamaño de grupo serían, en la mayoría de los casos, menores a los de un pequeño tamaño sobre todo en los casos en que el alimento no sea limitante.

En el caso de los insectos, el gregarismo larvario es relativamente frecuente y ocurre en la mayoría de grupos de lepidópteros (Fitzgerald 1993). Las larvas gregarias tienen la ventaja de una alta eficiencia alimenticia (facilitación alimenticia), puesto que la agregación puede facilitar el establecimiento de un sitio de alimentación para hermanos en los primeros estadíos larvarios (Shiga 1976), o incrementar la habilidad de superar las defensas morfológicas (por ejemplo tricomas, Young & Moffett 1979) o químicas (Neuvonen & Haukioja 1991, Tallamy & Raupp 1991) de su planta hospedadora. Por consiguiente, en algunas especies, la tasa de crecimiento larvario está positivamente relacionada con el nivel de agregación (Long 1953, Lawrence 1990). También, la vida en grupo puede facilitar la defensa frente a enemigos naturales, puesto que las agregaciones larvarias de mayor tamaño supuestamente tienen una menor tasa de mortalidad debida a enemigos naturales que los grupos de menor número o que individuos solitarios (Lawrence 1990, Fitzgerald 1993, pero ver Stamp (1981) para patrones contrarios en Lepidópteros). Además, los individuos que viven en grupos tienen un riesgo menor de ser atacados por los predadores a causa de un aumento en las señales de peligro (Guilford 1990, Bowers 1993, Fitzgerald 1993, Alatalo & Mappes 1996), o en las defensas químicas y comportamentales (twitching) contra predadores (Stamp 1982, 1984, Peterson *et al.* 1987, Vulinec 1990), o simplemente a causa del efecto de dilución (Foster & Treherne 1981, Wcislo 1984). Este efecto de dilución es una cuestión de probabilidad, consiste en que cuanto mayor sea el tamaño de grupo menor es la probabilidad de que un individuo concreto sea depredado, es decir, no requiere ningún comportamiento complejo o de cooperación. También los grupos más grandes de larvas son capaces de construir refugios que proporcionen una protección más efectiva frente a predadores (Damman 1987). Otra ventaja de un elevado tamaño de grupo es la facilitación de la termorregulación (Casey 1993, Fitzgerald 1993), ya que un aumento en la temperatura corporal resulta en una mayor tasa de forrajeo, una digestión más rápida o en un escape más efectivo de los enemigos naturales (Casey *et al.* 1988, Stamp & Bowers 1990a,b,c, Fitzgerald 1993).

Por otro lado, los costos de la vida en grupo incluyen un mayor riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas (Hochberg 1991) y de parásitos en general (Dobson 1988), un aumento en la competición por los recursos (Damman 1991, Le Masurier 1994) y una mayor detectabilidad por depredadores (Stamp 1981, Le Masurier 1994).

Por consiguiente, el tamaño óptimo de grupo sería el resultado del compromiso evolutivo entre los costos y beneficios mencionados anteriormente (e.g. Wilson 1975). La eficacia biológica del adulto depende principalmente de la supervivencia larvaria, pero también del crecimiento y tamaño larvario puesto que ambos rasgos explican la probabilidad de que la descendencia alcance el estadío de adulto (Kamata & Igarashi 1995), y del tamaño del adulto, el cual, en hembras está relacionado con la fecundidad (e.g. Spurgeon *et al.* 1995, Webber & Ferro 1996, García-Barros 2000). Además, el tamaño de grupo, que está determinado principalmente por el tamaño de puesta (Sillén-Tullberg 1988, Gregiore 1988), está relacionado positivamente con la supervivencia y el crecimiento larvario, hecho demostrado experimentalmente (e.g. Denno & Benrey 1997, Fordyce & Agrawal 2001, Nahrung *et al.* 2001). Además, y de acuerdo con la existencia de costos asociados a un elevado tamaño de grupo, existen evidencias de una selección estabilizante actuando sobre el tamaño de grupo en varias especies de insectos (e.g. Matsumoto 1990, Crowe 1995).

Estructura de la tesis

La presente tesis se enmarca dentro de estos contextos conceptuales, y en ella se pretendieron investigar diversos aspectos de la ecología de la Procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. 1775, un lepidóptero con larvas gregarias que constituye la principal plaga de distintas especies de pino en el área mediterránea. El estudio se centra en las relaciones existentes entre este insecto y dos especies de pino, y en las relaciones con otros factores que influyen en su ecología reproductora.

Selección de hospedador y su relación con el éxito reproductor

A nivel de especie de pino

En primer lugar, estudiamos la posible preferencia de la procesionaria del pino por dos de sus especies hospedadoras, el pino de Alepo (*Pinus halepensis* Miller 1768) y el pino marítimo (*Pinus pinaster* Aiton 1789), y la existencia de posibles diferencias morfológicas y de supervivencia entre larvas que se alimentan en cada una de las dos especies (**Manuscrito I**). Estas dos especies de pino varían en la calidad nutritiva de sus hojas. El pino de Alepo presenta acículas menos duras y fibrosas (Franco 1986), y una menor cantidad de resina que el pino maritimo. Por tanto, podríamos hablar a priori de una especie de pino óptimo y otra subóptimo para el desarrollo de larvas de procesionaria del pino. En concreto, mediante la localización directa de puestas en pinos de las dos especies analizamos la posible preferencia. Además, mediante experimentos de transposición (ver Material y Métodos del MI) de puestas y de larvas (con experiencia alimentándose en una de las especies) entre distintas especies de pino, analizamos el desarrollo larvario en cada especie. Esta aproximación experimental nos permite estudiar si la posible variación en crecimiento de larvas alimentándose de distintos pinos se debe a un efecto del pino (variación en la calidad nutritiva de sus hojas), a un efecto genético (relacionado con la selección realizada por la hembra), o de plasticidad larvaria durante su desarrollo que les permita a las larvas un óptimo aprovechamiento independientemente de la especie en la que fue depositada la puesta. Por último, los resultados de este experimento nos permiten discutir los motivos de una selección de la especie subóptima.

Además, mediante el aumento experimental de la competencia en los ejemplares óptimos, a través de un incremento del número de puestas, estudiamos el efecto de la competencia en la selección de especie de pino óptimo ya que en el pino marítimo, al menos en la zona de estudio, nunca se da esta situación. De esta forma podremos evaluar si en situaciones de competencia alta puede ser más rentable para los individuos adultos elegir la especie subóptima para sus puestas.

Dentro de una misma especie de pino (a nivel de individuo)

Una vez definida la posible preferencia por una de las dos especies de pino, estudiamos las características morfológicas que explican la selección de ejemplares de la especie óptima, el pino de Alepo, por parte de la procesionaria (**Manuscrito II**). En concreto, analizamos las relaciones entre la asimetría de las acículas en el pino de Alepo y varias características relacionadas con el vigor de los ejemplares de pino y cómo afecta a la selección por la procesionaria. Por otro lado, evaluamos experimentalmente la selección de pino en función de la historia de ataque individual de cada pino ya que el ataque por procesionaria de un pino en un año puede afectar a la calidad nutritiva y defensas de la planta (por ejemplo, vigor individual de los pinos y su asimetría acicular) en años sucesivos. Por ejemplo, debido a que la selección de hospedador por parte de hembras grávidas debe de basarse en estas características, la desinfección de pinos experimentales un año puede afectar a su selección por procesionarias adultas el año siguiente (**Manuscrito III**).

Posteriormente, intentamos poner de manifiesto la dinámica de tales relaciones, en el sentido de detectar algún tipo de variación en la presión que ejerce la procesionaria sobre cada pino. Asímismo, intentamos evaluar los costos que para los pinos supone el ataque de éste lepidóptero (**Manuscrito IV**).

Esfuerzo y éxito reproductor

Seguidamente, estudiamos la puesta de la procesionaria. Por un lado, se analizan algunos factores potenciales que puedan afectar al éxito de eclosión de la procesionaria del pino. Concretamente estudiamos (1) la posible influencia del tamaño de puesta y tamaño de

huevo en el éxito de eclosión, tratando de demostrar el compromiso entre esas variables en ésta especie. También hemos estudiado (2) el efecto negativo de los parasitoides en las puestas de diferente tamaño y (3) mediante la eliminación experimental de las capas de protección de algunas puestas y el mantenimiento de estas en otras puestas como control, hemos estudiado algunas hipótesis funcionales sobre el papel de protección de éstas capas en las puestas (**Manuscrito V**).

Por último, estudiamos el nivel de gregarismo que presenta ésta especie en estado larvario. Mediante la manipulación del tamaño de las colonias de la procesionaria dentro de sus rangos naturales, hemos testado la hipótesis de que los tamaños de grupo grandes favorecen el crecimiento larvario y la supervivencia. Además, hemos explorado si ésa relación se ajusta mejor a una función cuadrática o a una asintótica, estimando posteriormente un óptimo en el tamaño de grupo para ésta especie. (**Manuscrito VI**).

METODOLOGÍA GENERAL

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio está localizada en un altiplano a unos 1000 m.s.n.m., en un pinar de repoblación situado a unos 3 Km. de la población de Guadix, al Este de la provincia de Granada (37°18'N, 3°11'W). La repoblación data de alrededor de 1980. En esta repoblación se instalaron varios (3-5) plantones por lugar de crecimiento, por lo que el número de plantones por lugar de crecimiento que han sobrevivido hasta nuestro estudio es variable. Sin embargo, excepto cuando se especifica otra cosa, en nuestro estudio sólo hemos utilizado pinos solitarios. Se trata de una repoblación forestal joven con una media de altura de pinos de alrededor de 4 metros, y una distancia entre ellos muy uniforme, de aproximadamente 4-5 metros.

La zona presenta unas precipitaciones anuales inferiores a los 300 l / m^2 con inviernos largos y fríos, con mínimas absolutas bajo cero, y veranos largos y calurosos, siendo la temperatura media anual de entre 13-15 °C (Ortega Alba *et al.* 1980). Estas características corresponden a un tipo mesomediterráneo con ombroclima semiárido (Rivas Martínez 1981).

Esta zona está siendo atacada por la procesionaria del pino al menos durante los últimos 20 años, alcanzando proporciones de plaga y afectando fundamentalmente al pino de Alepo, que es la especie predominante en el área, representando el 90 % de los pinos y, en menor medida, al pino marítimo o resinero.

ESPECIES ESTUDIADAS

La procesionaria del pino es un lepidóptero gregario distribuido a lo largo de todo el sur de Europa y norte de África y constituye el principal defoliador de pinos de la región Mediterránea (Devkota & Schmidt 1990). El período de vuelo y de puesta de los adultos

tiene lugar normalmente desde Mayo a Octubre, siendo los responsables de esta variación factores como el clima y la altitud (Douma-Petridou 1989).

Cada hembra realiza una única puesta con aspecto cilíndrico, y recubre los huevos con escamas de color amarillo dorado procedentes de la porción distal de su abdomen. Dichas escamas son las de mayor tamaño de todos los lepidópteros presentes en la Península Ibérica (Astiaso *et al.* 1992) y forman una capa cuya función se ha propuesto que es la de proteger los huevos de factores abióticos (por ejemplo, aislamiento térmico (Milani 1990)) y reducir el parasitismo (Schmidt *et al.* 1999). La oviposición se realiza sobre una o dos acículas de pino, empezando desde la base de la acícula hasta el extremo distal de ésta (Schmidt *et al.* 1999). Al contrario de lo que sucede en otras especies de lepidópteros, los huevos no entran en diapausa y eclosionan a las 5-6 semanas (Schmidt 1989).

El desarrollo larvario implica cinco estadíos (Douma-Petridou 1989) y, aunque las larvas se mueven por todo el pino alimentándose de las acículas de éste, nunca lo abandonan, llegando a morir cuando el alimento se agota (Observación personal). Poco después de eclosionar, construyen un nido de seda donde todas las larvas de la misma puesta permanecen mientras no se están alimentando. Cuando existe más de una puesta por pino, las larvas de diferentes puestas se pueden fusionar en una única colonia, construyendo un solo nido. Durante los dos primeros estadíos, las larvas se alimentan únicamente de la epidermis y de algunas partes del parénquima de las acículas, pero a partir del tercer estadío, y hasta completar totalmente el desarrollo larvario (aproximadamente 90 días en condiciones climatológicas favorables), consumen las acículas en su totalidad (Douma-Petridou 1989, Observación personal), siendo capaces de provocar defoliaciones completas de grandes áreas de bosques de pino (Devkota & Schmidt 1990) y la muerte de algunos ejemplares.

Tras el desarrollo larvario (entre Febrero y Abril), las larvas abandonan el pino en una o varias filas (procesión de crisalidación), siempre encabezadas por una hembra (Robredo 1963), y buscan un sitio adecuado bajo el suelo para realizar la pupación. En este estadío entran en diapausa con una duración que varía desde unos pocos meses a 1-2 e incluso 4 años (Schmidt 1989).

El pino de Alepo o pino carrasco es una especie ampliamente distribuida por el centro y sur de Europa (Garms & Eigener 1977), creciendo en las laderas más secas y soleadas, desde el nivel del mar hasta una altitud de 1600 metros en el sureste de España. El factor más determinante para su distribución parece ser la temperatura, especialmente las mínimas invernales y, comparado con otras especies de pinos, presenta poca resistencia a las bajas temperaturas (Falusi *et al.* 1984). Es una especie muy resistente a la sequía, siendo frecuente que aparezca en áreas donde el período seco dura, por lo general, de 1 a 5 meses (Gil *et al.* 1996) y es capaz de crecer en suelos extremadamente pobres en nutrientes (López-González 1982), por lo que es una especie muy usada en España para reforestación. Presenta unas acículas muy finas y flexibles, de 6 a 12 cm, de color verde claro y las mantiene durante un par de años. Florece entre Marzo y Mayo, y las piñas maduran aproximadamente en dos años, liberando las semillas en la primavera siguiente (López-González 1982).

Es una especie con comportamiento termófilo, xerófilo y calcícola, pero capaz de vivir en sustratos ácidos (Gil *et al.* 1996). Es un pino bien adaptado a terrenos calizos y secos, tolerando suelos calcáreos y margosos, incluso cuando hay yeso. Entre los sustratos que coloniza abundan los margosos y margo-calizos del Secundario y el Terciario; también areniscas, conglomerados o arcillas (Gil *et al.* 1996).

El pino marítimo, pino resinero, rodeno o negral es una especie mediterránea occidental cuyo área natural es muy reducida. Sus máximas representaciones se dan en España y Portugal. Aunque esta especie tolera suelos calizos, tiene marcada preferencia por los suelos silíceos, sueltos y arenosos, incluso pobres en nutrientes. Prefiere climas cálidos y resiste la sequía y las heladas, aunque no tan bien como el pino de Alepo. Es un pino de talla mediana que no suele sobrepasar los 20 metros, aunque excepcionalmente puede llegar a 40 metros y presenta una tasa de crecimiento mayor que otros pinos españoles. Presenta las acículas largas y recias, de 15 a 27 cm. Florece de Marzo a principios de Mayo. La piña madura al final del verano siguiente, pero la caída de piñones no tiene lugar hasta la primavera o verano del tercer año. En nuestro país es el pino más extendido de forma natural y el que más se utiliza para repoblar junto con el pino de Alepo, constituyendo ambas especies el 28 y el 19 %, respectivamente, de las 2.547.870 Has de superficies repobladas con pinos en nuestro país (Montero 1997).

METODOLOGÍA GENERAL

El trabajo de campo se llevó a cabo durante el período 1993 - 1996. Todas las fases del ciclo se estudiaron directamente en el campo. Paralelamente al estudio de cada fase se tomaron para cada año datos biométricos y de producción de los pinos. Los métodos concretos de cada uno de los estudios y de los experimentos se describen detalladamente en el apartado de Métodos de cada manuscrito.

En el mes de Agosto, al comienzo de la época de emergencia de los adultos, se visitaba la zona de estudio y se localizaban las puestas de procesionaria, mediante un minucioso examen de los pinos. Esta operación se realizaba en las primeras horas de la mañana y en las últimas de la tarde debido a que, en las horas centrales del día, la perpendicularidad de los rayos del Sol hacía muy difícil detectar las puestas. Las puestas nuevas se distinguían de las antiguas (del año anterior) en que las primeras presentan un color dorado frente a un plateado de las antiguas, la acícula o acículas en las que se asienta están verdes e insertadas con fuerza en la rama y no presentan los típicos nidos de muda adyacentes, producto de la primera muda larvaria. En esta época se realizaron las manipulaciones experimentales que se detallan en los manuscritos.

Una vez eclosionadas las puestas eran llevadas al laboratorio para determinar distintas variables relacionadas con el número de huevos, el parasitismo, etc. Tras eliminar la capa de escamas que recubre las puestas se consideraban cuatro categorías de huevos: (1) huevos eclosionados (aquellos que aparecían con una abertura que indicaba una eclosión exitosa), (2) huevos no eclosionados (los que no presentan ninguna abertura), (3) huevos parcialmente eclosionados (aquellos que a pesar de presentar abertura, la larva se hallaba muerta en su interior) y (4) huevos parasitados (los que presentaban un pequeño orificio indicativo del ataque por microhimenópteros parasitoides).

Para el seguimiento de las larvas sobre las dos especies de pino se efectuaron controles periódicos, hasta el momento de la pupación. Dicho control se hacía tanto diurno como nocturno, en función del estadío en que se encontraran y de las condiciones atmosféricas. El crecimiento larvario se obtuvo mediante la medida de longitud de las

larvas en distintos momentos de su desarrollo usando un calibre digital (Mitutoyo, de 0.01 mm de precisión). La longitud se medía siempre cuando las larvas se encontraban alimentándose, pues es la posición que permitía introducir los extremos del calibre con comodidad y seguridad. La mortalidad larvaria de las colonias se estimaba mediante conteos periódicos, tras lo cual eran retiradas las larvas muertas. Una vez abandonado el pino para pupar, en determinadas colonias las bolsas fueron abiertas y contadas las larvas muertas en su interior.

Para la detección de los lugares de pupación se siguió el procedimiento descrito por Sanchís *et al.* (1990) que consiste esencialmente en rodear con un cilindro de plástico la base del tronco del pino antes de que bajen las larvas para pupar, de manera que al bajar no puedan alejarse del pino donde se han alimentado y pupen dentro del perímetro del cilindro. Esto nos permitió posteriormente determinar el éxito de pupación como porcentaje de pupas respecto al tamaño de puesta, o respecto al número de larvas eclosionadas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para los análisis estadísticos hemos seguido a Sokal & Rohlf (1995) y, cuando eran necesarios tests no paramétricos, a Siegel & Castellan (1988). En cada manuscrito se realiza una descripción detallada del tratamiento estadístico. Los valores que se dan en el texto y en las tablas son la media ± error estándar (*ES*). Las tablas y figuras están numeradas independientemente para cada manuscrito.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

SELECCIÓN DE PLANTA EN LA PROCESIONARIA

ELECCIÓN DE PLANTA Y ÉXITO REPRODUCTOR (MS I)

La tasa de infección (porcentaje de pinos atacados por la procesionaria) para cada uno de los años fue significativamente superior en el pino de Alepo, no difiriendo de la encontrada en los 60 pinos seleccionados para el conteo de puestas en cada uno de los años de estudio (Fig. 1).

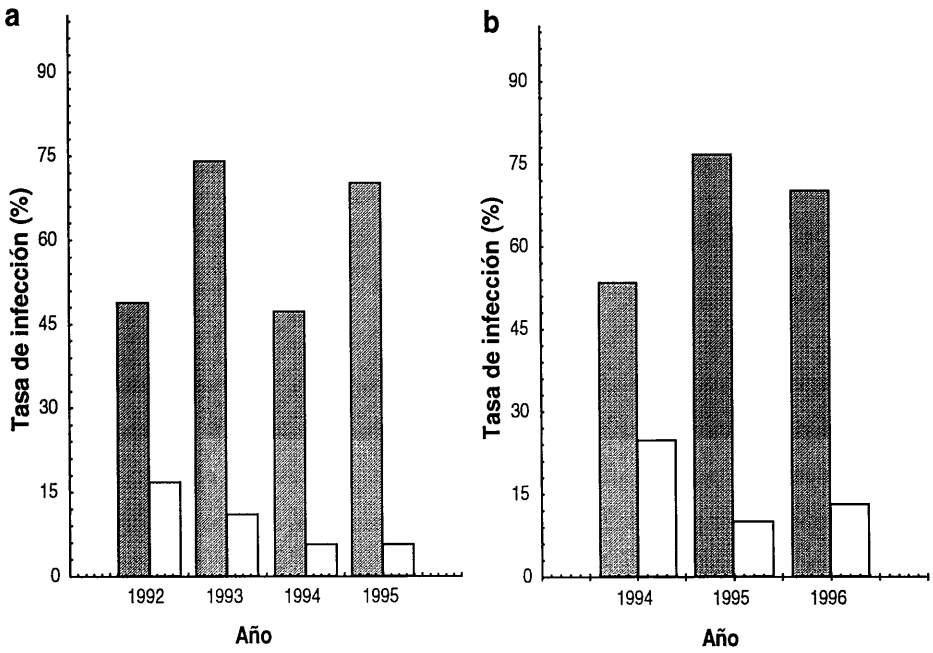

FIGURA 1. TASAS DE INFECCIÓN, DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO, PARA LAS DOS ESPECIES DE PINO, A) EN LOS MISMOS EJEMPLARES DURANTE LOS CUATRO AÑOS (N = 182 PARA EL PINO DE ALEPO Y 18 PARA EL PINO MARÍTIMO), Y B) EN EJEMPLARES DISTINTOS ELEGIDOS AL AZAR DE LA ZONA DE ESTUDIO (N = 30 PARA CADA ESPECIE Y AÑO). LAS COLUMNAS RAYADAS CORRESPONDEN AL PINO DE ALEPO. LOS DATOS DE 1992 SE ESTIMARON A PARTIR DE LAS COLONIAS ANTIGUAS PRESENTES EN 1993.

Aunque el número de puestas por pino de Alepo parasitado no varió significativamente entre años en nuestra población, cada pino de Alepo recibió distinto número de puestas en cada año (Fig. 2) debido sobre todo a que muchos de ellos no fueron atacados en años consecutivos.

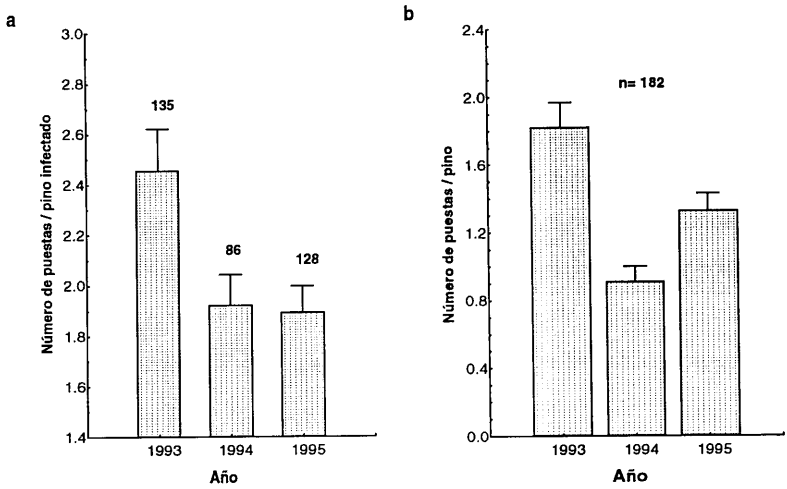

FIGURA 2. NÚMERO DE PUESTAS EN CADA AÑO SOBRE *P. HALEPENSIS*, A) POR PINO ATACADO Y B) PARA EL TOTAL DE PINOS DE LA POBLACIÓN CONSIDERADA. LOS NÚMEROS SOBRE LAS BARRAS EN LA FIGURA A INDICAN EL NÚMERO DE PINOS ATACADOS.

Con respecto a los ejemplares de pino marítimo controlados esos mismos tres años (N = 18), sólo fueron encontradas 7 puestas. Estos resultados sugieren, al menos para las variables consideradas (tasa de infección y número de puestas por pino atacado), una selección preferencial, por parte de las hembras de procesionaria, de pinos de Alepo.

Los resultados del análisis de las puestas indican que las puestas depositadas sobre el pino de Alepo se desarrollan mejor que las depositadas sobre el pino marítimo (Tablas 1 y 2).

TABLA 2. MEDIAS Y ERROR ESTÁNDAR DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS EN PUESTAS PROCEDENTES DE AMBAS ESPECIES DE PINO (N = 30 PARA CADA ESPECIE Y AÑO).

Variables	1994		1995		1996	
	P. halepensis	*P. pinaster*	*P. halepensis*	*P. pinaster*	*P. halepensis*	*P. pinaster*
P. embrionario	35.53 ± 0.31	36.80 ± 0.32	35.60 ± 0.27	36.97 ± 0.36	36.40 ± 0.36	37.27 ± 0.33
Longitud	2.79 ± 0.10	3.06 ± 0.07	2.79 ± 0.09	2.84 ± 0.08	2.95 ± 0.11	2.98 ± 0.08
Fecundidad	184.26 ± 8.58	228.63 ± 6.21	184.53 ± 7.34	216.73 ± 5.90	175.90 ± 7.85	224.20 ± 7.22
H. eclosionados	128.03 ± 9.42	140.06 ± 8.40	142.46 ± 8.83	132.13 ± 5.46	125.33 ± 8.05	122.10 ± 6.79
% Eclosión	68.92 ± 3.84	61.64 ± 3.43	76.47 ± 3.02	61.76 ± 2.51	70.07 ± 2.16	53.97 ± 2.39
H. inviables	34.50 ± 4.21	24.33 ± 4.06	30.76 ± 4.63	21.23 ± 1.93	22.70 ± 1.87	19.90 ± 1.34
% Inviabilidad	19.57 ± 2.67	10.76 ± 1.86	17.00 ± 2.54	9.74 ± 0.85	13.98 ± 1.36	9.54 ± 0.99
Larvas muertas	11.80 ± 5.47	3.36 ± 1.01	4.90 ± 2.85	8.13 ± 2.45	1.60 ± 0.58	6.30 ± 1.69
% Mortalidad	5.86 ± 2.43	1.39 ± 0.42	2.95 ± 1.78	3.50 ± 1.03	0.86 ± 0.29	2.70 ± 0.69

TABLA 1. DIFERENCIAS ENTRE ESPECIE DE PINO Y AÑO CON RESPECTO A LAS VARIABLES OBTENIDAS DEL ESTUDIO DE LAS PUESTAS. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDAS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LAS VARIABLES DURACIÓN DEL PERÍODO EMBRIONARIO, LONGITUD DE PUESTA, FECUNDIDAD, NÚMERO DE HUEVOS ECLOSIONADOS Y SU PORCENTAJE, Y EL NÚMERO DE HUEVOS INVIABLES Y SU PORCENTAJE COMO VARIABLES DEPENDIENTES.

Variables	F	df	P
Período embrionario			
Efecto del pino	19.18	1, 174	0.000
Efecto del año	2.38	2, 174	0.095
Interacción pino x año	0.32	2, 174	0.720
Longitud			
Efecto del pino	2.13	1, 174	0.146
Efecto del año	1.29	2, 174	0.276
Interacción pino x año	0.92	2, 174	0.396
Fecundidad			
Efecto del pino	49.50	1, 174	0.000
Efecto del año	0.47	2, 174	0.276
Interacción pino x año	0.67	2, 174	0.512
Huevos eclosionados			
Efecto del pino	0.006	1, 174	0.937
Efecto del año	1.59	2, 174	0.205
Interacción pino x año	1.03	2, 174	0.357
% Eclosión			
Efecto del pino	27.66	1, 174	0.000
Efecto del año	2.88	2, 174	0.058
Interacción pino x año	1.28	2, 174	0.279
Huevos inviables			
Efecto del pino	7.22	1, 174	0.007
Efecto del año	1.24	2, 174	0.290
Interacción pino x año	0.83	2, 174	0.434
% Inviables			
Efecto del pino	25.77	1, 174	0.000
Efecto del año	0.77	2, 174	0.462
Interacción pino x año	0.78	2, 174	0.459

La duración del período embrionario fue mayor para las puestas en el pino marítimo, y a pesar de una mayor fecundidad en las hembras que pusieron sobre el pino marítimo, esto no se tradujo en un mayor número de huevos eclosionados, ya que el éxito de eclosión fue mayor en las puestas depositadas sobre el pino de Alepo independientemente del año (Tabla 2). Esta diferencia en el éxito de eclosión es debida a que la incidencia de parasitoides es más importante en las puestas de pino marítimo (Tabla 3).

Llegaron a pupar un 42.10% de los huevos por puesta en el pino de Alepo frente a tan solo el 24.01% de los huevos por puesta en el pino marítimo (Tabla 4). Teniendo en cuenta el número de larvas eclosionadas, las diferencias se mantienen, siendo para las larvas criadas sobre pino de Alepo de un 54.54 % y para las criadas sobre pino marítimo de un 39.38 %.

TABLA 3. PARASITISMO PROVOCADO POR LAS ESPECIES DE PARASITOIDES DE LAS PUESTAS EN CADA AÑO Y ESPECIE DE PINO. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDOS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LAS VARIABLES NORMALIZADAS (VER MÉTODOS) Nº DE HUEVOS PARASITADOS Y % DE PARASITISMO COMO VARIABLES DEPENDIENTES.

	P. halepensis	*P. pinaster*	MANOVA	F	df	P
Huevos parasitados						
1994	9.93 ± 1.57	61.16 ± 6.44	Efecto del pino	270.60	1,174	0.000
1995	6.40 ± 0.74	55.43 ± 4.91	Efecto del año	26.65	2,174	0.000
1996	26.30 ± 2.67	75.80 ± 5.20	Pino x Año	8.22	2, 174	0.000
% Parasitismo						
1994	5.62 ± 0.94	26.32 ± 2.57	Efecto del pino	242.32	1,174	0.000
1995	3.56 ± 0.42	25.07 ± 2.06	Efecto del año	26.84	2,174	0.000
1996	15.08 ± 1.43	33.71 ± 1.94	Pino x Año	3.04	2, 174	0.050

TABLA 4. RESÚMEN DE LOS VALORES OBTENIDOS SOBRE AMBAS ESPECIES DE PINO Y SUS DIFERENCIAS EN 1995.

	P. halepensis	*P. pinaster*	
Huevos por puesta	184.53 ± 7.34 (30)	216.73 ± 5.90 (30)	t = -3.41, P = 0.001
Larvas eclosionadas por puesta	142.46 ± 8.83 (30)	132.13 ± 5.46 (30)	t = 0.99, P = 0.323
Larvas maduras	69.93 ± 3.66 (30)	54.60 ± 1.95 (30)	t = 3.63, P < 0.001
Número de pupas	77.70 ± 3.20 (20)	52.04 ± 2.28 (22)	t = 6.61, P < 0.001

El desarrollo de un insecto fitófago depende de las características nutritivas de la planta de la que se alimenta (Denno & McClure 1983). Sin embargo, existen otros factores asociados al tipo de planta, como riesgo de depredación o de parasitismo que habría que

tener en cuenta para determinar la calidad de la planta hospedadora. En lepidópteros con larvas de una capacidad limitada de dispersión, como es el caso de la procesionaria del pino, la selección de hospedador es, si cabe, más importante que para otras especies con larvas más móviles (Renwick & Chew 1994, Rhainds *et al.* 1996). Nuestros resultados indican que las puestas localizadas en el pino de Alepo tuvieron un mayor éxito de eclosión debido, sobre todo, a la menor incidencia de parasitoides y a que un mayor porcentaje de larvas llegaron a pupar. Además, encontramos que esas larvas se desarrollaron mejor que las que crecieron en pino marítimo. Estos resultados explican por qué en nuestra zona de estudio las hembras de esta especie seleccionan preferentemente pinos de Alepo para depositar sus puestas.

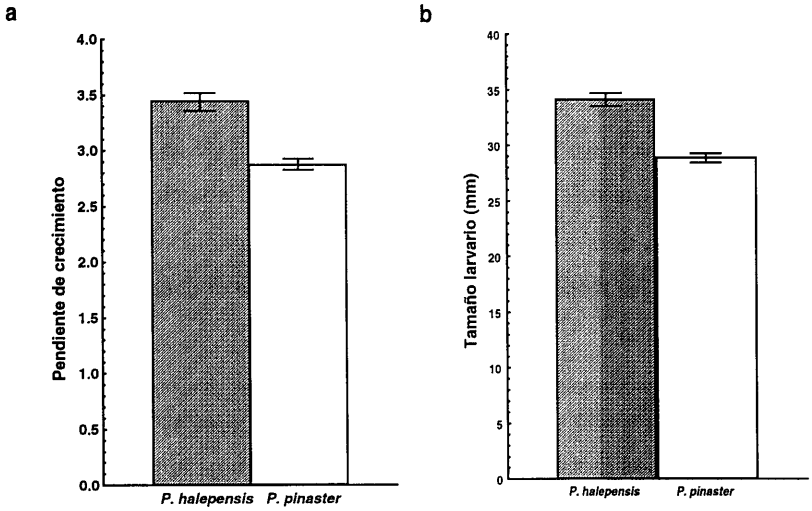

FIGURA 3. CRECIMIENTO (A) Y TAMAÑO LARVARIO (B) JUSTO ANTES DE LA PUPACIÓN DE LARVAS SOBRE AMBAS ESPECIES DE PINO. LAS DIFERENCIAS FUERON ESTIMADAS CON EL TEST DE LA *T* (PENDIENTE DE CRECIMIENTO: $T = 5.72$, GL = 38, $P < 0.01$ Y TAMAÑO LARVARIO: $T = 7.29$, GL = 38, $P < 0.001$).

El tamaño larvario antes de la pupación explica el tamaño corporal del adulto y, además, explica la fecundidad de las hembras en lepidópteros y en otros órdenes de insectos (Leather 1984). Por tanto, el tamaño larvario justo antes de pupar es un buen indicador de la eficacia biológica potencial de la larva. Los resultados muestran que las larvas eclosionadas de huevos puestos sobre el pino de Alepo crecen más rápidamente y consiguen un tamaño

larvario antes de la pupación mayor que las larvas de puestas depositadas en el pino marítimo (Fig. 3a y 3b).

A pesar de que el tamaño larvario que presentaban las larvas poco después de su eclosión en ambas especies de pino no difería significativamente (5.55 ± 0.30 mm en pino de Alepo y 5.67 ± 0.32 mm en pino marítimo), las diferencias que encontramos posteriormente se acentuaron cuando las larvas se encontraban en su último estadío, en el que se alimentan con más intensidad y adquieren las reservas para resistir el invierno y el período de pupa (Astiaso *et al.* 1992). Estos resultados pueden deberse a que las acículas del pino de Alepo y del pino marítimo difieran en su calidad nutritiva como ocurre al comparar otras especies de pino (Géri *et al.* 1998, Hódar *et al.* 2002). Las acículas del pino marítimo son grandes y duras (Franco 1986) y algunos autores han considerado a esa dureza como la responsable de la elevada mortalidad de larvas de procesionaria en estadíos iniciales (Devkota & Schmidt 1990, Hódar *et al.* 2002). En nuestra población no detectamos que hubiera una mayor mortalidad en los primeros estadíos larvarios en el pino marítimo, pero lo que parece más probable, de acuerdo con lo obtenido por Hódar *et al.* (2002), es que esa dureza de las hojas, unido a un pobre contenido en nitrógeno y una menor digestibilidad sean las responsables de las diferencias en el desarrollo de las larvas sobre ambas especies de pino.

Otra explicación posible es que las diferencias sean el resultado de una diferente calidad genética de las larvas asociada a la selección de los distintos tipos de pino por parte de las hembras. Nuestros resultados experimentales permiten descartar esta última opción, ya que estos son muy similares a los descritos para puestas no experimentales (Fig. 4).

Las diferencias que se observan son independientes de la especie en la que se realizaron las puestas, y sólo la especie receptora explica una porción significativa de la variación en tamaño y en mortalidad larvaria (Tabla 5).

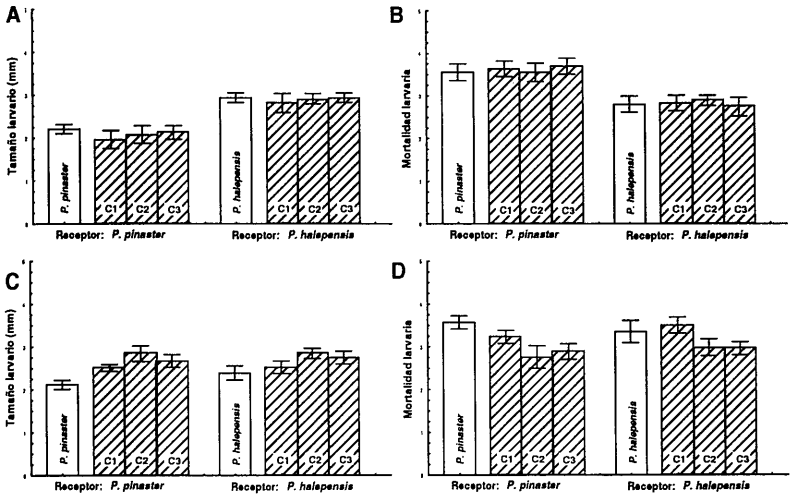

FIGURA 4. RESULTADOS EN LOS DOS PARÁMETROS ESTUDIADOS TRAS EL EXPERIMENTO DE CAMBIO DE PUESTAS Y COLONIAS. LAS FIGURAS A Y B CORRESPONDEN A LOS CAMBIOS DE PUESTAS Y LAS FIGURAS C Y D A LOS CAMBIOS DE COLONIAS. C1 = CAMBIO A OTRO PINO DE LA MISMA ESPECIE, C2 = EXTRACCIÓN Y SUJECCIÓN EN EL MISMO PINO, C3 = SIN MANIPULACIÓN.

TABLA 5. RESULTADOS DE LOS EXPERIMENTOS DE CAMBIO DE PLANTA HOSPEDADORA, TANTO PARA CAMBIO DE PUESTAS, COMO DE COLONIAS. EN EL DISEÑO DE LA MANOVA,LAS VARIABLES DONADOR Y RECEPTOR FUERON INTRODUCIDAS COMO VARIABLES INDEPENDIENTES (FACTORES) EN CADA CASO Y COMO VARIABLES DEPENDIENTES EL TAMAÑO LARVARIO Y EL LOGARÍTMO DE LA MORTALIDAD LARVARIA.

Variables	F	df	P
CAMBIO DE PUESTAS			
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	0.10	1, 36	0.748
Efecto del pino receptor	19.49	1, 36	0.000
Interacción donador x receptor	1.05	1, 36	0.311
Mortalidad			
Efecto del pino donador	2.13	1, 36	0.913
Efecto del pino receptor	1.29	1, 36	0.000
Interacción donador x receptor	0.92	1, 36	0.751
CAMBIO DE COLONIAS			
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	49.50	1, 36	0.334
Efecto del pino receptor	0.47	1, 36	0.292
Interacción donador x receptor	0.67	1, 36	0.056
Mortalidad			
Efecto del pino donador	0.006	1, 36	0.216
Efecto del pino receptor	1.59	1, 36	0.902
Interacción donador x receptor	1.03	1, 36	0.606

Por otra parte, los resultados de los experimentos de cambio de larvas (nidos) sugieren la existencia de una cierta adaptabilidad a la planta hospedadora, no solo a nivel de especie de pino, sino a nivel de planta individual dentro de una misma especie, ya que las diferencias en crecimiento y mortalidad no las explican ni la especie en la que empezaron a crecer esas larvas, ni la especie a la que experimentalmente fueron trasladadas, ni tampoco la interacción entre ambos factores. Sin embargo, al introducir en el análisis información sobre si el nido procedía de otro individuo, independientemente de que se trasladara a la misma u otra especie, las diferencias en tamaño y mortalidad larvarias fueron explicadas por el cambio de individuo en sí (Tabla 6).

TABLA 6. RESULTADOS DEL EXPERIMENTO DEL CAMBIO DE LARVAS. EN EL DISEÑO DEL ANÁLISIS DE COMPONENTES DE LA VARIANZA, LAS VARIABLES DONADOR, RECEPTOR Y CAMBIO DE INDIVIDUO FUERON INTRODUCIDAS COMO EFECTOS FIJOS EN CADA CASO Y COMO VARIABLES DEPENDIENTES EL TAMAÑO LARVARIO Y EL LOGARITMO DE LA MORTALIDAD LARVARIA.

Variables	F	df	P
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	0.19	1, 74	0.658
Efecto del pino receptor	1.62	1, 74	0.205
Efecto del cambio de individuo	14.53	1,74	0.000
Interacción donador x receptor	3.27	1, 74	0.074
Interacción donador x individuo	0.01	1, 74	0.914
Mortalidad			
Efecto del pino donador	2.03	1, 74	0.159
Efecto del pino receptor	0.01	1, 74	0.927
Efecto del cambio de individuo	13.74	1, 74	0.000
Interacción donador x receptor	0.26	1, 74	0.609
Interacción donador x individuo	0.11	1, 74	0.735

Estos resultados sugieren la existencia de mecanismos durante el crecimiento que maximicen la optimización en el uso del alimento, ya que distintos ejemplares tendrán distintas concentraciones de defensas químicas que pueden variar incluso entre pinos de la misma especie. Además, las larvas procedentes del "mejor" hospedador se adaptaron peor tras el cambio que aquellas procedentes del "peor" hospedador (Fig. 4), lo que supone una mayor plasticidad para las larvas procedentes del pino marítimo que les permite explotar más exitosamente al pino de Alepo.

Nuestros resultados muestran que la supervivencia y el desarrollo larvarios son mayores en las colonias que se desarrollan sobre el pino de Alepo. Las hembras que

seleccionaron el pino marítimo lo hicieron al final del período de puesta en nuestra población (Tabla 7, Fig. 5).

TABLA 7. FECHA DE PUESTA PARA CADA AÑO Y ESPECIE DE PINO. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDAS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LA VARIABLE ESTANDARIZADA (VER MÉTODOS) FECHA DE PUESTA COMO VARIABLE DEPENDIENTE.

	P. halepensis	*P. pinaster*	MANOVA	F	df	P
Fecha de puesta						
1994	14.2 ± 1.1	22.9 ± 0.8	Efecto del pino	66.48	1,174	0.000
1995	8.60 ± 1.2	14.2 ± 0.6	Efecto del año	20.66	2,174	0.000
1996	12.3 ± 1.6	21.3 ± 0.8	Pino x Año	1.34	2, 174	0.262

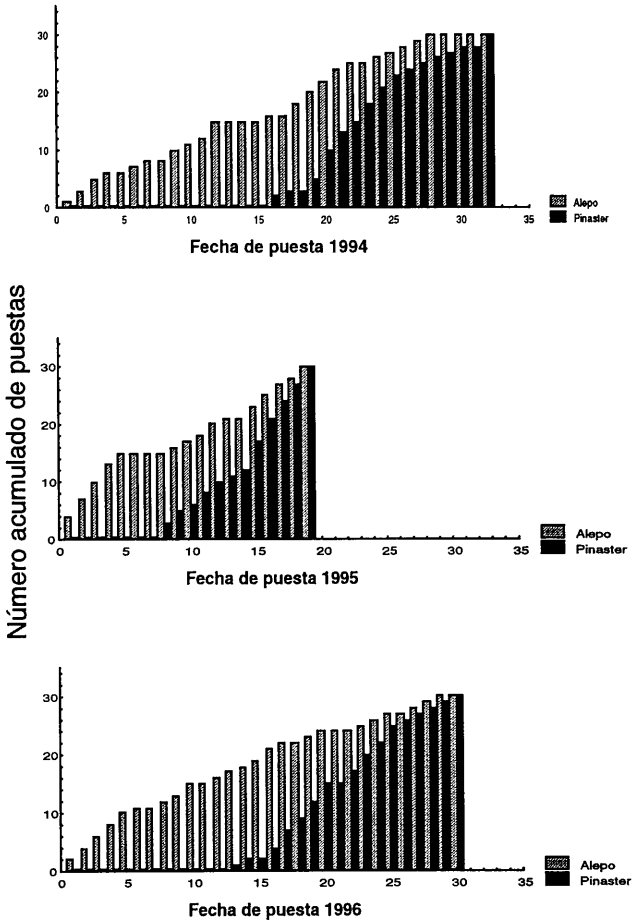

FIGURA 5. DISTRIBUCIÓN DE LA FECHA DE PUESTA PARA CADA AÑO EN EJEMPLARES DE AMBAS ESPECIES DE PINO.

La selección de esta especie de pino como hospedador implica una reducción en el éxito reproductor de este lepidóptero y su elección podría explicarse por una variación en el balance entre costos (competencia entre larvas) y beneficios (calidad alimenticia) a lo largo del periodo de puesta. Para aquellas hembras que emergen más tardíamente sería beneficioso evitar una mayor competencia intraespecífica eligiendo para depositar su puesta el pino marítimo. Los resultados del experimento de aumentar la competencia intraespecífica en los ejemplares de pino de Alepo (mediante el aumento experimental del número de puestas) muestran un aumento significativo en la incidencia de parasitoides (ver resultados) y la presencia de distintas puestas en el mismo pino produjo un menor desarrollo larvario *per cápita*. Estos resultados sugieren que la selección del hospedador subóptimo en puestas más tardías sería la mejor de una serie de malas opciones. Es decir, en situaciones de limitación de alimento en los ejemplares de pino de Alepo como consecuencia de la presencia de muchas puestas por pino, el pino marítimo sería la mejor opción.

CARACTERÍSTICAS INDIVIDUALES DEL PINO IMPLICADAS EN LA SELECCIÓN (MS II)

La mayor parte de los parámetros medidos del pino resultaron positivamente relacionados con el número de puestas que recibió cada pino en cada año (Tabla 8). Esto indica que esos parámetros juegan, directa o indirectamente, un papel en el proceso de selección del herbívoro.

Los valores medios en parámetros de la planta hospedadora (pino de Alepo) tales como, el número de pies por planta, la altura, la superficie transversal del tronco, el perímetro de la zona verde y el volumen mostraron valores significativamente más elevados en los pinos atacados que en los no atacados para los tres años de estudio (Tabla 9).

TABLA 8. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE PUESTAS POR AÑO Y DIVERSOS PARÁMETROS DE *P. HALEPENSIS* (R_S = ÍNDICE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN, N = 182 EN TODOS LOS CASOS).

	r_s	P
1993		
Volumen (1993)	0.47	0.000
Número de pies	0.31	0.000
Número de nidos viejos (1992)	-0.04	0.510
1994		
Volumen (1994)	0.35	0.000
Número de pies	0.23	0.001
Número de nidos (1993)	0.24	0.000
Número de puestas (1993)	0.26	0.000
1995		
Volumen (1995)	0.35	0.000
Número de pies	0.23	0.001
Número de nidos (1994)	0.22	0.001
Número de puestas (1993)	0.26	0.000
Número de puestas (1994)	0.27	0.000

Otro factor que difirió entre pinos atacados y no atacados fue la presencia de colonias del año anterior en la planta. Los pinos atacados tuvieron más nidos antiguos que los pinos no atacados.

TABLA 9. TAMAÑO DE MUESTRA (N), MEDIA Y ERROR ESTÁNDAR (ES) DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS PARA PINOS ATACADOS Y SANOS EN CADA AÑO. LOS DATOS CORRESPONDEN A EJEMPLARES DE *P. HALEPENSIS*. EL NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (D) DE LAS COMPARACIONES (TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY) ENTRE PINOS ATACADOS Y SANOS (N.S. = NO SIGNIFICATIVA, * = P < 0.05, ** = P < 0.01 Y *** = P < 0.001).

	ATACADOS			SANOS			
	N	Media	ES	N	media	ES	D
1993							
Número de pies	135	2.0	0.0	47	1.6	0.1	*
Altura	135	2.4	0.0	47	1.8	0.1	***
Superficie transversal del tronco	135	91.3	5.1	47	53.9	5.8	***
Perímetro de la zona verde	135	5.3	0.1	47	4.2	0.1	***
Volumen	135	4.4	0.3	47	2.2	0.2	***
Número de nidos de 1992	135	0.6	0.0	47	0.7	0.1	n.s.
1994							
Número de pies	86	2.2	0.1	96	1.7	0.0	***
Altura	86	2.6	0.0	96	2.1	0.0	**
Superficie transversal del tronco	86	126.6	8.4	96	82.1	5.1	***
Perímetro de la zona verde	86	6.1	0.1	96	5.0	0.1	***
Volumen	86	6.3	0.5	96	3.6	0.2	***
Número de nidos de 1993	86	1.7	0.1	96	1.2	0.1	*
1995							
Número de pies	128	2.0	0.0	54	1.7	0.1	*
Altura	128	2.6	0.0	54	2.1	0.1	**
Superficie transversal del tronco	128	133.0	7.3	54	96.8	8.3	**
Perímetro de la zona verde	128	6.2	0.1	54	5.3	0.2	**
Volumen	128	6.5	0.4	54	4.0	0.4	**
Número de nidos de 1994	128	0.8	0.0	54	0.4	0.1	**

Una regresión logística mostró, para cada año por separado, que el volumen del pino tiene un efecto sobre la probabilidad de ser atacado. Dicha variable es la única que se mantiene significativa en el modelo durante los tres años (Tabla 10).

TABLA 10. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA. SE PRESENTAN ESTIMAS DE LAS PENDIENTES (S) Y SU NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (P) PARA CADA VARIABLE EN LOS MODELOS INICIAL Y FINAL. TAMBIEN SE PRESENTAN LAS DIFERENCIAS DEL VALOR DE DESVIANCIA (2 X LOG-LIKELIHOOD) ENTRE MODELOS CON Y SIN CADA VARIABLE (D) Y SU NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (P).

	Todas las variables en el modelo				Modelo final			
	S	**P**	**D**	**P**	**S**	**P**	**D**	**P**
1993								
Nº de pies	-0.484	0.033	4.93	0.026	-0.484	0.033	4.93	0.026
Nº de nidos 1992	0.593	0.020	5.67	0.017	0.593	0.020	5.67	0.017
Volumen de 1993	-0.382	0.000	16.30	0.000	-0.382	0.000	16.30	0.000
Nº piñas 1993	-0.200	0.305	3.92	0.047	-0.200	0.305	3.92	0.047
1994								
Nº de pies	-0.549	0.004	8.82	0.002	-0.558	0.002	9.70	0.001
Nº de nidos 1993	-0.024	0.861	0.03	0.860				
Volumen de 1994	-0.174	0.002	11.80	0.000	-0.183	0.000	16.68	0.000
Nº piñas 1994	-0.015	0.627	0.24	0.621				
1995								
Nº de pies	-0.228	0.250	1.35	0.244				
Nº de nidos 1994	-0.193	0.389	0.76	0.380				
Volumen de 1995	-0.121	0.024	6.16	0.013	-0.415	0.005	10.22	0.001
Nº piñas 1995	-0.048	0.385	0.92	0.335				

Para 1993, junto con el volumen aparecen también implicadas el resto de variables consideradas para el modelo (R = 0.42). El siguiente año se mantuvo junto al volumen únicamente el número de pies por masa (R = 0.39). Por último, en 1995 sólo se mantiene el volúmen (R = 0.24). Esto indica que, de los parámetros analizados, el volumen foliar es la principal característica que determina que un pino sea seleccionado o no.

Nuestros resultados muestran que la procesionaria usa como plantas hospedadoras aquellos ejemplares de pino de Alepo de mayor volumen y los que produjeron más piñas el año anterior, resultado que concuerda con el obtenido en otros estudios para *P. pinaster* y *P. insignis*, donde los ejemplares de mayor altura, para las dos especies de pino, recibieron mayor número de puestas de procesionaria (Tiberi 1983). Sin embargo, debido a que el número de piñas está relacionado con el volumen del pino, en las regresiones logísticas sólo el volumen foliar aparece como determinante de que un pino sea seleccionado o no por la procesionaria a lo largo de todo el período de estudio.

Son muchos los factores que influyen en la calidad fenotípica que una planta supone para una determinada especie de fitófago. Estos incluyen la calidad nutricional de la planta y la presencia de determinados metabolitos secundarios (Dethier 1954, Ehrlich & Raven 1964, Levins & McArthur 1969, Bernays & Chapman 1994), riesgo de predación asociado con una planta en particular (Bernays & Graham 1988), disponibilidad no sólo actual sino a lo largo de toda la temporada (Futuyma & Moreno 1988), adecuación del sustrato para soportar el desarrollo de los huevos y la competición con otras especies fitófagas (Fritz 1992), etc. Estos factores pueden afectar a la eficacia biológica del fitófago en direcciones opuestas, ya que una planta hospedadora con alta calidad nutricional puede, por ejemplo, estar sujeta a un alto nivel de predación hacia el herbívoro (Mira & Bernays 2002). Por tanto, la selección de hospedadores óptimos debería de tener en cuenta, no sólo los beneficios (alimento que supone), sino también los costos (defensas del pino, parasitismo, depredación, competencia, etc.).

Hay dos hipótesis principales que explican la selección de planta por las hembras de los insectos para depositar los huevos, denominadas la "hipótesis del estrés de la planta" en relación a la herbivoría por insectos, la cual sugiere que las plantas sujetas a estrés son menos capaces de sintetizar sustancias químicas defensivas, y esta reducción en las defensas hace de estas plantas en particular las más vulnerables a los herbívoros (Rhoades 1979, Bultman & Faeth 1987, Louda & Collinge 1992); y la "hipótesis del vigor de la planta", que sugiere que muchas especies de herbívoros se alimentan preferencialmente en las plantas más vigorosas (Price 1991). Nuestros resultados apoyan parcialmente ambas hipótesis puesto que aquellos pinos que fueron atacados presentaban un mayor número de colonias antiguas, indicando un estrés, debido a la herbivoría, sufrido por esos pinos el año anterior y, por otro lado, las hembras de procesionaria, eligieron para depositar sus huevos aquellos pinos de mejor condición, es decir, aquellos pinos con un mayor tamaño, indicativo de un mayor vigor.

En este trabajo, nos hemos centrado en el estudio de características físicas de los pinos que expliquen la probabilidad de uso por la procesionaria, apareciendo el volumen foliar como la característica que mejor explica la selección de planta. Por tanto, independientemente de las causas que expliquen esta selección, los pinos de mayor

volumen foliar deben de ser aquellos donde se optimizan la relación costos beneficios de la selección de pino.

Debido a que los resultados que presentamos son de carácter correlacional, cualquier variable que estuviera relacionada con el volumen foliar podría también explicar la selección de pinos grandes por parte de la procesionaria. Una posibilidad es que la selección de las hembras de procesionaria esté basada en la detección de los distintos compuestos químicos volátiles que constantemente son emitidos por las acículas que estarían dando información sobre la calidad y nivel defensivo de los pinos y que, además, estaría relacionado con el volumen foliar. De acuerdo con esto, nuestros resultados muestran que, dependiendo del año de estudio, varias características de los pinos están relacionadas con la probabilidad de que un ejemplar en concreto sea elegido por la hembra de la procesionaria para depositar los huevos y, por tanto, es posible que los parámetros medidos no sean evaluados directamente por las hembras y que las relaciones encontradas se deban a que las características medidas sean un reflejo indirecto de la calidad de los pinos.

Otra posibilidad que explicaría nuestros resultados es que, en realidad, no existiera selección de planta en esta especie y en estas condiciones, sino que debido a que los pinos de mayor volumen son más fácilmente detectables, estos recibieran más puestas debido a que la probabilidad de que una hembra encuentre un lugar apropiado para la ovoposición (planta) está relacionada con el volumen de la misma. Por tanto, aunque el análisis de regresión logística nos proporciona un modelo predictivo de la probabilidad de parasitismo para distintos fenotipos de pino, el estudio de los beneficios y de los costos que para los adultos signifique una posible selección, es esencial para entender estos resultados desde el punto de vista ecológico y evolutivo.

ASIMETRÍA ACICULAR, VIGOR DEL PINO Y SELECCIÓN (MS III)

Las hojas del pino de Alepo presentaron asimetría direccional, dado que las acículas externas fueron significativamente más largas que las internas y la distribución de frecuencias de las diferencias entre las longitudes externas e internas se ajustaron a una distribución normal (Fig. 6).

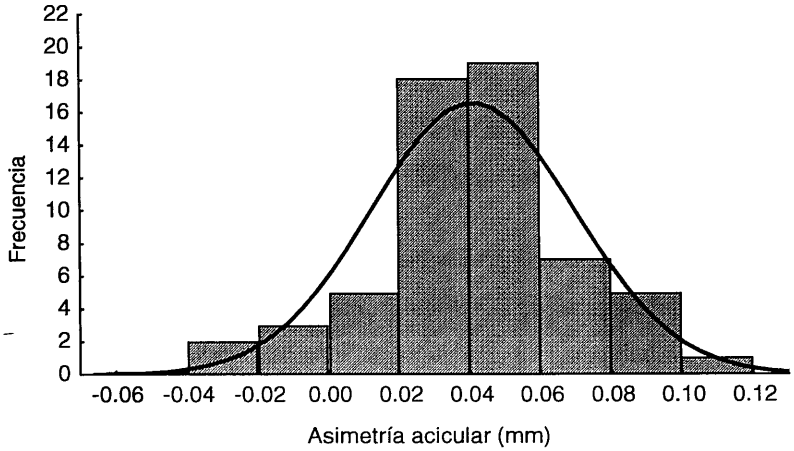

FIGURA 6. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE LA ASIMETRÍA ACICULAR MEDIA (LONGITUD DE LA ACÍCULA EXTERNA MENOS LONGITUD DE LA ACÍCULA INTERNA) EN *PINUS HALEPENSIS*.

Como estima del grado de inestabilidad sufrido durante el desarrollo, utilizamos la variación en asimetría de cada pino respecto a la asimetría media de la población. Nuestros resultados mostraron que la longitud de la hoja y el grado de asimetría relativa a la longitud de la hoja estaban negativamente relacionados (Fig. 7), por lo que los pinos de acículas más largas son los de mejor calidad fenotípica.

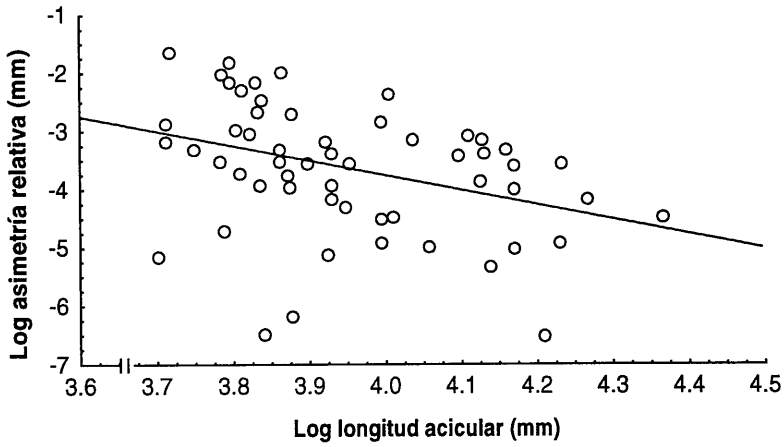

FIGURA 7. RELACIÓN ENTRE EL LOGARÍTMO DE LA LONGITUD ACICULAR Y EL LOGARÍTMO DE LA ASIMETRÍA RELATIVA ((VALOR ABSOLUTO DE ASIMETRÍA – VALOR MEDIO DE LA ASIMETRÍA DE LA POBLACIÓN) / LONGITUD ACICULAR) EN LA LONGITUD ACICULAR DE EJEMPLARES DE *P. HALEPENSIS* TREES. LA ECUACIÓN DE LA RECTA ES Y = -1.248-0.0451X.

Además, los pinos productores de piñas tenían las acículas más simétricas (-3.91 ± 0.22) que los pinos que no produjeron piñas (-3.48 ± 0.18), aunque las diferencias no resultaron significativas. Por tanto, el nivel de asimetria en las hojas es probablemente un reflejo de la calidad del pino desde el punto de vista de la hembra de procesionaria.

Desde el punto de vista de la procesionaria, la calidad del pino estaria relacionada con la cantidad y calidad nutritiva de sus acículas independientemente de la capacidad del pino para aumentar su volumen. Sin embargo, la longitud acicular está negativamente relacionada con crecimiento en volumen ($R = -0.34$, $t = 2.73$, $df = 59$, $P = 0.008$), lo que indica un compromiso entre el crecimiento del pino y tamaño acicular y, una vez descartamos el volumen, la variable que mejor explicó la selección de pino por parte de las hembras de procesionaria fue la longitud de las acículas de los pinos (alimento para sus larvas). Además, la probabilidad de que un pino no atacado por la procesionaria, lo fuera al año siguiente fue mayor para aquellos pinos que produjeron nuevas hojas de mayor longitud (Regresión Logística: $\chi^2 = 5.95$, $df = 2$, $P = 0.017$). Una vez controlada la longitud de la hoja las hembras de procesionaria seleccionaron las hojas mas asimétricas (Regresión logística usando ambas variables: $\chi^2 = 11.70$, $df = 2$, $P = 0.002$, diferencia en la desviación con el modelo anterior = 5.75, $P = 0.017$).

TABLA 11. DIFERENCIAS EN CRECIMIENTO, LONGITUD ACICULAR, ASIMETRÍA RELATIVA Y PRODUCCIÓN DE PIÑAS ENTRE PINOS ATACADOS, NO ATACADOS Y TRATADOS EL AÑO POSTERIOR AL TRATAMIENTO. LOS VALORES PRESENTADOS SON MEDIAS (SE). PARA LAS COMPARACIONES ENTRE MEDIAS USAMOS TESTS DE ANOVA DE UNA VÍA Y TEST DE ANOVA DE KRUSKAL-WALLIS. LAS COMPARACIONES ENTRE DOS VARIABLES FUERON HECHAS CON UN POST-HOC (TEST LSD) Y TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY.

	Atacados(1)	No atacados(2)	Tratados(3)	Diferencias	1-2	2-3	1-3
Crecimiento relativo en altura	-2.45(0.16)	-2.89(0.22)	-2.5(0.15)	F= 4.53, *	**	*	ns
Crecimiento relativo en volumen	-1.45(0.06)	-1.29(0.16)	-1.64(0.09)	F= 2.05, ns	ns	*	ns
Longitud acicular	50.15(1.45)	46.13(0.81)	61.54(1.75)	F= 32.67, ***	*	***	***
Asimetría relativa	-3.13(0.19)	-3.48(0.27)	-4.24(0.22)	F= 6.08, **	ns	*	**
Número de piñas producidas (1992)	2.25(1.26)	0.30(0.25)	10.25(3.32)	H= 18.62, ***	ns	***	**
Número de piñas producidas (1993)	0.85(0.49)	0.45(0.32)	4.60(1.78)	H= 17.57, ***	ns	**	**

ns no significativa, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Tras el experimento de eliminar las colonias de larvas de procesionaria, los pinos atacados crecieron menos en volumen de que los pinos no atacados sin manipular (Tabla 11). Además, el grupo de pinos no atacados experimentalmente presentaron las acículas más largas y un valor menor de asimetría relativa.

Estas dos variables (longitud acicular y asimetría) estuvieron relacionadas con la selección de pino por la hembra de la procesionaria y, por tanto, el tratamiento experimental afectó probablemente tanto la susceptibilidad de los pinos a ser atacados por la procesionaria como a la condición de estos el año siguiente. La asimetría en sí no puede definir calidad de la hoja para el herbívoro por lo que es necesario determinar los compuestos bioquímicos que covarían con el grado de asimetría (Lempa *et al.* 2000). En este estudio hemos encontrado que las acículas más largas presentaban una gran proporción de beta-pineno, un monoterpeno defensivo que está presente en gran proporción en la resina de otras especies susceptibles de ser atacadas por la procesionaria (Tiberi *et al.* 1999). También se ha sugerido que las hojas asimétricas reflejan un débil nivel de defensas (Møller 1995b). Por tanto, las hembras deberían elegir depositar los huevos en plantas con un alto nivel de asimetría ("hipótesis del estrés de la planta", ver Introducción). Además, hemos encontrado que las acículas más asimétricas presentaron una concentración menor en limoneno, un compuesto que afecta negativamente a la selección de pino por la procesionaria (Tiberi *et al.* 1999).

En conclusión, debido a la alta probabilidad de que los pinos no atacados con acículas largas y asimétricas sean atacados al año siguiente, nuestros resultados apoyan dos de las hipótesis principales que explican la selección de planta para la oviposición. Es decir, las hembras de procesionaria prefirieron pinos (1) con una tasa de crecimiento rápido en altura, que eran aquellos con las acículas más largas ("hipótesis del vigor de la planta", Price 1991), y (2) una vez que controlamos el efecto de esas variables, las hembras seleccionaron pinos con un alto grado de asimetría ("hipótesis del estrés de la planta"), probablemente debido a su relación negativa con los compuestos químicos de defensa.

La tasa de infección para el pino de Alepo varió significativamente entre años (χ^2 = 47.50, gl = 3, P < 0.01; Fig. 8).

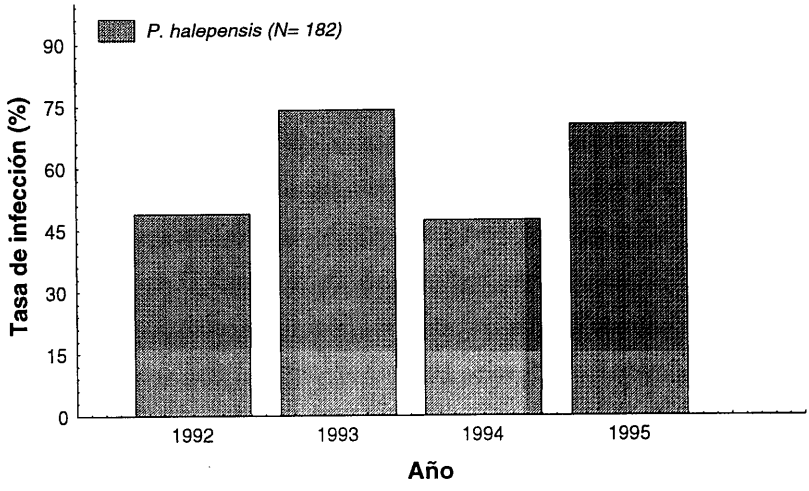

FIGURA 8. TASA DE INFECCIÓN PARA LOS MISMOS EJEMPLARES DE PINO DE ALEPO.

Además, el mismo pino no suele ser atacado dos años consecutivos (test de Cochran's; Q = 52.86, gl = 3, N = 182, P < 0.0001) y, por ello, aparecen diferencias significativas cuando comparamos las tasas de infección para cada pino en años consecutivos, pero no alternos (Tabla 12), lo que indica una alternancia anual en la presión de la plaga sobre cada pino.

TABLA 12. DIFERENCIAS ENTRE AÑOS (ENTRE PARÉNTESIS) EN LA TASA DE INFECCIÓN PARA CADA PINO EN *P. HALEPENSIS* (TEST DE LOS SIGNOS, N = 182).

	Z	P
Infectados (92 – 93)	4.59	0.000
Infectados (92 – 94)	0.24	0.804
Infectados (92 – 95)	4.57	0.000
Infectados (93 – 94)	5.26	0.000
Infectados (93 – 95)	0.79	0.426
Infectados (94 – 95)	4.70	0.000

Los principales factores que afectan a la ocurrencia de las plagas y su regularidad dependen de las condiciones ambientales (Androic 1956), de la estructura del bosque y, en particular, de las especies de pino que lo forman, su edad, su origen y la densidad de la plantación (Mendel 1984, Masutti & Battisti 1990). Sin embargo, la baja probabilidad de ataque por procesionaria durante años consecutivos para un pino individual detectada en nuestro estudio explica la irregularidad en la formación de plagas en esta especie por caracteristicas individuales de los pinos, incluida su historia de parasitismo. A su vez, la reducción en la probabilidad de ser explotado por la procesionaria en el año siguiente a la infección, podría ser explicado por los efectos de la herbivoría en los pinos atacados.

Para comprobar el efecto de la herbivoría sobre los parámetros de crecimiento del pino, se consideraron los pinos atacados y no atacados por la procesionaria durante el ciclo anterior al período de crecimiento considerado. Para cada uno de los períodos de crecimiento, los pinos atacados presentaron unos valores de crecimiento superiores a los presentados por los pinos no atacados, aunque la mayoría de las diferencias no resultaron significativas (test de la U de Mann-Whitney; período 1993-1994: altura: $Z_{ajustada} = 1.49$, $P = 0.135$; superficie transversal del tronco: $Z_{ajustada} = -0.66$, $P = 0.503$; volumen: $Z_{ajustada} = 1.85$, $P = 0.064$; $n_{atacados} = 43$ y $m_{no\ atacados} = 27$; período 1994-1995: altura: $Z_{ajustada} = 1.40$, $P = 0.161$; superficie transversal del tronco: $Z_{ajustada} = 1.90$, $P = 0.057$; volumen: $Z_{ajustada} = 2.83$, $P = 0.004$; $n_{atacados} = 23$ y $m_{no\ atacados} = 47$). Sin embargo, este resultado podría deberse a que los pinos seleccionados por la procesionaria sean de mayor tamaño, y por tanto con una mayor tasa de crecimiento, más que a una respuesta del pino a la defoliación. De acuerdo con esta interpretación, para los tres parámetros de crecimiento considerados en este estudio, los pinos de mayor tamaño presentan unos crecimientos absolutos más elevados (altura: crecimiento 93-94; $R_s = 0.517$, $N = 70$, $P < 0.001$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.667$, $N = 70$, $P < 0.001$; superficie transversal del tronco: crecimiento 93-94; $R_s = 0.352$, $N = 70$, $P < 0.01$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.574$, $N = 70$, $P < 0.001$; volumen: crecimiento 93-94; $R_s = 0.638$, $N = 70$, $P < 0.001$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.867$, $N = 70$, $P < 0.001$). Por tanto, para controlar el efecto del tamaño individual del pino en su crecimiento posterior usamos los residuos del tamaño controlado por el tamaño en el año anterior en los posteriores análisis (ver Material y Métodos en MS IV).

Los resultados expuestos en la Tabla 13 muestran que los residuos del crecimiento absoluto en altura, en superficie transversal del tronco y en volumen no difieren significativamente entre pinos que estuvieron atacados y no atacados por la procesionaria el año anterior, por lo que no detectamos el efecto de la defoliación en los parámetros de crecimiento medidos.

TABLA 13. RESULTADOS DE LAS COMPARACIONES EN EL CRECIMIENTO ENTRE PINOS ATACADOS Y NO ATACADOS POR LA PROCESIONARIA (COMPARACIONES HECHAS CON EL TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY).

	$Z_{ajustada}$	P	Pinos atacados	Pinos no atacados
PERÍODO 1993-1994				
Crecimiento en Altura				
Atacados 1993	-0.07	0.93	43	27
Atacados 1992 y 1993	0.30	0.75	13	16
Crecimiento en STT				
Atacados 1993	-1.40	0.15	43	27
Atacados 1992 y 1993	0.30	0.75	13	16
Crecimiento en Volumen				
Atacados 1993	1.12	0.25	43	27
Atacados 1992 y 1993	1.49	0.13	13	16
PERÍODO 1994-1995				
Crecimiento en Altura				
Atacados 1994	-0.70	0.47	23	47
Atacados 1993 y 1994	-0.53	0.59	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	-1.06	0.28	7	13
Crecimiento en STT				
Atacados 1994	0.22	0.82	23	47
Atacados 1993 y 1994	-0.81	0.41	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	-0.19	0.84	7	13
Crecimiento en Volumen				
Atacados 1994	0.93	0.35	23	47
Atacados 1993 y 1994	0.56	0.57	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	0.11	0.90	7	13

La defoliación provocada por herbívoros reduce el área fotosintética por planta y causa una variedad de respuestas genéricas en la mayoría de las plantas. Muchas de estas respuestas han sido interpretadas como mecanismos de compensación, principalmente porque facilitan la tasa de captura de carbono y la tasa de crecimiento relativo en plantas que no presentaban estas respuestas (Caldwell *et al.* 1981, McNaughton 1983, Belsky 1986). Estos mecanismos incluyen cambios en los patrones de distribución de carbohidratos y de biomasa (McNaughton & Chapin 1985, Oesterheld & McNaughton 1988), e incrementan el nitrógeno foliar o las concentraciones de proteínas relacionadas (Piene 1980, Caldwell *et al.* 1981, Wagner & Evans 1985), aunque no siempre ocurre (Tuomi *et al.* 1984, Reich *et al.* 1993). Debido a que la reducción del área foliar tiene como

consecuencia la reducción en la ganancia de carbono por la planta, el resultado neto sobre el crecimiento de la planta puede ser negativo, neutro o positivo, dependiendo, entre otros factores, de la intensidad de la defoliación (Reich *et al.* 1993). Por tanto, nuestros resultados podrían ser una consecuencia de éste crecimiento compensatorio que atenuase los efectos de la herbivoría.

Debido a que la procesionaria, como ocurre con otros defoliadores, seleccionan plantas de mayor calidad fenotípica (p.e. mayor tamaño y tasa de crecimiento), y a que generamente las plantas que invierten en diferenciación, crecen más lentamente y están más defendidas frente al ataque de los herbívoros (Basey & Jenkins 1993), la procesionaria, más que seleccionar pinos por su crecimiento, seleccionarían individuos con pocas defensas (MS III) que, a su vez pueden compensar el ataque defoliador.

Aunque no hayamos detectado efecto de la herbivoría sobre las variables estimadas, debido a que la reducción de la superficie foliar por la acción de la procesionaria, disminuye la capacidad fotosintética del pino (Johnson & Denton 1975) y la cantidad de hidratos de carbono que las coníferas almacenan principalmente en las hojas (Tuomi *et al.* 1988), es posible que exista un efecto negativo en el número de piñas desarrolladas al año siguiente, ya que existe un compromiso entre la inversión en crecimiento y reproducción. Debido a que nuestra población de pinos es bastante joven y la producción de piñas es muy escasa y esporádica, no hemos podido comprobar este posible efecto. Sin embargo, es posible que, para este tipo de pinos sea más rentable invertir en crecimiento que en reproducción ya que, de esta forma, consigue un aparato fotosintético más eficaz, que a su vez, influirá en la producción de piñas en años sucesivos. Por tanto, debido a que no hemos detectado efectos de la herbivoría sobre el crecimiento de los pinos y a la baja produccion de piñas independientemente de la herbivoría, la conclusión más parsimoniosa es que los pinos explotados son capaces de compensar los efectos negativos de la procesionaria del pino ya que el crecimiento compensatorio y el aumento de la fotosíntesis tras la defoliación provocada por la herbivoría puede compensar la pérdida de tejido (Paige 1992, 1999, Obeso & Grubb 1993, Obeso 1993, Domínguez & Dirzo 1994, Wegener & Odasz 1997, Bakker & Loonen 1998, Lennartsson *et al.* 1998, Meyer 1998).

ECOLOGÍA REPRODUCTORA DE LA PROCESIONARIA

PRESIONES SELECTIVAS EJERCIDAS POR LOS PARASITOIDES (MS V)

INFLUENCIA EN EL TAMAÑO DE PUESTA Y DE HUEVO

El tamaño de puesta y el tamaño de huevo son rasgos típicamente implicados en un compromiso debido a que la hembra tiene una reserva limitada de energía para invertir en reproducción y, por tanto, para una misma cantidad de recursos, un incremento en el tamaño de puesta implicará una disminución en el tamaño de huevo (Stearns 1992). Teniendo en cuenta que el tamaño de huevo está generalmente relacionado con la probabilidad de éxito en la eclosión y posterior reproducción (Begon & Parker 1986), la hembra debería optimizar el tamaño de puesta y el tamaño de huevo de acuerdo con las condiciones ambientales (Stearns 1992).

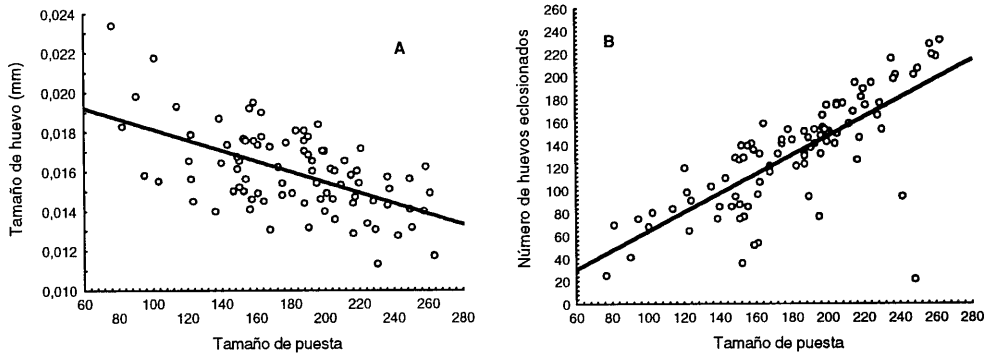

FIGURA 9. (A) RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DE PUESTA Y EL TAMAÑO DE HUEVO. LA ECUACIÓN DE LA RECTA ES Y = 0.0001(X)+0.02. (B) RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DE PUESTA Y EL NÚMERO DE HUEVOS ECLOSIONADOS. LA ECUACIÓN DE LA RECTA ES Y = 0.837(X)-20.04.

En insectos existe una gran variación intra e interespecífica en el tamaño de puesta. Gran parte de ésa variación es el resultado de ajustes debidos a la calidad fenotípica del adulto (Parker & Begon 1986), disponibilidad de recursos (Osier *et al.* 2000), competición entre hermanos (Mock & Parker 1997) o presiones selectivas debidas a predación y parasitismo (Moreau *et al.* 2000), por lo que las variaciones en tales presiones selectivas podrían influir en el resultado del compromiso entre tamaño de puesta y tamaño

de huevo. En la procesionaria del pino, de acuerdo con el compromiso entre ambas variables, encontramos una relación negativa entre ellas (Fig. 9a).

Sin embargo, un tamaño de puesta intermedio no implicó un elevado éxito de eclosión, como sería de esperar si existe un valor óptimo de tamaño de puesta y tamaño de huevo (Fig. 9b).

La no existencia de un valor óptimo se podría explicar por las presiones selectivas ejercidas por los parasitoides ya que éstos pueden influir en la resolución óptima del compromiso entre tamaño de puesta y tamaño de huevo (Richner & Heeb 1995). En insectos que realizan una sola puesta ("capital breeders"), como es el caso de la procesionaria del pino, el tamaño de puesta depende principalmente de los recursos que la hembra haya acumulado durante su fase de larva (Tammaru & Haukioja 1996). Sin

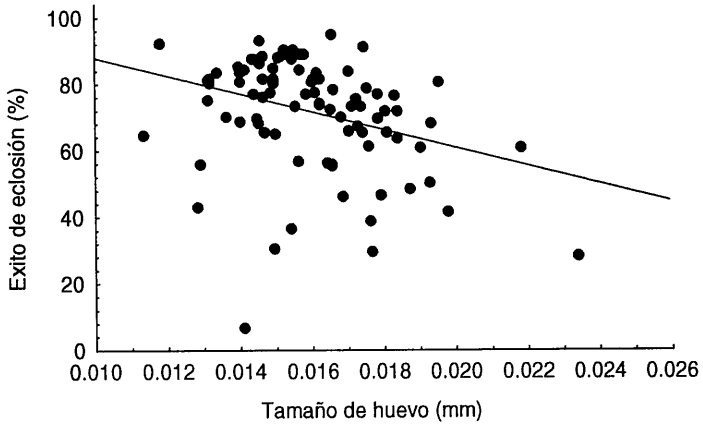

FIGURA 10. RELACIÓN ENTRE EL ÉXITO DE ECLOSIÓN Y EL TAMAÑO MEDIO DE HUEVO. LA ECUACIÓN DE LA RECTA ES Y = -2687.8(X) – 114.7.

embargo, en el caso de una alta probabilidad de perder huevos por el ataque de parasitoides, un aumento en el tamaño de puesta debería ser adaptativo ya que contrarresta el efecto del parasitismo. A su vez, y debido al compromiso entre tamaño de puesta y tamaño de huevo, este aumento en número de huevos puestos reduciría el tamaño medio del huevo y, por tanto, el éxito de eclosión.

Además, los parasitoides podrían seleccionar puestas con huevos grandes, lo que proporcionaría una gran cantidad de recursos para el desarrollo de la descendencia del parasitoide (Rivero 2000), por lo que el tamaño del huevo no sería indicativo del éxito de eclosión. De acuerdo con éste escenario, hemos encontrado que el porcentaje de huevos que eclosionó con éxito fue mayor en las puestas con menor tamaño de huevo (Fig. 10), debido a un parasitismo preferencial en las puestas de mayor tamaño de huevo (Fig. 11). Por tanto, éstos resultados sugieren que las presiones selectivas de los parasitoides favorecen en la procesionaria del pino grandes puestas de huevos de pequeño tamaño.

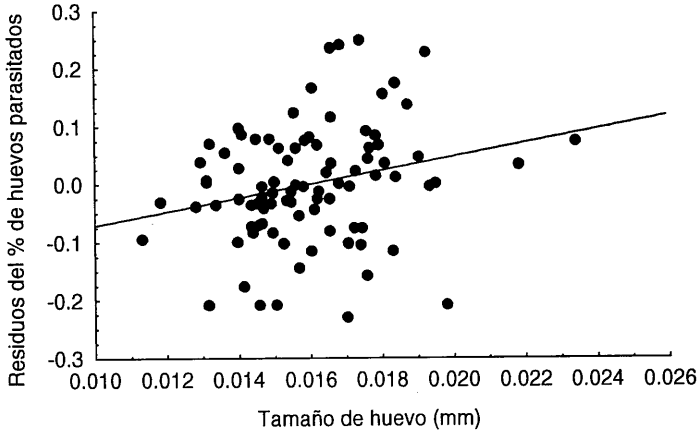

FIGURA 11. RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO MEDIO DE HUEVO Y EL PORCENTAJE DE HUEVOS PARASITADOS. LOS RESIDUOS CORRESPONDEN AL ARCSEN DEL PORCENTAJE DE HUEVOS PARASITADOS CONTROLADOS POR LAVARIACIÓN ENTRE AÑOS. LA ECUACIÓN DE LA RECTA ES $Y = 11.80(X) - 0.188$.

En general, las hembras de los insectos maximizan su tamaño de puesta independientemente de los hipotéticos efectos negativos de una disminución en el tamaño de huevo (Parker & Courtney 1984, Parker & Begon 1986, García-Barros 2000) y, probablemente, la explicación evolutiva de la falta de un óptimo en el tamaño de puesta y en el tamaño de huevo en la procesionaria del pino esté relacionado con los efectos negativos diferenciales que los parasitoides ejercen sobre las puestas de huevos de mayor tamaño.

FUNCIÓN DE LAS CAPAS PROTECTORAS DE LAS PUESTAS

Aunque hay varias hipótesis que explican la función de las escamas que cubren las puestas de algunas especies de mariposas nocturnas (por ejemplo Montoya & Robredo 1972, Halperin 1990, Kitt & Schmidt 1993) nunca han sido testadas experimentalmente. Los resultados del experimento de retirar las escamas protectoras de puestas de procesionaria del pino mostraron un efecto claro en el éxito de eclosión. Aquellas puestas a las que experimentalmente se les eliminó la capa de protección tuvieron un menor éxito de eclosión que las puestas control. Sin embargo, éste resultado fue debido principalmente a un efecto negativo diferencial de los parasitoides sobre las puestas experimentales (Fig. 12).

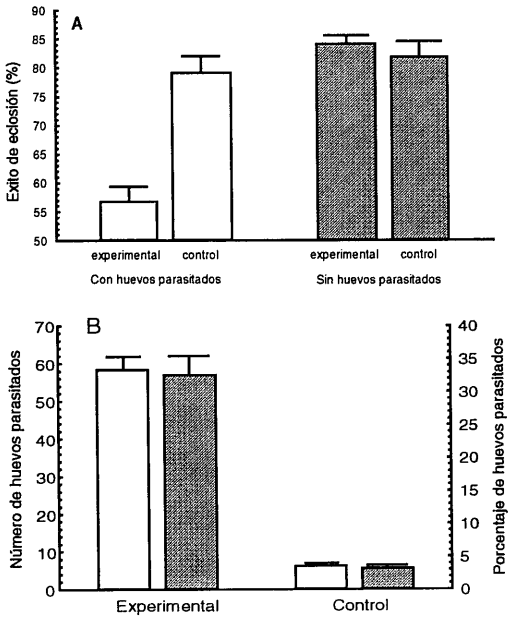

FIGURA 12. EXITO DE ECLOSIÓN (**A**) DE LAS PUESTAS EXPERIMENTALES Y CONTROL INCLUYENDO (BARRAS VACÍAS) Y EXCLUYENDO (BARRAS RAYADAS) LOS HUEVOS PARASITADOS. NÚMERO DE HUEVOS PARASITADOS (**B**, BARRAS VACÍAS) Y PORCENTAJE DE HUEVOS PARASITADOS (**B**, BARRAS RAYADAS) DE LAS PUESTAS EXPERIMENTALES Y CONTROL.

No obstante, no se pueden descartar factores relacionados con una función termoaislante puesto que el tiempo de incubación fue más corto en los huevos de las puestas del grupo control (Tabla 14). Esto está de acuerdo con otro estudio que había mostrado que las escamas de la procesionaria del pino aumentaban la temperatura de la puesta (Milani 1990).

Hay varias explicaciones posibles al hecho de que las puestas experimentales sufrieran un mayor parasitismo que las puestas control. Una podría estar relacionada con los efectos de una hipotética barrera que las escamas pueden tener frente al intento de los parasitoides por acceder al huevo dentro de la puesta. Sin embargo, ésta hipótesis es improbable puesto que todas las puestas, experimentales y control, presentaron al menos un huevo parasitado.

TABLA 14. DIFERENCIAS ENTRE PUESTAS EXPERIMENTALES (DESCAMADAS) Y CONTROL CON RESPECTO AL TIEMPO DE INCUBACIÓN (DÍAS), TAMAÑO DE PUESTA Y LONGITUD DE ESTA (MM). LOS VALORES PRESENTADOS SON MEDIAS (SE) Y LOS TAMAÑOS DE MUESTRA SON 20 PARA CADA GRUPO.

	Experimental	**Control**	**Test estadístico**
Incubación (días)	38.15 (0.42)	35.60 (0.36)	$t = 4.58$, $P < 0.001$
Longitud de puesta	2.97 (0.13)	2.78 (0.11)	$t = 1.07$, $P = 0.287$
Tamaño de puesta	190.00 (11.12)	188.40 (8.66)	$t = 0.11$, $P = 0.910$

Una segunda explicación podría estar relacionada con la posibilidad de que las escamas que cubren las puestas les confieran a éstas un camuflaje que minimice la probabilidad de que sean detectadas por los parasitoides. El camuflaje puede estar relacionado con un mimetismo visual puesto que las puestas experimentales eran detectadas más facilmente a la vista humana que las puestas control (Observación personal). Sin embargo, los insectos tienen una discriminación visual muy limitada (Heinrich 1984) y muchas especies dependen del sentido del olfato para detectar sus presas (Vinson 1985, Wardle & Borden 1989). Por ello, en insectos es más probable que ocurra un mimetismo químico que uno visual. Sin embargo, contrariamente a ésa hipótesis, encontramos que todas las puestas, tanto experimental como control, fueron detectadas al menos una vez por los parasitoides y que las puestas de mayor tamaño no mostraron un mayor número de huevos parasitados que las puestas de menor tamaño, como cabría esperar si la señal química aumentara conforme aumentara la longitud de la puesta.

Finalmente, una tercera explicación posible acerca de la reducción del parasitismo mediado por las escamas de protección podría ser que los parasitoides no sean capaces de localizar huevos individuales dentro de la puesta porque las escamas cubren a todos ellos de

manera uniforme. Los parasitoides acceden a los huevos introduciendo el oviscapto perpendiculamente (Hawkins 1994), por lo que la insegura localización de huevos indiviuales del hospedador por los parasitoides podría disminuir drásticamente el éxito en el parasitismo e incrementar los costos de detectar y parasitar los huevos del hospedador. Además, los parasitoides de la procesionaria del pino en nuestra área de estudio ponen un único huevo por huevo del hospedador (Observación personal). Puesto que los huevos del hospedador son pequeños y están en contacto unos con otros, los parasitoides deberían seleccionar huevos del hospedador lo suficientemente distantes entre sí para asegurar que ponen un único huevo por huevo del hospedador. Esto podría explicar también que las puestas con huevos pequeños sufrieran menos parasitismo. Creemos que ésta es la explicación más probable que explica que las puestas sin escamas de protección fueran parasitadas más frecuentemente que las puestas con escamas.

¿POR QUÉ LAS LARVAS VIVEN EN GRANDES GRUPOS? (MS VI)

El tamaño experimental de grupo afectó a la longitud larvaria durante los cuatro meses de crecimiento, y el crecimiento larvario mostró diferencias significativas entre los grupos para cada visita excepto para la tercera (Tabla 15). Después de crecer durante cuatro meses, las larvas pertenecientes al grupo experimental de mayor tamaño mostraron los mayores tamaños larvarios.

TABLA 1. TAMAÑO CORPORAL, TAMAÑO DE GRUPO Y CRECIMINETO LARVARIO DE GRUPOS EXPERIMENTALES Y CONTROLES. SE MUESTRAN LOS VALORES MEDIOS, ERROR ESTANDAR Y TAMAÑO DE MUESTRA PARA CADA UNO DE LOS GRUPOS. TAMBIÉN SE MUESTRAN LOS RESULTADOS DE LAS COMPARACIONES ENTRE DISTINTOS GRUPOS EXPERIMENTALES. LAS VISITAS ERAN MENSUALES Y LA PRIMERA Y LA QUINTA VISITA CORRESPONDE RESPECTIVAMENTE AL PRIMER Y QUINTO ESTADÍO LARVARIO.

	Grupo I (25)	Grupo II (50)	Grupo III (75)	Grupo IV (100)	Natural	ANOVAs entre grupos experimentales		
	Media ± SE (N)	Media ± SE (N)	Media ± SE (N)	Media ± SE (N)	Media ± SE (N)	F	df	P
Primera visita								
Tamaño corporal	5.57 ± 0.10 (15)	5.59 ± 0.05 (15)	5.43 ± 0.05 (15)	5.42 ± 0.06 (15)	5.47 ± 0.07 (30)	1.48	3, 56	0.23
Tamaño de grupo	92.40 ± 5.69 (15)	91.86 ± 6.29 (15)	98.46 ± 6.31 (15)	93.20 ± 6.08 (15)	94.00 ± 3.39 (30)	0.24	3, 56	0.86
Segunda visita								
Tamaño corporal	9.06 ± 0.16 (14)	9.25 ± 0.10 (15)	9.91 ± 0.05 (15)	10.14 ± 0.14 (15)		19.03	3, 55	< 0.0001
Tamaño de grupo	17.73 ± 1.70 (15)	42.47 ± 1.19 (15)	68.07 ± 1.39 (15)	90.73 ± 1.19 (15)		521.7	3, 56	< 0.0001
Crecimiento 1	3.54 ± 0.21 (14)	3.66 ± 0.11 (15)	4.48 ± 0.06 (15)	4.71 ± 0.13 (15)		19.06	3, 55	< 0.0001
Tercera visita								
Tamaño corporal	14.30 ± 0.21 (14)	14.93 ± 0.08 (15)	15.40 ± 0.15 (15)	15.90 ± 0.07 (15)		24.8	3, 55	< 0.0001
Tamaño de grupo	12.79 ± 1.05 (14)	35.40 ± 2.07 (15)	62.00 ± 2.18 (15)	83.73 ± 1.59 (15)		209.8	3, 55	< 0.0001
Crecimiento 2	5.24 ± 0.21 (14)	5.68 ± 0.12 (15)	5.49 ± 0.15 (15)	5.76 ± 0.17 (15)		1.962	3, 55	0.13
Cuarta visita								
Tamaño corporal	23.82 ± 0.21 (12)	24.74 ± 0.18 (14)	25.73 ± 0.13 (15)	26.51 ± 0.17 (14)		46.70	3, 51	< 0.0001
Tamaño de grupo	5.50 ± 1.01 (14)	26.73 ± 2.81 (15)	54.87 ± 2.34 (15)	71.47 ± 5.41 (15)		75.22	3, 55	< 0.0001
Crecimiento 3	9.66 ± 0.25 (12)	9.84 ± 0.16 (14)	10.33 ± 0.23 (15)	10.59 ± 0.15 (14)		4.52	3, 51	< 0.0001
Quinta visita								
Tamaño corporal*	29.48 ± 0.54 (10)	30.80 ± 0.31 (13)	33.59 ± 0.12 (14)	33.72 ± 0.17 (13)	32.57 ± 0.29 (30)	$X^2 = 39.5$	3	< 0.0001
Tamaño de grupo	3.58 ± 0.81 (12)	17.43 ± 2.39 (14)	44.53 ± 4.51 (15)	66.43 ± 5.59 (14)	62.53 ± 4.45 (30)	48.10	3, 51	< 0.0001
Crecimiento 4	5.60 ± 0.52 (10)	6.09 ± 0.34 (13)	7.82 ± 0.18 (14)	7.25 ± 0.26 (13)		9.91	3, 46	< 0.0001

* Debido a que el tamaño corporal de las larvas en el quinto estadío no sigue una distribución normal, usamos el test no parámetrico de Kruskal-Wallis.

TABLA 16: CORRELACIONES ENTRE EL CRECIMIENTO LARVARIO DURANTE LAS VISITAS CONSECUTIVAS Y EL NÚMERO DE LARVAS POR COLONIA EXPERIMENTAL EN LA VISITA PREVIA.

	r	*t*	*p*	*N*
Crecimiento 1 *vs.* tamaño de grupo 0	0.68	7.06	0.001	59
Crecimiento 2 *vs.* tamaño de grupo 1	0.20	1.55	0.124	59
Crecimiento 3 *vs.* tamaño de grupo 2	0.41	3.34	0.001	55
Crecimiento 4 *vs.* tamaño de grupo 3	0.48	3.82	0.001	50

Además, el crecimiento larvario entre visitas consecutivas fue explicado por el tamaño de la colonia de la visita previa, excepto entre la segunda y la tercera visita (Tabla 16), y la longitud larvaria final fue explicada por el tamaño de grupo final, tanto en los grupos experimentales como en el control (Fig. 13).

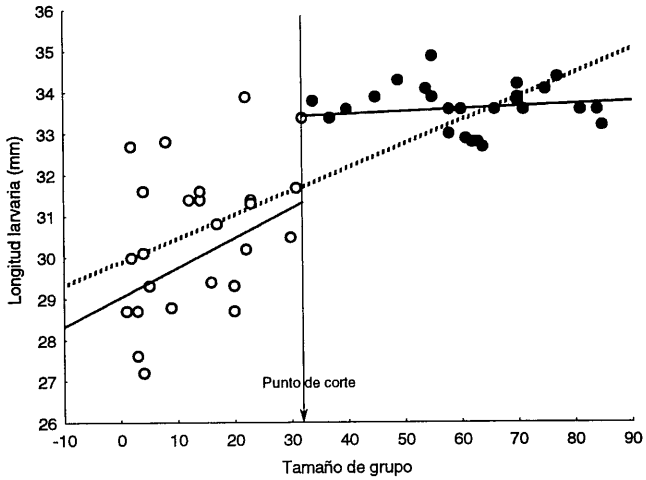

FIGURA 13. RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DE GRUPO Y LA LONGITUD LARVARIA ANTES DE LA PUPACIÓN DE LAS COLONIAS EXPERIMENTALES. LA LÍNEA CONTÍNUA REPRESENTA LA REGRESIÓN LINEAL POR TRAMOS ($R = 0.91$, $N = 50$, $P < 0.001$) Y LA DISCONTÍNUA RERESENTA LA REGRESIÓN LINEAL ($R = 0.76$, $N = 50$, $P < 0.001$). LA DIFERENCIAS ENTRE LOS COEFICIENTES DE CORRELACIÓN: $P < 0.05$.

Este resultado es importante ya que un tamaño corporal grande en las larvas de procesionaria confiere varias ventajas que resultan en una alta probabilidad de que éstas alcancen el estadío de pupa (Coyle *et al.* 1999) y, posteriormente, el de adulto (Kamata & Igarashi 1995). Además, el tamaño corporal antes de la pupación está positivamente relacionado con el tamaño corporal del adulto (Spurgeon *et al.* 1995), lo que a su vez está relacionado con la fecundidad de la hembra y la capacidad de dispersión del adulto (Webber & Ferro 1996). Por tanto, nuestros resultados con la procesionaria del pino apoyan fuertemente la hipótesis de que la agregación facilita el crecimiento larvario, de acuerdo con otros resultados previos en larvas gregarias (Long 1953, 1955, Lawrence 1990, Stamp & Bowers 1990c). En consecuencia, debido a que experimentalmente manipulamos el tamaño de grupo, se puede concluir que este factor fue responsable causal de la variación en el tamaño corporal (longitud) y el crecimiento de las larvas de las diferentes colonias.

Con respecto al tamaño óptimo de grupo, hemos encontrado que una regresión lineal por tramos (Piecewise Linear Regression) ajustó la relación entre la longitud larvaria final y el tamaño de grupo de las colonias experimentales mejor que una regresión lineal (Fig. 13). Las colonias no experimentales mostraron un patrón similar (regresión lineal: $R = 0.55$, $N = 28$, $p = 0.002$; regresión lineal por tramos: $R = 0.83$, $N = 28$, $p < 0.001$; punto de corte = 32.58; ecuación de la primera línea: $y = 0.040x + 29.27$; ecuación de la segunda línea: $y = 0.002x + 33.41$; comparación entre coeficientes, $p = 0.049$). Por tanto, en nuestra población, la relación positiva entre el tamaño de grupo y la longitud larvaria fue debida principalmente a las colonias que presentaban menos de 32 individuos y, a partir de este tamaño de grupo, la influencia del número de individuos en el grupo sobre el crecimiento larvario es prácticamente nulo.

El número de larvas muertas por grupo no difirió entre los distintos tratamientos experimentales y, por tanto, las colonias experimentales con gran número de individuos sufrieron un menor porcentaje de mortalidad (Fig. 14), independientemente de la edad larvaria (ANOVA: $F > 6.4$, $df > 48, 3$, $p < 0.001$). En conclusión, aunque no encontramos que las colonias experimentales de menor tamaño sufrieran una mayor mortalidad (p.ej. predación o parasitismo) que las colonias de mayor tamaño, la probabilidad de alcanzar el estadío de pupa fue mayor para las colonias con un mayor número de individuos.

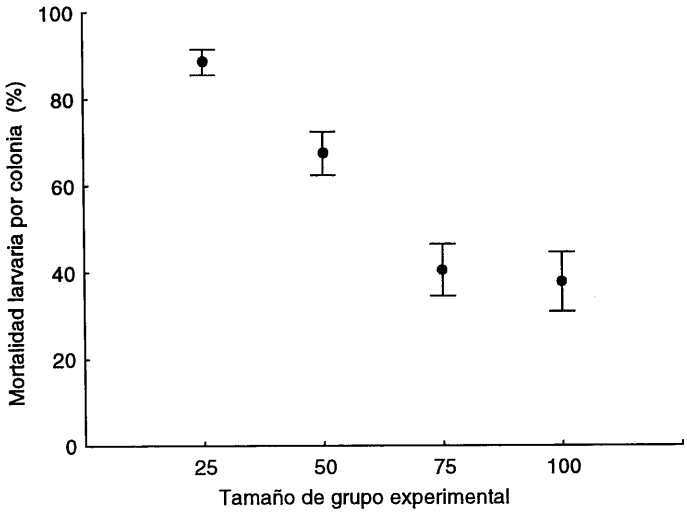

FIGURA 14. PORCENTAJE MEDIO DE LA MORTALIDAD LARVARIA EN LOS CUATRO TRATAMIENTOS DE TAMAÑO DE GRUPO. LAS DIFERENCIAS EN LAS MEDIAS FUERON SIGNIFICATIVAS (ANOVA: $F_{3, 56}$= 19.63, P < 0.001).

Los grupos más grandes de larvas pueden haber sufrido una menor tasa de mortalidad por responder simultáneamente a los ataques de predadores usando movimientos defensivos más efectivos, liberando una mayor cantidad de sustancias químicas defensivas, o habiendo construido un nido más efectivo (p. ej. Morris 1972, Damman 1987). Contrariamente, los grupos más pequeños de larvas de procesionaria pueden estar menor defendidas contra la depredación simplemente porque los receptáculos urticantes (uno de las principales mecanismos defensivos en ésta y en otras especies; Fitzgerald & Costa 1999), u otros mecanismos defensivos, pueden ser más efectivos en grupos de mayor tamaño. Sin embargo, con esta explicación, independientemente del tamaño de grupo, deberíamos encontrar un mayor número de larvas muertas o desaparecidas en los grupos experimentales de menor tamaño, aunque no fue el caso. Por tanto, aunque no podemos desechar completamente la posibilidad de que las defensas larvarias y el tamaño de grupo estuvieran relacionadas en nuestros resultados, esto es improbable ya que el tamaño de grupo también predijo otras variables importantes que afectan a la supervivencia larvaria como el tamaño.

Otra explicación posible para nuestros resultados sobre la mortalidad larvaria es que los principales predadores y parasitoides de las larvas de procesionaria del pino busquen las presas al azar, como se ha sugerido que ocurre en otras especies (Stamp 1980, Chew & Robbins 1984). El hecho de que el porcentaje de larvas muertas no difirió entre grupos experimentales sugiere que los depredadores más importantes de las larvas buscan sus presas al azar, y las colonias más grandes no son detectadas con mayor facilidad que las más pequeñas. En éste caso, las orugas en grupos grandes tendrían una mayor probabilidad de supervivencia que en los grupos de menor tamaño simplemente debido a un efecto de dilución, explicando por tanto nuestros resultados.

Contrariamente a esta última explicación, no hemos encontrado diferencias en la tasa de mortalidad entre los grupos experimentales de 75 y 100 larvas. Además, tampoco hemos encontrado diferencias en el crecimiento larvario o en el tamaño corporal en estos dos grupos. Esto sugiere que el crecimiento y el tamaño corporal pueden también afectar (a través de variables asociadas tales como la capacidad de forrajeo) a la mortalidad larvaria. En cualquier caso, debido a que estos dos grupos experimentales exceden por término medio los 32 individuos por colonia necesarios para alcanzar el tamaño larvario máximo antes de la pupación y se aproximan a la máxima tasa de supervivencia (Fig. 14), nuestros resultados sugieren claramente que las larvas en grupos grandes se desarrollan y sobreviven mejor que en grupos pequeños, explicando el gregarismo en la procesionaria.

CONCLUSIONES

Las conclusiones finales obtenidas en esta tesis son:

1. Con respecto a la selección de especie de pino demostramos, al menos para las variables consideradas (tasa de infección y número de puestas por pino atacado), una selección preferencial, por parte de las hembras de procesionaria, de pinos de Alepo. Además, la selección de esta especie conlleva un mayor éxito de eclosión y de pupación de las puestas debido a una menor incidencia de los parasitoides.
2. Los resultados de los experimentos de transposición de larvas sugieren la existencia de una cierta adaptabilidad a la planta hospedadora, no sólo a nivel de especie de pino, sino también a nivel de individuo dentro de una misma especie. Esta adaptabilidad larvaria permitiría la explotación de hospedadores subóptimos ya que podrían maximizar el aprovechamiento nutritivo de éstos.
3. La selección del hospedador sub-óptimo (pino marítimo) se puede exlicar por la disminución de la competencia larvaria por el alimento asociada a esta selección. En situaciones de limitación de alimento en los ejemplares del hospedador primario (pino de Alepo), como consecuencia de la presencia de varias puestas por pino, el pino marítimo sería la mejor opción.
4. Con respecto a la selección de ejemplares de pino de Alepo, las hembras de procesionaria prefirien pinos con una tasa de crecimiento rápido en altura, con acículas largas y asimétricas. Las ventajas de esta selección parecen estar asociadas con la cantidad y calidad del alimento para sus larvas ya que son desfoliadoras y el grado de asimetría de sus hojas esta inversamente relacionado con compuestos químicos defensivos de la planta.
5. Aunque no se detectaron efectos negativos de la procesionaria sobre los pinos, la preferencia de la procesionaria por los pinos de mayor tamaño podría ocultar tal efecto ya que estos pinos presentan una tasa mayor de crecimiento y, al menos en parte, podrían compensar los daños causados por este lepidóptero.
6. En cuanto al parasitismo de las puestas de procesionaria, demostramos que el parasitismo es un determinante importante del fracaso en la eclosión de los huevos de procesionaria. Además, Las presiones selectivas del parasitismo influyen en la

resolución del compromiso entre tamaño de puesta y tamaño de huevo, ya que favorecen mayores tamaños de puesta, aunque con huevos de menor tamaño.

7. La hipótesis que mejor explica la función de las escamas que recubren las puestas de procesionaria está relacionada con una disminución en los efectos de los parasitoides sobre las puestas. La explicación más razonable es que las escamas impiden a los parasitoides la localización exacta de huevos individuales dentro de la puesta, por lo que para asegurar un huevo parasitoide por huevo de hospedador los intentos de parasitismo por puesta deben de reducirse en puestas con escamas.

8. Respecto al tamaño de grupo en la procesionaria, nuestros resultados demuestran la hipótesis de que la agregación facilita el crecimiento larvario. Los datos muestran que un tamaño de grupo de 32 individuos marca un punto de inflexión en las ventajas y beneficios de estar en un grupo superior o inferior a tal número.

BIBLIOGRAFÍA

Alatalo, R. V. & Mappes, J. (1996) Tracking the evolution of warning signals. *Nature* 382: 708-709.

Androic, M. (1956) Contribution à l'étude de *Cnethocampa pityocampa* Schiff. *Revue Pathologie Végétale d'Entomologie Agricole France* 35: 251-262.

Astiaso *et al.* (1992) *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. En: *Plagas de Insectos en las masas forestales españolas*. Pp: 51-64. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Atsatt, P. R. (1981) Lycaenid butterflies and ants: selection for enemy-free space. *The American Naturalist* 188: 638-654.

Azevedo, R. B. R., French, V. & Partridge, L. (1997) Life-history consequences of egg size in *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist* 150: 250-282.

Bakker, C. & Loonen, M. J. J. E. (1998) The influence of goose grazing on the growth of *Poa arctic*: overestimation of overcompensation. *Oikos* 82: 459-466.

Basey, J. M. & Jenkins, S. H. (1993) Production of chemical defenses in relation to plant growth rate. *Oikos* 68: 323-328.

Battisti, A., Dell'Agnola, G. & Masutti, L. (1986) L'attività di *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller) nel ciclo della sostanza organica in popolamenti artificiali di *Pinus nigra* Arnold. *Frustula Entomologica* 7-8 (1984-85): 507-520.

Begon, M. & Parker, G. A. (1986) Should egg size and clutch size decrease with age? *Oikos* 47: 293-302.

Belsky, A. J. (1986) Does herbivory benefit plants? A review of the evidence. *The American Naturalist* 127: 870-892.

Berembaum, M. (1983) Coumarins and caterpillars: a case for coevolution. *Evolution* 37: 163-179.

Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects.* Chapman & Hall, Nueva York.

Bernays, E. & Graham, M. (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.

Bowers, M. D. (1993) Aposematic caterpillars: life-styles of the warningly colored and unpalatable. En: *Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 331-371. Chapman & Hall, New York.

Browder, L. W., Erikson, C. A. & Jeffrey, W. R. (1991) *Developmental biology*. 3ª edición. Saunders College Publishing, Philadelphia.

Bultman, T. L. & Faeth, S. H. (1987) Impact of irrigation and experimental drought stress on leaf-mining insects of Emory oak. *Oikos* 48: 5-10.

Caldwell, M. M., Richards, J. H., Johnson, D. A., Nowak, R. S. & Dzuree, R. S. (1981) Coping with herbivory: photosynthetic capacity and resource allocation in two semiarid *Agropyron* bunchgrasses. *Oecologia* 50: 14-24.

Casey, T. M. (1993) Effects of temperature on foraging of caterpillars. En: *Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 5-28. Chapman & Hall, New York.

Casey, T. M., Joos, B., Fitzgerald, T. D., Yurlona, M. & Young, P. (1988) Synchronized group feeding, thermoregulation, and growth of eastern tent caterpillars in relation to microclimate. *Physiological Zoology* 61: 372-377.

Chapman, S. K., Hart, S. C., Cobb, N. S., Whitham, T. G. & Koch, G. W. (2003) Insect herbivory increases litter quality and descomposition: an extension of the acceleration hypothesis. *Ecology* 84: 2867-2876.

Chew, F. S. & Robbins, R. K. (1984) Egg-laying in butterflies. En: *The biology of butterflies* (Eds. R. I. Vane-Wright & P. R. Ackery), pp: 65-79. Academic Press, London.

Clancy, K. M., Wagner, M. R. & Reich, P. B. (1995) Ecophysiology and insect herbivory. En: *Ecophysiology of coniferous forests* (Eds. W. K. Smith & T. M. Hinckley), pp: 125-180. Academic Press, San Diego.

Clayton, D. H. & Moore, J. (1997) *Host-parasite evolution. General principles and avian models.* Oxford University Press, New York.

Coyle, D. R., McMillin, J. D. & Hart, E. R. (1999) Pupal and adult parameters as potential indicators of cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) fecundity and longevity. *The Great Lakes Entomologist* 32: 107-113.

Coley, P. D., Bryant, J. P. & Chapin III, F. S. (1985) Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230: 895-899.

Crowe, M. L. (1995) The effect of season and group size on survivorship and larval growth in *Plagiodera versicolora*. *Ecological Entomology* 20: 27-32.

Curtsinger, J. W. (1976) Stabilizing selection in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Heredity* 67: 59-60.

Damman, H. (1987) Leaf quality and enemy avoidance by the larvae of a pyralid moth. *Ecology* 68: 88-97.

Damman, H. (1991) Oviposition behaviour and clutch size in a group feeding pyralid moth, *Omphalocera munroei*. *Journal of Animal Ecology* 60: 193-204.

DeBach, P. & Rosen D. (1991) *Biological control by natural enemies.* Cambridge University Press, Cambridge.

Denno, R. F. & McClure, M. S. (1983) *Variable plants and herbivores in natural and managed systems.* Academic Press, New York.

Denno, R. F. & Benrey, B. (1997) Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology* 22: 133-141.

Dethier, V. G. (1954) Evolution of feeding preference in phytophagous insects. *Evolution* 8: 33-54.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Dobson, A. P. (1988) The population biology of parasite-induced changes in host behavior. *Quaterly Review of Biology* 63: 139-165.

Domínguez, C. A. & Dirzo, R. (1994) Effects of defoliation on *Erythroxylum havanense*: a tropical proleptic species. *Ecology* 75: 1896-1902.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Edenius, L., Danell, K. & Bergström, R. (1993) Impact of herbivory and competition on compensatory growth in woody plants: winter browsing by moose on Scots pine. *Oikos* 66: 286-292.

Edwards, P. J. & Wratten, S. D. (1983) Wound induced defenses in plants and their consequences for patterns of insect grazing. *Oecologia* 59: 88-93.

Ehrlich, P. R. & Raven, P. H. (1964) Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Falusi, M., Calamasi, R. & Tocci, A. (1984) Resistenza al fredo in *Pinus halepensis* Mill., *Pinus brutia* Ten. e *Pinus eldarica* Medw. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. Mem.* Serie B 91 : 111-133.

Fitzgerald, T. D. (1993) Sociality in caterpillars. En: *Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 372-403. Chapman & Hall, New York.

Fitzgerald, T. D. & Costa, J. T. (1999) Collective behavior in social caterpillars. En: *Information processing in social insects* (Eds. C. Detrain, J. L. Deneubourg & J. M. Pasteels), pp: 379-400. Birkhauser Verlag, Basel.

Floater, G. J. (1998) Tuft scales and egg protection in *Ochrogaster lunifer* Herrich-Schaffer (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). *Australian Journal of Entomology* 37: 34-39.

Fordyce, J. A. & Agrawal, A. A. (2001) The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. *Journal of Animal Ecology* 70: 997-1005.

Foster, W. A. & Treherne, J. E. (1981) Evidence for the dilution effect in the selfish herd from fish predation on a marine insect. *Nature* 293: 466-467.

Fox, C. W. (1993) The influence of maternal age and mating frequency on egg size and offspring performance in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Oecologia* 96: 139-146.

Fox, C. W. (1994) The influence of egg size on offspring performance in the seed beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Oikos* 71: 321-325.

Fox, C. W. (1997) Egg size manipulations in the seed beetle, *Stator limbatus*: consequences for progeny growth. *Canadian Journal of Zoology* 75: 1465-1473.

Fox, C. W. & Czesak, M. E. (2000) Evolutionary ecology of progeny size in arthropods. *Annual Reviews of Entomology* 45: 341-369.

Franco, J. A. (1986) *Pinus L.* En : *Flora Ibérica, Vol. 2* (Eds. S. Castroviejo, M. Laínz, G. López González, P. Monserrat, F. Muñoz Garmendia, J. Paiva & I. Villar), pp: 168-174. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.

Fritz, R. S. (1992) Community structure and species interactions of phytophagous insects on resistant and susceptible host plants. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 240-277. Chicago University Press.

Futuyma, D. J. & Moreno, G. (1988) The evolution of ecological specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 207-233.

Futuyima, D. J. & Peterson, S. C. (1985) Genetic variation in the use of resources by insects. *Annual Reviews of Entomology* 30: 217-238.

García-Barros, E. (2000) Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life-history traits in butterflies (Lepidoptera: Papilioidea, Hesperioidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 70: 251-284.

Garms, H. & Eigener, W. (1977) *Plantas y animales de España y Europa*. Universidad de Navarra, S. A. Barañain-Pamplona, España.

Géri, C., Goussard, F., Auger-Rozenberg, M.-A., Bastien, C. & Pasquier, F. (1998) Foliage palatability of pine species and clones to the rare subspecies *gallieglorta* of the Beauty moth, *Graellsia isabellae* Oberthür (Lepidoptera: Attacidae). En: *Proceedings: Population dynamics, impacts, and integrated management of forest defoliating insects*. (Eds. M. L. McManus & A. M. Liebhold), pp: 344. USDA Forest Service General Technical Report NE-247.

Gil, L., Díaz-Fernandez, P. M., Jimenez Sancho, M. P., Roldán, M., Alía, R., Agúndez, D., De Miguel, J., Martín, S. & De Tuero, M. (1996) *Las regiones de procedencia de* Pinus halepensis *Mill. en España*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid.

Gould, F. (1993) The spatial scale of genetic variation in insect populations. En: *Evolution of Insect Pests* (Eds. K. C. Kim & B. A. McPheron), pp: 67-85. John Wiley, New York.

Gregiore, J. C. (1988) Larval gregariousness. En: *Biology of the Chrysomelidae* (Eds. P. Jolivet, E. Petitpierre & T. H. Hsio), pp: 253-260. Kluwer Academic Publishers, Boston.

Guilford, T. (1990) The evolution of aposematism. En: *Insect Defenses* (Eds. D. L. Evans & J. O. Schmidt), pp: 23-62. State University of New York Press, Albany, New York.

Guisande, G., Sanchez, J., Maneiro, I. & Miranda, A. (1996) Trade-off between offspring number and offspring size in the marine copepod *Euterpina acutifrons* at different food concentrations. *Marine Ecology Progrss Series* 143: 37-44.

Haldane, J. B. S. (1949) Disease and evolution. *Ricerca scientifica* 19 (suppl.): 68-76.

Halperin, J. (1990) Natural enemies of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal of Applied Entomology* 109 : 425-435.

Hamilton, W. D. (1971) Geometry for the selfish herd. *Journal of Theoretical Biology* 31: 295-311.

Hawkins, B. A. (1994) *Pattern and process in host-parasitoid interactions*. Cambridge University Press, Cambridge.

Heard, T. A. (2000) Concepts in insect host-plant selection behavior and their application to host specificity testing. En: *Proceedings: Host specificity testing of exotic arthropod biological control agents: the biological basis for improvement in safety* (Eds. R. G. Van Driesche, T. A. Heard, A. S. McClay & R. Reardon), pp: 1-10. USDA Forest Service Bulletin, Bozeman, Montana, USA.

Heinrich, B. (1984) Strategies of thermoregulation and foraging in two vespid wasps, *Dolichovespula maculata* and *Vespula vulgaris*. *Journal of Comparative Physiology* 154B: 175-180.

Heinrich, B. (1993) How avian predators constraint caterpillar foraging. En: *Caterpillars. Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 224-247. Chapman & Hall, New York.

Hoballah, M. E. F. & Turlings, T. C. J. (2001) Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. *Evolutionary Ecology Research* 3: 553-565.

Hochberg, M. E. (1991) Viruses as costs to gregarious feeding behaviour in the Lepidoptera. *Oikos* 61: 291-296.

Hódar, J. A., Zamora, R. & Castro, J. (2002) Host utilisation by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology* 27: 292-301.

Holmgren, N. M. A. & Getz, W. M. (2000) Evolution of plant selection by insects under perceptual constraints: A simulation study. *Evolutionary Ecology Research* 2: 81-106.

Hunter, M. D. (2001) Insect population dynamics meets ecosystem ecology: effects of herbivory on soil nutrient dynamics. *Agricultural and Forest Entomology* 3: 77-84.

Jermy, T. (1984) Evolution of insect/host plant relationships. *American Naturalist* 124: 609-630.

Johnson, P. C. & Denton, R. E. (1975) *Outbreaks of the western spruce budworm in the American northern Rocky Mountain area from 1922 through 1971*. USDA Forest Service General Technical Report INT 20.

Kamata, N. & Igarashi, M. (1995) Relationship between temperature, number of instars, larval growth, body size,and adult fecundity of *Quadriculcarifera punctatella* (Lepidoptera: Notodontidae): cost-benefit relationship. *Environmental Entomology* 24: 648-656.

Kitt, J. & Schmidt, G. H. (1993) Parasitism of egg-batches of pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lep., Thaumetopoeidae) in the mountains of Lahav (Israel). *Journal of Applied Entomology* 115: 484-498.

Kooijman, S. A. L. M. (1993) *Dynamic energy budgets in biological systems.* Cambridge University Press, Cambridge.

Krebs, J. R. & Davies, N. B. (1993) *An introduction to behavioral ecology.* 3rd edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Larsson, S. & Ekbom, B. (1995) Oviposition mistakes in herbivorous insects: confusion or a step towards a new host plant? *Oikos* 72: 155-160.

Lawrence, W. S. (1990) The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota carye* (Lepidoptera: Arctiidae). *Ecological Entomology* 15: 53-62.

Le Masurier, A. D. (1994) Costs and benefits of egg clustering in *Pieris brassicae*. *Journal of Animal Ecology* 63: 677-685.

Leather, S. R. (1984) Factors affecting pupal survival and eclosion in the pine beauty moth, *Panolis flammea* (D & S). *Oecologia* 63: 75-79.

Leather, S. R., Wellings, P. W. & Dixon, A. F. G. (1983) Habitat quality and the reproductive strategies of the migratory morphs of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.), colonizing secondary host plants. *Oecologia* 59: 302-306.

Lempa, K., Martel, J., Koricheva, J., Haukioja, E., Ossipov, V., Ossipova, S. & Pihlaja, K. (2000) Covariation of fluctuating asymmetry, herbivory and chemistry during birch leaf expansion. *Oecologia* 122: 354-360.

Lennartsson, T., Nilsson, P. & Tuomi, J. (1998) Induction of overcompensation in the field gentian, *Gentianella campestris*. *Ecology* 79: 1061-1072.

Levins, R. & McArthur, R. H. (1969) An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology* 50: 910-911.

Long, D. B. (1953) Effects of population density on larvae of Lepidoptera. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 104: 533-585.

Long, D. B. (1955) Observations on subsocial behaviour in two species of lepidopterous larvae, *Pieris brassicae* L & *Plusia gamma* L. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 106: 421-437.

López-González, G. (1982) *La Guía de Incafo de los árboles y arbustos de la Peninsula Ibérica.* Incafo, S.A. Madrid.

Louda, S. M. & Collinge, S. K. (1992) Plant resistance and insect herbivores: a field test of the environmental stress hypothesis. *Ecology* 73: 153-169.

Lowman, M. D. (1982) Effects of different rates and methods of leaf area removal on rain forest seedlings of coach-wood (*Ceratopetalum apetalum*). *Australian Journal of Botany* 30: 477-483.

Marquis, R. J. (1992) A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecolgy* 73: 143-152.

Marshall, L. D. (1990) Intraspecific variation in reproductive effort by female *Parapediasia teterella* (Lepidoptera: Pyralidae) and its relation to body size. *Canadian Journal of Zoology* 68: 44-48.

Masutti, L. & Battisti, A. (1990) *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Italy. Bionomics and perspectives of integrated control. *Journal of Applied Entomology* 110: 229-234.

Matsumoto, K. (1990) Population dynamics of *Luehdorfia japonica* Leech (Lepidoptera: Papilioniidae). II. Patterns of mortality in inmatures in relation to egg cluster size. *Research on Population Ecology* 32: 173-188.

McLain, D. K. & Mallard, S. D. (1991) Sources and adaptive consequences of egg size variation in *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Psyche* 98: 135-164.

McNaughton, S. J. (1983) Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40: 329-336.

McNaughton, S. J. & Chapin, F. S. (1985) Effects of phosphorus nutrition and defoliation on C_4 graminoids from the Serengeti plains. *Ecology* 66: 1617-1629.

Mendel, Z. (1984) Provenance as a factor in susceptibility of *Pinus halepensis* to *Matsucoccus josephi* (Homoptera: Margarodidae). *Forest Ecology and Management* 9: 259-266.

Meyer, G. A. (1998) Pattern of defoliation and its effects on photosynthesis and growth of Goldenrod. *Functional Ecology* 12: 270-279.

Milani, N. (1990) The temperature of the egg masses of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). *REDIA* LXXIII: 149-161.

Mira, A. & Bernays, E. A. (2002) Trade-offs in host use by *Manduca sexta*: plant characters vs natural enemies. *Oikos* 97: 387-397.

Mock, D. W. & Parker, G. A. (1997) *The evolution of sibling rivalry*. Oxford University Press, Oxford.

Møller, A. P. (1995a) Bumblebee preference for symmetrical flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 2288-2292.

Møller, A. P. (1995b) Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *Journal of Animal Ecology* 64: 697-707.

Møller, A. P. (1996) Developmental stability of flowers, embryo abortion, and developmental selection in plants. *Proceedings of the Royal Society of London B* 263: 53-56.

Møller, A. P. & Pomiankowski, A. (1993) Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Genetica* 89: 267-279.

Møller, A. P. & Eriksson, M. (1994) Patterns of fluctuating asymmetry in flowers : implications for sexual selection in plants. *Journal of Evolutionary Biology* 7: 97-113.

Møller, A. P. & Eriksson, M. (1995) Pollinator preference for symmetrical flowers and sexual selection in plants. *Oikos* 73: 15-22.

Montero, G. (1997) Breve descripción del proceso repoblador en España (1940-1995). *Legno Celulosa Carta* 4: 35-42.

Montoya, R. & Robredo, F. (1972) *Thaumetopoea pinivora* Tr. La procesionaria del verano. *Boletín de la Estación Central de Ecología* I: 43-56.

Moreau, S. J. M., Doury, G. & Giordanengo, P. (2000) Intraspecific variation in the effects of parasitism by *Asobara tabida* on phenoloxidasa activity on *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 76: 151-153.

Morris, R. F. (1972) Fecundity and colony size in natural populations of *Hyphantria cunea*. *The Canadian Entomologist* 108: 833-836.

Nahrung, H. F., Dunstan, P. K. & Allen, G. R. (2001) Larval gregariousness and neonate establishment of the eucalypt-feeding beetle *Chrysophtharta agricola* (Coleoptera: Chrysomelidae: Paropsini). *Oikos* 94: 358-364.

Neuvonen, S. & Haukioja, E. (1991) The effects of inducible resistance in host foliage on birch-feeding herbivores. En: *Phytochemical Induction by Herbivores* (Eds. D. W. Tallamy & M. J. Raupp), pp: 277-291. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Obeso, J. R. (1993) Does defoliation affect reproductive output in herbaceous perennials and woody plants in different ways? *Functional Ecology* 7: 150-155.

Obeso, J. R. & Grubb, P. J. (1993) Fruit maturation in the shrub *Ligustrum vulgare* (Oleaceae): lack of defoliation effects. *Oikos* 68: 309-316.

Oesterheld, M. & McNaughton, S. J. (1988) Intraspecific variation in the response of *Themeda tiandra* to defoliation: The effect of time of recovery and growth rates on compensatory growth. *Oecologia* 77: 181-186.

Ortega Alba, F. & *col.* (1980) *Granada (Tomo I: Provincia)*. Exma. Diputación Provincial de Granada.

Osier, T. L., Hwang, S. Y. & Lindroth, R. L. (2000) Effects of phytochemical variation in quaking aspen *Populus tremuloides* clones on gypsy moth *Lymantria dispar* performance in the field and laboratory. *Ecological Entomology* 25: 197-207.

Paige, K. N. (1992) Overcompensation in response to mammalian herbivory: from mutualistic to antagonistic interactions. *Ecology* 73: 2076-2085.

Paige, K. N. (1999) Regrowth following ungulate herbivory in *Ipomopsis aggregata*: geographic evidence for overcompensation. *Oecologia* 118: 316-323.

Papaj, D. (1986) An oviposition "mistake" by *Battus philenor* L. (Papilionidae). *Journal of the Lepidopterist's Society* 40: 348-349.

Parker, G. A. & Courtney, S. P. (1984) Models of clutch size in insect oviposition. *Theoretical Population Biology* 26: 27-48.

Parker, G. A. & Begon, M. (1986) Optimal egg size and clutch size: effects of environment and maternal phenotype. *The American Naturalist* 28: 573-592.

Peterson, S. C., Johnson, N. D. & LeGuyader, J. L. (1987) Defensive regurgitation of allelochemicals derived from host cyanogenesis by eastern tent caterpillars. *Ecology* 68: 1268-1272.

Piene, H. (1980) Effects of insect defoliation on growth and foliar nutrients of young balsam fir. *Forest Science* 26: 665-673.

Price, P. W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62: 244-251.

Rausher, M. D. (1979) Larval habitat suitability and oviposition preference in three related butterflies. *Ecology* 27: 503-511.

Reich, P. B., Ellsworth, D. S., Kloeppel, B. D., Fownes, J. H. & Gower, S. T. (1990) Vertical variation in canopy structure and CO_2 exchange of oak-maple forest: influence of ozone, nitrogen and others factors on simulated canopy carbon gain. *Tree Physiology* 7: 329-345.

Reich, P. B., Walters, M. B., Krause, S. C., Vanderklein, D. & Raffa, K. F. (1993) Growth, nutrition and gas exchange of *Pinus resinosa* following artificial defoliation. *Trees* 7: 67-77.

Renwick, J. A. A. & Chew, F. S. (1994) Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39: 377-400.

Reznick, D. (1985) Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* 44: 257-267.

Rhainds, M., Gries, G. & Morales, J. L. (1996) Oviposition deterrency in pineapple borer females, *Thecla basilides* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Ecological Entomology* 21: 105-106.

Rhoades, D. F. (1979) Evaluation of chemical defences against herbivores. En: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (Eds. G. A. Rosenthal & D. H. Janzen), pp: 3-54. Academic Press, New York.

Richner, H. & Heeb, P. (1995) Are clutch and brood size patterns in birds shaped by ectoparasites? *Oikos* 73: 435-441.

Rivero, A. (2000) The relationship between host selection behaviour and offspring fitness in a koinobiont parasitoid. *Ecological Entomology* 25: 467-472.

Rivas Martínez, S. (1981) Les étages bioclimatiques de la végétation de la péninsule ibérique. *Actas III Congr. Optima. Anales Jard. Bot. Madrid* 37: 251-268.

Robredo, F. (1963) Las procesiones de crisalidación de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Boletín del Servicio de Plagas Forestales* VI: 122-129.

Roff, D. A. (1992) *The evolution of life histories*. Chapman & Hall, London.

Ronquist, F. & Nylin, S. (1990) Process and pattern in the evolution of species associations. *Systematic Zoology* 39: 323-344.

Rosenthal, J. P. & Kotanen, P. M. (1994) Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 145-148.

Sanchis, N., Cobos, P., Cobos, J. M. & Soria, S. (1990) Lucha contra la procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Lepidoptera, Thaumetopoeidae): ensayos de lucha química con productos inhibidores del desarrollo, bacterianos y piretroides. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 16: 229-245.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989. Hannover.

Schmidt, G. H., Tanzen, J. & Bellin, S. (1999) Structure of egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae), egg parasitoids and rate of egg parasitism on the Iberian Peninsula. *Journal of Applied Entomology* 123: 449-458.

Schneider, J. C. & Roush, R. T. (1986) Genetic differences in oviposition preference between two populations of *Heliothis virescens*. En: *Evoultionary genetics of invertebrate behavior* (Ed. M. D. Huettel), pp: 163-171. Plenum Press, New York.

Schoonhoven, L. M., Jermy, T. & Van Loon, J. J. A. (1998) *Insect-Plant Biology*. Chapman & Hall, Londres.

Schultz, J. C. (1988) Many factors influence the evolution of herbivore diets, but plant chemistry is central. *Ecology* 69: 896-897.

Scriber, J. M., Giebink, B. L. & Snider, D. (1991) Reciprocal latitudinal clines in oviposition behavior of *Papilio glaucus* and *P. canadensis* across the great Lakes hybrid zone: possible sex-linkage of oviposition preferences. *Oecologia* 87: 360-368.

Sherry, R. A. & Lord, A. M. (1996) Developmental stability of flowers of *Clarkia tembloriensis*. *Journal of Evolutionary Biology* 9: 911-930.

Shiga, M. (1976) A quantitative study on food consumption and growth of the tent caterpillar *Malacosoma neustria testacea* Motschulsky (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Bulletin of the Fruit Tree Research Station* A 3: 67-86.

Siegel, S. & Castellan, N. J. Jr. (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2 nd ed. McGraw-Hill, New York.

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

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

Spurgeon, D. W., Lingren, P. D., Shaver, T. N. & Raulston, J. R. (1995) Realized and potential fecundity of the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae) as a function of pupal weight. *Environmental Entomology* 24: 94-98.

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

Stamp, N. E. (1981) Effect of group size on parasitism in a natural population of the Baltimore checkerspot, *Euphydryas phaeton*. *Oecologia* 49: 201-206.

Stamp, N. E. (1982) Behavior of parasitoids and Baltimore chekerspot caterpillars, *Euphydryas phaeton*. *Environmental Entomology* 11: 100-104.

Stamp, N. E. (1984) Interactions of parasitoids and, chekerspot caterpillars, *Euphydryas* spp. (Nymphalidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 23: 2-18.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990a). Body temperature, behavior and growth of early spring caterpillars (*Hemileuca leucina*: Saturniidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* 44: 143-155.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990b) Phenology of nutritional differences between new and mature leaves and its effect on caterpillar growth. *Ecological Entomology* 15: 447-454.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990c) Variation in food quality and temperature constrain foraging of gregarious caterpillars. *Ecology* 71: 1031-1039.

Stanton, M. L. (1984) Short-term learning and the searching accuracy of egg-laying butterflies. *Animal Behaviour* 32: 33-40.

Stearns, S. C. (1992) *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford.

Strong, D. R. (ed.) (1988) Insect host range. *Ecology* 69: 885-915.

Strong, D. R., Lawton, J. H. & Southwood, R. (1984) *Insects on plants. Community patterns and mechanisms*. Harvard University Press, Cambridge.

Tallamy, D. W. & Raupp, M. J. (1991) *Phytochemical induction by herbivores*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Tammaru, T. & Haukioja, E. (1996) Capital breeders and income breeders among Lepidoptera – consequences to population dynamics. *Oikos* 77: 561-564.

Tammaru, T., Kaitaniemi, P. & Ruohomäki, K. (1995) Oviposition choices of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) in relation to its eruptive population dynamics. *Oikos* 74: 296-304.

Thompson, J. N. (1988a) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 3-14.

Thompson, J. N. (1988b) Variation in preference and specificity in monophagous and polyphagous swallowtail butterflies. *Evolution* 42: 118-128.

Tiberi, R. (1983) Sulla distribuzione delle ovature di *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in un giovane impianto di *Pinus pinaster* e *P. insignis*. *Redia* 66: 603-614.

Tiberi, R., Niccoli, A., Curini, M., Epifanio, F., Marcotullio, M. C. & Rosati, O. (1999) The role of monoterpene composition in *Pinus* spp. needles, in host selection by the processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Phytoparasitica* 27: 263-272.

Toda, S., Fujisaki, K. & Nakasuji, F. (1995) The influence of egg size on development of the mean bug, *Riptortus clavatus* Thunberg (Heteroptera: Coreidae). *Applied Entomology and Zoology* 30: 485-487.

Tuomi, J., Niemela, P., Haukioja, E., Siren, S. & Neuvonen, S. (1984) Nutrient stress: an explanation for plant anti-herbivore responses to defoliation. *Oecologia* 61: 208-210.

Tuomi, J., Niemela, P., Chapin, F. S., Bryant, J. P. & Siren, S. (1988) Defensive responses of trees in relation to their carbon/nutrient balance. En: *Mechanisms of woody plant defenses against insects: search for pattern* (Eds. W. J. Mattson, J. Levieux & J. Bernard-Dagan), pp: 57-72. Springer-Verlag, New York.

Vinson, S. B. (1985) The behaviour of parasitoids. En: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Vol. 9, Behaviour* (Eds. G. A. Kerkut & L. I. Gilbert), pp: 417-469. Oxford, Pergamon, Oxford.

Vulinec, K. (1990) Collective security: aggregation by insects in defense. En: *Insect Defenses* (Eds. D. L. Evans & J. O. Schmidt), pp: 251-288. State University of New York Press, Albany, New York.

Wagner, M. R. & Evans, P. D. (1985) Defoliation increases nutritional quality and allelochemics of pine seedlings. *Oecologia* 67: 235-237.

Wajnberg, E. & Hassan, S. A. (1994) *Biological control with egg parasitoids.* CAB International, Wallingford.

Ward, S. A., Dixon, A. F. G. & Wellings, P. W. (1983) The relation between fecundity and reproductive investment in aphids. *Journal of Animal Ecology* 52: 451-461.

Wardle, A. R. & Borden, J. H. (1989) Learning of an olfactory stimulus associated with a host microhabitat by *Exeristes roboyator*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 52: 271-279.

Waring, G. L. & Cobb, N. S. (1992) The impact of plant stress on herbivore population dynamics. En: *Insect-Plant interactions, vol. 4* (Ed. E. A. Bernays), pp: 167-226. CRC Press, Boca Raton, FL.

Wcislo, W. T. (1984) Gregarious nesting of a digger wasp as a 'selfish herd' response to a parasitic fly (Hymenoptera: Specidae; Diptera: Sarcophagidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 15: 157-160.

Webber, D. C. & Ferro, D. N. (1996) Flight and fecundity of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) fed on different diets. *Annals of Entomological Society of America* 89: 297-306.

Wegener, C. & Odasz, A. M. (1997) Effects of laboratory simulated grazing on biomass of the perennial Arctic grass *Dupontia fisheri* from Svalbard: evidence of overcompensation. *Oikos* 79: 496-502.

Wiggins, D. A. (1997) Fluctuating asymmetry in *Colophospermum mopane* leaves and oviposition preference in an African silk moth *Imbrasia belina*. *Oikos* 79: 484-488.

Wiklund, C. (1981) Generalist vs-. specialist oviposition behaviour in *Papilio machaon* and functional aspects on the hierarchy of oviposition preferences. *Oikos* 36: 163-170.

Wilson, E. O. (1975) *Sociobiology: The new synthesis*. Belknap Press, Cambridge, MA.

Wolpert, L. (1991) *The triumph of the embrio*. Oxford University Press, Oxford.

Wittmann, K. J. (1981) On the breeding biology and physiology of marsupial development in Mediterranean *Leptomysis* (Mysidacea: Crustacea) with special reference to the effects of temperature and egg size. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 53: 261-279.

Young, A. M. & Moffett, M. W. (1979) Studies on the population biology of the tropical butterfly *Mechanitis isthmia* in Costa Rica. *American Midland Naturalist* 101: 309-319.

Zangerl, A. R. & Rutledge, C. E. (1996) The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: a test of optimal defense theory. *The American Naturalist* 147: 599-608.

MANUSCRITOS INDIVIDUALES

I

Ventajas e inconvenientes de la selección de especie hospedadora por parte de la procesionaria del pino. Un estudio experimental

Tomás Pérez-Contreras, Juan José Soler & Manuel Soler

Manuscrito en preparación

RESUMEN

El desarrollo de un insecto fitófago depende de las características nutritivas de la planta de la que se alimenta. Sin embargo, existen otros factores asociados al tipo de planta, como riesgo de depredación o de parasitismo que habría que tener en cuenta para determinar la calidad de la planta hospedadora. En lepidópteros con larvas de una capacidad limitada de dispersión, como es el caso de la procesionaria del pino, la selección de hospedador es, si cabe, más importante que para otras especies con larvas más móviles. Nuestros resultados muestran que, al menos para las variables consideradas (tasa de infección y número de puestas por pino atacado), existe una selección preferencial, por parte de las hembras de procesionaria, de pinos de Alepo. Esto vendría apoyado por un mayor éxito de eclosión de las puestas depositadas sobre el pino de Alepo, debido a una menor incidencia de los parasitoides, lo que conlleva un mayor porcentaje de larvas que llegan a pupar. Los resultados de los experimentos de cambio de larvas sugieren la existencia de una cierta adaptabilidad a la planta hospedadora, no sólo a nivel de especie de pino sino a nivel de planta individual dentro de una misma especie. Por tanto, en algunos casos puede ser beneficioso para la hembra depositar sus huevos en un hospedador subóptimo, sobre todo si la adaptabilidad de las larvas les permite maximizar el aprovechamiento nutritivo de éste. Aunque la selección de pino marítimo como hospedador implica una reducción en el éxito reproductor de éste lepidóptero, el motivo de su elección puede residir en un balance de costos y beneficios entre selección de hospedador óptimo y competencia futura entre las larvas, de manera que para aquellas hembras que emergen más tardíamente sería más beneficioso el evitar una mayor competencia intraespecífica eligiendo el pino marítimo para depositar su puesta.

INTRODUCCIÓN

Los patrones de selección de planta hospedadora para las especies herbívoras vienen dados por su especificidad y por las características físicas y químicas de la planta. En insectos con larvas fitófagas la relación entre la preferencia ovopositora del adulto y el desarrollo de su descendencia es el punto clave para comprender la evolución de las asociaciones insecto-planta (Thompson 1988a). La selección del lugar de ovoposición en los sistemas insecto-planta (p.e. Jaenike 1978, Ng 1988, Thompson 1988a, Courtney & Kibota 1989, Thompson *et al.* 1990, Fox 1993, Price 1994, Mayhew 1997, Rank *et al.* 1998), tanto en tiempo ecológico como evolutivo, está determinada por la calidad del lugar de ovoposición para el desarrollo de la descendencia (Scheirs *et al.* 2000).

En el caso de las especies fitófagas, las características de la especie de planta seleccionada (defensas químicas y valor nutricional, entre otras) influyen en el desarrollo larvario, por lo que se producen fenómenos de especialización más o menos estrechos. En la planta, cualquier aumento en defensas (por ejemplo químicas) disminuirá los daños producidos por los insectos, mientras que en los insectos, cualquier característica que les permita contrarrestar las defensas de la planta sería rápidamente seleccionada. Esta es la esencia, tanto de la teoría coevolutiva como de la evolución secuencial, de las interacciones insecto-planta hospedadora (Ehrlich & Raven 1964, Jermy 1984, Ronquist & Nylin 1990). De acuerdo con la hipótesis de la preferencia ovopositora y el desarrollo de la descendencia (Jaenike 1978), los patrones de preferencia ovopositora en los insectos se corresponden con la disponibilidad de hospedadores para el desarrollo de la descendencia, ya que se asume que las hembras maximizan su eficacia biológica poniendo sus huevos en hospedadores de alta calidad (Scheirs *et al.* 2000). Sin embargo, aunque existen evidencias de correlaciones positivas entre preferencia en la ovoposición y desarrollo de la descendencia, los coeficientes de correlación obtenidos son muy variables, al menos en insectos fitófagos (Thompson 1988a, Courtney & Kibota 1989, Price 1994, Mayhew 1997). El sorprendente alto número de trabajos en los que se encuentran coeficientes de correlación bajos (ver revisión en Mayhew 1997) ha conducido a formular varias hipótesis alternativas que consideran la existencia de otras presiones selectivas ecológicas y comportamentales en la selección de hospedador (Thompson 1988a). Sin embargo, una buena relación entre la

preferencia ovopositora y el desarrollo de la descendencia es aún la asunción básica de muchos modelos que describen la elección de la planta hospedadora (Mayhew 1997). Por ello, cuando no se detecta una relación entre desarrollo larvario y preferencia de planta por parte del adulto, se interpreta como evidencia de que otros factores ecológicos, tales como la elección de un hábitat libre de enemigos (parasitoides, parásitos y depredadores), son los que principalmente determinan el lugar (planta) de ovoposición (p. e. Atsatt 1981, Bernays & Graham 1988; pero ver también Strong 1988), aunque no se puede eliminar la posibilidad de una "equivocación" al seleccionar hospedador (Papaj 1986, Scriber *et al.* 1991, Larsson & Ekbom 1995, Hódar *et al.* 2002).

En insectos fitófagos normalmente existe un hospedador primario y otros secundarios que se utilizan cuando el primario no está disponible (p. e. Wiklund 1981, Thompson 1988b). Una hembra fecundada puede suspender totalmente la ovoposición si no encuentra una planta adecuada, o migrar hasta encontrarla (Tammaru *et al.* 1995) corriendo el riesgo de morir antes de realizar la puesta; por lo que el uso de hospedadores subóptimos es, en muchos casos, la mejor de una serie de malas opciones (Leather *et al.* 1983, Ward *et al.* 1983). Varios estudios experimentales han demostrado la existencia de polimorfismo tanto en la selección de planta como en las preferencias alimenticias de las larvas (Schneider & Roush 1986, Thompson 1988b). Por tanto, al menos en estos casos, no se podría hablar de errores, o de selección de hospedadores subóptimos, sino que cada genotipo estaría seleccionando su planta preferida, para la que las larvas disponen de adaptaciones que maximizan su tasa de crecimiento y/o supervivencia. El estudio de la existencia de polimorfismos en las preferencias sobre distintas plantas es muy importante tanto desde el punto de vista ecológico-evolutivo, ya que se ponen de manifiesto posibles procesos evolutivos que pueden dar lugar a nuevas especies (especiación simpátrida), como desde el punto de vista aplicado, ya que por ejemplo, la eliminación del hospedador óptimo no llevaría consigo la eliminación o reducción de una posible plaga.

En este trabajo estudiamos la posible preferencia de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.) por dos de sus especies hospedadoras, el pino de Alepo (*Pinus halepensis* Miller) y el pino marítimo (*P. pinaster* Aiton); y mediante experimentos de cambio de puestas y colonias de larvas, estudiamos los posibles efectos de la selección de pino en variables relacionadas con el éxito reproductor. De las dos especies de pino

estudiadas, el pino de Alepo presenta acículas menos duras y fibrosas (Franco 1986), y una menor cantidad de resina que el pino marítimo, por lo que "a priori" se podría considerar al primero como el hospedador más adecuado, sobre el que las larvas de procesionaria conseguirán un desarrollo más cercano al óptimo.

Los experimentos de cambio de puestas y/o larvas nos permite diferenciar entre un posible efecto genético (relacionado con la selección realizada por la hembra) y una posible adaptabilidad larvaria durante su desarrollo (permitiendo a las larvas un óptimo aprovechamiento independientemente de la especie en que fue depositada la puesta). Si existe un condicionante genético de las larvas relacionado con la selección que realizan las hembras (Hipótesis 1), cabe esperar que las variaciones en crecimiento larvario las explique mejor la especie de pino en donde la hembra realizó la puesta que la especie a la que se traslada experimentalmente (Predicción 1). Por otro lado, si existe una adaptabilidad larvaria al consumo de acículas de una especie determinada independientemente de la selección de planta por parte de la hembra (Hipótesis 2), las diferencias asociadas al experimento dependerán de que los cambios se hagan con huevos o con larvas (con experiencia alimentándose en una especie determinada) (Predicción 2).

Por último, y en base a nuestros resultados experimentales, estudiaremos la importancia de la selección de hospedadores subóptimos para reducir la competencia intraespecífica por el alimento (Damman 1991, Le Masurier 1994) (Hipótesis 3). Esta hipótesis predice que un aumento experimental de la competencia entre larvas (por ejemplo, número de puestas por pino) en pinos de la especie óptima provocará que las diferencias en el desarrollo larvario de éstas larvas con respecto a larvas en plantas de la especie subóptima sean menores que las que cabría esperar en situaciones de poca competencia (Predicción 3a). Además, se esperaría distribución libre ideal, de manera que los ejemplares de pino marítimo sólo serán utilizados cuando los de Alepo sin seleccionar se vayan haciendo más escasos (Predicción 3b).

MATERIAL Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio fue realizado durante el período 1993 y 1996, en un pinar de repoblación localizado en la Hoya de Guadix (37°18'N, 3°11'W), en la provincia de Granada, aproximadamente a 1000 m sobre el nivel del mar. Se trata de una zona semiárida, con una precipitación anual inferior a 300 l / m^2, con inviernos largos y fríos de temperaturas absolutas mínimas bajo 0° C, y veranos largos y calurosos con temperaturas que sobrepasan los 40° C. Esta zona está siendo atacada por la procesionaria del pino al menos desde 1985, alcanzando proporciones de plaga y afectando fundamentalmente al pino de Alepo, que es la especie predominante en el área (representa cerca del 90 % de las especies arbóreas) y, en menor medida, al pino marítimo. Es una población muy joven y los pinos presentan una altura media de 4 metros y una distancia entre ejemplares muy uniforme, alrededor de 4-5 metros.

ESPECIES ESTUDIADAS

La procesionaria es un lepidóptero que pone todos sus huevos agrupados en una única puesta pocas horas después de emerger como adulto y muere al poco tiempo, resultando una especie idónea para el estudio de la inversión materna y su éxito reproductivo. Además, gracias a la poca movilidad de sus larvas, resulta fácil su seguimiento.

Se trata de una especie gregaria distribuida a lo largo de todo el sur de Europa y constituye el principal defoliador de pinos de la región mediterránea (Devkota & Schmidt 1990). Tras una diapausa pupal subterránea, que puede variar en su duración entre unos pocos meses hasta 4 años (Schmidt 1989), los adultos emergen para realizar la puesta de los huevos en los meses estivales, aunque la fecha puede variar dependiendo de factores meteorológicos y geográficos, principalmente latitud y altitud (Douma-Petridou 1989). Cada hembra pone sólo un grupo de huevos y éstos eclosionan tras 5-6 semanas (Schmidt 1989). Después de la eclosión, las larvas mantienen un comportamiento gregario, construyendo un nido de seda comunal que les sirve de refugio diurno. Una vez finalizado el desarrollo larvario (entre los meses de Febrero y Abril), que se completa en cinco

estadíos, las larvas abandonan el pino en procesión, una detrás de otra, y buscan un sitio adecuado para llevar a cabo la pupación.

El pino de Alepo o pino carrasco es una especie ampliamente distribuida por el centro y sur de Europa (Garms & Eigener 1977), creciendo en las laderas más secas y soleadas, desde el nivel del mar hasta una altitud de 1600 metros en el sureste de España. Es muy resistente a la sequía y es capaz de crecer en suelos extremadamente pobres en nutrientes (López-González 1982), siendo muy utilizada en España para la reforestación. Presenta unas acículas muy finas y flexibles, de 6 a 12 cm, y las mantiene durante un par de años. Florece entre marzo y mayo, y las piñas maduran aproximadamente en dos años, liberando las semillas en la primavera siguiente (López-González 1982).

El pino marítimo, conocido también como pino resinero, rodeno o negral es una especie del mediterráneo occidental cuya área natural es muy reducida, presentando las mayores abundancias en España y Portugal. Prefiere climas cálidos y resiste la sequía y las heladas, aunque no tan bien como el pino de Alepo. Presenta las acículas largas y recias, de 15 a 27 cm. Florece de marzo a principios de mayo. La piña madura al final del verano siguiente, pero la caída de piñones no tiene lugar hasta la primavera o verano del tercer año. En nuestro país es el pino más extendido de forma natural y el que más se utiliza para repoblar junto con el pino de Alepo (Montero 1997).

PROCEDIMIENTOS GENERALES

Fase de huevo

El primer año de estudio se seleccionaron 200 pinos que fueron identificados individualmente mediante una placa metálica numerada. De ellos, 18 correspondían a ejemplares de pino marítimo (9 %) y el resto (91 %) eran pinos de Alepo. Además, mediante la elección al azar de otros 30 ejemplares de pino de cada una de las especies en 1994, 1995 y 1996 calculamos la tasa de infección (% de pinos atacados) y el número de puestas para cada una de las especies de pino y año. La tasa de infección de 1992 se estimó a partir de las colonias antiguas que presentaban los pinos en 1993.

Al comienzo de la fase de emergencia de los adultos, visitábamos el pinar diariamente para localizar puestas y determinar exactamente la fecha de puesta de los huevos. En total, para cada año y sobre cada una de las especies de pino, localizamos y marcamos treinta puestas en pinos con una sola puesta de procesionaria por pino.

Para determinar la duración del desarrollo embrionario, 30 días después de la ovoposición, visitábamos las puestas cada 2 días para poder determinar la fecha de eclosión. Una vez eclosionados los huevos, retiramos todas las puestas para su estudio. En el laboratorio, descamamos las puestas y las medimos, como todas las longitudes en éste estudio, con un calibre digital (Mitutoyo, de 0.01 mm de precisión). Posteriormente, estimamos el número de huevos y diferenciamos entre huevos eclosionados (huevos con una eclosión exitosa), huevos parasitados, de los cuales habían emergido parasitoides (con pequeños orificios de eclosión), huevos no eclosionados (sin orificios de eclosión) y huevos parcialmente eclosionados (aquellos que, a pesar de presentar abertura, la larva se hallaba muerta en su interior). Esta información se obtuvo en la primavera siguiente al verano en que se depositaron las puestas con el fin de tener la incidencia total de las dos generaciones de parasitoides. Los huevos no eclosionados fueron diseccionados para comprobar si tenían embrión. La suma de las cuatro categorías de huevos es la variable número de huevos por puesta (fecundidad).

Fase larvaria

El crecimiento larvario sobre las dos especies de pino se estudió en 20 de los 30 pinos (con una sola puesta) marcados para cada especie en 1994. Después de detectar la fecha de puesta y de eclosión, durante el periodo de mayor actividad larvaria (noche) visitamos las colonias cada 15 días midiendo la longitud de 10 larvas elegidas al azar de cada colonia, obteniéndose así una estima de la longitud media de las larvas en cada visita. A partir del tamaño de las larvas en cada visita, al finalizar el período larvario se calculó la pendiente de crecimiento de las larvas para cada colonia como la pendiente de la ecuación de la recta que mejor se ajusta al crecimiento larvario.

Fase de pupa

Para la detección de los lugares de pupación, se rodeó con un cilindro de plástico la base del tronco del pino antes de que bajaran las larvas para pupar, con lo que se les obligaba a pupar dentro del perímetro del cilindro (Sanchís *et al.* 1990). Para ello, en 1995 se seleccionaron al azar 30 pinos de cada especie que presentaban sólo una puesta para así poder determinar el éxito de pupación como porcentaje de pupas respecto al tamaño de puesta, o respecto al número de larvas eclosionadas. Además, en esas mismas colonias se estimó la mortalidad inicial de las larvas como la diferencia en supervivencia entre las larvas que habían eclosionado y las larvas que habían realizado la primera muda.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Experimento 1: *Cambio de puestas y colonias*

Los experimentos se realizaron durante los meses de enero y septiembre de 1995. Se cortaban las ramas en las que estaban situados los nidos o las puestas procedentes de *P. halepensis* y *P. pinaster* y fueron colocados, atando esta rama mediante una cuerda fina de color poco llamativo (marrón), en otros pinos bien de la misma especie (control 1) o bien de la especie contraria (grupo experimental) a la seleccionada por la hembra. Los receptores fueron siempre ejemplares que habían sido atacados esa misma temporada y desparasitados experimentalmente. Además, para controlar el posible efecto de la manipulación: (a) se cortaron puestas y nidos (colonias) en ambas especies de pino y se sujetaron en el mismo pino de procedencia (control 2), y (b) se siguieron puestas y nidos naturales sin manipular de las dos especies de pino (control 3). En todos los casos las colonias se visitaron semanalmente para estimar la mortalidad larvaria, cuantificada como número de larvas muertas durante las visitas semanales (las cuales eran retiradas) y sumadas al número de larvas muertas encontradas en el interior del nido, al final del experimento. El tamaño medio larvario (mm) fue el obtenido la semana anterior a la pupación.

Experimento 2: En 1995, durante la época de puesta de la procesionaria, seleccionamos al azar 30 ejemplares de pino de Alepo que presentaban al menos una puesta. El experimento consistió en crear unas condiciones de limitación del alimento para lo que se les añadieron un número variable de puestas de manera que finalmente los 30

ejemplares de pino tuvieran 5 puestas. El experimento sólo se realizó sobre ejemplares de pino de Alepo por la dificultad de encontrar un número suficiente de puestas sobre ejemplares de pino marítimo. Todos los pinos presentaban una altura similar (2-2,5 metros) y una densidad foliar muy parecida para mantener unas condiciones alimenticias aproximadamente semejantes en todos ellos. Después de la eclosión las puestas fueron analizadas con el fin de obtener los parámetros antes descritos. Al final del desarrollo larvario, justo antes de la pupación, se visitaron los pinos y, mediante la elección al azar de 20 larvas de cada nido presente en cada uno de los pinos, se estimó un tamaño medio larvario por pino.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para estandarizar la variable fecha de puesta en distintos años consideramos el día 1 como el primer día en que apareció la primera puesta en la zona de estudio cada uno de los años. Para obtener distribuciones normales, transformamos algunas variables antes de su análisis. El número de huevos no eclosionados, el porcentaje de inviabilidad (porcentaje de huevos no eclosionados por puesta) y el número de huevos parasitados fueron transformadas logarítmicamente, y la tasa de parasitismo (porcentaje de huevos parasitados en la puesta) mediante la fórmula arcsen $((x / 100)^{0.5})$. Tras estas transformaciones, ninguna de las distribuciones de las variables antes mencionadas difirió significativamente de una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov para variables continuas, $p > 0.1$), utilizando, para los posteriores análisis estadísticos, tests paramétricos (Sokal & Rohlf 1995). Sin embargo, las variables número de puestas, número de larvas muertas, tasa de mortalidad (porcentaje de larvas muertas en la puesta) y porcentaje de pupas no pudieron ser normalizadas, por lo que para su análisis se usaron tests no paramétricos (Siegel & Castellan 1988). Todos los valores dados en el texto son medias ± SE.

RESULTADOS

SELECCIÓN DE ESPECIE DE PINO

La tasa de infección (porcentaje de pinos atacados por la procesionaria) para cada uno de los años fue significativamente superior en el pino de Alepo ($\chi^2 > 6.80$, g.l. = 1, $P < 0.01$; Fig. 1a), no difiriendo de la encontrada en los 60 pinos seleccionados para el conteo de puestas en cada uno de los años de estudio ($\chi^2 > 7.18$, g.l. = 1, $P < 0.01$; Fig. 1b).

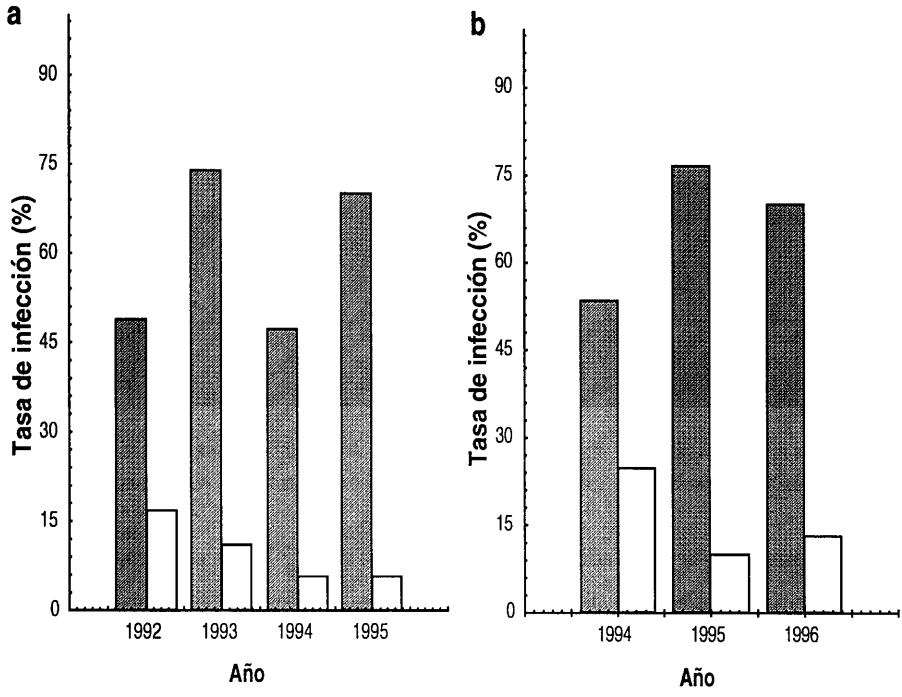

FIGURA 1. TASAS DE INFECCIÓN, DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO, PARA LAS DOS ESPECIES DE PINO, A) EN LOS MISMOS EJEMPLARES DURANTE LOS TRES AÑOS (N = 182 PARA EL PINO DE ALEPO Y 18 PARA EL PINO MARÍTIMO), Y B) EN EJEMPLARES DISTINTOS ELEGIDOS AL AZAR DE LA ZONA DE ESTUDIO (N = 30 PARA CADA ESPECIE Y AÑO). LAS COLUMNAS RAYADAS CORRESPONDEN AL PINO DE ALEPO.

Aunque el número de puestas por pino de Alepo parasitado no varió significativamente entre años en nuestra población (test de Kruskal-Wallis; H = 3.86, g.l. = 2, P = 0.14; Fig. 2a), cada pino de Alepo recibió distinto número de puestas en cada año (test de ANOVA de Friedman; $\chi^2 = 36.09$, g.l. = 2, $P < 0.0001$; Fig. 2b) debido sobre todo a que muchos de ellos no fueron atacados alguno de los años de estudio. Con respecto a los

ejemplares de pino marítimo controlados esos mismos tres años (N = 18), sólo fueron encontradas 7 puestas.

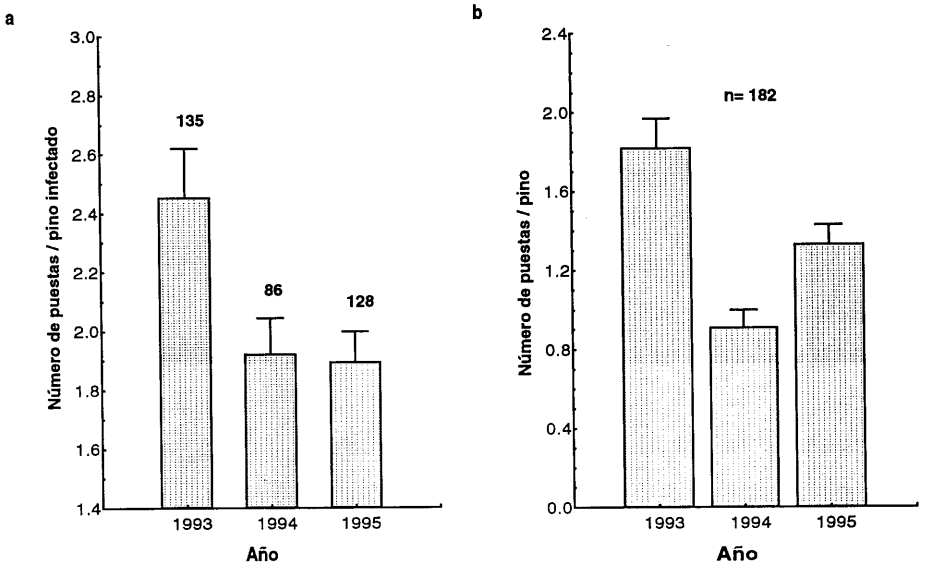

FIGURA 2. NÚMERO DE PUESTAS EN CADA AÑO SOBRE *P. HALEPENSIS*, A) POR PINO ATACADO Y B) PARA EL TOTAL DE PINOS DE LA POBLACIÓN CONSIDERADA. LOS NÚMEROS SOBRE LAS BARRAS EN LA FIGURA A INDICAN EL NÚMERO DE PINOS ATACADOS.

En los otros pinos estudiados de ambas especies (N = 30 para cada especie y año) obtuvimos que, independientemente del año, el número de puestas fue superior en los ejemplares atacados de pino de Alepo (Kruskal-Wallis H = 16.23, g.l. = 1, N = 73, $P < 0.001$; pino de Alepo: 3.18 ± 0.20, N = 60 y pino marítimo: 1.46 ± 0.15 puestas, N = 13).

Estos resultados sugieren, al menos para las variables consideradas (tasa de infección y número de puestas por pino atacado), una selección preferencial, por parte de las hembras de procesionaria, de pinos de Alepo.

ÉXITO REPRODUCTOR

TABLA 1. MEDIAS Y ERROR ESTÁNDAR DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS EN PUESTAS PROCEDENTES DE AMBAS ESPECIES DE PINO (N = 30 PARA CADA ESPECIE Y AÑO).

Variables	1994		1995		1996	
	P. halepensis	*P. pinaster*	*P. halepensis*	*P. pinaster*	*P. halepensis*	*P. pinaster*
P. embrionario	35.53 ± 0.31	36.80 ± 0.32	35.60 ± 0.27	36.97 ± 0.36	36.40 ± 0.36	37.27 ± 0.33
Longitud	2.79 ± 0.10	3.06 ± 0.07	2.79 ± 0.09	2.84 ± 0.08	2.95 ± 0.11	2.98 ± 0.08
Fecundidad	184.26 ± 8.58	228.63 ± 6.21	184.53 ± 7.34	216.73 ± 5.90	175.90 ± 7.85	224.20 ± 7.22
H. eclosionados	128.03 ± 9.42	140.06 ± 8.40	142.46 ± 8.83	132.13 ± 5.46	125.33 ± 8.05	122.10 ± 6.79
% Eclosión	68.92 ± 3.84	61.64 ± 3.43	76.47 ± 3.02	61.76 ± 2.51	70.07 ± 2.16	53.97 ± 2.39
H. inviables	34.50 ± 4.21	24.33 ± 4.06	30.76 ± 4.63	21.23 ± 1.93	22.70 ± 1.87	19.90 ± 1.34
% Inviabilidad	19.57 ± 2.67	10.76 ± 1.86	17.00 ± 2.54	9.74 ± 0.85	13.98 ± 1.36	9.54 ± 0.99
Larvas muertas	11.80 ± 5.47	3.36 ± 1.01	4.90 ± 2.85	8.13 ± 2.45	1.60 ± 0.58	6.30 ± 1.69
% Mortalidad	5.86 ± 2.43	1.39 ± 0.42	2.95 ± 1.78	3.50 ± 1.03	0.86 ± 0.29	2.70 ± 0.69

TABLA 2. DIFERENCIAS ENTRE ESPECIE DE PINO Y AÑO CON RESPECTO A LAS VARIABLES OBTENIDAS DEL ESTUDIO DE LAS PUESTAS. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDAS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LAS VARIABLES DURACIÓN DEL PERÍODO EMBRIONARIO, LONGITUD DE PUESTA, FECUNDIDAD, NÚMERO DE HUEVOS ECLOSIONADOS Y SU PORCENTAJE, Y EL NÚMERO DE HUEVOS INVIABLES Y SU PORCENTAJE COMO VARIABLES DEPENDIENTES.

Variables	F	df	P
Período embrionario			
Efecto del pino	19.18	1, 174	0.000
Efecto del año	2.38	2, 174	0.095
Interacción pino x año	0.32	2, 174	0.720
Longitud			
Efecto del pino	2.13	1, 174	0.146
Efecto del año	1.29	2, 174	0.276
Interacción pino x año	0.92	2, 174	0.396
Fecundidad			
Efecto del pino	49.50	1, 174	0.000
Efecto del año	0.47	2, 174	0.276
Interacción pino x año	0.67	2, 174	0.512
Huevos eclosionados			
Efecto del pino	0.006	1, 174	0.937
Efecto del año	1.59	2, 174	0.205
Interacción pino x año	1.03	2, 174	0.357
% Eclosión			
Efecto del pino	27.66	1, 174	0.000
Efecto del año	2.88	2, 174	0.058
Interacción pino x año	1.28	2, 174	0.279
Huevos inviables			
Efecto del pino	7.22	1, 174	0.007
Efecto del año	1.24	2, 174	0.290
Interacción pino x año	0.83	2, 174	0.434
% Inviables			
Efecto del pino	25.77	1, 174	0.000
Efecto del año	0.77	2, 174	0.462
Interacción pino x año	0.78	2, 174	0.459

Los resultados del análisis de las puestas indican que las puestas depositadas sobre el pino de Alepo se desarrollan mejor que las depositadas sobre el pino marítimo (Tablas 1 y 2).

La duración del período embrionario fue mayor para las puestas en el pino marítimo, y a pesar de una mayor fecundidad en las hembras que pusieron sobre el pino marítimo, esto no se tradujo en un mayor número de huevos eclosionados (Tabla 1 y 2), ya que el éxito de eclosión fue mayor en las puestas depositadas sobre el pino de Alepo independientemente del año (Tabla 2). Esta diferencia en el éxito de eclosión es debida a que la incidencia de parasitoides es más importante en las puestas de pino marítimo (Tabla 3).

TABLA 3. PARASITISMO PROVOCADO POR LAS ESPECIES DE PARASITOIDES DE LAS PUESTAS EN CADA AÑO Y ESPECIE DE PINO. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDOS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LAS VARIABLES NORMALIZADAS (VER MÉTODOS) Nº DE HUEVOS PARASITADOS Y % DE PARASITISMO COMO VARIABLES DEPENDIENTES.

	P. halepensis	*P. pinaster*	MANOVA	F	df	P
Huevos parasitados						
1994	9.93 ± 1.57	61.16 ± 6.44	Efecto del pino	270.60	1,174	0.000
1995	6.40 ± 0.74	55.43 ± 4.91	Efecto del año	26.65	2,174	0.000
1996	26.30 ± 2.67	75.80 ± 5.20	Pino x Año	8.22	2, 174	0.000
% Parasitismo						
1994	5.62 ± 0.94	26.32 ± 2.57	Efecto del pino	242.32	1,174	0.000
1995	3.56 ± 0.42	25.07 ± 2.06	Efecto del año	26.84	2,174	0.000
1996	15.08 ± 1.43	33.71 ± 1.94	Pino x Año	3.04	2, 174	0.050

La mortalidad de las larvas hasta después de la primera muda en ambas especies de pino no difirió significativamente (35.60 ± 0.30 larvas en pino de Alepo y 30.36 ± 3.63 larvas en pino marítimo, $t = 0.78$, g.l. = 58, P = 0.43).

Llegaron a pupar un 42.10% de los huevos por puesta en el pino de Alepo frente a tan solo el 24.01% de los huevos por puesta en el pino marítimo ($\chi^2 = 15.12$, g.l. = 1, P < 0.001; Tabla 4). Teniendo en cuenta el número de larvas eclosionadas, las diferencias se mantienen, siendo para las larvas criadas sobre pino de Alepo de un 54.54 % y para las criadas sobre pino marítimo de un 39.38 % ($\chi^2 = 6.32$, g.l. = 1, P = 0.01). Por tanto, el éxito reproductor es mayor para las puestas depositadas en el pino de Alepo que para las depositadas en el pino marítimo.

TABLA 4. RESÚMEN DE LOS VALORES OBTENIDOS SOBRE AMBAS ESPECIES DE PINO Y SUS DIFERENCIAS EN 1995.

	P. halepensis	***P. pinaster***	
Huevos por puesta	184.53 ± 7.34 (30)	216.73 ± 5.90 (30)	$t = -3.41$, P = 0.001
Larvas eclosionadas por puesta	142.46 ± 8.83 (30)	132.13 ± 5.46 (30)	$t = 0.99$, P = 0.323
Larvas maduras	69.93 ± 3.66 (30)	54.60 ± 1.95 (30)	$t = 3.63$, P < 0.001
Número de pupas	77.70 ± 3.20 (20)	52.04 ± 2.28 (22)	$t = 6.61$, P < 0.001

DESARROLLO LARVARIO

A pesar de que el tamaño larvario que presentaban las larvas poco después de su eclosión en ambas especies de pino no difería significativamente (5.55 ± 0.30 mm en Alepo y 5.67 ± 0.32 mm en Pinaster, t = -0.27, g.l. = 38, P = 0.782), las larvas que crecieron en el pino de Alepo crecieron más rápido y consiguieron un tamaño larvario mayor que las que se desarrollaron en el de pino marítimo (Fig. 3a y 3b).

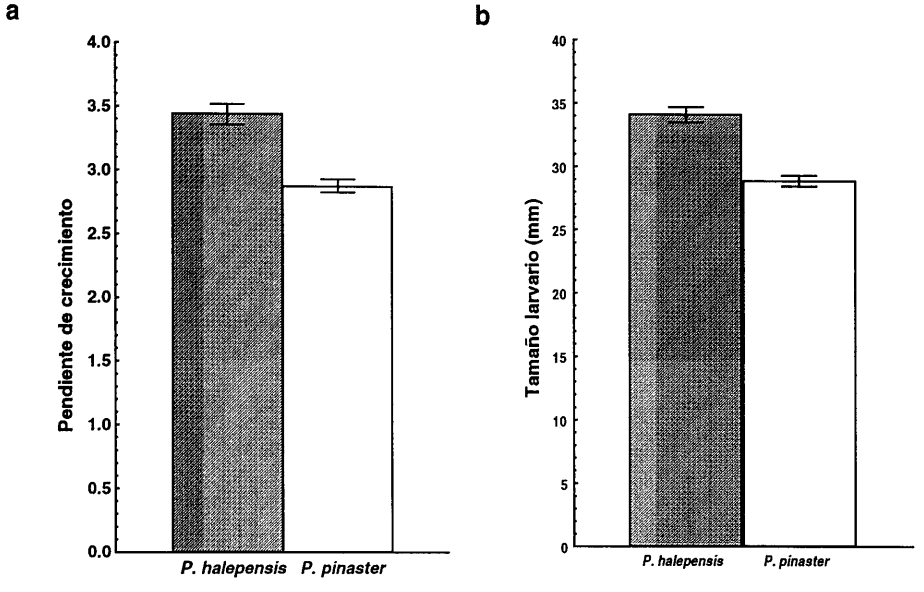

FIGURA 3. CRECIMIENTO (A) Y TAMAÑO LARVARIO (B) JUSTO ANTES DE LA PUPACIÓN DE LARVAS SOBRE AMBAS ESPECIES DE PINO. LAS DIFERENCIAS FUERON ESTIMADAS CON EL TEST DE LA T (PENDIENTE DE CRECIMIENTO: T = 5.72, GL = 38, P < 0.01 Y TAMAÑO LARVARIO: T = 7.29, GL = 38, P < 0.001).

La Figura 4 muestra las diferencias en tamaño de larvas en pino de Alepo y pino marítimo y, aunque las larvas que crecieron en el primero siempre fueron de mayor tamaño, es a partir de la sexta visita, cuando empiezan a acentuarse estas diferencias.

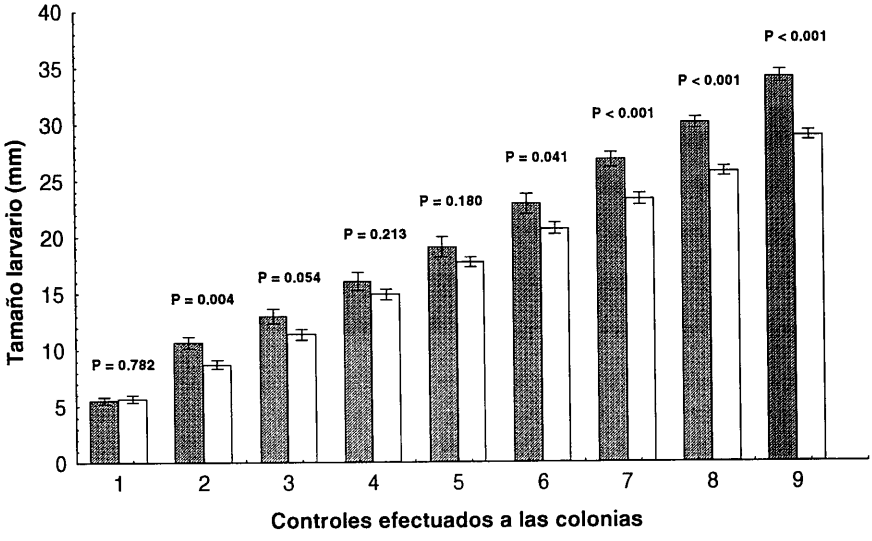

FIGURA 4. DESARROLLO DE LAS LARVAS A LO LARGO DE TODO EL PERÍODO LARVARIO EN COLONIAS SOBRE AMBAS ESPECIES DE PINO. LAS BARRAS RAYADAS CORRESPONDEN A COLONIAS SOBRE PINO DE ALEPO. LAS DIFERENCIAS FUERON ESTIMADAS CON EL TEST DE LA *T* (N = 20 COLONIAS EN CADA ESPECIE DE PINO).

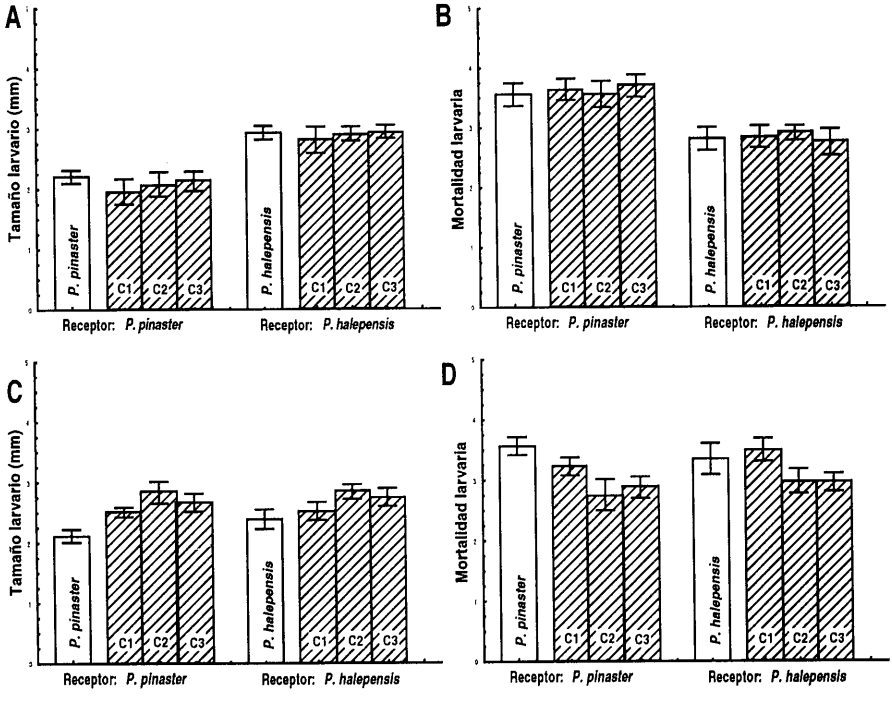

FIGURA 5. RESULTADOS EN LOS DOS PARÁMETROS ESTUDIADOS TRAS EL EXPERIMENTO DE CAMBIO DE PUESTAS Y COLONIAS. LAS FIGURAS A Y B CORRESPONDEN A LOS CAMBIOS DE PUESTAS Y LAS FIGURAS C Y D A LOS CAMBIOS DE COLONIAS. C1 = CAMBIO A OTRO PINO DE LA MISMA ESPECIE, C2 = EXTRACCIÓN Y SUJECCIÓN EN EL MISMO PINO, C3 = SIN MANIPULACIÓN.

EFECTO DEL INTERCAMBIO DE PUESTAS Y NIDOS

Los resultados del experimento de cambio de puestas son muy similares a los descritos para puestas no experimentales (Fig. 5).

Por tanto, al contrario de lo expuesto para la predicción 1, las diferencias que se observan son independientes de la especie en la que se realizaron las puestas, y sólo la especie receptora explica una porción significativa de la variación en tamaño y en mortalidad larvaria (Tabla 5).

TABLA 5. RESULTADOS DE LOS EXPERIMENTOS DE CAMBIO DE PLANTA HOSPEDADORA, TANTO PARA CAMBIO DE PUESTAS, COMO DE COLONIAS. EN EL DISEÑO DE LA MANOVA,LAS VARIABLES DONADOR Y RECEPTOR FUERON INTRODUCIDAS COMO VARIABLES INDEPENDIENTES (FACTORES) EN CADA CASO Y COMO VARIABLES DEPENDIENTES EL TAMAÑO LARVARIO Y EL LOGARÍTMO DE LA MORTALIDAD LARVARIA.

Variables	F	df	P
CAMBIO DE PUESTAS			
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	0.10	1, 36	0.748
Efecto del pino receptor	19.49	1, 36	0.000
Interacción donador x receptor	1.05	1, 36	0.311
Mortalidad			
Efecto del pino donador	2.13	1, 36	0.913
Efecto del pino receptor	1.29	1, 36	0.000
Interacción donador x receptor	0.92	1, 36	0.751
CAMBIO DE COLONIAS			
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	49.50	1, 36	0.334
Efecto del pino receptor	0.47	1, 36	0.292
Interacción donador x receptor	0.67	1, 36	0.056
Mortalidad			
Efecto del pino donador	0.006	1, 36	0.216
Efecto del pino receptor	1.59	1, 36	0.902
Interacción donador x receptor	1.03	1, 36	0.606

Por otra parte, cuando tenemos en cuenta los experimentos de cambio de larvas (nidos), diferencias en crecimiento y mortalidad no las explican ni la especie en la que empezaron a crecer esas larvas, ni la especie a la que experimentalmente fueron trasladadas, ni tampoco la interacción entre ambos factores (Tabla 5).

Al introducir en el análisis información sobre si el nido procedía de otro individuo, independientemente de que se trasladara a la misma u otra especie, las diferencias en tamaño y mortalidad larvarias fueron explicadas por el cambio de individuo en sí (Tabla 6),

lo que está de acuerdo con la predicción 2 (diferencias distintas según los cambios de huevos o larvas).

TABLA 6. RESULTADOS DEL EXPERIMENTO DEL CAMBIO DE LARVAS. EN EL DISEÑO DEL ANÁLISIS DE COMPONENTES DE LA VARIANZA, LAS VARIABLES DONADOR, RECEPTOR Y CAMBIO DE INDIVIDUO FUERON INTRODUCIDAS COMO EFECTOS FIJOS EN CADA CASO Y COMO VARIABLES DEPENDIENTES EL TAMAÑO LARVARIO Y EL LOGARITMO DE LA MORTALIDAD LARVARIA.

Variables	F	df	P
Tamaño larvario			
Efecto del pino donador	0.19	1, 74	0.658
Efecto del pino receptor	1.62	1, 74	0.205
Efecto del cambio de individuo	14.53	1,74	0.000
Interacción donador x receptor	3.27	1, 74	0.074
Interacción donador x individuo	0.01	1, 74	0.914
Mortalidad			
Efecto del pino donador	2.03	1, 74	0.159
Efecto del pino receptor	0.01	1, 74	0.927
Efecto del cambio de individuo	13.74	1, 74	0.000
Interacción donador x receptor	0.26	1, 74	0.609
Interacción donador x individuo	0.11	1, 74	0.735

De acuerdo con el resultado anterior, independientemente de la especie de pino de origen (donador) y de destino (receptor), las larvas que alcanzaron mayor tamaño y menor mortalidad fueron aquellas pertenecientes a nidos controles, nacidas y desarrolladas en la misma especie de pino, y el cambio de especie de pino se tradujo en un efecto negativo sobre el crecimiento larvario y la supervivencia (Fig. 5). Este resultado no se debe al experimento de cortar y sujetar puestas o colonias (nidos), ya que el crecimiento y mortalidad de larvas procedentes de los controles 2 y 3 fueron similares ($-0.46 < t < 0.73$, $P > 0.47$). Estos resultados sugieren la existencia de mecanismos durante el crecimiento que maximizan la optimización en el uso del alimento, ya que distintos ejemplares tendrán distintas concentraciones de defensas químicas y que pueden variar incluso entre pinos de la misma especie. Además, las larvas procedentes del "mejor" hospedador se adaptaron peor tras el cambio que aquellas procedentes del "peor" hospedador (Fig. 5), lo que supone que las larvas procedentes del pino marítimo presentan un desarrollo más adecuado que, al ser cambiadas, les permite explotar más exitosamente al pino de Alepo.

EFECTO DE LA COMPETENCIA INTRAESPECÍFICA EN EL DESARROLLO LARVARIO

Los resultados del experimento 2 mostraron un aumento en la incidencia de los parasitoides (número de huevos parasitados y porcentaje de parasitismo en la puesta) en las puestas experimentales. Aunque no alcanzaron valores tan altos como los detectados en las puestas naturales en el pino marítimo (55.43 ± 4.91 huevos parasitados y 25.07 ± 2.06 % de parasitismo), las puestas experimentales sufrieron un aumento significativo en ambas variables (20.83 ± 1.07 huevos parasitados y 11.59 ± 0.60 % de parasitismo) con respecto a las puestas naturales en el pino de Alepo (6.40 ± 0.74 huevos parasitados y 3.56 ± 0.42 % de parasitismo) (número de huevos parasitados: ANOVA; $F = 63.79$, g.l. = 207, $P < 0.0001$; comparaciones post-hoc: $P < 0.0001$ en todos los casos y porcentaje de parasitismo en la puesta: $F = 63.96$, g.l. = 207, $P < 0.0001$; comparaciones post-hoc: $P < 0.0001$ en todos los casos).

Además, de acuerdo con la hipótesis 3 (predicción 3a), el aumento del número de puestas en el hospedador más adecuado (pino de Alepo) provocó una disminución en el crecimiento de las larvas, ya que éstas presentaron unos tamaños similares a los alcanzados por las larvas que se habían criado sobre la especie de pino subóptima (30.50 ± 0.29 en el pino de Alepo y 30.36 ± 0.32 en el pino marítimo; comparación post-hoc: $P = 0.732$) e inferiores significativamente a los obtenidos en larvas criadas sobre el pino de Alepo (34.28 ± 0.30; comparaciones post-hoc: $P < 0.00001$ en ambos casos) en condiciones de no competencia (ANOVA; $F = 53.69$, g.l. = 87, 2, $P < 0.00001$). Estos resultados indican que, de acuerdo con la hipótesis 3, en situaciones de alta competencia larvaria, las hembras que depositan sus huevos en el pino marítimo no tienen un costo mayor en cuanto al desarrollo larvario que las que pongan en pinos de Alepo previamente seleccionados por otras hembras.

TABLA 7. FECHA DE PUESTA PARA CADA AÑO Y ESPECIE DE PINO. LAS VARIABLES ESPECIE DE PINO Y AÑO FUERON INTRODUCIDAS EN EL DISEÑO DE LA MANOVA COMO FACTORES Y LA VARIABLE ESTANDARIZADA (VER MÉTODOS) FECHA DE PUESTA COMO VARIABLE DEPENDIENTE.

	P. halepensis	*P. pinaster*	MANOVA	F	df	P
Fecha de puesta						
1994	14.2 ± 1.1	22.9 ± 0.8	Efecto del pino	66.48	1,174	0.000
1995	8.60 ± 1.2	14.2 ± 0.6	Efecto del año	20.66	2,174	0.000
1996	12.3 ± 1.6	21.3 ± 0.8	Pino x Año	1.34	2, 174	0.262

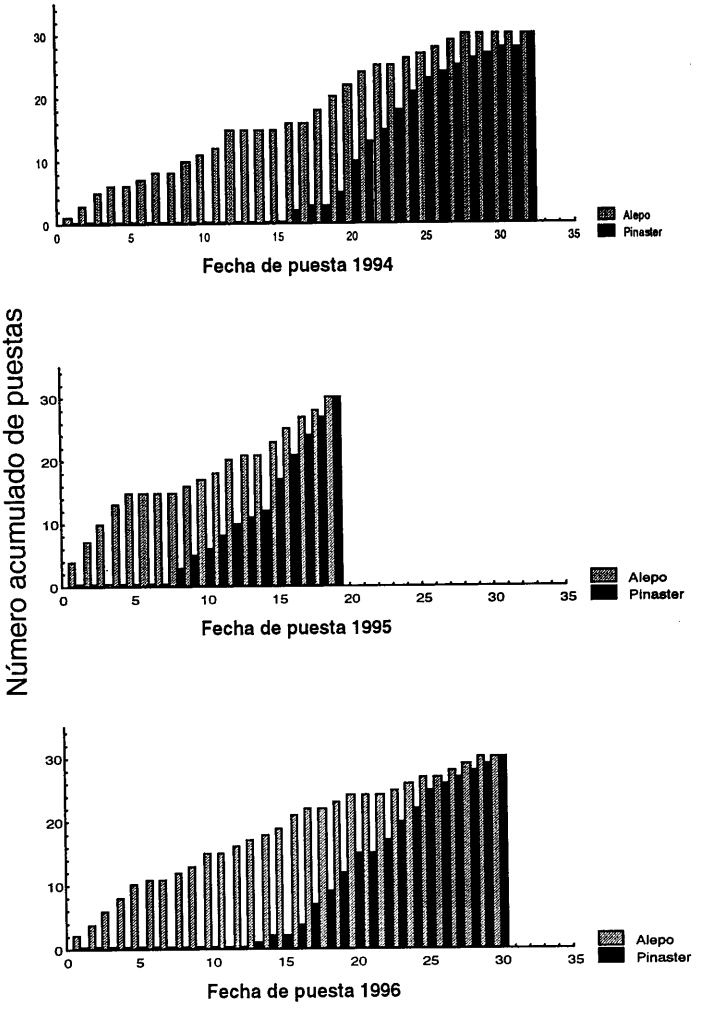

FIGURA 6. DISTRIBUCIÓN DE LA FECHA DE PUESTA PARA CADA AÑO EN EJEMPLARES DE AMBAS ESPECIES DE PINO.

Por otro lado, las puestas más tempranas en cada uno de los años, se localizaron en el pino de Alepo (Tabla 7 y Fig.6), lo que está de acuerdo con la predicción 3b, que los pinos marítimos serían utilizados cuando escasean los pinos de Alepo sin puesta (Fig.6).

DISCUSIÓN

SELECCIÓN DE PLANTA HOSPEDADORA

El desarrollo de un insecto fitófago depende de las características nutritivas de la planta de la que se alimenta (Denno & McClure 1983). Sin embargo, existen otros factores asociados al tipo de planta, como riesgo de depredación o de parasitismo que habría que tener en cuenta para determinar la calidad de la planta hospedadora. En lepidópteros con larvas de una capacidad limitada de dispersión, como es el caso de la procesionaria del pino, la selección de hospedador es, si cabe, más importante que para otras especies con larvas más móviles (Renwick & Chew 1994, Rhainds *et al.* 1996). Nuestros resultados indican que las puestas localizadas en el pino de Alepo tuvieron un mayor éxito de eclosión, debido sobre todo a la menor incidencia de parasitoides, y a que un mayor porcentaje de larvas llegaron a pupar. Además, encontramos que esas larvas se desarrollaron mejor (crecimiento mayor y más rápido) que las que crecieron en pino marítimo. Estos resultados explican por qué en nuestra zona de estudio las hembras de esta especie seleccionan preferentemente pinos de Alepo para depositar sus puestas.

La mayoría de los estudios empíricos y modelos de optimización sobre la evolución del rango de planta hospedadora y la jerarquía en las preferencias están basados únicamente en características del desarrollo de la descendencia (p.e. Ng 1988, Thompson 1988a, Courtney & Kibota 1989, Price 1994, Mayhew 1997, Poore & Steinberg 1999). Sin embargo, el éxito reproductor de las hembras no es sólo función de la supervivencia y fecundidad de su descendencia, sino que también está determinada por el número de huevos que son capaces de poner esas hembras (Reavey & Lawton 1991, Nylin & Janz 1996, Krebs & Davies 1997). Nuestros resultados indican que las puestas depositadas sobre el pino marítimo contenían significativamente un mayor número de huevos que las depositadas sobre el pino de Alepo, aunque ése mayor número de huevos por puesta no implicó un aumento en el éxito reproductor de esas hembras.

En el caso de la procesionaria, aunque las hembras vuelan con mucha dificultad, éstas realizan una búsqueda activa (Schmidt 1990), pudiendo evaluar diferentes pinos

hospedadores potenciales antes de realizar la puesta. En este proceso de evaluación las hembras podrán determinar, tanto lo adecuada que sea la planta para su descendencia desde el punto de vista nutricional y de sus defensas, como el grado de ocupación por coespecíficos (huevos puestos previamente por otras hembras) que suponen un grado de competencia posterior para las larvas, como así se ha demostrado para muchas especies de lepidópteros (p.e. Bernays & Chapman 1994). En nuestra zona de estudio la distribución de pino de Alepo y marítimo es totalmente aleatoria, encontrándose normalmente los pinos marítimos rodeados de pinos de Alepo (debido a la proporción existente 9:1). Por tanto, la selección de pinos de Alepo puesta de manifiesto en este estudio no se podría explicar por una mayor proximidad de pinos de esta especie a lugares de pupación (normalmente a menos de 50 m del árbol de crecimiento).

CRECIMIENTO Y MORTALIDAD DE LARVAS EN DISTINTAS PLANTAS HOSPEDADORAS

El tamaño larvario antes de la pupación explica el tamaño corporal del adulto y, además, explica la fecundidad de las hembras en lepidópteros y en otros órdenes de insectos (Leather 1984). Por tanto, el tamaño larvario justo antes de pupar es un buen indicador de la eficacia biológica potencial de la larva. Los resultados muestran que las larvas eclosionadas de huevos puestos sobre el pino de Alepo crecen más rápidamente y consiguen un tamaño larvario antes de la pupación mayor que las larvas de puestas depositadas en el pino marítimo. Las diferencias en el tamaño larvario se acentuaron cuando las larvas se encontraban en su último estadío, en el que se alimentan con más intensidad y adquieren las reservas para resistir el invierno y el período de pupa (Astiaso *et al.* 1992). Estos resultados pueden deberse a que las acículas del pino de Alepo y del pino marítimo difieran en su calidad nutritiva como ocurre al comparar otras especies de pino (Géri *et al.* 1998, Hódar *et al.* 2002). Concretamente, una defensa reconocida de las plantas contra la herbivoría es la dureza de sus hojas (Feeny 1970, Coley 1983, Choong 1996). Las acículas del pino marítimo son grandes y duras (Franco 1986) y algunos autores han considerado a esa dureza como la responsable de la elevada mortalidad de larvas de procesionaria en estadíos iniciales (Devkota & Schmidt 1990, Hódar *et al.* 2002). En nuestra población no detectamos que hubiera una mayor mortalidad en los primeros estadíos larvarios en el pino

marítimo, pero lo que parece más probable, de acuerdo con lo obtenido por Hódar *et al.* (2002), es que esa dureza de las hojas, unido a un pobre contenido en nitrógeno y una menor digestibilidad sean las responsables de las diferencias en el desarrollo de las larvas sobre ambas especies de pino.

Otra explicación posible es que las diferencias sean el resultado de una diferente calidad genética de las larvas asociada a la selección de los distintos tipos de pino por parte de las hembras. Nuestros resultados experimentales permiten descartar ésta última opción (Hipótesis 1), pues los cambios experimentales de puestas sin eclosionar dieron lugar a colonias que mantuvieron diferencias en el desarrollo larvario sobre ambas especies de pino y no presentaron diferencias con respecto a las colonias control. Por el contrario, los resultados de los cambios de larvas sugieren, de acuerdo con la Hipótesis 2, la existencia de una cierta adaptabilidad a la planta hospedadora, no sólo al nivel de especie de pino sino al nivel de planta individual dentro de una misma especie, ya que la concentración de productos químicos de defensa y la dureza de las acículas variará entre individuos, no sólo como consecuencia de las diferencias genéticas entre ellos, sino también debido a la condición (disponibilidad de recursos) de cada uno de ellos (ver por ejemplo, Myszewski *et al.* 2002, Scriber 2002).

La procesionaria con frecuencia llega a niveles de plaga y, cuando esto ocurre, un pino puede no ser alimento suficiente para todas las larvas que en él están creciendo por lo que sería importante que tuvieran la capacidad de cambiar de planta hospedadora. Aunque en la procesionaria se ha citado el comportamiento de abandonar una planta y alimentarse de otra cuando la primera está agotada (Arrondo 1984, Astiaso *et al.* 1992), en nuestra población durante todos los años de estudio nunca lo hemos observado. En varias ocasiones hemos detectado colonias que murieron de hambre en el pino en que se habían desarrollado cuando el alimento se agotó. Por tanto, si las posibilidades de cambiar de pino son escasas será beneficioso para la hembra depositar sus huevos en un hospedador subóptimo, sobre todo si la adaptabilidad de las larvas les permite maximizar el aprovechamiento nutritivo de este hospedador secundario. Esta adaptabilidad puede ser consecuencia de procesos de coevolución que habrán actuado posibilitando la adaptación de las larvas, durante las primeras fases de desarrollo, a los tipos de defensa de las especies hospedadoras o a los niveles de defensa del árbol seleccionado.

¿POR QUÉ DEPOSITAN PUESTAS SOBRE EL PINO MARÍTIMO?

La procesionaria del pino es una especie que deposita todos los huevos en una sola puesta. Durante su efímera vida de adulto, en torno a 12 horas (Schmidt 1989), la hembra debe encontrar un macho adecuado para, inmediatamente después de la fertilización, seleccionar un sitio para realizar la puesta. Es, por tanto, una carrera contrarreloj donde la hembra debe decidir el futuro de su descendencia encontrando una planta de buena calidad y poniendo tantos huevos como haya podido producir.

Hódar *et al.* (2002), en otro estudio acerca del uso de distintas especies de pino como hospedador para la procesionaria, obtuvieron que el pino marítimo es el pino donde peor se desarrollan las larvas, comparado con el pino silvestre (*Pinus silvestris nevadensis*) y el pino negro (*Pinus nigra salzmannii*). En ese trabajo justifican la presencia de puestas sobre el pino marítimo como errores de las hembras en la selección de pino. Según estos autores, la dificultad de desplazamiento de las hembras grávidas, la proximidad de las distintas especies de pino a los lugares de pupación y posterior emergencia de los adultos serían los principales factores que determinarían la especie seleccionada. Es decir, no habría una selección activa de especie de pino por parte de las hembras. Sin embargo, en nuestra zona de estudio sí detectamos una selección de hospedador ya que las frecuencias de uso diferían significativamente de la esperada por la proporción de pinos de cada especie presente y, además, la especie seleccionada recibió mayor número de puestas por pino y su ovoposición fue más temprana que las puestas en pino marítimo. Estos resultados, que aparentemente podrían ser considerados contradictorios, se pueden deber a las diferencias entre poblaciones de pino naturales y de repoblación. En las primeras, la distancia entre árboles es mucho mayor, lo que dificultaría en gran medida la selección de especie a ovopositar. De todas maneras, teniendo en cuenta las diferencias en éxito de pupación para larvas procedentes de distintas especies de pino encontradas en nuestro trabajo, los procesos de selección natural han debido favorecer la dispersión de las hembras dotándolas de una capacidad de vuelo suficiente para optimizar la selección de planta. En nuestro caso, en otra zona hemos observado dos ejemplares solitarios de *P. pinaster* que en el año 2002 fueron atacados tras pasar al menos 4 años sin estarlo, y el pinar más cercano donde el año anterior fue detectada la procesionaria se encuentra a unos 3 kilómetros en línea recta de éstos

pinos. Por tanto, no creemos que el hecho de que la capacidad de dispersión es limitada sea suficiente para asumir que impide la selección de planta en la procesionaria del pino.

Nuestros resultados muestran que la supervivencia y el desarrollo larvarios son significativamente mayores en las colonias que se desarrollan sobre el pino de Alepo. Las hembras que seleccionaron el pino marítimo lo hicieron al final del período de puesta en nuestra población. La selección de ésta especie de pino como hospedador implica una reducción en el éxito reproductor de este lepidóptero y el motivo de su elección puede residir en un balance de costos y beneficios entre selección de hospedador óptimo y competencia futura entre las larvas, de manera que para aquellas hembras que emergen más tardíamente sería beneficioso el evitar una mayor competencia intraespecífica eligiendo para depositar su puesta el pino marítimo. Este argumento merece consideración ya que las preferencias de ovoposición de la hembra y el desarrollo larvario pueden fallar debido a que el alimento puede llegar a ser limitante como demuestran los resultados del experimento 2. En la procesionaria podría haber al menos tres vías por las cuales un incremento de densidad larvaria podría reducir la calidad del hábitat (pino): (1) vía mortalidad densodependiente impuesta por las defensas inducidas en la planta hospedadora, ya que un aumento en el número de larvas puede provocar un aumento en la producción de defensas químicas de la planta (revisiones sobre defensas inducidas en Schultz (1988), Wagner (1988) y Harvell & Tollrian (1999)); (2) vía mortalidad densodependiente impuesta por enemigos naturales (parasitoides, predadores o enfermedades) (por ejemplo, May & Hassell 1988, Walde & Murdoch 1988) y (3) vía mortalidad densodependiente impuesta por competencia entre las larvas. Los resultados del experimento 2 muestran que, al menos para las dos últimas vías, así sucede, ya que un aumento en la densidad de puestas por pino provocó un incremento significativo en la incidencia del parasitismo (ver resultados) y la presencia de distintas puestas en el mismo pino produjo un menor desarrollo larvario *per cápita*. Estos resultados sugieren que la selección del hospedador subóptimo en puestas más tardías sería la mejor de una serie de malas opciones. Es decir, en situaciones de limitación de alimento en los ejemplares de pino de Alepo como consecuencia de la presencia de muchas puestas por pino, el pino marítimo sería la mejor opción.

BIBLIOGRAFÍA

Arrondo, E. (1984) Biología y control de la procesionaria del pino. *Quercus* 14: 22-27.

Astiaso *et al.* (1992) *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. En: *Plagas de Insectos en las masas forestales españolas*. Pp: 51-64. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Atsatt, P. R. (1981) Lycaenid butterflies and ants: selection for enemy-free space. *The American Naturalist* 188: 638-654.

Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects.* Chapman & Hall, Nueva York.

Bernays, E. & Graham, M. (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.

Choong, M. F. (1996) What makes a leaf tough and how this affects the pattern of *Castanopsis fissa* leaf consumption by caterpillars. *Functional Ecology* 10: 668-674.

Coley, P. D. (1983) Herbivory and defensive characters of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209-233.

Courtney, S. P. & Kibota, T. T. (1989) Mother doesn't know best: selection of hosts by ovipositing insects. En: *Insect-plant interactions,* vol II (Ed. E. A. Bernays), pp: 161-188. CRC Press, Boca Raton, FL.

Damman, H. (1991) Oviposition behaviour and clutch size in a group feeding pyralid moth, *Omphalocera munroei*. *Journal of Animal Ecology* 60: 193-204.

Denno, R. F. & McClure, M. S. (1983) *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. Academic Press, New York.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Ehrlich, P. R. & Raven, P. H. (1964) Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Feeny, P. (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* 51: 565-571.

Fox, C. W. (1993) A quantitative genetic analysis of oviposition preference and larval performance on two hosts in the bruchid beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Evolution* 47: 166-175.

Franco, J. A. (1986) *Pinus L.* En : *Flora Ibérica, Vol. 2* (Eds. S. Castroviejo, M. Laínz, G. López González, P. Monserrat, F. Muñoz Garmendia, J. Paiva & I. Villar), pp: 168-174. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.

Garms, H. & Eigener, W. (1977) *Plantas y animales de España y Europa*. Universidad de Navarra, S. A. Barañain-Pamplona, España.

Géri, C., Goussard, F., Auger-Rozenberg, M.-A., Bastien, C. & Pasquier, F. (1998) Foliage palatability of pine species and clones to the rare subspecies *galliegloria* of the Beauty moth, *Graellsia isabellae* Oberthür (Lepidoptera: Attacidae). En: *Proceedings: Population dynamics,*

impacts, and integrated management of forest defoliating insects. (Eds. M. L. McManus & A. M. Liebhold), pp: 344. USDA Forest Service General Technical Report NE-247.

Harvell, C. D. & Tollrian, R. (1999) Why inducible defenses? En: *The ecology and evolution of inducible defenses* (Eds. R. Tollrian & C. D. Harvell), pp: 3-9. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Hódar, J.A., Zamora, R. & Castro, J. (2002) Host utilisation by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology* 27: 292-301.

Jaenike, J. (1978) On optimal oviposition behaviour in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14: 350-356.

Jermy, T. (1984) Evolution of insect/host plant relationships. *American Naturalist* 124: 609-630.

Krebs, J. R. & Davies, N. B. (1997) *Behavioural ecology*. Blackwell Science, Oxford, UK.

Larsson, S. & Ekbom, B. (1995) Oviposition mistakes in herbivorous insects: confusion or a step towards a new host plant? *Oikos* 72 (1): 155-160.

Le Masurier, A. D. (1994) Costs and benefits of egg clustering in *Pieris brassicae*. *Journal of Animal Ecology* 63: 677-685.

Leather, S. R. (1984) Factors affecting pupal survival and eclosion in the pine beauty moth, *Panolis flammea* (D & S). *Oecologia* 63: 75-79.

Leather, S. R., Wellings, P. W. & Dixon, A. F. G. (1983) Habitat quality and the reproductive strategies of the migratory morphs of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.), colonizing secondary host plants. *Oecologia* 59: 302-306.

López-González, G. (1982) *La Guía de Incafo de los árboles y arbustos de la Península Ibérica*. Incafo, S.A. Madrid.

May, R. M. & Hassell, M. P. (1988) Population dynamics and biological control. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B* 318: 129-169.

Mayhew, P. J. (1997) Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79: 417-428.

Montero, G. (1997) Breve descripción del proceso repoblador en España (1940-1995). *Legno Celulosa Carta* 4: 35-42.

Myszewski, J. M., Fins, L., Moore, J. A., Rust M. & Mika P. G. (2002) Variation in the root bark phenolics/sugar ratio of Douglas fir grown in two plantations in northern Idaho. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 556-560.

Ng, D. (1988) A novel level of interactions in plant-insect systems. *Nature* 334: 611-612.

Nylin, S. & Janz, N. (1996) Host plant preferences in the comma butterfly (*Polygonia c-album*): do parents and offspring agree? *Ecoscience* 3: 285-289.

Papaj, D. (1986) An oviposition "mistake" by *Battus philenor* L. (Papilionidae). *Journal of the Lepidopterist's Society* 40: 348-349.

Poore, A. G. B. & Steinberg, P. D. (1999) Preference-performance relationships and effects of host plant choice in a herbivorous marine amphipod. *Ecological Monographs* 69: 443-464.

Price, P. W. (1994) Patterns in the population dynamics of insect herbivores. En: *Individuals, populations and patterns in ecology* (Eds. S. R. Leather, A. D. Watt & K. F. A. Walters), pp: 109-117. Intercept Limited, Andover, UK.

Rank, N. E., Köpf, A., Julkunen-Tiitto, R. & Tahvanainen, J. (1998) Host preference and larval performance of the salicylate-using leaf beetle *Phratora vitellinae*. *Ecology* 79: 618-631.

Reavey, D. & Lawton, J. H. (1991) Larval contribution to fitness in leaf-eating insects. En: *Reproductive behaviour of insects: individuals and populations* (Eds. W. J. Bailey & J. Ridsdill-Smith), pp: 291-329. Chapman & Hall, London.

Renwick, J. A. A. & Chew, F. S. (1994) Oviposition behaviour in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39: 377-400.

Rhainds, M., Gries, G. & Morales J. L. (1996) Oviposition deterrency in pineapple borer females, *Thecla basilides* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Ecological Entomology* 21: 105-106.

Ronquist, F. & Nylin, S. (1990) Process and pattern in the evolution of species associations. *Systematic Zoology* 39: 323-344.

Sanchis, N., Cobos, P., Cobos, J. M. & Soria, S. (1990) Lucha contra la procesionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Lepidoptera, Thaumetopoeidae): ensayos de lucha química con productos inhibidores del desarrollo, bacterianos y piretroides. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 16: 229-245.

Scheirs, J., De Bruin, L. & Verhagen, R. (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London* B 267 : 2065-2069.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Schmidt, G. H. (1990) The egg-batch of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff) (Lep. Thaumetopoeidae): Structure, hatching of the larvae and parasitism in Southern Greece. *Journal of Applied Entomology* 110: 217-228.

Schneider, J. C. & Roush, R. T. (1986) Genetic differences in oviposition preference between two populations of *Heliothis virescens*. En: *Evoultionary genetics of invertebrate behavior* (Ed. M. D. Huettel), pp: 163-171. Plenum Press, New York.

Schultz, J. C. (1988) Plant responses induced by herbivores. *Trends in Ecology and Evolution* 3: 45-49.

Scriber, J. M. (2002) Evolution of insect-plant relationships: chemical constraints, coadaptation, and concordance of insect/plant traits. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104: 217-235.

Scriber, J. M., Giebink, B. L. & Snider, D. (1991) Reciprocal latitudinal clines in oviposition behavior of *Papilio glaucus* and *P. canadensis* across the great Lakes hybrid zone: possible sex-linkage of oviposition preferences. *Oecologia* 87: 360-368.

Siegel, S. & Castellan, N. J. Jr. (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2 nd ed. McGraw-Hill, New York.

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

Strong. D. R. (ed.) (1988). Insect host range. *Ecology* 69: 885-915.

Tammaru, T., Kaitaniemi, P. & Ruohomäki, K. (1995) Oviposition choices of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) in relation to its eruptive population dynamics. *Oikos* 74: 296-304.

Thompson, J. N. (1988a) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 3-14.

Thompson, J. N. (1988b) Variation in preference and specificity in monophagous and polyphagous swallowtail butterflies. *Evolution* 42: 118-128.

Thompson, J. N., Wehling, W. & Podolsky, R. (1990) Evolutionary genetics of host use in swallowtail butterflies. *Nature* 334: 148-150.

Wagner, M. R. (1988) Induced defenses in Ponderosa Pine against defoliating insects. En: *Mechanisms of Woody Plant Defenses Against Insects.* (Eds. W. J. Mattson, J. Levieux & C. Bernard-Dagan), pp: 141-155. Springer-Verlag, New York.

Walde, S. J. & Murdoch, W. W. (1988) Spatial density dependence in parasitoids. *Annual Review of Entomology* 33: 441-466.

Ward, S. A., Dixon, A. F. G. & Wellings, P. W. (1983) The relation between fecundity and reproductive investment in aphids. *Journal of Animal Ecology* 52: 451-461.

Wiklund, C. (1981) Generalist vs. specialist oviposition behaviour in *Papilio machaon* and functional aspects on the hierarchy of oviposition preferences. *Oikos* 36: 163-170.

II

Características morfológicas que explican la selección de pies de planta de *Pinus halepensis* por parte de la procesionaria del pino

Tomás Pérez-Contreras, Juan José Soler & Manuel Soler

Manuscrito en preparación

RESUMEN

Durante el período 1994-1996 se hizo un seguimiento del ciclo de la procesionaria del pino en un pinar de repoblación en la provincia de Granada. En este trabajo, nos hemos centrado en el estudio de las características de los pinos que expliquen la probabilidad de ser atacados por la procesionaria del pino; para lo que se tomaron datos biométricos de los pinos, tanto atacados como sanos. Los resultados muestran que el volumen foliar del pino es la característica que mejor explica la selección de planta por las hembras de procesionaria del pino. Por tanto, independientemente de las causas que expliquen esta selección, los pinos de mayor volumen foliar deben de ser aquellos donde se optimiza la relación costos beneficios de la selección de pino.

INTRODUCCIÓN

La relación entre plantas y herbívoros puede ser considerada tanto desde la perspectiva de la planta como de la del herbívoro (Firempong & Zalucki 1991). Esta última incluye los procesos por los cuales los herbívoros seleccionan las plantas en base a su estado fisiológico, es decir, de su posible susceptibilidad para ser atacada por el herbívoro en cuestión. Así, entre otros factores, las diferencias en la calidad nutricional del sistema foliar pueden explicar por qué algunas plantas son más seleccionadas que otras por un defoliador específico (Clancy *et al.* 1993).

Las plantas varían entre especies en rasgos morfológicos y fisiológicos que condicionan su resistencia a los herbívoros y su calidad para el crecimiento y el desarrollo de estos (Fritz & Simms 1992, Kennedy & Barbour 1992, Weiss 1992). Tanto la resistencia como la calidad varían también entre poblaciones dentro de una misma especie (Singer & Parmesan 1993) o entre individuos dentro de una población (Karban 1992, Larsson & Strong 1992), y esta variación puede influir: (i) en la distribución del herbívoro (Pilson 1992, Karban & Kittelson 1999) y (ii) en la evolución de rasgos morfológicos, fisiológicos, comportamentales y de estrategias vitales del herbívoro (Rausher & Papaj 1983, Fox *et al.* 1997).

La selección de planta ocurre no sólo a nivel interespecífico, sino también a nivel intraespecífico ya que, en el caso de que el desarrollo de las larvas dependa del individuo seleccionado para depositar los huevos (por ejemplo, larvas con poca movilidad), esta planta hospedadora constituye el único alimento del que las larvas van a disponer durante su desarrollo y, por tanto, la selección del hospedador va a influir directamente en el éxito reproductor de los adultos (Bernays & Chapman 1994, Schoonhoven *et al.* 1998). Así, la supervivencia de las larvas será máxima en las plantas más adecuadas, que son aquellas que presentan una mayor calidad nutritiva y una menor competencia intraespecífica (Rhainds *et al.* 1996).

Se han realizado numerosos estudios en Lepidópteros sobre los factores que determinan la elección de la planta para depositar la puesta. Entre ellos se han destacado

factores físicos, como la forma, el tamaño y el color de la planta hospedadora (Rausher 1979, Stanton 1984, Renwick & Chew 1994); y químicos, probablemente la fuente más importante de información de calidad de la planta, y que más puede contribuir a la decisión final de la hembra de ovopositar o no en una planta determinada (Schultz 1988).

Dentro de una especie de planta hospedadora, distintos genotipos pueden tener diferentes efectos sobre el desarrollo (crecimiento, supervivencia y fecundidad) de los insectos fitófagos (p. ej. Moran 1981, Craig *et al.* 1989, Preszler & Price 1995). Debido a esta variación, la selección natural debería haber favorecido el reconocimiento de características de la planta hospedadora que indicaran su calidad y que permitieran depositar la puesta preferentemente en las que proporcionen las mejores condiciones para el desarrollo de su descendencia (Cronin & Abrahamson 1999). Por tanto, debería existir una correlación positiva entre preferencia de planta en el adulto y desarrollo de sus larvas (Thompson 1988); que, desde un punto de vista ecológico, jugarían un papel crítico en la distribución y abundancia en la población del fitófago (p. ej. Price 1991, 1994, Ohgushi 1995, Bigger & Fox 1997). Desde el punto de vista evolutivo, la selección óptima de hospedador nos explica la especificidad de planta en las especies fitófagas, la amplitud en la dieta de estas especies, la formación de razas en especies fitófagas, procesos de especiación simpátrica y de coevolución, entre otros (p. ej. Bush 1975, Futuyma & Meyer 1980, Mitter *et al.* 1991, Joshi & Thompson 1995, Thompson 1996).

La mayoría de los estudios sobre la preferencia de planta hospedadora y el desarrollo larvario están enfocados exclusivamente desde el punto de vista de la variabilidad genética de la planta. Sin embargo, los insectos deben de seleccionar la planta por características fenotípicas que dependen, no sólo de los genes, sino también de factores ambientales que afectan a la expresión de esos genes. Son muchos los factores ambientales que afectan a la expresión del genotipo en plantas, entre otras el agua o la disponibilidad de nutrientes (Maddox & Capuccino 1986, Horner & Abrahamson 1992, Preszler & Price 1995, Ruohomaki *et al.* 1996), la exposición al viento (Cipollini 1997), cantidad de sombra (Ruohomaki *et al.* 1996, Horner & Abrahamson 1992), o la presencia de otras especies fitófagas (Lewis 1984, Faeth 1986, McMillin & Wagner 1997). Estos factores, por tanto, podrían afectar a la expresión de características de plantas que los insectos pueden usar para

seleccionar dónde poner sus huevos. Además, estos factores ambientales pueden ser especialmente importantes en especies de plantas utilizadas para repoblaciones y atacadas por insectos fitófagos ya que la variabilidad genética entre distintos plantones es muy baja y, por tanto, la variabilidad individual debe de estar explicada principalmente por estos factores ambientales. Debido a que en este tipo de plantaciones existe una gran variabilidad fenotípica, los herbívoros deberían ser capaces de reconocer características relacionadas con la calidad de sus posibles hospedadores para, de esta forma, seleccionar la planta óptima.

El objetivo de este trabajo es determinar las características fenotípicas del pino susceptibles de ser seleccionadas por la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Denis & Schiff. 1775) para depositar sus huevos. Esta especie es un lepidóptero que constituye una de las plagas defoliadoras específicas más importantes de los bosques de pinos del sur de Europa y norte de África.

MATERIAL Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio está localizada a 1000 m.s.n.m., en un pinar de repoblación de aproximadamente 20 años de edad, en la Hoya de Guadix (37°18'N, 3°11'W), al este de la provincia de Granada. Es una zona donde la presencia de la procesionaria alcanza proporciones de plaga, afectando fundamentalmente al pino de Alepo o carrasco (*Pinus halepensis* Miller), que es la especie predominante en el área, y en menor medida al pino marítimo o resinero (*Pinus pinaster* Aiton).

PROCEDIMIENTOS GENERALES

Durante los meses de Enero y Febrero de 1994, 1995 y 1996, se tomaron datos biométricos y de producción de los pinos, así como del nivel de ataque de la procesionaria.

El primer año de estudio se seleccionaron 182 ejemplares de pino de Alepo y fueron identificados individualmente mediante una placa metálica numerada. De estos ejemplares se calculó, para cada año, la tasa de ataque (porcentaje de pinos atacados) por la procesionaria. Simultáneamente se anotaron el número de puestas que presentaban los ejemplares atacados.

Para cada pino, atacado o no, se tomaron las siguientes medidas biométricas: (1) altura: utilizando una cinta métrica (1 mm de precisión), (2) perímetro de la zona verde: con una cinta métrica de tela (1 cm de precisión) se medía el perímetro de la sección transversal máxima de la masa verde, (3) diámetro del tronco: con un calibre digital (Mitutoyo, de 0.01 mm de precisión), (4) superficie de la sección transversal del tronco: calculada a partir del diámetro, y (5) volumen: del pino o volumen foliar, calculado usando la fórmula de la elipsoide $4/3\ \pi ab^2$, en la que **a** es el radio mayor, correspondiendo a la mitad de la altura del pino (altura/2) y **b** es el radio menor, calculado como radio de la zona verde (perímetro de la zona verde/2π). En esta última medida usamos la altura total del pino porque al tratarse de ejemplares jóvenes, las ramas llegan hasta el suelo al no haberse iniciado en la mayoría de ellos el proceso de poda natural. La producción de piñas se estimó contando el número de piñas y diferenciando la edad de éstas.

Simultáneamente a la recogida de datos sobre los pinos, también se obtuvo información sobre la procesionaria. El número de nidos actuales se contabilizó como el número de nidos (colonias) que presentaban actividad larvaria y que no eran temporales ni de muda. El número de nidos antiguos se consideró como el número de nidos viejos (del año anterior) que se mantenían íntegros. El número de puestas se obtuvo tras un minucioso examen de cada pino. Esta especie deposita sus huevos agrupados en una única puesta, cubiertos de las escamas procedentes de la parte distal del abdomen de la hembra, por lo que su aspecto es el de un canutillo de color dorado que, en buenas condiciones de iluminación ambiental, es fácilmente detectable.

En las repoblaciones con pinos, el sistema utilizado consiste en plantar grupos de plantones en el mismo sitio para aumentar así la posibilidad de supervivencia de al menos uno de ellos, por lo que frecuentemente varios pies de planta crecen muy juntos. Para

analizar el proceso de selección de planta hospedadora por parte de la procesionaria, en nuestros análisis consideraremos a cada pino o grupo de pinos en una misma unidad de siembra como una unidad de masa independiente. De esta manera, como altura se consideró la altura del pie más alto, y los nidos antiguos, nidos actuales, número de piñas y número de puestas como la suma de los valores de dichas variables para cada uno de los pies que conformaban la masa (unidad de masa) considerada. Con respecto a la superficie transversal del tronco, se consideró la suma de las superficies.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para los análisis se han usado tests no paramétricos debido a que las variables consideradas para los análisis no seguían distribuciones normales (test de Lillieford, $p < 0.05$ en todos los casos) (Siegel & Castellan 1988).

Utilizamos un análisis de regresión logística (Everitt 1992) para estudiar si determinadas características del pino tienen algún efecto en la probabilidad de que éste sea seleccionado por la procesionaria para realizar la puesta. Utilizando el método de máxima probabilidad (Cox 1970) calculamos el modelo logístico con todas las variables consideradas, obteniendo el valor de la desviancia (2 x log-likelihood) para ese modelo. Después examinamos los efectos de omitir cada una de las variables en el modelo, calculando un nuevo modelo y su valor de 2 x log-likelihood. Aquellas variables cuya omisión no produjera cambios significativos en el valor de 2 x log-likelihood fueron eliminadas del modelo. El modelo final fue aceptado cuando la omisión de cualquier variable causara un incremento significativo en el valor de la desviación.

RESULTADOS

La mayor parte de los parámetros medidos del pino resultaron relacionados, de forma positiva, con el número de puestas que recibió cada pino en cada año (Tabla 1), lo

que indica que esos parámetros juegan, directa o indirectamente, un papel en el proceso de selección del herbívoro.

TABLA 1. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE PUESTAS POR AÑO Y DIVERSOS PARÁMETROS DE *P. HALEPENSIS* (R_s = ÍNDICE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN, N = 182 EN TODOS LOS CASOS).

	r_s	P
1993		
Volúmen (1993)	0.47	0.000
Número de pies	0.31	0.000
Número de nidos viejos (1992)	-0.04	0.510
1994		
Volúmen (1994)	0.35	0.000
Número de pies	0.23	0.001
Número de nidos (1993)	0.24	0.000
Número de puestas (1993)	0.26	0.000
1995		
Volumen (1995)	0.35	0.000
Número de pies	0.23	0.001
Número de nidos (1994)	0.22	0.001
Número de puestas (1993)	0.26	0.000
Número de puestas (1994)	0.27	0.000

TABLA 2. TAMAÑO DE MUESTRA (N), MEDIA Y ERROR ESTÁNDAR (ES) DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS PARA PINOS ATACADOS Y SANOS EN CADA AÑO. LOS DATOS CORRESPONDEN A EJEMPLARES DE *P. HALEPENSIS*. EL NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (D) DE LAS COMPARACIONES (TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY) ENTRE PINOS ATACADOS Y SANOS (N.S. = NO SIGNIFICATIVA, * = P < 0.05, ** = P < 0.01 Y *** = P < 0.001).

	ATACADOS			SANOS			
	N	Media	ES	N	media	ES	D
1993							
Número de pies	135	2.0	0.0	47	1.6	0.1	*
Altura	135	2.4	0.0	47	1.8	0.1	***
Superficie transversal del tronco	135	91.3	5.1	47	53.9	5.8	***
Perímetro de la zona verde	135	5.3	0.1	47	4.2	0.1	***
Volúmen	135	4.4	0.3	47	2.2	0.2	***
Número de nidos de 1992	135	0.6	0.0	47	0.7	0.1	n.s.
1994							
Número de pies	86	2.2	0.1	96	1.7	0.0	***
Altura	86	2.6	0.0	96	2.1	0.0	**
Superficie transversal del tronco	86	126.6	8.4	96	82.1	5.1	***
Perímetro de la zona verde	86	6.1	0.1	96	5.0	0.1	***
Volúmen	86	6.3	0.5	96	3.6	0.2	***
Número de nidos de 1993	86	1.7	0.1	96	1.2	0.1	*
1995							
Número de pies	128	2.0	0.0	54	1.7	0.1	*
Altura	128	2.6	0.0	54	2.1	0.1	**
Superficie transversal del tronco	128	133.0	7.3	54	96.8	8.3	**
Perímetro de la zona verde	128	6.2	0.1	54	5.3	0.2	**
Volúmen	128	6.5	0.4	54	4.0	0.4	**
Número de nidos de 1994	128	0.8	0.0	54	0.4	0.1	**

Los valores medios en parámetros de la planta hospedadora (pino de Alepo) tales como, el número de pies por planta, la altura, la superficie transversal del tronco, el perímetro de la zona verde y el volumen mostraron valores significativamente más elevados en los pinos atacados que en los no atacados para los tres años de estudio (Tabla 2).

Otro factor que difirió entre pinos atacados y no atacados fue la presencia de colonias del año anterior en la planta. Los pinos atacados tuvieron más nidos antiguos que los pinos no atacados.

Sin embargo, estas variables están interrelacionadas y sólo un análisis múltiple detectará las variables que mejor expliquen la selección de pino teniendo en cuenta la porción de varianza compartida entre ellas. La regresión logística mostró, para cada año por separado, que el volumen del pino tiene un efecto sobre la probabilidad de ser atacado. Dicha variable es la única que se mantiene significativa en el modelo durante los tres años (Tabla 3). Para 1993, junto con el volumen aparecen también implicadas el resto de variables consideradas para el modelo (R = 0.42). El siguiente año se mantuvo junto al volumen únicamente el número de pies por masa (R = 0.39). Por último, en 1995 sólo se mantiene el volumen (R = 0.24). Esto indica que, de los parámetros analizados, el volumen foliar es la principal característica que determina que un pino sea seleccionado o no.

TABLA 3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA. SE PRESENTAN ESTIMAS DE LAS PENDIENTES (S) Y SU NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (P) PARA CADA VARIABLE EN LOS MODELOS INICIAL Y FINAL. TAMBIEN SE PRESENTAN LAS DIFERENCIAS DEL VALOR DE DESVIANCIA (2 X LOG-LIKELIHOOD) ENTRE MODELOS CON Y SIN CADA VARIABLE (D) Y SU NIVEL DE SIGNIFICACIÓN (P).

	Todas las variables en el modelo				Modelo final			
	S	**P**	**D**	**P**	**S**	**P**	**D**	**P**
1993								
Nº de pies	-0.484	0.033	4.93	0.026	-0.484	0.033	4.93	0.026
Nº de nidos 1992	0.593	0.020	5.67	0.017	0.593	0.020	5.67	0.017
Volúmen de 1993	-0.382	0.000	16.30	0.000	-0.382	0.000	16.30	0.000
Nº piñas 1993	-0.200	0.305	3.92	0.047	-0.200	0.305	3.92	0.047
1994								
Nº de pies	-0.549	0.004	8.82	0.002	-0.558	0.002	9.70	0.001
Nº de nidos 1993	-0.024	0.861	0.03	0.860				
Volúmen de 1994	-0.174	0.002	11.80	0.000	-0.183	0.000	16.68	0.000
Nº piñas 1994	-0.015	0.627	0.24	0.621				
1995								
Nº de pies	-0.228	0.250	1.35	0.244				
Nº de nidos 1994	-0.193	0.389	0.76	0.380				
Volúmen de 1995	-0.121	0.024	6.16	0.013	-0.415	0.005	10.22	0.001
Nº piñas 1995	-0.048	0.385	0.92	0.335				

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que la procesionaria usa como plantas hospedadoras aquellos ejemplares de pino de Alepo de mayor volumen y los que produjeron más piñas el año anterior, resultado que concuerda con el obtenido en otros estudios para *P. pinaster* y *P. insignis*, donde los ejemplares de mayor altura, para las dos especies de pino, recibieron mayor número de puestas de procesionaria (Tiberi 1983). Sin embargo, debido a que el número de piñas esta relacionado con el volumen del pino, en la regresiones logísticas sólo el volumen foliar aparece como determinante de que un pino sea seleccionado o no a lo largo de todo el periodo de estudio.

Son muchos los factores que influyen en la calidad fenotípica que una planta supone para una determinada especie de fitófago. Estos incluyen la calidad nutricional de la planta y la presencia de determinados metabolitos secundarios (Dethier 1954, Ehrlich & Raven 1964, Levins & McArthur 1969, Bernays & Chapman 1994), riesgo de predación asociado con una planta en particular (Bernays & Graham 1988), disponibilidad, no sólo actual sino a lo largo de toda la temporada (Futuyma & Moreno 1988), adecuación del sustrato para soportar el desarrollo de los huevos y la competición con otras especies fitófagas (Fritz 1992), etc. Estos factores pueden afectar la eficacia biológica del fitófago en direcciones opuestas, ya que una planta hospedadora con alta calidad nutricional puede, por ejemplo, suponer un elevado riesgo de depredación o de parasitismo (Mira & Bernays 2002). Por tanto, la selección de hospedadores óptimos debería de tener en cuenta, no sólo los beneficios (alimento que supone), sino también los costos (defensas de la planta, parasitismo, depredación, competencia, etc.). En este trabajo, nos hemos centrado en el estudio de características de los pinos que expliquen la probabilidad de uso por la procesionaria del pino, apareciendo el volumen foliar como la característica que mejor explica la selección de planta. Por tanto, independientemente de las causas que expliquen esta selección, los pinos de mayor volumen foliar deben de ser aquellos donde se optimizan la relación costos beneficios de la selección de pino.

Debido a que los resultados que presentamos son de carácter correlacional, cualquier variable que estuviera relacionada con el volumen foliar podría también explicar

la selección de pinos grandes por parte de la procesionaria. Una posibilidad es que la selección de las hembras de procesionaria esté basada en la detección de los distintos compuestos químicos volátiles que constantemente son emitidos por las acículas, y que estarían dando información sobre la calidad y nivel defensivo de los pinos y que, además, estaría relacionado con el volumen foliar. De acuerdo con esto, nuestros resultados muestran que, dependiendo del año de estudio, varias características de los pinos están relacionadas con la probabilidad de que un ejemplar en concreto sea elegido por la hembra de la procesionaria para depositar los huevos y, por tanto, es posible que los parámetros medidos no sean evaluados directamente por las hembras y que las relaciones encontradas se deban a que las características medidas sean un reflejo indirecto de la calidad de los pinos.

Otra posibilidad que explicaría nuestros resultados es que, en realidad, no existiera selección de planta en esta especie y en estas condiciones, sino que debido a que los pinos de mayor volumen son más fácilmente detectables, estos recibieran más puestas debido a que la probabilidad de que una hembra encuentre un lugar apropiado para la ovoposición (planta) está relacionada con el volumen de la misma. Por tanto, aunque el análisis de regresión logística nos proporciona un modelo predictivo de la probabilidad de parasitismo para distintos fenotipos de pino, el estudio de los beneficios y de los costos que para los adultos signifique una posible selección, es esencial para entender estos resultados desde el punto de vista ecológico y evolutivo.

BIBIOGRAFIA

Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, New York-London.

Bernays, E. A. & Graham, M. (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology* 69: 886-892.

Bigger, D. S. & Fox, L. R. (1997) High density populations of diamond-back moth have broader host plant diets. *Oecologia* 112: 179-186.

Bush, G. L. (1975) Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6: 339-364.

Cipollini, D. F. (1997) Wind-induced mechanical stimulation increases pest resistance in common bean. *Oecologia* 111: 84-90.

Clancy, K. M., Itami, J. K. & Huebner, D. P. (1993) Douglas-fir nutrients and terpenes: potential resistance factors to western spruce budworm defoliation. *Forest Science* 39: 78-94.

Cox, D. R. (1970) *The analysis of binary data*. Methuen, London.

Craig, T. P., Itami, J. K., Price, P. W. (1989) A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology* 70: 1691-1699.

Cronin, J. T. & Abrahamson, W. G. (1999) Host-plant genotype and other herbivores influence goldenrod stem galler preference and performance. *Oecologia* 121: 392-404.

Dethier, V. G. (1954) Evolution of feeding preference in phytophagous insects. *Evolution* 8: 33-54.

Ehrlich, P. R. & Raven, P. H. (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Everitt, B. S. (1992) *The analysis of contingency tables*. Chapman & Hall, London.

Faeth, S. H. (1986) Indirect interactions between temporally separated herbivores mediated by the host plant. *Ecology* 67: 479-494.

Finrenmpong, S. & Zalucki, M. P. (1991) Host-plant selection by *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): the role of some herbivore attributes. *Australian Journal of Zoology* 39: 343-350.

Fox, C. W., Thakar, M. S. & Mousseau, T. A. (1997) Egg size plasticity in a seed beetle: an adaptive maternal effect. *The American Naturalist* 149: 149-163.

Fritz, R. S. (1992) Community structure and species interactions of phytophagous insects on resistant and susceptible host plants. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 240-277. Chicago University Press.

Fritz, R. S. & Simms, E. L. (eds.) (1992) *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.

Futuyma, D. J. & Meyer, G. C. (1980) Nonallopatric speciation in animals. *Systematic Zoology* 29: 254-271.

Futuyma, D. J. & Moreno, G. (1988) The evolution of ecological specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 207-233.

Horner, J. D. & Abrahamson, W. G. (1992) Influence of plant genotype and environment on oviposition preference and offspring survival in a gallmaking herbivore. *Oecologia* 90: 323-332.

Joshi, A. & Thompson, J. N. (1995) Trade-offs and the evolution of host specialization. *Evolutionary Ecology* 9: 82-92.

Karban, R. (1992) Plant variation: its effects on populations of herbivorous insects. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 195-215. Chicago University Press.

Karban, R. & Kittelson, P. M. (1999) Effects of genetic structure on *Lupinus arboreus* and previous herbivory on *Platyprepia virginalis* caterpillars. *Oecologia* 120: 268-273.

Kennedy, G. G. & Barbour, J. D. (1992) Resistance variation in natural and managed systems. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 13-41. Chicago University Press.

Larsson, S. & Strong, D. R. (1992) Oviposition choice and larval survival of *Dasineura marginemtorquens* (Diptera: Cecidomyiidae) on resistant and susceptible *Salix vimnalis*. *Ecological Entomology* 17: 227-232.

Levins, R. & McArthur, R. H. (1969) An hypothesis to explain the incidence of monophagy. *Ecology* 50: 910-911.

Lewis, A. C. (1984) Plant quality and grasshopper feeding: effects of sunflower conditions on preference and performance in *Melanus differentialis*. *Ecology* 65: 836-843.

Maddox, G. D. & Cappuccino, N. (1986) Genetic determination of plant susceptibility to an herbivorous insect depends on environmental context. *Evolution* 40: 863-866.

McMillin, J. D. & Wagner, M. R. (1997) Chronic defoliation impacts pine sawfly (Hymenoptera: Diprionidae) performance and host plant quality. *Oikos* 79: 357-362.

Mira, A. & Bernays, E. A. (2002) Trade-offs in host use by *Manduca sexta*: plant characters vs natural enemies. *Oikos* 97: 387-397.

Mitter, C. B., Farrell, B. & Futuyma, D. J. (1991) Phylogenetic studies of insect-plant interactions: insights into the genesis of diversity. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 200-203.

Moran, N. (1981) Intraspecific variability in herbivore performance and host quality: a field study of *Uroleucon caligatum* (Homoptera: Aphididae) and its *Solidago* hosts (Asteraceae). *Ecological Entomology* 6: 301-306.

Ohgushi, T. (1995) Adaptive behavior produces stability in herbivorous lady beetle populations. En: *Population dynamics* (Eds. N. Cappuccino & P. W. Price), pp : 303-319. Academic Press, San Diego.

Pilson, D. (1992) Insect distribution patterns and the evolution of host use. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 120-139. Chicago University Press.

Preszler, R. W. & Price, P. W. (1995) A test of plant-vigor, plant-stress, and plant-genotype effects on leaf-miner oviposition and performance. *Oikos* 74: 485-492.

Price, P. W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62: 244-251.

Price, P. W. (1994) Phylogenetics constraints, adaptive syndromes, and emergent properties: from individuals to population dynamics. *Research on Population and Ecology* 36: 1-12.

Rausher, M. D. (1979) Larval habitat suitability and oviposition preference in three related butterflies. *Ecology* 27: 503-511.

Rausher, M. D. & Papaj, D. R. (1983) Demographic consequences of discrimination among conspecific host plants by *Battus philenor* butterflies. *Ecology* 64: 1402-1410.

Renwick, J. A. A. & Chew, F. S. (1994) Oviposition behaviour in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39: 377-400.

Rhainds, M., Gries, G. & Morales J. L. (1996) Oviposition deterrency in pineapple borer females, *Thecla basilides* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Ecological Entomology* 21: 105-106.

Ruohomaki, K., Chapin, F. S., Haukioja, E., Neuvonen, S. & Suomela, J. (1996) Delayed inducible resistance in mountain birch in response to fertilization and shade. *Ecology* 77: 2302-2311.

Schoonhoven, L. M., Jermy, T. & Van Loon, J. J. A. (1998) *Insect-Plant Biology. From physiology to evolution*. Chapman & Hall, London.

Schultz, J. C. (1988) Many factors influence the evolution of herbivore diets, but plant chemistry is central. *Ecology* 69: 896-897.

Siegel, S. & Castellan, N. J. Jr. (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2 nd ed. McGraw-Hill, New York.

Singer, M. C. & Parmesan, C. (1993) Sources of variations in patterns of plant insect association. *Nature* 361: 251-253.

Stanton, M. L. (1984) Short-term learning and the searching accuracy of egg-laying butterflies. *Animal Behaviour* 32: 33-40.

Thompson, J. N. (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 47: 3-14.

Thompson, J. N. (1996) Trade-offs in larval performance on normal and novel hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 133-139.

Tiberi, R. (1983) Sulla distribuzione delle ovature di *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in un giovane impianto di *Pinus pinaster* e *P. insignis*. *Redia* 66: 603-614.

Weis, A. E. (1992) Plant variation and the evolution of phenotypic plasticity in herbivore performance. En: *Plant resistance to herbivores and pathogens* (Eds. R. S. Fritz & E. L. Simms), pp: 140-171. Chicago University Press.

III

Needle asymmetry, pine vigour and pine selection by the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa*

Tomás Pérez-Contreras, Juan José Soler & Manuel Soler

Manuscrito enviado a Oecologia

ABSTRACT

Developmental stability reflects the ability of a genotype to control stable development of a specific phenotype under a wide range of environmental conditions. Developmentally unstable phenotypes can be recognized by deviations from bilateral symmetry in bilaterally symmetrical traits. Asymmetry in leaves of plants may influence selection by phytophagous insects if asymmetry reliably reflects phenotypic quality of leaves. We studied the relationship between Aleppo pine (*Pinus halepensis*) asymmetry in needle length, as well as several pine traits, in relation to pine-host selection by the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa*. Needle length of Aleppo pines indicated directional asymmetry. As the hypothesis of developmental stability predicts, relative asymmetry was negatively related to needle length and positively to growth in pine height. Moreover, relative asymmetry proved to be negatively related to limonene concentration, a defensive monoterpene that affects pine selection by adult female moths. In terms of growth, pine variation in needle length can be explained by the increase in volume of the pines, with smaller needles appearing in the pines that most increased their volume and those that least increased their height. Therefore, the pine processionary moths selectively oviposited in the trees with the most asymmetric needles containing the lowest concentration of defensive chemicals. With these results, the two main hypotheses to explain plant selection are discussed.

INTRODUCTION

Female insects which do not provide parental care and produce phytophagous larvae should selectively oviposit on plants having high nutritional content in order to maximise resources for their offspring, thereby increasing the developmental rate and survival of their larvae (Mattson *et al.* 1982, Bernays & Chapman 1994). However, larval survival is also related to the level of food competition with other larvae (Rhainds *et al.* 1996). Several plant characteristics have been suggested to influence plant selection for oviposition: (a) physical traits, such as shape, size, and colour of the host plant (Rausher 1979, Renwick & Chew 1994, Stanton 1984); and (b) chemical factors, probably the principal index of nutrient quality and level of chemical defence in plants (Schultz 1988). Defence mechanisms in plants have been classified into three categories (Strong *et al.* 1984): (i) physical armament (hooks, spines, trichomes, tough leaves); (ii) nutritional quality, such as low levels of available nitrogen, or low water:nitrogen ratios; and (iii) chemical armoury, such as noxious phytochemicals that are unpalatable, repulsive or poisonous, or that interfere with assimilation by insects. Defence levels vary among individuals, and, it has been proposed that developmental stress in plants lowers individual quality and its level of defence against herbivores (Rhoades 1979, Coley *et al.* 1985). Therefore, ovipositing females should select individual plants with low levels of defence in order to maximise the growth, survival and recruitment of their offspring.

Monoterpenes are carbon-based secondary compounds, which play an important role in many plants-herbivore interactions (Litvak & Monson 1998). In conifers, these compounds are stored in networks of resin canals or in individual resin cells throughout the cortical tissue, and in resin canals in the buds, needles, phloem, and xylem (Fahn 1979). Monoterpenes prevent plants from fungal pathogens (Himejima *et al.* 1992, Paine & Hanlon 1994, Krauze-Baranowska *et al.* 2002), but also deter herbivores from feeding and oviposition (Wilkinson 1980, Cates *et al.* 1983, 1987, Cook & Hain 1986, Leather *et al.* 1987, Paine & Stephen 1988, Cates & Zou 1990, Raffa & Klepzing 1992, Snyder 1992, Duncan *et al.* 1994, Raffa & Smalley 1995). In addition, some monoterpenes are directly toxic (Raffa *et al.* 1985, Raffa 1991, Werner 1995), and several authors have shown experimentally that insects reared on foliage with high concentrations of terpenes are of

smaller size and lower fecundity (Cates *et al.* 1983, Redak & Cates 1984, Mattson *et al.* 1991). Therefore, the concentrations of these compounds should be important for females when selecting a host-plant to deposit their eggs.

In general, there are two main hypotheses to explain plant selection for oviposition by female insects. The first one, namely "plant-stress hypothesis" of insect herbivory, suggests that stressed plants are less able to synthesise defensive chemicals, and the reduced defences make plants particularly vulnerable to herbivores (Rhoades 1979, Bultman & Faeth 1987, Louda & Collinge 1992). The second one is the "plant-vigour hypothesis", which suggests that many species of herbivores preferentially feed on vigorous plants or plant modules (Price 1991) because of the quality of nutrients. Developmental stress is relatively easy to detect because most living organisms have symmetric morphological characteristics, and the level of deviation from equality (fluctuating asymmetry) can be used to ascertain developmental stress suffered by an individual (Møller & Pomiankowski 1993). Several studies have shown that fluctuating asymmetry in morphological structures of plants is related to individual quality and health, and ability to overcome developmental stress (Møller 1996a, Sherry & Lord 1996, Møller 1999a, Møller & Shykoff 1999), although other authors have shown that asymmetry does not reflect either environmental stress or individual genetic quality (Andalo *et al.* 2000, Kruuk *et al.* 2003). As a consequence, the level of fluctuating asymmetry of an individual plant would indicate its vigour, and insects may use variation in plant asymmetry as a cue for plant selection to oviposit (Møller & Eriksson 1994, 1995, Møller 1995a, Wiggins 1997). Therefore, according to the first hypothesis of plant selection, females selecting plants for oviposition should choose those plants with a relatively high degree of asymmetry (Møller 1995b) if higher asymmetry reflects a low level of plant defences. However, according to the second hypothesis of plant selection, females can also select plants for oviposition based on the quality of plant nutrients (larger leaves and low fibre content), independently of the level of plant defence. Therefore, they should select plants with low level of fluctuating asymmetry if it reveals phenotypic quality of plants.

The aims of the present study are: (1) to analyse the relationship between needle asymmetry in the Aleppo pine (*Pinus halepensis* Miller) and several pine traits related to individual vigour, such as needle length, height and diameter of the tree, volume, growth

rate, and pine-cone production, but also related to the chemical composition of essential oils of needles; (2) to investigate host selection by the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* Den. & Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) in relation to pine-vigour and chemical characteristics of leaves; (3) to assess experimentally pine selection by the processionary moth according to the attack history of individual trees; and (4) to analyse the influence of the experimentally removed nests of processionary larvae on pine characteristics and condition, in particular those that could affect pine selection by the processionary moth (pine-vigour characteristics and needle asymmetry).

MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE

The field study was conducted in a pine plantation located in the high-altitude plateau Hoya de Guadix (37°18'N, 3°11'W), Spain, approximately 1000 m above sea level with a semi-arid climate. The annual precipitation of this area is less than 300 l/m^2, with long winters, absolute minimal temperatures below 0°C, and long, hot summers.

STUDY SPECIES

Aleppo pine is widespread in central and southern Europe (Garms & Eigener 1977), growing in sunny and dry hillsides, from sea level to about 1,600 m a.s.l. in southern Spain. This species is drought resistant and able to grow in extremely poor soils (López-González 1982), and it is commonly used for reforestation in Spain, being the predominant species of pine in our study area. Aleppo pines maintain their needles for a couple of years. Cones, produced between March and May, mature in about two years, seeds being released the following spring (López-González 1982).

The pine processionary moth, a highly gregarious species distributed throughout southern Europe, is the principal defoliator of pines in the Mediterranean region (Devkota

& Schmidt 1990). In adults, the period of flight and egg-laying, although depending on factors such as weather and altitude, is usually from May to October (Douma-Petridou 1989). Each female lays only one egg mass on one or two pine needles that are covered with scale-like hairs. The processionary eggs do not enter diapause and hatch after 5-6 weeks (Schmidt 1989). Larval development involves five instars and, although they move around the pine feeding on needles, they build a silk nest where all the larvae from the same clutch stay when not feeding (Douma-Petridou 1989). During the first two instars, larvae feed on needle epidermis and parts of the parenchyma, but during the last three instars they feed on the whole needle (Douma-Petridou 1989), being capable of complete defoliation of vast areas of pine forest (Devkota & Schmidt 1990). After larval development (between February and April), the larvae leave the nest in a procession and search for a suitable underground pupation site. The pupal diapause varies from a few months to 1-2 years (Schmidt 1989).

FIELD AND EXPERIMENTAL PROCEDURES

In a pest-control campaign, the Environmental Agency of Andalusia (Agencia de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía) removed all processionary nests from pines by cutting (and subsequently burning) all branches harbouring nests with larvae at the penultimate instar. This treatment was applied only in the forest area close to a road, thereby, leaving both treated and untreated pines in the same forest.

We randomly chose 60 pines (20 infested pines, 20 naturally uninfested pines, and 20 experimentally uninfested pines) in the boundary between treated and untreated pines. During the winter of 1994, we recorded the following parameters for all 60 pines: height, using a tape measure (accuracy = 1 mm), and maximum perimeter of the green zone, with a cloth tape measure (accuracy = 1 cm). With these data, we calculated pine volume or foliar volume using the ellipsoid formula $4/3\pi ab^2$, where "a" is the major radius, corresponding to the height of the pine (height / 2), because the branches were in contact with the ground, and "b" is the minor radius, calculated as the maximum perimeter of the green zone / 2π. We also recorded pine-cone production, as the number of cones from the previous year.

Finally, we counted the processionary moth clutches per pine based on a detailed inspection of each tree (all pines were small -- height < 4 m.). One year later, we re-measured the same parameters, to estimate pine growth in height and volume. We estimated "relative growth" as absolute growth divided by absolute value of the variable in the previous year.

MEASUREMENT OF NEEDLE ASYMMETRY

In August 1994, 30 pairs of new needles were randomly collected from each of the 60 pines. The external needle was considered the one that wrapped around the other (internal) needle. To measure needle length, both internal and external needles were placed between two glass slides in a groove with variable width where we forced the needles to maintain a straight position. Each needle was measured twice using a digital calliper (Mitutoyo, accuracy = 0.01 mm). The repeatability (Becker 1984) of length measurements and asymmetry was very high (external needles: $r = 0.99$, F= 1422830.0, df= 59,60, $p < 0.001$; internal needles: $r = 0.99$, F= 1071693.0, df= 59,60, $p < 0.001$; absolute asymmetry: $r = 0.95$, F = 48.849, df= 59,60, $p < 0.001$), implying a low measurement error.

Asymmetry of needle pairs was simply the external-minus the internal needle length, while the length of needle pairs was the mean of external and internal needle length. Asymmetry value for each pine was estimated as the mean values of the asymmetry of its 30 pairs of needles, thereby avoiding pseudo-replication. Needle length of pines showed directional asymmetry (see Results) and, in order to calculate deviation values from the mean asymmetry of the pine population (60 pines) for each pine, we subtracted the mean population asymmetry from the asymmetry estimated for each pine. This gave a normal distribution with a mean value of zero (requirement for fluctuating asymmetry), and therefore deviation from the mean population value can be used as a fluctuating-asymmetry value (Møller & Swaddle 1997, Graham *et al.* 1998). We used these deviation values from mean asymmetry divided by the length of the leaves, as the relative asymmetry value for each pine.

To study the composition of essential oils, in March 1999 we made a random sample of 40 couples of needles from 40 different pines of the study area. We also

quantified the number of processionary clutches presented as well as the needle asymmetry of each pine as explained above.

ANALYSIS OF ESSENTIAL OILS

The essential oils present in leaves were estimated using the technical GC-MSms through a gas chromatograph CARLO ERBA series 8000 model 8060 (Thermo Instruments) connected to a mass detector PLATFORM II (micromass instruments). From each pine, 2 µl of oil were injected in way splitless, using a capillary column HP-5MS (Agilent Technologies) and temperature gradient: 50°C (2 min) up to 250°C (4 min) to 4°C/min. The chromatogram was made using a reporting integrator, and the composition was recorded as the percentage of area. The chemical constituents of each extract were identified based on a comparison of their retention times and mass spectra with respect to samples from the Wiley Library Spectra.

STATISTICAL PROCEDURES

To achieve approximately normal distributions, we transformed all variables before analysis -- that is, relative growth in height and relative growth in volume were transformed by the formula log (x + 0.03), while needle length and relative asymmetry were log transformed. After these transformations, none of the distributions differed significantly from normal distributions (Kolmogorov-Smirnov, $P > 0.2$), and parametric tests were applied (Sokal & Rohlf 1995). However, we were unable to normalize the distribution of number of cones produced, and we therefore used non-parametric tests when using this variable in the analyses (Siegel & Castellan 1988).

A logistic regression analysis (Everitt 1992) was used to determine which traits of the pine affected the probability of being selected by the processionary for oviposition. Using the maximum-likelihood method (Cox 1970), we began by using the independent variable that best explained the independent one; next, we examined the effect of including each of the remaining variables, considering the statistical significance of the difference in

deviance (-2 log-likelihood) between models including and excluding the tested variable. The final model was identified when none of the variables in the model significantly decreased the deviance.

All statistical tests were two-tailed and values are mean ± SE.

RESULTS

ASYMMETRY IN NEEDLES AND PINE

As the variations in the needle length and in asymmetry within the pine were lower than variations between different pines (ANOVA; needle length: $F = 57.39$, $df = 38, 1521$, $P < 0.0001$, and asymmetry: $F = 2.06$, $df = 38, 1521$, $P < 0.001$), for the later analyses we used the average needle length and the average asymmetry per pine.

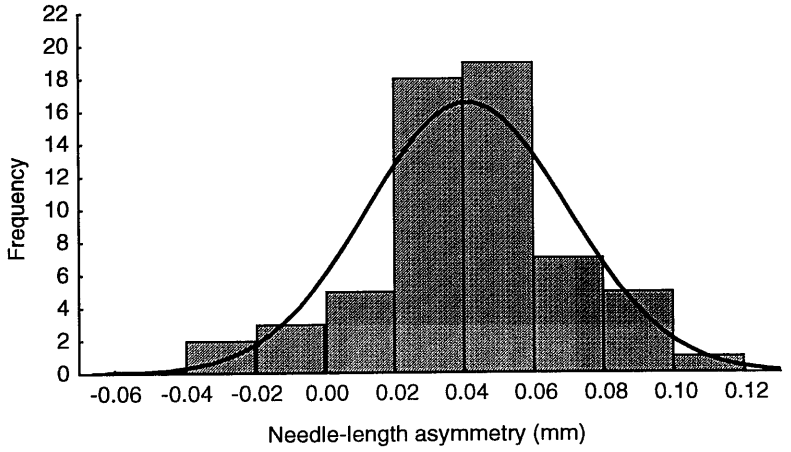

FIGURE 1. FREQUENCY DISTRIBUTION OF MEAN ASYMMETRY (EXTERNAL MINUS INTERNAL NEEDLE LENGTH) IN *PINUS HALEPENSIS* NEEDLE LENGTH.

Needle length showed directional asymmetry, the external needles being significantly longer than the internal needles (paired *t*-test, t = 11.00, df = 59, P < 0.0001). Moreover, differences between external and internal needles were distributed normally (Kolmogorov-Smirnov tests, P > 0.20) (Fig. 1). Therefore, to estimate developmental instability, we subtracted the asymmetry value from each tree to the mean population asymmetry in needless, thereby obtaining a normal distribution with zero as the mean value. We used these differences divided by needle length in the subsequent analyses as a value of the tree's relative asymmetry (see Methods).

Relative asymmetry proved to be negatively related to needle length (r = -0.367, N = 60, P = 0.004; Fig. 2), as predicted if large needles reflect high phenotypic quality, the largest leaves deviating the least from the mean population asymmetry.

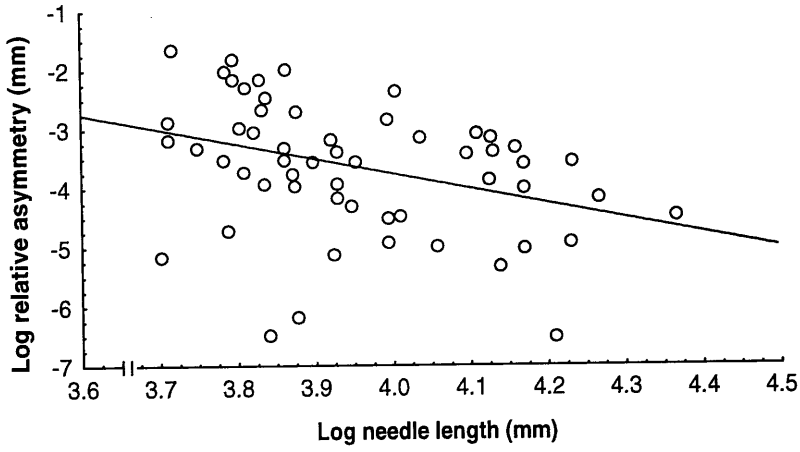

FIGURE 2. THE RELATIONSHIP BETWEEN LOG NEEDLE LENGTH AND LOG RELATIVE ASYMMETRY IN NEEDLE LENGTH ((ABSOLUTE VALUE OF ASYMMETRY – MEAN POPULATION VALUE OF ASYMMETRY) / NEEDLE LENGTH) OF *P. HALEPENSIS* TREES. THE LINE IS THE REGRESSION LINE Y = -1.248-0.0451X.

ASYMMETRY AND PINE VIGOUR

In a forward stepwise multiple regression analysis (F value to enter the model > 3.0), relative asymmetry of needle length (dependent variable) was positively related to growth

in pine height, and negatively to needle length (Multiple regression; R = 0.46, F = 7.82, df = 2, 57, P = 0.021; relative growth in height: Partial R = 0.31, P = 0.019, needle length: Partial R = -0.42, P = 0.0007) but, pine volume and pine height did not enter the regression model. However, needle length was positively related to pine volume (R = 0.54, t = 4.90, df = 59, P = 0.000008) and pine height (R = 0.49, t = 4.31, df = 59, P = 0.00006), but negatively to pine growth in volume (R = - 0.34, t = 2.73, df = 59, P = 0.008), even after Bonferroni correction. Thus, because the increase in needle volume and quality (needle length) showed a negative correlation (see above), those traits related to pine vigour (see Introduction) are likely to be involved in a trade-off. In addition, a relatively large increase in volume and/or height appeared to result in a relative decrease in available resources for new needle formation (stress) and therefore more pronounced needle asymmetry. In terms of herbivory, the vigour of the pine should be related to the vigour of its needles (Clancy *et al.* 1995), regardless of the ability of the pine to enlarge its volume. Therefore, the degree of needle asymmetry probably reflects pine vigour with respect to the processionary moth.

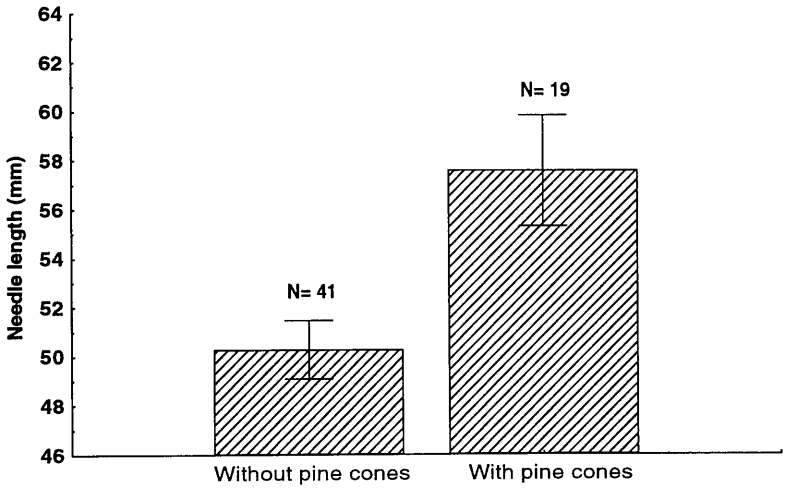

FIGURE 3. MEAN NEEDLE LENGTH (± SE) IN PINE TREES THAT PRODUCED AND DID NOT PRODUCE PINE CONES.

Another parameter of pine vigour is the production of pine cones, since it should be expected that individuals of low vigour invest less in reproduction than do individuals of high vigour. In support of this expectation, pines that produced cones had significantly longer needles than did pines that did not produce cones (Fig. 3, *t*-test; t = - 3.14, df = 58, P

= 0.002). Moreover, pines that produced cones had more symmetric needles (-3.91 ± 0.22) than did pines without cones (-3.48 ± 0.18), although the difference did not reach statistical significance (*t*-test; t = 1.40, df = 58, P = 0.166).

ESSENTIAL OIL COMPOUNDS AND NEEDLE ASYMMETRY

In the pine-needle samples, 31 compounds were identified (Table 1), among which germacrene-D, trans-caryophyllene, alpha-humulene and the beta-pinene appeared in the greatest number of samples. Also, except for alpha-humulene, these compounds appeared with greatest abundance in all pines analysed.

TABLE 1. VOLATILE COMPOUNDS DETECTED IN THE NEEDLE PINE SAMPLES. ONLY APPEAR REPRESENTED THOSE COMPOUNDS PRESENT IN MORE OF 10 % OF THE ANALYZED PINES. ABUNDANCE IS THE AVERAGE PROPORTION RELATIVE OF EACH COMPOUND (± SE).

Compounds	% Presence	Abundance
Alpha-pinene	15.78	4.75 (1.32)
Beta-pinene	42.10	16.51 (3.28)
Limonene	21.05	1.75 (0.21)
L-alpha-terpineol	15.78	7.13 (3.61)
(-) – alpha-terpineol	13.15	1.44 (0.17)
Linalyl acetate	28.94	11.75 (2.40)
Bornyl acetate	15.78	5.77 (3.72)
1-P-menthen-8-YL acetate	13.15	12.45 (3.47)
Alpha-terpinenyl acetate	21.05	8.27 (1.73)
Beta-bourbonene	39.47	1.98 (0.24)
Beta-caryophyllene	34.21	10.34 (3.01)
Trans-caryophyllene	65.78	22.32 (2.91)
Alpha-humulene	63.15	8.98 (3.56)
Phenylethyl isovalerate	28.94	12.55 (2.83)
Germacrene-D	78.94	37.95 (4.24)
Cis-alpha-bisabolene	39.47	2.58 (0.45)
Junipercamphor	10.52	2.92 (0.89)
Octadiol	21.05	16.41 (7.55)
Octadien	15.78	1.43 (0.28)
Hexadecene	15.78	1.92 (0.23)
Aromadendrene	26.31	14.07 (4.28)

In a forward stepwise multiple regression analysis (F value to enter the model > 3.0), relative asymmetry of needle length (dependent variable) was negatively related to limonene (Multiple Regression; R = -0.40, F = 7.05, df = 1, 36, P = 0.011) but none of the other compounds entered the regression model. On the other hand, needle length was

positively related only to beta-pinene (Multiple Regression; R = 0.44, F = 8.66, df = 1, 36, P = 0.005).

PINE-HOST SELECTION FOR OVIPOSITION BY THE PROCESSIONARY MOTH

A logistic regression analysis showed that the probability of a pine being selected by the processionary moth correlated positively with its relative growth in height (χ^2 = 8.46, df = 2, P = 0.014) and negatively with its relative growth in volume (difference in deviance with the previous model = 5.88, P = 0.015; Logistic regression using these two variables; χ^2 = 13.82, df = 2, P = 0.001). Neither needle length nor relative asymmetry improved the previous model (needle length, difference in deviance = 1.30; P = 0.26; relative asymmetry, difference in deviance = 1.67; P = 0.20). Since variation in needle length was related to relative growth in height and volume (see above), its effect on processionary moths selecting pines could be hidden by the other two variables in the logistic model. Accordingly, needle length significantly improved the model when only relative growth in height was used (χ^2 = 12.04, df = 2, P = 0.0024; difference in deviance = 4.11, P = 0.04). Thus, selection by the processionary could be based directly on the length of pine needles -- the food for the larvae. Moreover, the probability of an uninfested pine being infested the following year increased for individuals having new needles that were long (Logistic regression χ^2 = 5.95, df = 2, P = 0.017) and asymmetric (Logistic regression using both variables, χ^2 = 11.70, df = 2, P = 0.002, difference in deviance with the previous model = 5.75, P = 0.017).

Moreover, the number of clutches of processionary moth (dependent variable) was positively related to relative asymmetry, and to needle length (Multiple Regression; R = 0.52, F = 6.54, df = 2, 35, P = 0.004; relative asymmetry: Partial R = 0.43, P = 0.008, needle length: Partial R = 0.35, P = 0.020). These results suggest that processionary moths select pines having rapid growth in height and long, asymmetric needles for oviposition.

EXPERIMENTAL REMOVAL OF PROCESSIONARY NESTS FROM INFESTED HOSTS IN RELATION TO PINE-HOST SELECTION BY THE MOTH THE FOLLOWING YEAR

The percentage of pines attacked by the processionary moth during the year after the experiment differed significantly among treatments (infested, uninfested and experimentally uninfested pines; sample size for all three groups = 20; $\chi^2 = 7.21$, df = 2, P = 0.028). Experimental pines showed the greatest percentage of attack (65%), while naturally infested or uninfected pines showed a similarly low attack rate (35% and 25%, respectively; $\chi^2 = 0.48$, df = 1, P = 0.49).

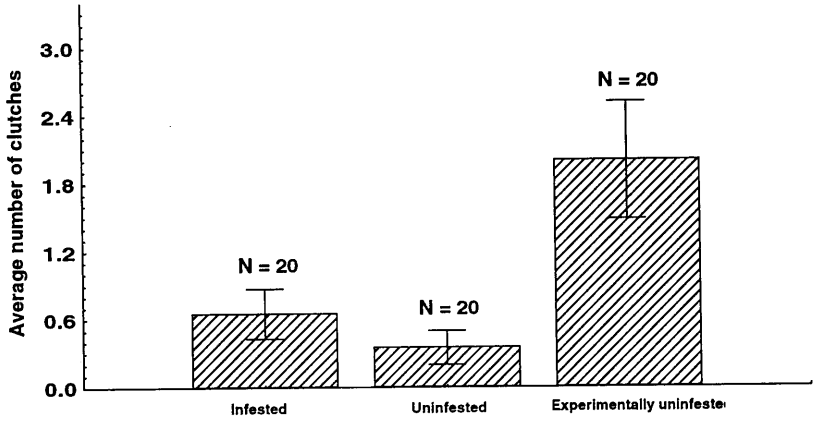

FIGURE 4. AVERAGE NUMBER OF PROCESSIONARY-MOTH CLUTCHES (± SE) RECEIVED BY INFESTED, UNINFESTED AND EXPERIMENTALLY UNINFESTED PINES THE YEAR AFTER THE TREATMENT.

Experimentally uninfested, naturally infested and naturally uninfested pines received different numbers of processionary-moth clutches in the subsequent year (Kruskal-Wallis ANOVA test; H(2, N = 60) = 10.029, P = 0.006; Fig. 4), experimentally uninfested pines receiving the greatest number of clutches (experimentally uninfested vs infested, Mann-Whitney U-test; Z = -2.01, n_1 and n_2 = 20, P = 0.043; experimentally uninfested vs naturally uninfested, Mann-Whitney U-test; Z = -2.69, n_1 and n_2 = 20, P = 0.007). Differences between the number of clutches received by naturally uninfested and infested pines proved non-significant (Mann-Whitney U-test; Z = -0.71, n_1 and n_2 = 20, P = 0.473). Therefore, the treatment apparently affected pine choice by the processionary moth.

EXPERIMENTAL REMOVAL OF PROCESSIONARY NESTS FROM INFESTED HOSTS IN RELATION TO PINE CHARACTERISTICS AND CONDITION

After experimental removal of pine processionary-larvae nests, infested pines grew less in volume than did naturally uninfested pines (Table 2). Moreover, the experimentally uninfested group had the longest needles and lowest value of relative needle-asymmetry (Table 2). These two variables (needle length and asymmetry) were related to pine-host selection for oviposition by the processionary moth, and therefore, the experimental treatment probably altered both susceptibility to infestation and the condition of the trees the following year. Moreover, experimentally uninfested pines suffered a significant reduction of cone production compared with production before the experiment (Table 2, Wilcoxon test; Z= 2.48, n= 20, p= 0.013).

TABLE 2. DIFFERENCES IN GROWTH, NEEDLE LENGTH, RELATIVE ASYMMETRY AND PINE CONE PRODUCTION BETWEEN INFESTED, UNINFESTED AND EXPERIMENTALLY UNINFESTED PINES THE YEAR AFTER THE TREATMENT, VALUES ARE MEANS (SE). FOR MEAN COMPARISONS BETWEEN GROUPS, A ONE-WAY ANOVA TEST AND A KRUSKAL-WALLIS ANOVA TEST WERE USED. WHEN COMPARISONS WERE BETWEEN TWO VARIABLES A POST-HOC (LSD TEST) AND A MANN-WHITNEY U-TEST WERE USED.

	Infested(1)	Uninfested(2)	Treated(3)	Differences	1-2	2-3	1-3
Relative growth in heigh	-2.45(0.16)	-2.89(0.22)	-2.5(0.15)	F= 4.53, *	**	*	ns
Relative growth in volume	-1.45(0.06)	-1.29(0.16)	-1.64(0.09)	F= 2.05, ns	ns	*	ns
Needle length	50.15(1.45)	46.13(0.81)	61.54(1.75)	F= 32.67, ***	*	***	***
Relative asymmetry	-3.13(0.19)	-3.48(0.27)	-4.24(0.22)	F= 6.08, **	ns	*	**
Number of cones produced (1992)	2.25(1.26)	0.30(0.25)	10.25(3.32)	H= 18.62, ***	ns	***	**
Number of cones produced (1993)	0.85(0.49)	0.45(0.32)	4.60(1.78)	H= 17.57, ***	ns	**	**

DISCUSSION

ASYMMETRY IN NEEDLES AND PINE QUALITY

In the present study, needle length in the Aleppo pine clearly revealed directional asymmetry, as the external needle was longer than the internal one in almost all pines (Fig. 1). Although some authors contend that only fluctuating asymmetry reflects developmental instability (Palmer & Strobeck 1986, Palmer 1994), others suggest that directional asymmetry and anti-symmetry could also reflect such instability (Graham *et al.* 1993, 1998). Consequently, careful consideration is necessary to decide whether the deviations are appropriate measures of developmental instability (Møller 1994, Kraak 1997), even when studying fluctuating asymmetry (Leung & Forbes 1997). Directional asymmetry can also be considered a measure of developmental stability in the same way as fluctuating asymmetry, because deviations from the norm (mean population value of asymmetry) indicate poor performance, and characters reflecting the smallest degree of directional asymmetry have been subject to the largest degree of stress (Møller & Swaddle 1997).

Needle relative asymmetry was inversely correlated with needle length. Individuals of better quality can produce longer needles and counteract possible stress during needle development, thereby producing long, symmetric leaves. Several papers have demonstrated a relationship between symmetry and fitness components such as growth, fecundity and survival in a variety of organisms including both plants and animals (Watson & Thornhill 1994, Møller 1996b, 1997, 1999b, Møller & Swaddle 1997). In plants, for example, it has been shown that leaf symmetry is a good predictor of growth performance (Bagchi *et al.* 1989), fecundity and abortion rates (Díaz *et al.* 2003), or that trees under different pest management may be distinguished based on morphological characters of leaves, including leaf asymmetry (Ruano *et al.* 2003). For the Aleppo pine, we have shown that individuals with long and symmetric needles are those with slow growth rates in volume, but rapid growth rates in height. The number of needles produced during a season for an individual pine is related to the number of sprouting buds, and few sprouting buds (related to individual pine volume) result in a low volumetric pine growth rate for the tree, but more resources per needle, and therefore longer needles compared with trees having a larger number of buds.

In some species of trees, the greatest degree of asymmetry occurs in the largest leaves (Møller 1995a, Møller & Eriksson 1994, Møller & de Lope 1998, Martel *et al.* 1999), perhaps because large traits are more costly to produce, and plants developing large

leaves may therefore undergo more developmental problems than do plants producing small, less costly leaves (Møller 1995b). In the Aleppo pine, the largest degree of relative asymmetry occurred in the smallest needles. Therefore, it appears that symmetric leaves in the Aleppo pine reliably reveal plant vigour, given that trees with larger needles produce more symmetric leaves despite the large size (see argument for flowers in Møller, 1995a).

PINE SELECTION BY THE PROCESSIONARY MOTH

Insects feeding on conifers require nitrogen, sugars, and minerals for growth and reproduction (Mattson 1980, Mattson & Scriber 1987, Clancy 1992). Plant moisture has been emphasised to be a key factor for predicting performance in herbivorous insects (Mattson & Scriber 1987). Moreover, variation in host selection and subsequent herbivore performance on plants and tissues of different ages may be associated with ontogenetic and phenological changes in the levels of nitrogen, minerals, sugars and water content, and also with the level of chemical defence (Clancy *et al.* 1995). Insects feeding on plants with low foliage moisture content reportedly have reduced efficiency using plant biomass, energy and nitrogen and therefore slower growth (Scriber 1977, 1984). The processionary moth selected pines with faster growth in height and slower growth in volume, which are not necessarily the largest pines. We have also shown that the probability of infestation by the processionary moth for an uninfested pine in a previous year increases when the individual pine has long, asymmetric leaves.

In general, leaf size is directly related to the water content and nutrient quality in leaves, and environmental stress is one of the main factors determining nutrient level in plant tissues (Clancy *et al.* 1995). Since foraging processionary caterpillars usually do not move from the pine where the eggs were laid, females should select pines with large needles in order to provide the offspring with the best available source of food. Moreover, C-based secondary compounds are usually negatively related to the water status of plants (Mattson & Scriber 1987) and, therefore, long leaves may contain less defensive substances than do short leaves. We have found that large leaves contain great proportion of beta-pinene, a monoterpene that is present in great proportion in the resin of other species of pine susceptible of attack of processionary (Tiberi *et al.* 1999). Moreover, in agreement

with leave length being important for host selection in processionary pine, experimental removal of processionary nests from infested trees accelerated the growth rate in height and needle size, promoting a preferential selection for those experimentally treated pines the following year.

The second variable explaining pine selection is level of leaf asymmetry of pines. This agrees with the idea that the level of leaf asymmetry reflects the level of plant defence (Møller 1995b) and therefore, for oviposition, females should select plants with a high level of asymmetry ("plant-stress hypothesis", see Introduction). However, asymmetry *per se* cannot define leaf quality for an herbivore, making it necessary to determine the biochemical compounds which covary with the degree of asymmetry (Lempa *et al.* 2000). Here, we found that pines with more asymmetric needles have less limonene, a component that has previously been shown to repel pine selection by the processionary moth (Tiberi *et al.* 1999). Therefore, a direct and negative link between levels of plant defence and level of leaf asymmetry is detected, implying that the moth could estimate the level of plant defence on the basis of leaf asymmetry.

Finally, experimental removal of processionary nests from infested pines resulted in greater needle length and less pine volume the following year. Furthermore, processionary females oviposited on the experimental pines according to needles length and asymmetry.. Many plant species have considerable capacity to resprout after herbivore attack (Coley 1983, Coley *et al.* 1985). New shoots may be more vigorous and bear leaves that grow larger than those that were removed, making resources more attractive to subsequent herbivore attack (Price 1991). Therefore, processionary moth infestation of a pine could determine the characteristics that the plant will have the following year, thereby affecting the likelihood of processionary moth selection of the same pine the following year.

In conclusion, because uninfested pines with long, asymmetric needles are likely to be infested the next year, our results support the two main hypotheses explaining plant selection for oviposition. That is, female processionaries preferred pines (1) with a rapid growth rate in height, which were those with the longest needles ("plant-vigour hypothesis", Price 1991), and (2) after we controlled for those variables, females selected

pines with a high degree of needle asymmetry ("plant-stress hypothesis"), presumably because of its negative relationship with chemical defensive compounds detected here.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank P. Jordano, A.P. Møller and D.A. Wiggins for valuable comments on previous drafts of the manuscript. Funds were provided by the Commission of the European Communities (SCI*-CT92-0772) to MS, by the Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnologia (BOS 2001-1947-CO2-01) to JJS and TPC and a grant from the Research group "Comportamiento y Ecología Animal" from the University of Granada (Spain) to TPC.

REFERENCES

Andalo, C., Bazin, A. & Shykoff, J. A. (2000) Is there a genetic basis for fluctuating asymmetry and does it predict fitness in the plant *Lotus corniculatus* grown in different environmental conditions? *International Journal of Plant Sciences* 16: 213-220.

Bagchi, S. K., Sharma, V. P. & Gupta, P. K. (1989) Developmental instability in leaves of *Tectonia grandis*. *Silvae Genetica* 38: 1-6.

Becker, W. A. (1984) *Manual of quantitative genetics*. Academic Enterprises, Pullman, Washington.

Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall, Nueva York.

Bultman, T. L. & Faeth, S. H. (1987) Impact of irrigation and experimental drought stress on leaf-mining insects of Emory oak. *Oikos* 48: 5-10.

Cates, R. G. & Zou, J. (1990) Douglas-fir (*Psudotsuga menziesii*) population variation in terpene chemistry and its role in budworm (*Choristoneura occidentalis* Freeman) dynamics. En *Population dynamics of forests insects* (Eds. A. D. Watt, S. R. Leather, M. D. Hunter & N. A. C. Kidd), pp: 169-182. Intercept, Andover, UK.

Cates, R. G., Redak, R. & Henderson, C. (1983) Patterns in defensive natural product chemistry: Douglas-fir and western spruce budworm interactions. En: *Plant resistance to insects* (Ed. P. A. Hedin), pp: 1-19. Symposium Series 208. American Chemical Society, Columbus, Ohio.

Cates, R. G., Henderson, C. & Redak, R. (1987) Responses of the western spruce budworm to varying levels of nitrogen and terpenes. *Oecologia* 73: 312-316.

Clancy, K. M. (1992) The role of sugars in western spruce budworm nutritional ecology. *Ecological Entomology* 17: 189-197.

Clancy, K. M., Wagner, M. R. & Reich, P. B. (1995) Ecophysiology and insect herbivory. En: *Ecophysiology of coniferous forests* (Eds. W. K. Smith & T. M. Hinckley), pp: 125-180. Academic Press, San Diego.

Coley, P. D. (1983) Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53: 209-233.

Coley, P. D., Bryant, J. P. & Chapin III, F. S. (1985) Resource availability and plant anti-herbivore defense. *Science* 230: 895-899.

Cook, S. P. & Hain, F. P. (1986) Defensive mechanisms of loblolly and shortleaf pine against attack by southern pine beetle, *Dendroctonus frontalis* Zimmerman, and its fungal associate, *Ceratocystis minor* (Hedgecock) Hunt. *Journal of Chemical Ecology* 12: 1397-1406.

Cox, D. R. (1970) *The analysis of binary data*. Methuen, London.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Díaz, M., Møller, A. P. & Pulido, F. J. (2003) Fruit abortion, developmental selection and developmental stability in *Quercus ilex*. *Oecologia* 135: 378-385.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Duncan, A. J., Hartley, S. E. & Iason, G. R. (1994) The effect of monoterpene concentrations in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) on the browsing behavior of red deer (*Cervus elaphus*). *Canadian Journal of Zoology* 72: 1715-1720.

Everitt, B. S. (1992) *The analysis of contingency tables*. Chapman & Hall, London.

Fahn, A. (1979) *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London.

Garms, H. & Eigener, W. (1977) *Plantas y animales de España y Europa*. Universidad de Navarra, S. A. Barañain-Pamplona, España.

Graham, J. H., Freeman, D. C. & Emlen, J. M. (1993) Antisymmetry, directional asymmetry, and dynamic morphogenesis. *Genetica* 89: 121-137.

Graham, J. H., Emlen, J. M., Freeman, D. C., Leamy, L. J. & Kieser, J. A. (1998) Directional asymmetry and the measurement of developmental instability. *Biological Journal of the Linnean Society* 64: 1-16.

Himejima, M., Hobson, K. R., Otsuka, K., Wood, D. L. & Kubo, I. (1992) Antimicrobial terpenes from oleoresin of ponderosa pine tree *Pinus ponderosa*: a defense mechanism against microbial invasion. *Journal of Chemical Ecology* 18: 1809-1818.

Kraak, S. B. M. (1997) Fluctuating around directional asymmetry? *Trends in Ecology and Evolution* 12: 230.

Krauze-Baranowska, M., Mardarowicz, M., Wiwart, M., Poblocka, L. & Dynowska, M. (2002) Antifungal activity of the esential oils from some species of the genus *Pinus*. *Z. Naturforsch* 57c: 478-482.

Kruuk, L. E. B., Slate, J., Pemberton, J. M. & Clutton-Brock, T. H. (2003) Fluctuating asymmetry in a secondary sexual trait: no associations with individual fitness, environmental stress or inbreeding, and no heritability. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 101-113.

Leather, S. R., Watt, A. D. & Forrest, G. I. (1987) Insect-induced chemical changes in young lodgepole pinus (*Pinus contorta*): the effect of previous defoliation on oviposition, growth and survival of the pine beauty moth, *Panolis flammea*. *Ecological Entomology* 12: 275-281.

Lempa, K., Martel, J., Koricheva, J., Haukioja, E., Ossipov, V., Ossipova, S. & Pihlaja, K. (2000) Covariation of fluctuating asymmetry, herbivory and chemistry during birch leaf expansion. *Oecologia* 122: 354-360.

Leung, B. & Forbes, M. R. (1997) Modelling fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness. *Oikos* 78: 397-405.

Litvak, M. E. & Monson, R. K. (1998) Patterns of induced and constitutive monoterpene production in conifer needles in relation to insect herbivory. *Oecologia* 114: 531-540.

López-González, G. (1982) *La Guía de Incafo de los árboles y arbustos de la Península Ibérica*. Incafo, S.A. Madrid.

Louda, S. M. & Collinge, S. K. (1992) Plant resistance and insect herbivores: a field test of the environmental stress hypothesis. *Ecology* 73: 153-169.

Martel, J. Lempa, K. & Haukioja, E. (1999) Effects of stress and rapid growth on fluctuating asymmetry and insect damage in birch leaves. *Oikos* 86: 208-216.

Mattson, W. J. (1980) Herbivore in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 119-161.

Mattson, W. J. & Scriber, J. M. (1987) Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. En: *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates* (Eds. F. Jr. Slansky & J. G. Rodriguez), pp: 105-146. John Wiley, New York.

Mattson, W. J., Lorimer, N. & Leary, R. A. (1982) Role of plant variability (trait vector dynamics and diversity) in plant/herbivore interactions. En: *Resistance to diseases and pests in forest trees* (Eds. H. M. Heybroek, B. R. Stephan & K. von Weissenberg), pp: 295-303. Pudoc, Wagenigen, The Nederlands.

Mattson, J. W., Haack, R. A., Lawrence, K. & Slocum, S. S. (1991) Considering the nutritional ecology of the spruce budworm in its management. *Forest Ecology and Management* 39: 183-210.

Møller, A. P. (1994) Directional selection on directional asymmetry : testes size and secondary sexual characters in birds. *Proceedings of the Royal Society of London* B 258 : 147-151.

Møller, A. P. (1995a) Bumblebee preference for symmetrical flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 2288-2292.

Møller, A. P. (1995b) Leaf-mining insects and fluctuating asymmetry in elm *Ulmus glabra* leaves. *Journal of Animal Ecology* 64: 697-707.

Møller, A. P. (1996a) Developmental stability of flowers, embryo abortion, and developmental selection in plants. *Proceedings of the Royal Society of London* B 263: 53-56.

Møller, A. P. (1996b) Parasitism and developmental instability of hosts : a review. *Oikos* 77: 189-196.

Møller, A. P. (1997) Developmental stability and fitness : a review. *The American Naturalist* 149: 916-932.

Møller, A. P. (1999a) Elm, *Ulmus glabra*, leaf asymmetry and Dutch elm disease. *Oikos* 85: 109-116.

Møller, A. P. (1999b) Asymmetry as a predictor of growth, fecundity and survival. *Ecology Letters* 2: 149-156.

Møller, A. P. & Pomiankowski, A. (1993) Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Genetica* 89: 267-279.

Møller, A. P. & Eriksson, M. (1994) Patterns of fluctuating asymmetry in flowers : implications for sexual selection in plants. *Journal of Evolutionary Biology* 7: 97-113.

Møller, A. P. & Eriksson, M. (1995) Pollinator preference for symmetrical flowers and sexual selection in plants. *Oikos* 73: 15-22.

Møller, A. P. & Swaddle, J. P. (1997) *Asymmetry, developmental stability, and evolution.* Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press, Oxford.

Møller, A. P. & de Lope, F. (1998) Herbivory affects developmental instability of stone oak, *Quercus rotundifolia. Oikos* 82: 246-252.

Møller, A. P. & Shykoff, J. A. (1999) Morphological developmental stability in plants: patterns and causes. *International Journal of Plant Sciences* 160: S135-S146.

Paine, T. D. & Hanlon, C. C. (1994) Influence of oleoresin constituents from *Pinus ponderosa* and *Pinus jeffrey* on growth of mycangial fungi from *Dendroctonus ponderosae* and *Dendroctonus jeffreyi. Journal of Chemical Ecology* 20: 2551-2563.

Paine, T. D. & Stephen, F. M. (1988) Induced defenses of loblolly pinus, *Pinus taeda*: potential impact on *Dendroctonus frontalis* within-tree mortality. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 46: 39-46.

Palmer, A. R. (1994) Fluctuating asymmetry analyses: a primer. En: *Developmental instability: its origins and evolutionary implications* (Ed. T. Markow), pp: 355-364. Kluwer, Dordrecht.

Palmer, A. R. & Strobeck, C. (1986) Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 391-421.

Price, P. W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62: 244-251.

Raffa, K. F. (1991) Induced defensive reactions in conifer-bark beetle systems. En: *Phytochemical induction by herbivores* (Eds. D. W. Tallamy & M. J. Raupp), pp: 245-276. John Wiley, New York.

Raffa, K. F. & Klepzig, K. D. (1992) Tree defense mechanisms against fungi associated with insects. En: *Defense mechanisms of woody plants against fungi* (Eds. R. A. Blanchette & A. C. Biggs), pp: 354-390. Springer, Berlin, Heidelberg New York.

Raffa, K. F. & Smalley, E. B. (1995) Interaction of pre-attack and induced monoterpene concentrations in host conifer defense against bark beetle-fungal complexes. *Oecologia* 102: 285-295.

Raffa, K. F., Berryman, A. A., Simasko, J., Teal, W. & Wong, B. L. (1985) Effects of grand fir monoterpenes on the fir engraver, *Scolytus ventralis* (Coleoptera: Scolytiidae), and its symbiotic fungus. *Environmental Entomology* 14: 552-556.

Rausher, M. D. (1979) Larval habitat suitability and oviposition preference in three related butterflies. *Ecology* 27: 503-511.

Redak, R. A. & Cates, R. G. (1984) Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) spruce budworm (*Choristoneura occidentalis*) interactions: the effect of nutrition, chemical defenses, tissue phenology, and tree physical parameters on budworm success. *Oecologia* 62: 61-67.

Renwick, J. A. A. & Chew, F. S. (1994) Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 39: 377-400.

Rhainds, M., Gries, G. & Morales, J. L. (1996) Oviposition deterrency in pineapple borer females, *Thecla basilides* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Ecological Entomology* 21: 105-106.

Rhoades, D. F. (1979) Evaluation of chemical defences against herbivores. En: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (Eds. G. A. Rosenthal & D. H. Janzen), pp: 3-54. Academic Press, New York.

Ruano, F., Campos, M. & Soler, J.J. (2003) Differences in leaves of olive trees under organic, integrated and conventional pest management. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 97: 353-356.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989. Hannover.

Schultz, J. C. (1988) Many factors influence the evolution of herbivore diets, but plant chemistry is central. *Ecology* 69: 896-897.

Scriber, J. M. (1977) Limiting effects of low leaf-water content on the nitrogen utilization, energy budget, and larval growth of *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera: Saturnidae). *Oecologia* 28: 269-287.

Scriber, J. M. (1984) Host-plant suitability. En: *Chemical ecology of insects* (Eds. W. J. Bell & R. T. Carde), pp: 159-202. Chapman & Hall, London.

Sherry, R. A. & Lord, A. M. (1996) Developmental stability of flowers of *Clarkia tembloriensis*. *Journal of Evolutionary Biology* 9: 911-930.

Siegel, S. & Castellan, N. J. Jr. (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2 nd ed. McGraw-Hill, New York. 399 pp.

Snyder, M. A. (1992) Selective herbivory by Abert's squirrel mediated by chemical variability in ponderosa pine. *Ecology* 78: 1730-1741.

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

Stanton, M. L. (1984) Short-term learning and the searching accuracy of egg-laying butterflies. *Animal Behaviour* 32: 33-40.

Strong, D. R., Lawton, J. H. & Southwood, R. (1984) *Insects on plants. Community patterns and mechanisms*. Harvard University Press, Cambridge.

Tiberi, R., Niccoli, A., Curini, M., Epifanio, F., Marcotullio, M. C. & Rosati, O. (1999) The role of monoterpene composition in *Pinus* spp. needles, in host selection by the processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Phytoparasitica* 27: 263-272.

Watson, P. J. & Thornhill, R. (1994) Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 21-25.

Werner, R. A. (1995) Toxicity and repellency of 4-allylanisole and monoterpenes from white spruce and tamarack to the spruce beetle and eastern larch beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Environmental Entomology* 24: 372-379.

Wiggins, D. A. (1997) Fluctuating asymmetry in *Colophospermum mopane* leaves and oviposition preference in an African silk moth *Imbrasia belina*. *Oikos* 79: 484-488.

Wilkinson, R. C. (1980) Relationship between cortical monoterpenes and susceptibility of eastern white pine to white-pine weevil attack. *Forest Science* 26: 581-589.

IV

Dinámica de las relaciones entre la procesionaria del pino y sus plantas hospedadoras: efecto de la herbivoría

Tomás Pérez-Contreras, Juan José Soler & Manuel Soler

Manuscrito en preparación

RESUMEN

Durante el período 1994-1996 se hizo un seguimiento del ciclo de la procesionaria del pino en un pinar de repoblación en la provincia de Granada. Se tomaron datos biométricos de los pinos, tanto atacados como no atacados por la procesionaria del pino. Los resultados muestran que la plaga de éste defoliador sigue una dinámica caracterizada por una alternancia anual en la presión de la plaga sobre el bosque; y que el efecto de la herbivoría, al menos en cuanto al crecimiento de los pinos, no provoca diferencias significativas entre pinos que han sido atacados y pinos que no lo han sido. Dichos resultados apoyan: (1) la hipótesis del vigor de la planta, ya que los pinos con mayor crecimiento son los más atacados; (2) la existencia de mecanismos (p.e. crecimiento compensatorio) que minimizan las pérdidas producidas por la defoliación y (3) la hipótesis de la tolerancia a la herbivoría, dada la ausencia de diferencias significativas entre pinos atacados y no atacados, al menos en los parámetros estudiados.

INTRODUCCIÓN

Las respuestas de las plantas a la herbivoría son variables, ya que pueden depender del tiempo de duración de la herbivoría, del tipo y magnitud de ésta, de la disponibilidad de recursos en el ambiente que permitan a la planta sobreponerse a sus efectos (McNaughton 1983, Rosenthal & Kotanen 1994), y al historial de ataque sufrido por éstas (McNaughton 1983, Paige 1992, Lennartsson *et al.* 1998). En general, estas respuestas tienen lugar por medio de mecanismos de tolerancia, compensación, y/o defensas directas frente a herbívoros. La tolerancia es la capacidad de la planta para resistir y sobrevivir a los efectos negativos de la herbivoría. La compensación es el incremento en la tasa de crecimiento de la planta después de una pérdida de tejidos como consecuencia de la herbivoría. Y por último, los mecanismos directos defensivos frente a herbívoros, que pueden ser tanto físicos (espinas, inclusión de cristales minerales en sus tejidos, etc), como químicos (incorporación de sustancias químicas que, por su carácter repelente o venenoso, repelen en mayor o menor medida a los herbívoros) (Coley *et al.* 1985). Por tanto, las plantas responden a la herbivoría directamente produciendo defensas contra los herbívoros (ver Zangerl & Rutledge 1996), e indirectamente tolerándoles mediante rasgos intrínsecos de compensación, tanto fisiológicos como morfológicos (p.e. aumento en la tasa fotosintética, movilización de reservas almacenadas, etc.) (Rosenthal & Kotanen 1994).

Las condiciones ambientales, principalmente el estrés hídrico, también juegan un papel importante en las relaciones de la planta y el herbívoro. Por ejemplo, en los casos de sequía natural, los herbívoros ejercen sobre las coníferas un efecto positivo sobre el crecimiento del pino (Waring & Cobb 1992), ya que al desprenderse de las hojas se reduce el área foliar y, por tanto, la pérdida de agua por transpiración, disminuyendo así el estrés hídrico e incrementando el ciclado de nutrientes (Clancy *et al.* 1995). De hecho, en estos ambientes, la caída de restos de la defoliación es grande en volumen y beneficiosa debido a la excepcionalmente alta concentración de nutrientes en los cuerpos de insectos muertos, excrementos y residuos vegetales de la propia planta hospedadora. Esto explica cómo los insectos herbívoros pueden actuar como reguladores de la productividad primaria y en el ciclado de nutrientes en los ecosistemas forestales (Battisti *et al.* 1986, Edenius *et al.* 1993, Clancy *et al.* 1995, Hunter 2001, Chapman *et al.* 2003).

El crecimiento compensatorio a la herbivoría generalmente implica la estimulación de la fotosíntesis y el incremento en la acumulación de nitrógeno y carbohidratos, principalmente en las hojas (Clancy *et al.* 1995), favoreciendo el crecimiento individual de la planta (McNaughton & Chapin 1985, Oesterheld & McNaughton 1988). Otras especies, como algunas coníferas (p.e. *Pinus resinosa*), una vez afectadas por defoliadores, almacenan diferencialmente los carbohidratos no estructurales en sus raíces, minimizando por tanto, las pérdidas producidas por la defoliación (Reich *et al.* 1993).

En general, las repuestas de las plantas a la defoliación dependen sobre todo de la cantidad total del área foliar que se ha perdido. La distribución del daño dentro del follaje puede también afectar a la recuperación del daño ejercido por los herbívoros. Estos distintos patrones de daño surgen porque los herbívoros varían en su comportamiento alimenticio. Muchos invertebrados comen de forma que provocan un daño disperso en la planta, posiblemente porque los daños inducen cambios en la composición química de la planta que provocan que los herbívoros se cambien de sitio tras comer una pequeña porción de la hoja (Edwards & Wratten 1983). Sin embargo, algunos insectos se alimentan de forma que concentran el daño en hojas enteras. Algunas orugas, como la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*), consumen completamente una hoja antes de cambiarse a otra, mientras que otras consumen parcialmente la hoja pero luego cortan el peciolo, causando a la planta la pérdida de la hoja entera (Heinrich 1993). Varios estudios han mostrado que el daño disperso sobre muchas hojas es menos perjudicial que el daño concentrado en pocas hojas (Lowman 1982, Marquis 1992) y que otros factores, como la posición y la edad de las acículas en las coníferas, pueden influir en el impacto de las pérdidas. Si las hojas que son consumidas están situadas a la sombra y en las zonas más bajas (correspondiendo estas a las ramas más antiguas), su pérdida debería tener menor impacto a efectos de ganancia de nutrientes, puesto que estas hojas contribuyen menos metabólicamente que las hojas pertencientes a ramas nuevas y en situación abierta (soleada) (Reich *et al.* 1990).

Por tanto, los herbívoros afectan a la tasa de asimilación y distribución futura de los recursos de las especies de las que se alimentan; afectando a funciones fisiológicas vitales para la planta, tales como el crecimiento, la reproducción y la producción de defensas, entre otras. Debido a que existe un compromiso (trade-off) entre estas funciones (Reznick 1985), los herbívoros deben de influir en la resolución óptima de tales

compromisos, de manera que, para una planta en concreto, le resulte más beneficioso en una situación determinada invertir recursos en recuperar el sistema foliar que invertir en reproducción.

El objetivo de este trabajo es: (1) definir la dinámica de ataque de la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa*) sobre el pino de Alepo (*Pinus halepensis*), y (2) estudiar el efecto que la defoliación provocada por este lepidóptero ejerce sobre algunos parámetros de crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

AREA DE ESTUDIO

El área de estudio está localizada a 1000 metros de altitud, en un pinar de repoblación situado a 3 Km de la población de Guadix, al Este de la provincia de Granada. Es una zona donde la presencia de la procesionaria alcanza proporciones de plaga y afecta fundamentalmente al pino de Alepo, que es la especie predominante en el área (representa cerca del 90 % de las especies arbóreas) y, en menor medida, al pino marítimo (*Pinus pinaster*). Es una población muy joven y los pinos presentan una altura media de 4 metros y una distancia entre ejemplares muy uniforme, alrededor de 4-5 metros.

ESPECIES ESTUDIADAS

La procesionaria del pino es un lepidóptero gregario distribuido a lo largo de todo el sur de Europa y norte de África y constituye el principal defoliador de pinos de la región Mediterránea (Devkota & Schmidt 1990). El período de vuelo y de puesta de los adultos tiene lugar normalmente desde Mayo a Octubre, siendo los responsables de esta variación factores como el clima y la altitud (Douma-Petridou 1989). Cada hembra realiza una única puesta sobre una o dos acículas de pino, y los huevos eclosionan a las 5-6 semanas (Schmidt 1989). El desarrollo larvario implica cinco estadíos (Douma-Petridou 1989).

Durante los dos primeros, las larvas se alimentan únicamente de la epidermis y de algunas partes del parénquima de las acículas; pero a partir del tercer estadío y hasta completar totalmente el desarrollo larvario (aproximadamente 90 días en condiciones climatológicas favorables) consumen las acículas en su totalidad (Douma-Petridou 1989), siendo capaces de provocar defoliaciones completas de grandes áreas de bosques de pino (Devkota & Schmidt 1990). Tras el desarrollo larvario las larvas abandonan el pino y buscan un sitio adecuado bajo el suelo para realizar la pupación. En éste estadío, entran en diapausa con una duración que varía desde unos pocos meses a 1 ó 2 e incluso 4 años (Schmidt 1989).

El pino de Alepo o pino carrasco es una especie ampliamente distribuida por el centro y sur de Europa (Garms & Eigener 1977), creciendo en las laderas más secas y soleadas, desde el nivel del mar hasta una altitud de 1600 metros en el sureste de España. El factor más determinante para su distribución parece ser la temperatura, especialmente las mínimas invernales, y comparado con otras especies de pinos, presenta poca resistencia a las bajas temperaturas (Falusi *et al.* 1984). Es muy resistente a la sequía, siendo frecuente que aparezca en áreas donde el período seco dura por lo general, de 1 a 5 meses (Gil *et al.* 1996), y es capaz de crecer en suelos extremadamente pobres en nutrientes (López-González 1982), por lo que es una especie muy usada en España para la reforestación de áreas. Presenta unas acículas muy finas y flexibles, de 6 a 12 cm, de color verde claro y las mantiene durante un par de años. Florece entre Marzo y Mayo, y las piñas maduran aproximadamente en dos años, liberando las semillas en la primavera siguiente (López-González 1982). Es una especie con comportamiento termófilo, xerófilo y calcícola, pero capaz de vivir en sustratos ácidos (Gil *et al.* 1996). Es un pino bien adaptado a terrenos calizos y secos, tolerando suelos calcáreos y margosos, incluso cuando hay yeso. Entre los sustratos que coloniza abundan los margosos y margo-calizos del Secundario y el Terciario; también areniscas, conglomerados o arcillas (Gil *et al.* 1996).

PROCEDIMIENTOS GENERALES

Durante los meses de Enero y Febrero de 1994, 1995 y 1996, se tomaron datos de crecimiento de los pinos, así como del nivel de infección por procesionaria (N = 182). Todos los pinos usados en éste estudio fueron marcados individualmente el primer año

mediante una placa metálica numerada, y correspondían a ejemplares de pino de Alepo. La tasa de infección por procesionaria para cada año se calculó como porcentaje de pinos que presentaba al menos un nido invernal de procesionaria con respecto al total de pinos controlados de la población (N = 182). La tasa de infección de 1992 se estimó a partir de los nidos antiguos que presentaban los pinos en 1993.

A pesar de la larga duración del período de recogida de datos (2 meses), las medidas biométricas no se deberían ver afectadas por la fecha, ya que durante este período los pinos se encuentran en dormancia invernal y presentan numerosas funciones fisiológicas poco activas, incluso algunas completamente inhibidas, por lo que no crecen (Havraneck & Tranquillini 1995). Del número total de pinos se eligió una muestra (N = 70) para estudiar el crecimiento.

Para cada pino, atacado o no por la procesionaria, se tomaron las siguientes medidas biométricas: (1) altura: utilizando una cinta métrica (1 mm de precisión), (2) perímetro de la zona verde: con una cinta métrica de tela (1 cm de precisión) se medía el perímetro de la sección transversal máxima de la masa verde, (3) diámetro del tronco: con un calibre digital (Mitutoyo, de 0.01 mm de precisión), (4) superficie de la sección transversal del tronco: calculada a partir del diámetro, y (5) volumen: del pino o volumen foliar, calculado usando la fórmula de la elipsoide $4/3\ \pi ab^2$, en la que **a** es el radio mayor, correspondiendo a la mitad de la altura del pino (altura/2), y **b** es el radio menor, calculado como radio de la zona verde (perímetro de la zona verde/2π). En esta última medida usamos la altura total del pino porque al tratarse de ejemplares jóvenes, las ramas llegan hasta el suelo al no haberse iniciado en la mayoría de ellos el proceso de poda natural. La producción de piñas se estimó contando el número de piñas y diferenciando la edad de éstas.

Para el estudio del crecimiento en los pinos sólo hemos considerado aquellos ejemplares que crecían de manera aislada (un solo pie de planta), evitando así que influyeran cuestiones de competencia individual (por la luz, los nutrientes, etc.) que afectaran al crecimiento de cada pino. Con los datos recogidos de la altura, superficie transversal del tronco y volumen obtuvimos un valor de crecimiento absoluto: calculado como la diferencia del valor de la variable en un año y del año anterior. Para controlar el

efecto del tamaño del pino en el crecimiento anual (pinos mayores pueden crecer más), calculamos los residuos del tamaño en un año corregido por el tamaño en el año anterior. Por tanto, en los posteriores análisis utilizamos tales residuos como valor del crecimiento de los pinos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para los análisis se han usado tests no paramétricos debido a que las variables consideradas no se ajustaban a distribuciones normales (test de Lillieford, $P < 0.05$ en todos los casos) (Siegel & Castellan 1988). Las comparaciones de frecuencias se realizaron con el test de la Chi cuadrado (Sokal & Rohlf 1995).

Todos los valores en el texto los representamos como la media ± error estándar.

RESULTADOS

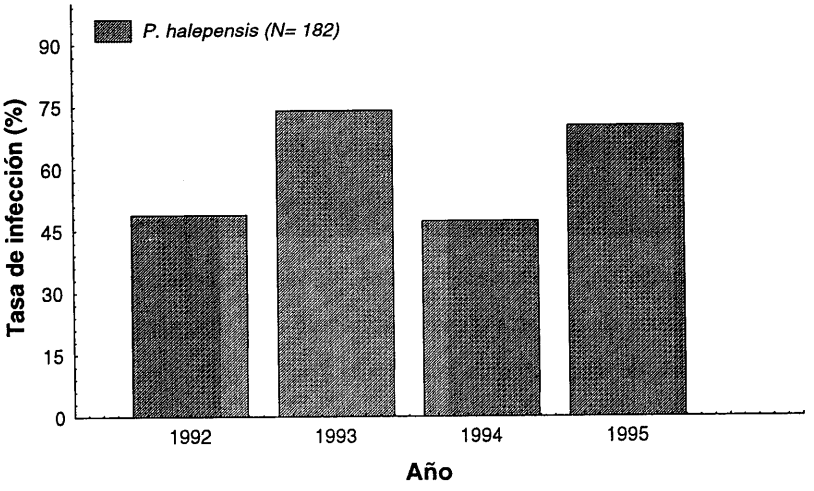

FIGURA 1. TASA DE INFECCIÓN PARA LOS MISMOS EJEMPLARES DE PINO DE ALEPO.

TASA DE INFECCIÓN

La tasa de infección para el pino de Alepo varió significativamente entre años (χ^2 = 47.50, gl = 3, P < 0.01; Fig. 1).

Además, el mismo pino no suele estar atacado dos años consecutivos (test de Cochran's; Q = 52.86, gl = 3, N = 182, P < 0.0001) y, por ello, aparecen diferencias significativas cuando comparamos las tasas de infección en años consecutivos, pero no alternos (Tabla 1), lo que indica una alternancia anual en la presión de la plaga sobre cada pino.

TABLA 1. DIFERENCIAS ENTRE AÑOS (ENTRE PARÉNTESIS) EN LA TASA DE INFECCIÓN PARA CADA PINO EN *P. HALEPENSIS* (TEST DE LOS SIGNOS, N = 182).

	Z	P
Infectados (92 – 93)	4.59	0.000
Infectados (92 – 94)	0.24	0.804
Infectados (92 – 95)	4.57	0.000
Infectados (93 – 94)	5.26	0.000
Infectados (93 – 95)	0.79	0.426
Infectados (94 – 95)	4.70	0.000

PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DE LOS PINOS

Para comprobar el efecto de la herbivoría de la procesionaria sobre los parámetros de crecimiento del pino, se consideraron los pinos atacados y no atacados por la procesionaria durante el ciclo anterior al período de crecimiento considerado. Utilizando los valores del crecimiento absoluto, para cada uno de los tres parámetros, los resultados muestran que, para cada uno de los períodos de crecimiento, los pinos atacados presentaron unos valores de crecimiento superiores a los presentados por los pinos no atacados, aunque la mayoría de las diferencias no resultaron significativas (test de la U de Mann-Whitney; período 1993-1994: altura: $Z_{ajustada}$ = 1.49, P = 0.135; superficie transversal del tronco: $Z_{ajustada}$ = -0.66, P = 0.503; volumen: $Z_{ajustada}$ = 1.85, P = 0.064; $n_{atacados}$ = 43 y $m_{no\ atacados}$ =

27; período 1994-1995: altura: $Z_{ajustada} = 1.40$, $P = 0.161$; superficie transversal del tronco: $Z_{ajustada} = 1.90$, $P = 0.057$; volumen: $Z_{ajustada} = 2.83$, $P = 0.004$; $n_{atacados} = 23$ y $m_{no\ atacados} = 47$). Sin embargo, este resultado podría deberse a que los pinos seleccionados por la procesionaria sean de mayor tamaño, y por tanto con una mayor tasa de crecimiento, más que a una respuesta del pino a la defoliación.

De acuerdo con esta interpretación, para los tres parámetros de crecimiento considerados en este estudio, los pinos de mayor tamaño presentan unos crecimientos absolutos más elevados (altura: crecimiento 93-94; $R_s = 0.517$, $N = 70$, $P < 0.001$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.667$, $N = 70$, $P < 0.001$; superficie transversal del tronco: crecimiento 93-94; $R_s = 0.352$, $N = 70$, $P < 0.01$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.574$, $N = 70$, $P < 0.001$; volumen: crecimiento 93-94; $R_s = 0.638$, $N = 70$, $P < 0.001$; crecimiento 94-95; $R_s = 0.867$, $N = 70$, $P < 0.001$). Por tanto, para controlar el efecto del tamaño individual del pino en su crecimiento posterior usamos los residuos del tamaño controlado por el tamaño en el año anterior en los posteriores análisis (ver Material y Métodos).

Los resultados expuestos en la Tabla 2 muestran que los residuos del crecimiento absoluto en altura, en superficie transversal del tronco y en volumen no difieren significativamente entre pinos que estuvieron atacados y no atacados por la procesionaria el año anterior, por lo que no detectamos el efecto de la defoliación en los parámetros de crecimiento medidos.

EFECTO DE LA HERBIVORÍA CONTINUADA

Al considerar la historia individual de ataque que había sufrido cada pino, los resultados de la Tabla 2 confirman lo expuesto anteriormente ya que, incluso en el caso más extremo al comparar el crecimiento de los pinos que fueron atacados durante tres años consecutivos con pinos que no lo habían sido durante esos mismos tres años, las diferencias obtenidas no son significativas, no observándose ninguna tendencia.

TABLA 2. RESULTADOS DE LAS COMPARACIONES EN EL CRECIMIENTO ENTRE PINOS ATACADOS Y NO ATACADOS POR LA PROCESIONARIA (COMPARACIONES HECHAS CON EL TEST DE LA U DE MANN-WHITNEY).

	$Z_{ajustada}$	P	Pinos atacados	Pinos no atacados
PERÍODO 1993-1994				
Crecimiento en Altura				
Atacados 1993	-0.07	0.93	43	27
Atacados 1992 y 1993	0.30	0.75	13	16
Crecimiento en STT				
Atacados 1993	-1.40	0.15	43	27
Atacados 1992 y 1993	0.30	0.75	13	16
Crecimiento en Volumen				
Atacados 1993	1.12	0.25	43	27
Atacados 1992 y 1993	1.49	0.13	13	16
PERÍODO 1994-1995				
Crecimiento en Altura				
Atacados 1994	-0.70	0.47	23	47
Atacados 1993 y 1994	-0.53	0.59	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	-1.06	0.28	7	13
Crecimiento en STT				
Atacados 1994	0.22	0.82	23	47
Atacados 1993 y 1994	-0.81	0.41	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	-0.19	0.84	7	13
Crecimiento en Volumen				
Atacados 1994	0.93	0.35	23	47
Atacados 1993 y 1994	0.56	0.57	15	20
Atacados 1992, 1993 y 1994	0.11	0.90	7	13

DISCUSIÓN

DINÁMICA DE LA PLAGA

La tasa de infección sobre el pino de Alepo durante los tres años de estudio varió significativamente y, además, lo hizo de forma cíclica (Fig. 1y Tabla 1). Battisti (1988) encontró que, en plantaciones de *Pinus nigra* de Italia, la procesionaria no llega al nivel de plaga regularmente, sino cada 5-7 años. Los principales factores que afectan a la ocurrencia de las plagas y su regularidad dependen de las condiciones ambientales (Androic 1956), de la estructura del bosque y, en particular, de las especies de pino que lo forman, su edad, su origen y la densidad de la plantación (Mendel 1984, Masutti & Battisti 1990). La baja probabilidad de ataque por procesionaria durante años consecutivos para un pino individual detectada en nuestro estudio podría también explicar la irregularidad en la formación de plagas de esta especie. A su vez, la reducción en la probabilidad de ser explotado por la

procesionaria en el año siguiente a la infección, podría ser explicada por los efectos de la herbivoría en los pinos atacados.

EFECTO DE LA HERBIVORÍA

La defoliación provocada por herbívoros reduce el área fotosintética por planta y causa una variedad de respuestas genéricas en la mayoría de las plantas. Muchas de estas respuestas han sido interpretadas como mecanismos de compensación, principalmente porque facilitan la tasa de captura de carbono y la tasa de crecimiento relativo en plantas (Caldwell *et al.* 1981, McNaughton 1983, Belsky 1986). Estos mecanismos incluyen cambios en los patrones de distribución de carbohidratos y de biomasa (McNaughton & Chapin 1985, Oesterheld & McNaughton 1988), e incrementan el nitrógeno foliar o las concentraciones de proteínas relacionadas (Piene 1980, Caldwell *et al.* 1981, Wagner & Evans 1985), aunque no siempre ocurre (Tuomi *et al.* 1984, Reich *et al.* 1993). Se ha comprobado un aumento de la fotosíntesis del follaje residual y/o nuevo en árboles defoliados (Heichel & Turner 1983, Reich *et al.* 1993). Como la reducción del área foliar tiene como consecuencia la reducción en la ganancia de carbono por la planta, el resultado neto sobre el crecimiento de la planta puede ser negativo, neutro o positivo, dependiendo, entre otros factores, de la intensidad de la defoliación (Reich *et al.* 1993). Con respecto a nuestros resultados, la ausencia de diferencias significativas entre pinos atacados y no atacados, cuando analizamos el crecimiento, podría ser una consecuencia de éste crecimiento compensatorio. Los pinos de mayor tamaño presentan una tasa de crecimiento mayor y estos son los que selecciona la procesionaria (MII y MIII). Así, al eliminar el efecto del tamaño del individuo sobre el crecimiento, usando los residuos, observamos que las diferencias desaparecen, no observándose ninguna tendencia. Aún así, parece estar actuando algún mecanismo que contrarresta o que, por lo menos, minimiza las pérdidas provocadas por las larvas.

Esta idea también está apoyada por la hipótesis del vigor de la planta (Price 1991), que defiende que muchas especies de herbívoros se alimentan preferentemente de plantas vigorosas, ya que la procesionaria selecciona pinos con unas tasas de crecimiento alto (MIII). Esto induce a pensar que las plantas que tienen que regenerar el sistema foliar, y

que crecen más, son las más vigorosas. Además, las plantas que invierten en diferenciación, crecen más lentamente y están más defendidas frente al ataque de los herbívoros (Basey & Jenkins 1993), por lo que se podría esperar que la procesionaria, más que seleccionar pinos por su crecimiento, seleccionarán individuos que no estén defendidos.

Una de las cuestiones más interesantes en el estudio de las relaciones herbívoro-planta hospedadora, es el efecto del herbívoro en la reducción del éxito reproductor de la planta, ya que el grado de reducción es indicativo de la importancia de los procesos coevolutivos entre éstos, seleccionando adaptaciones en las plantas que contrarresten los efectos negativos de los herbívoros, los cuales seleccionarán contra-adaptaciones en los herbívoros (Ehrlich & Raven 1964). Sin embargo, el efecto de los herbívoros sobre el éxito reproductor de la planta puede no ser directo, ya que no tienen por qué alimentarse de sus frutos o semillas como ocurre con la procesionaria del pino. Debido a la reducción de la superficie foliar por la acción de la procesionaria, disminuye la capacidad fotosintética del pino (Johnson & Denton 1975) y la cantidad de hidratos de carbono que las coníferas almacenan principalmente en las hojas (Tuomi *et al.* 1988). Esta reducción en las capacidades del pino podría afectar negativamente al número de piñas desarrolladas al año siguiente y también a su crecimiento, ya que existe un compromiso entre la inversión en crecimiento y reproducción, de manera que la energía empleada en reproducción no puede ser utilizada en crecimiento. Es posible que, para un pino que haya sido explotado por la procesionaria, sea más rentable la inversión en crecimiento y no en reproducción, ya que de esta forma, consigue un aparato fotosintético más eficaz, que a su vez, influirá en la producción de piñas en años sucesivos. Sin embargo, en los ejemplares de pino de Alepo de nuestra población la producción de piñas es muy baja (sólo un bajo porcentaje de los pinos usados en este estudio produjeron piñas), bien porque se trata de ejemplares jóvenes o bien por ser una población poco productiva localizada en un terreno pobre. Otra posibilidad es que la presión debida a la procesionaria haya influido en que los pinos inviertan más en recuperar áreas foliares que en destinar recursos en reproducción. Esta interpretación está avalada por estudios en otras especies de pino. Por ejemplo, en *Pinus ponderosa* se ha demostrado que, tras la actuación de los herbívoros, se produce una reducción en la producción de conos masculinos y femeninos (Snyder 1993).

El tamaño es un carácter importante de las estrategias vitales de las plantas que podría explicar la mayoría de los patrones de distribución de recursos en un individuo. Por ejemplo, si las plantas de mayor tamaño invierten proporcionalmente más en reproducción, los costos de la reproducción podrían también incrementarse con el tamaño de la planta (Obeso 2002), aunque tales costos no tienen necesariamente por qué ser detectados, puesto que los individuos reproductores pueden aumentar la toma de recursos y desarrollar algunos mecanismos compensatorios (Tuomi *et al.* 1983). En este sentido, el crecimiento compensatorio y el aumento de la fotosíntesis tras la defoliación provocada por la herbivoría puede compensar o incluso supercompensar la pérdida de tejido (Paige 1992, 1999, Obeso & Grubb 1993, Obeso 1993, Domínguez & Dirzo 1994, Wegener & Odasz 1997, Bakker & Loonen 1998, Lennartsson *et al.* 1998, Meyer 1998).

Por último, nuestros resultados apoyan la hipótesis de la tolerancia de las plantas a la herbivoría (Rosenthal & Kotanen 1994), ya que el crecimiento de los individuos atacados no es distinto a la tasa de crecimiento de los pinos que no están sufriendo herbivoría de la procesionaria. Sin embargo, es posible que en ausencia de la procesionaria los pinos más grandes, (que son los más seleccionados) tuvieran significativamente mayor crecimiento que los pinos más pequeños (que no habrían sido seleccionados). El que no se den las diferencias en el crecimiento en presencia de la procesionaria estaría también apoyado por los aspectos generales positivos que los herbívoros provocan en las plantas (ver introducción).

La conclusión a nivel aplicado de este estudio es que la presencia de la procesionaria no es tan perjudicial para los pinos como normalmente se supone (Cobos-Suárez & Ruiz-Urrestarazu 1990, Naz 1992), ya que el daño provocado a los pinos atacados, al menos en los parámetros medidos, es inapreciable. Por tanto, el uso de plaguicidas indiscriminados, administrados frecuentemente por vía aérea, se hace totalmente desaconsejable por su baja especificidad que hace que mueran prácticamente todos los insectos asociados al pinar.

BIBLIOGRAFÍA

Androic, M. (1956) Contribution à l'étude de *Cnethocampa pityocampa* Schiff. *Revue Pathology Végétale d'Entomologie Agricole France* 35: 251-262.

Bakker, C. & Loonen, M. J. J. E. (1998) The influence of goose grazing on the growth of *Poa arctic*: overestimation of overcompensation. *Oikos* 82: 459-466.

Basey, J. M. & Jenkins, S. H. (1993) Production of chemical defenses in relation to plant growth rate. *Oikos* 68: 323-328.

Battisti, A. (1988) Host-plant relationships and population dynamics of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller). *Journal of Applied Entomology* 105: 393-402.

Battisti, A., Dell'Agnola, G. & Masutti, L. (1986) L'attività di *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller) nel ciclo della sostanza organica in popolamenti artificiali di *Pinus nigra* Arnold. *Frustula Entomologica* 7-8 (1984-85): 507-520.

Belsky, A. J. (1986) Does herbivory benefit plants? A review of the evidence. *The American Naturalist* 127: 870-892.

Caldwell, M. M., Richards, J. H., Johnson, D. A., Nowak, R. S. & Dzuree, R. S. (1981) Coping with herbivory: photosynthetic capacity and resource allocation in two semiarid *Agropyron* bunchgrasses. *Oecologia* 50: 14-24.

Chapman, S. K., Hart, S. C., Cobb, N. S., Whitham, T. G. & Koch, G. W. (2003) Insect herbivory increases litter quality and descomposition: an extension of the acceleration hypothesis. *Ecology* 84: 2867-2876.

Clancy, K. M., Wagner, M. R. & Reich, P. B. (1995) Ecophysiology and insect herbivory. En: *Ecophysiology of coniferous forest* (Eds. W. K. Smith & T. M. Hinckley), pp: 125-180. Academic Press, New York.

Cobos-Suárez, J. M. & Ruiz-Urrestarazu, M. M. (1990) Problemas fitosanitarios de la especie *Pinus radiata* D. Don en España, con especial referencia al País Vasco. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 16: 37-53.

Coley, P. D., Bryant, J. P. & Chapin, F. S. (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895-899.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Domínguez, C. A. & Dirzo, R. (1994) Effects of defoliation on *Erythroxylum havanense*: a tropical proleptic species. *Ecology* 75: 1896-1902.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Edenius, L., Danell, K. & Bergström, R. (1993) Impact of herbivory and competition on compensatory growth in woody plants: winter browsing by moose on Scots pine. *Oikos* 66: 286-292.

Edwards, P. J. & Wratten, S. D. (1983) Wound induced defenses in plants and their consequences for patterns of insect grazing. *Oecologia* 59: 88-93.

Ehrlich, P. R. & Raven, P. H. (1964) Butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.

Falusi, M., Calamasi, R. & Tocci, A. (1984) Resistenza al fredo in *Pinus halepensis* Mill., *Pinus brutia* Ten. e *Pinus eldarica* Medw. *Atti Soc. Tosc. Sci. Nat. Mem.* Serie B 91 : 111-133.

Garms, H. & Eigener, W. (1977) *Plantas y animales de España y Europa*. Universidad de Navarra, S. A. Barañain-Pamplona, España.

Gil, L., Díaz-Fernandez, P. M., Jimenez Sancho, M. P., Roldán, M., Alía, R., Agúndez, D., De Miguel, J., Martín, S. & De Tuero, M. (1996) *Las regiones de procedencia de* Pinus halepensis *Mill. en España*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid.

Havranek, W. M. & Tranquilini, W. (1995) Physiological processes during winter dormancy and their ecological significance. En: *Ecophysiology of coniferous forest* (Eds. W. K. Smith & T. M. Hinckley), pp: 95-124. Academic Press, New York.

Heichel, G. H. & Turner, N. (1983) CO_2 assimilation of primary and regrowth foliage of red maple and red oak: response to defoliation. *Oecologia* 57: 14-19.

Heinrich, B. (1993) How avian predators constraint caterpillar foraging. En: *Caterpillars. Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 224-247. Chapman and Hall, New York.

Hunter, M. D. (2001) Insect population dynamics meets ecosystem ecology: effects of herbivory on soil nutrient dynamics. *Agricultural and Forest Entomology* 3: 77-84.

Johnson, P. C. & Denton, R. E. (1975) *Outbreaks of the western spruce budworm in the American northern Rocky Mountain area from 1922 through 1971*. USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep. INT 20.

Lennartsson, T., Nilsson, P. & Tuomi, J. (1998) Induction of overcompensation in the field gentian, *Gentianella campestris*. *Ecology* 79: 1061-1072.

López-González, G. (1982) *La Guia de Incafo de los árboles y arbustos de la Península Ibérica*. Incafo, S.A. Madrid.

Lowman, M. D. (1982) Effects of different rates and methods of leaf area removal on rain forest seedlings of coach-wood (*Ceratopetalum apetalum*). *Australian Journal of Botany* 30: 477-483.

Marquis, R. J. (1992) A bite is a bite is a bite? Constraints on response to folivory in *Piper arieianum* (Piperaceae). *Ecology* 73: 143-152.

Masutti, L. & Battisti, A. (1990) *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Italy. Bionomics and perspectives of integrated control. *Journal of Applied Entomology* 110: 229-234.

McNaughton, S. J. (1983) Compensatory plant growth as a response to herbivory. *Oikos* 40: 329-336.

McNaughton, S. J. & Chapin, F. S. (1985) Effects of phosphorus nutrition and defoliation on C_4 graminoids from the Serengeti plains. *Ecology* 66: 1617-1629.

Mendel, Z. (1984) Provenance as a factor in susceptibility of *Pinus halepensis* to *Matsucoccus josephi* (Homoptera: Margarodidae). *Forest Ecology and Management* 9: 259-266.

Meyer, G. A. (1998) Pattern of defoliation and its effects on photosynthesis and growth of Goldenrod. *Functional Ecology* 12: 270-279.

Naz, A. (1992) La procesionaria asola los pinares españoles. *Entorno XXI* 8: 18-20.

Obeso, J. R. (1993) Does defoliation affect reproductive output in herbaceous perennials and woody plants in different ways? *Functional Ecology* 7: 150-155.

Obeso, J. R. (2002) The costs of reproduction in plants. *New Phytologist* 155: 321-348.

Obeso, J. R. & Grubb, P. J. (1993) Fruit maturation in the shrub *Ligustrum vulgare* (Oleaceae): lack of defoliation effects. *Oikos* 68: 309-316.

Oesterheld, M. & McNaughton, S. J. (1988) Intraspecific variation in the response of *Themeda tiandra* to defoliation: The effect of time of recovery and growth rates on compensatory growth. *Oecologia* 77: 181-186.

Paige, K. N. (1992) Overcompensation in response to mammalian herbivory: from mutualistic to antagonistic interactions. *Ecology* 73: 2076-2085.

Paige, K. N. (1999) Regrowth following ungulate herbivory in *Ipomopsis aggregata*: geographic evidence for overcompensation. *Oecologia* 118: 316-323.

Piene, H. (1980) Effects of insect defoliation on growth and foliar nutrients of young balsam fir. *Forest Science* 26: 665-673.

Price, P. W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos* 62: 244-251.

Reich, P. B., Ellsworth, D. S., Kloeppel, B. D., Fownes, J. H. & Gower, S. T. (1990) Vertical variation in canopy structure and CO_2 exchange of oak-maple forest: influence of ozone, nitrogen and others factors on simulated canopy carbon gain. *Tree Physiology* 7: 329-345.

Reich, P. B., Walters, M. B., Krause, S. C., Vanderklein, D. & Raffa, K. F. (1993) Growth, nutrition and gas exchange of *Pinus resinosa* following artificial defoliation. *Trees* 7: 67-77.

Reznick, D. (1985) Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* 44: 257-267.

Rosenthal, J. P. & Kotanen, P. M. (1994) Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 145-148.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989. Hannover.

Siegel, S. & Castellan, N. J. Jr. (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences.* 2 nd ed. McGraw-Hill, New York.

Snyder, M. A. (1993) Interactions between Abert's squirrel and ponderosa pine: the relationship between selective herbivory and host plant fitness. *The American Naturalist* 141: 866-879.

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research.* W.H. Freeman, New York.

Tuomi, J., Hakala, T. & Haukioja, E. (1983) Alternative concepts of reproductive effort, cost of reproduction, and selection in life-history evolution. *American Zoologist* 23: 25-34.

Tuomi, J., Niemela, P., Haukioja, E., Siren, S. & Neuvonen, S. (1984) Nutrient stress: an explanation for plant anti-herbivore responses to defoliation. *Oecologia* 61: 208-210.

Tuomi, J., Niemela, P., Chapin, F. S., Bryant, J. P. & Siren, S. (1988) Defensive responses of trees in relation to their carbon/nutrient balance. En: *Mechanisms of woody plant defenses against insects: search for pattern* (Eds. W. J. Mattson, J. Levieux & J. Bernard-Dagan), pp: 57-72. Springer-Verlag, New York.

Wagner, M. R. & Evans, P. D. (1985) Defoliation increases nutritional quality and allelochemics of pine seedlings. *Oecologia* 67: 235-237.

Waring, G. L. & Cobb, N. S. (1992) The impact of plant stress on herbivore population dynamics. En: *Insect-Plant interactions, vol. 4* (Ed. E. A. Bernays), pp: 167-226. CRC Press, Boca Raton, FL.

Wegener, C. & Odasz, A. M. (1997) Effects of laboratory simulated grazing on biomass of the perennial Arctic grass *Dupontia fisheri* from Svalbard: evidence of overcompensation. *Oikos* 79: 496-502.

Zangerl, A. R. & Rutledge, C. E. (1996) The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: a test of optimal defense theory. *The American Naturalist* 147: 599-608.

V

Egg parasitoids select for large clutch sizes and covering layers in pine processionary moths (*Thaumetopoea pityocampa*) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae)

Tomás Pérez-Contreras & Juan José Soler

Annales Zoologici Fennici (en prensa)

ABSTRACT

Female insects have a limited energy budget to invest in reproduction. Clutch and egg size are two traits typically involved in energy budget trade-offs, and an optimum clutch size is generally predicted. This trade-off, however, is influenced by many factors including the probability of egg-parasitism. We studied this possibility in the Pine Processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*), which frequently suffers from parasitoids. We found support for a trade-off between clutch and egg size in this species, but the intermediate clutch size did not correspond to higher hatching success. We suggest that this lack of an optimum clutch size in relation to hatching success was mediated by parasitoids: parasitoids preferentially selected small clutches containing larger eggs. In addition, we experimentally tested whether the scales that coat egg batches of the Pine Processionary moth reduce the effect of parasitism. Egg batches with experimentally removed scales showed a significantly higher parasitism rate than control batches; demonstrating that scales protect egg batches from parasitoids. We discuss three possible explanations for our results.

INTRODUCTION

Offspring of many species receive parental care, which increases the probability of survival to adult stage and, therefore, the probability of successful reproduction (Clutton-Brock 1991). For species without parental care, like most holometabolous insects, the adjustment of traits such as clutch size and egg size that influence optimal offspring development is of prime importance (Bernays & Chapman 1994). For example, many phytophagous insects without parental care adopt the strategy of laying eggs in aggregated groups. In this case, the average number of eggs laid per plant and per female can be considered the result of a balance between the costs and benefits of different clutch sizes (Damman 1991, Crowe 1995).

Large clutch sizes would be advantageous if, for instance, they increase the effectiveness of defensive traits (Hunter 2000) or competitive ability relative to other clutches from the same or different species on the same plant (see examples in Alexander 1974, Pulliam & Caraco 1984). Larvae from those taxa, however, usually have a limited dispersal ability and only feed from the plant selected by the mother (Parker & Begon 1986). Therefore, clutch size would influence survival probability of an individual larva because limited resources will be competed for by siblings and other conspecific larvae (Charnov *et al.* 1976, Buss 1981). Moreover, a high number of eggs per plant would directly increase egg detectability for visual predators or parasitoids (Kareiva & Odell 1987, Dobson 1988), or indirectly increase egg detectability because herbivorous larvae may induce plant volatile emissions that attract predators or parasitoids (e.g. Hoballah & Turlings 2001, Kessler & Baldwin 2001).

An additional cost of large clutch size is the production of small eggs due to the general trade-off between clutch and egg size. In insects without parental care where reproduction is linked to earlier accumulated resources (capital breeders, Tammaru & Haukioja 1996) all of the female's available energy should be invested in the clutch because the residual reproductive value of these females is zero (e.g. Boggs 1997). For such species, an increase in egg size requires a decrease in clutch size. A large egg volume implies a larger amount of proteins and resources for developing embryos (i.e. Begon &

Parker 1986, Ricklefs & Stark 1998; for insects and birds, respectively) resulting in an increase in offspring quality and a higher probability of survival to the adult stage (Wiklund & Karlsson 1984, Braby 1994; but see also Wiklund & Persson 1983, Karlsson & Wiklund 1985; for controversial results). Moreover, there may also be a trade-off between clutch size and clutch dispersion. When a female produces a large clutch, the female may produce fewer clutches over her lifetime and thus her progeny may be more concentrated in the habitat. When stochastic mortality factors are important it may be advantageous to produce smaller but more scattered clutches (Bernays & Chapman 1994).

Hatching success is also affected by abiotic (temperature, humidity, etc.) and biotic (predators, parasitoids, egg viability, etc.) factors. For example, small variations in temperature and/or humidity inside the egg are the main cause of embryo death in insects (Browder *et al.* 1991, Wolpert 1991). However, there exist several adaptations minimizing the effects of changes in environmental conditions on the embryo. One strategy is the construction of microhabitats by females in which to lay their clutches. This may be the case of some moths that isolate their clutches from external environmental conditions by covering them with protective layers (Montoya & Robredo 1972, Floater 1998, Schmidt *et al.* 1999).

Parasitoids are perhaps the most important biotic factor affecting hatching success in insects (DeBach & Rosen 1991, Wajnberg & Hassan 1994, Hoballah & Turlings 2001). Parasitoids generally kill or prevent the host from reproduction and, therefore, natural selection favours host traits that reduce probability of parasitism. One possible adaptation to counteract parasitism could be related to clutch size (Richner & Heeb 1995). In insects, an increase in clutch size may compensate for losses during both egg and larval stages when host selection by parasites is not related to clutch size (Hamilton 1971, Parker & Courtney 1984). However, parasitoids not only have to locate a potential host's clutches but also have to access the eggs. Accordingly, selection will favor adaptations that preventing accessibility of the eggs (Hawkins 1994). In this context, adding material or protective layers to the clutch could be another host adaptation that reduces the probability of parasitoids finding the clutch and/or accessing the eggs. If parasitoids exert a selection pressure on clutch characteristics, natural selection should favour: (i) small clutch sizes when clutch size is positively related to the probability of parasitoids detecting the clutch

(one would predict the opposite when larger clutches dilute the per capita parasitoid risk (Hamilton 1971); (ii) clutches cryptic to the parasitoid, either in appearance or in odour; (iii) clutches with protective layers that make it difficult for parasitoids to physically access the egg.

In this paper, we study some potential factors affecting hatching success of the Pine Processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*). This moth lays all its eggs in a single clutch and covers the entire clutch with scales produced in the distal part of the abdomen (Schmidt 1990). Females lay a single clutch a few hours after emerging as adults and die shortly afterwards. Thus, this is an ideal species to study life history traits because it is possible to accurately estimate total female reproductive investment (clutch size, egg size) and variables related to reproductive success (i.e. hatching success). Here we examine the influence of clutch and egg size on hatching success and attemp to demonstrate a trade-off between these variables. If a trade-off exists (Hypothesis 1), we predict a negative relationship between number and size of the eggs in a clutch (Prediction 1a). Moreover, the result of that trade-off should be an optimal clutch and egg size and accordingly, we should find that a quadratic function explains the relationship between clutch size and number of eggs that hatch successfully better than does a linear function (Prediction 1b), because a large number of eggs implies a small amount of resources per egg. Furthermore, the percentage of eggs that successfully hatches should be negatively related to clutch size (Prediction 1c).

We also study the negative effects of parasitoids on clutches of different size because clutch size may affect the number of parasitoid visiting the clutch, or because large clutch size may dilute the effect of parasitism (see above). If larger egg-batches are more easily detected by parasitoids (Hypothesis 2), we should find that larger clutches are more frequently parasitized (Prediction 2a). Moreover, if we assume that the number of parasitized eggs in a clutch is related to the number of parasitoids that find and parasitise a clutch, then larger clutches should have more parasitized eggs (Prediction 2b), but a smaller percentage of parasitized eggs (Prediction 2c), because of the dilution effect of large clutch size.

From the parasitoid's perspective, the parasite should choose clutches containing bigger eggs because these parasites lay one egg per host egg (Pers. Obs. for the parasitoid species in our study population) and a larger egg will provide more resources for developing young (Hypothesis 3). If this is true, the percentage of parasitized eggs in clutches of larger size egg should exceed the percentage in clutches of small eggs (Prediction 3). The selective pressure of the parasitoid should select for an increase in clutch size due to the generalized trade-off between clutch and egg size in nature (Hypothesis 4). Accordingly, we predict that the number of non-parasitized eggs per clutch should be positively related to clutch size (Prediction 4).

We also experimentally tested some functional hypotheses of layers coating egg-batches by removing coating layers from some clutches and keeping others as a control group. If the main function of the coating layers is thermal insulation (Hypothesis 5), we expect that the incubation period (Prediction 5a) and number of eggs that failed to hatch (excluding parasitized eggs; Prediction 5b) will be higher in experimental clutches. Covering the egg-batches could also increase clutch mimicry, thereby minimising the probability of clutches being detected by parasitoids (Hypothesis 6). If so, we predict that experimental clutches with removed coating layers will be more frequently parasitized than control clutches (Prediction 6). Finally, the coating layers may function as physical or "visual" barriers to the parasitoid because they prevent the location of individual eggs in the clutch to parasitize or impede the accessibility to host eggs (Hypothesis 7). All of these hypothetical barrier functions predict that the percentage of parasitized eggs should be greater in clutches with experimentally removed coating layers than in control clutches (Prediction 7). It should be noted that these functional hypotheses are not mutually exclusive, but testing the above predictions will greatly impact our understanding of the adaptive function of the egg covering behavior.

MATERIAL AND METHODS

STUDY SITE

The field study was carried out in a pine plantation located in the high-altitude plateau Hoya de Guadix (37°18'N, 3°11'W), Spain, approximately 1000 m above sea level with a semi-arid climate.

STUDY SPECIES

The Pine Processionary moth is a highly gregarious species distributed throughout southern Europe, and is the principal defoliator of pines in the Mediterranean region (Devkota & Schmidt 1990). The flying and egg-laying period, although dependent on factors such as weather and altitude, is usually from May to October (Douma-Petridou 1989). Each female lays only a single cylindrical clutch that she covers with scale-like hairs. Oviposition takes place on one or two pine needles predominantly from the base of the needles towards the tip (Schmidt *et al.* 1999). The number of eggs per batch is variable (between 37 to 312 eggs (reviewed in Schmidt *et al.* 1999)), and varied in our studied population from 77 to 263 eggs (mean: 181.56 ± 4.55; N = 90). The processionary eggs hatch after 5-6 weeks (Schmidt 1989). Larval development involves five instars (Douma-Petridou 1989) and, although larvae move around to feed, the larvae build a silk nest where all individuals from the same clutch stay when not feeding (Pérez-Contreras, pers. obs.). After larval development, the larvae leave the nest in a procession and search for a suitable underground pupation site. The pupal diapause varies from a few months to 1-2 years (Schmidt 1989).

With respect to parasitoid species, in a previous study in a pine forest close to our study site, Schmidt *et al.* (1999) found only three species of Chalcidoidea with *Ooencyrtus pityocampae* being the most abundant (i.e. responsible for 70.8 % of parasitism). This species frequently parasitizes host eggs in the basal sector of the clutch (Tiberi 1990), although other studies have shown this parasitoid to attack all parts of the egg-batches (Tsankov 1990). Egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* play a leading role in bio-control of the host, by reducing the population and with it the damage to the host plant (Biliotti 1958, Masutti 1964, Tiberi 1978). All above species of parasitoid either emerge in the summer when the host eggs are laid or in the following spring as mature larvae after overwintering in the parasitized egg (Tiberi 1990). To our knowledge, mechanisms of host

selection or hyperparasite avoidance are unknown for those species. Parasitoid females deposit one egg per host egg and one single female can approximately 27 eggs (Halperin 1990). It has been suggested that scales covering egg clutch constitutes an obstacle for successful parasitism (Biliotti 1958).

VARIABLES STUDIED

To carry out this study, we randomly selected 30 clutches from a single parasitized pines (*Pinus halepensis*) in 1994, 1995 and 1996. We collected all the egg-batches after the egg hatching and parasitoid emergence periods. In the laboratory, we manually removed the scales covering the clutch and classified eggs into the following four categories: Hatched eggs: those with a big hole resembling the successful hatching of a host larva, Unhatched eggs: those with no hole, Partially-hatched eggs: those presenting a hole, but with a host larva dead inside, and Parasitized eggs: those with a small hole through which a parasitoid had emerged.

We dissected each of the unhatched eggs to determine whether the embryo was inside or if the egg was empty (Tsankov *et al.* 1996, 1998). The sum of these four egg categories is the clutch size. Hatching success is defined as percentage of eggs that successfully hatched. Since the eggs are generally laid around a couple of pine needles and their width are relatively constant (varying mainly in length), we estimated average egg size as clutch length (using a digital calliper, Mitutoyo, accuracy = 0.01 mm) divided by clutch size. We use this index because it is very difficult to isolate each egg in the clutch without breaking them.

EXPERIMENTAL PROCEDURE

To test the functional explanations for the scale-like hairs coating the clutch, in 1995, at the beginning of the laying period, we randomly selected 40 pines that received only one clutch of the processionary moth. During the laying period, pines were visited every two days to detect laying date. When a clutch was detected it was randomly assigned

to the experimental or control group. All of the egg-batches selected were uniformly covered with scales. For clutches in the experimental group, their scale-like hairs were manually removed, whereas for clutches in the control group, we simply handled them in the same way and similar time as the experimental group. All clutches were visited 30 days after manipulations and every two days afterwards, to determine hatching date and, thereby, estimate the incubation period. Once hatching was detected, we collected all egg-batches and, in the laboratory, estimated the variables previously described.

STATISTICAL ANALYSES

To achieve approximately normal distributions, we transformed the number of parasitized eggs by the formula log (x + 1), and the percentage of parasitized egg in the clutch by arcsin ($\sqrt{(x/100)}$). After these transformations, none of the variables distributions differed significantly from normal distributions (Kolmogorov-Smirnov test for continuous variables, $P > 0.1$), and thus the use of parametric tests was justified (Sokal & Rohlf 1995). To account for inter-annual variability in the number and percentage of parasitized eggs in a clutch (Table 1) we used residuals from year mean-values. All statistical tests were two-tailed and values are means (±SE).

TABLE 1. INTER-ANNUAL VARIATION IN CLUTCH SIZE, EGG SIZE, HATCHING SUCCESS, AND PARASITISM OF EGG BATCHES OF PINE PROCESSIONARY MOTHS. SAMPLE SIZE WAS 30 CLUTCHES IN EACH YEAR. FOR MEAN COMPARISONS BETWEEN YEAR AN ANOVA TEST WAS USED. VALUES ARE MEANS ± SE.

	1994	1995	1996	$F_{2,87}$	Probability
Length	2.79 ± 0.10	2.79 ± 0.09	2.95 ± 0.11	0.74	0.475
Clutch size	184.26 ± 8.58	184.53 ± 7.34	175.90 ± 7.85	0.38	0.683
Number of successfully hatched eggs	128.03 ± 9.42	142.46 ± 8.83	125.33 ± 8.05	1.09	0.337
Hatching success (%)	68.92 ± 3.84	76.47 ± 3.02	70.07 ± 2.16	1.73	0.187
Number of parasitized eggs	9.93 ± 1.57	6.40 ± 0.74	26.30 ± 2.67	26.23	0.000
% of parasitized eggs	5.62 ± 0.94	3.56 ± 0.42	15.08 ± 1.43	35.87	0.000

RESULTS

CLUTCH SIZE, EGG SIZE AND HATCHING SUCCESS

Our results show a highly significant negative relationship between clutch size and egg size ($r = -0.56$, $t = 6.33$, $N = 90$, $P < 0.00001$; Fig. 1a), as predicted if there exists a trade-off between these variables.

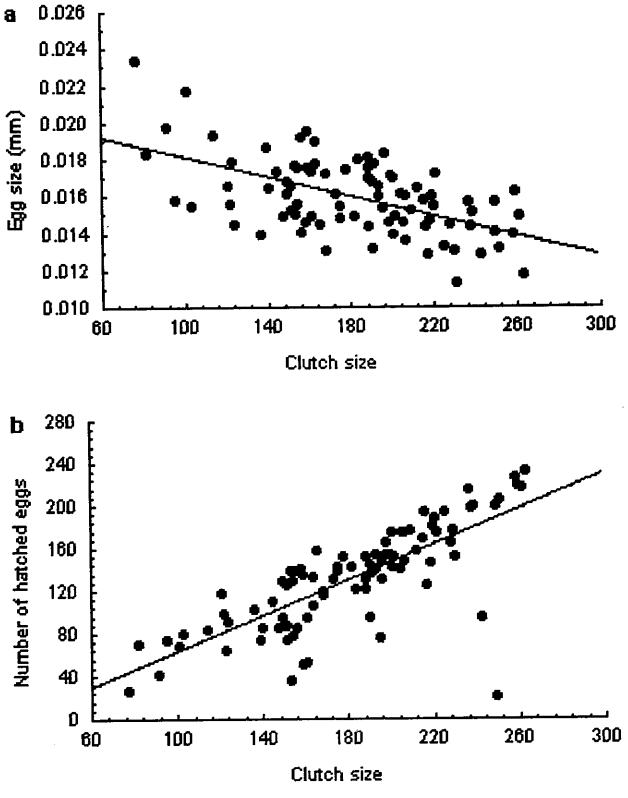

FIGURE 1. (A) RELATIONSHIP BETWEEN CLUTCH SIZE AND EGG SIZE IN EGG BATCHES. REGRESSION LINE IS $Y = 0.000(X)+0.02$. (B) RELATIONSHIP BETWEEN CLUTCH SIZE AND NUMBER OF HATCHED EGGS IN EGG BATCHES. REGRESSION LINE IS $Y = 0.837(X)-20.04$.

However, egg size did not constrain hatching success: the number of eggs that successfully hatched in a clutch was positively related to clutch size ($r = 0.760$, $N = 90$, $P <$

0.00001; Fig. 1b) and the quadratic term was not significant (Partial regression coefficient of the square term = 0.0001 (0.001), t = 0.34, P = 0.73).

Contrary to the egg size constraint hypothesis, we found that the percentage of hatching success was negatively related to mean egg size (r = -0.324, N = 90, P = 0.001; Fig. 2). This result occurs because parasitism is an important determinant of hatching failure in Pine Processionary moths (average hatching failure due to parasitism= 31.5(±2.3)%), and the number of unparasitized eggs is larger in clutches with small eggs (see below).

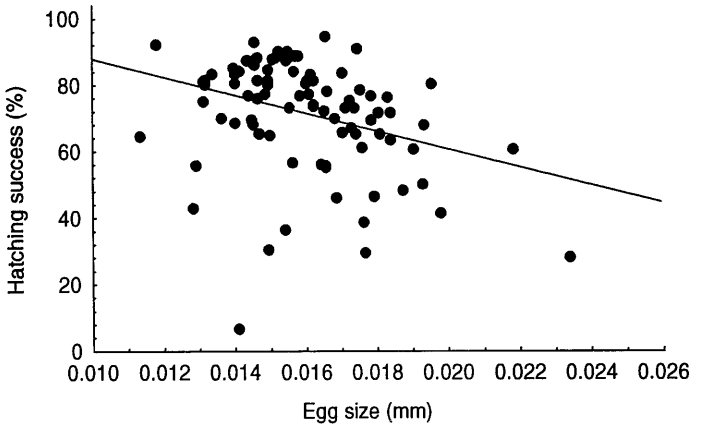

FIGURE 2. RELATIONSHIP BETWEEN HATCHING SUCCESS AND AVERAGE EGG SIZE OF EGG BATCHES. REGRESSION LINE IS Y = -2687.8(X) – 114.7.

CLUTCH SIZE, EGG SIZE, EGG-BATCH SIZE AND PARASITOIDS

We found one or more parasitized eggs in 95.5% of the analyzed egg batches (N = 90). Hence, contrary to prediction 2a, egg-batch detection by parasitoids did not depend on their length. However, in accordance with prediction 2b, the number of parasitized eggs was positively and significantly related to egg-batch length (r = 0.263, N = 90, P = 0.012; Fig 3). Large egg batches were probably located by more individual parasitoids than were

small egg batches. Accordingly, when analyzing the percentage of parasitized eggs in a clutch the positive relationship disappeared (r = 0.03, N = 90, P = 0.78).

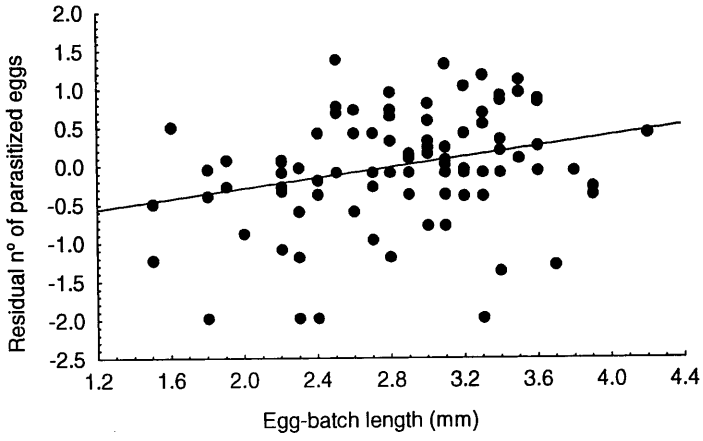

FIGURE 3. RELATIONSHIP BETWEEN EGG-BATCH LENGTH AND NUMBER OF PARASITIZED EGGS OF EGG BATCHES. RESIDUALS ARE LOG OF NUMBER OF PARASITIZED EGGS AFTER CONTROLLING FOR YEAR-TO-YEAR VARIATION. REGRESSION LINE IS Y = 0.341(X) – 0.972.

From the parasitoid's point of view, a selection of egg-batches with larger eggs to parasitize could be beneficial due to greater resource availability for their offspring (Hypothesis 3). In agreement with this hypothesis, we found a positive relationship between average egg size and percentage of parasitized eggs in a clutch (r = 0.24, N = 90, P = 0.023; Fig 4).

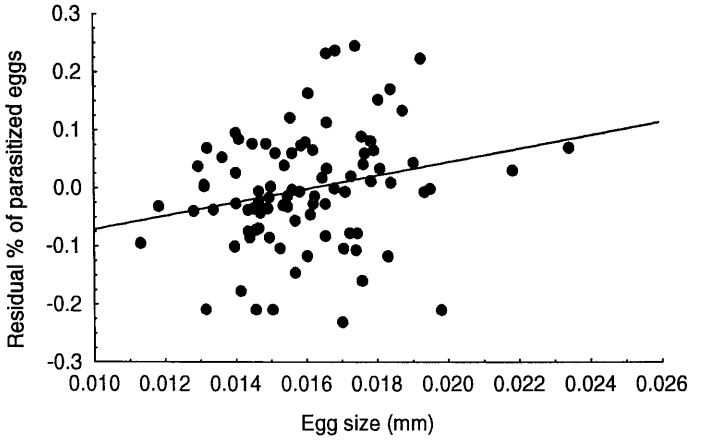

FIGURE 4. RELATIONSHIP BETWEEN AVERAGE EGG SIZE AND PERCENTAGE OF PARASITIZED EGGS OF EGG BATCHES. RESIDUALS ARE ARCSIN OF PERCENTAGE OF PARASITIZED EGGS AFTER CONTROLLING FOR YEAR VARIATIONS. REGRESSION LINE IS Y = 11.80(X) – 0.188.

These results suggest that selection pressure from parasitism influences the trade-off between clutch and egg size. Females of Pine Processionary moth maximize clutch size. As such, laying eggs of small size should be advantageous because parasitism is the main cause of hatching failures, and the number of unparasitized eggs increases with clutch size (prediction 4) (r = 0.95, N = 90, P = 0.00001; Fig. 5).

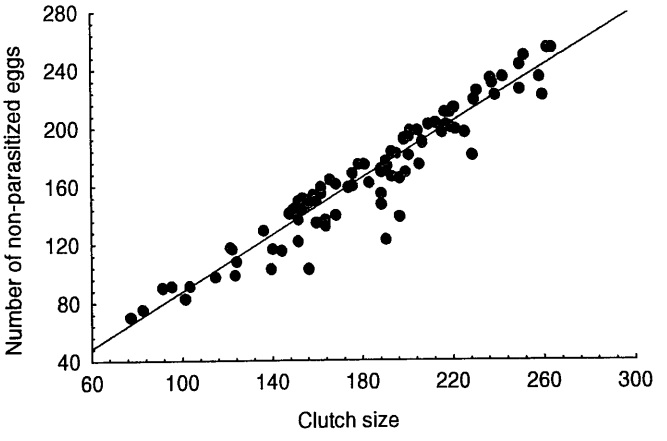

FIGURE 5. RELATIONSHIP BETWEEN THE NUMBER OF NON-PARASITIZED EGGS AND CLUTCH SIZES OF EGG BATCHES. REGRESSION LINE IS Y = 0.977(X) – 10.1.

EXPERIMENTAL TEST OF SEVERAL FUNCTIONAL HYPOTHESES OF EGG-BATCHES' LAYER COATS

The incubation period of control clutches was significantly shorter than that of clutches with layer coats removed (Table 2), suggesting a thermoinsulative property for the scale-like hairs covering clutches (Hypothesis 4).

TABLA 2. COMPARISON BETWEEN EGG BATCHES WITH EXPERIMENTALLY REMOVED AND NON-REMOVED (CONTROL) SCALES WITH RESPECT TO INCUBATION TIME (IN DAYS), CLUTCH SIZE AND LENGTH (MM) OF THE EGG BATCHES. MEAN VALUES (SE) ARE SHOWN, AND SAMPLE SIZE IS 20 FOR BOTH EXPERIMENTAL AND THE CONTROL GROUPS.

	Experimental group	**Control group**	**Statistical test**
Incubation time	38.15 (0.42)	35.60 (0.36)	$t = 4.58$, $P < 0.001$
Egg-batch length	2.97 (0.13)	2.78 (0.11)	$t = 1.07$, $P = 0.287$
Clutch size	190.00 (11.12)	188.40 (8.66)	$t = 0.11$, $P = 0.910$

In addition, hatching success was significantly lower in the experimental group ($t = 5.64$, $df = 38$, $P = 0.00001$; Fig. 6a,). However, all clutches from either the experimental or control group were parasitized (at least one egg from which a parasitoid emerged was detected) but the experimental group showed significantly more parasitized eggs per clutch ($t = 13.47$, $df = 38$, $P < 0.00001$; Fig. 6b) and, thereby, a higher parasitism rate ($t = 13.82$, $df = 38$, $P < 0.00001$; Fig 6b).

When we removed parasitized eggs from the analyses, differences in hatching success between experimental and control groups disappeared ($t = 0.68$, $df = 38$, $P = 0.49$; Fig 6a). These results strongly suggest that the protective scale layer protects the eggs from parasitism.

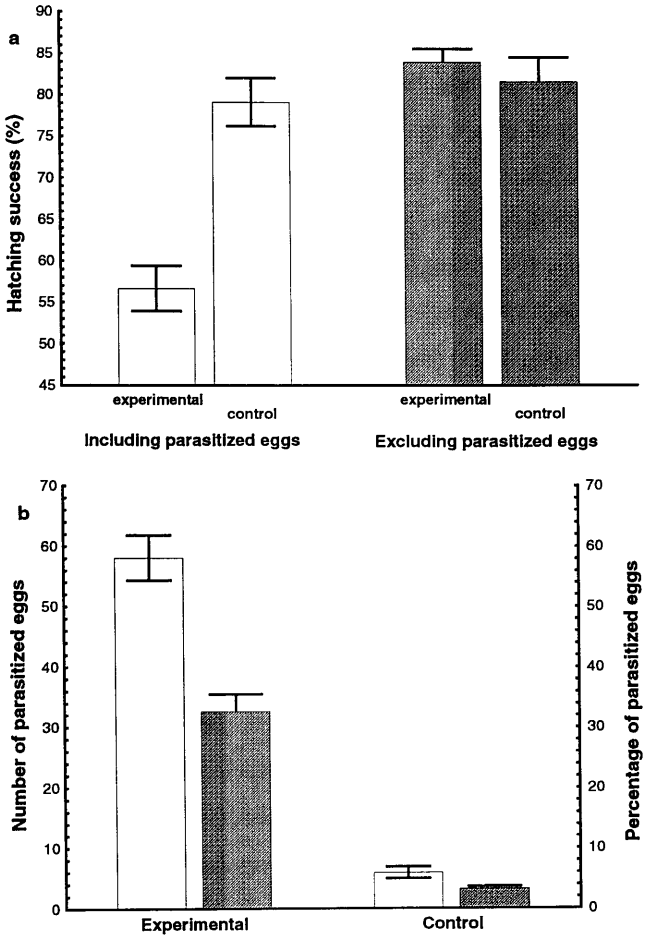

FIGURE 6. HATCHING SUCCESS (A) OF EXPERIMENTAL AND CONTROL EGG BATCHES INCLUDING (EMPTY BARS) AND EXCLUDING (FILLED BARS) PARASITIZED EGGS WITHIN A CLUTCH. NUMBER OF PARASITIZED EGGS (B, EMPTY BARS) AND PERCENTAGE OF PARASITIZED EGGS (B, FILLED BARS) OF EXPERIMENTAL AND CONTROL EGG BATCHES ARE ALSO SHOUN. WHISKERS REPRESENT STANDARD ERRORS.

DISCUSSION

CLUTCH SIZE, EGG SIZE AND PARASITOID SELECTION PRESSURE

Clutch and egg size are traits typically involved in a trade-off, because females have a limited energy budget to invest in reproduction and, as such, an increase in clutch size is related to a decrease in egg size (Stearns 1992). Given that egg size is generally related to the probability of offspring hatching and reproducing (Begon & Parker 1986) a female should optimize clutch and egg size according to the environmental conditions (Stearns 1992). In insects there exists great intra- and inter-specific variation in clutch size. Most of this variation has been explained as the result of adjustments to adult phenotypic quality (Parker & Begon 1986), availability of resources (Osier *et al.* 2000), sibling competition (Mock & Parker 1997) or predation and parasitism selection pressures (Moreau *et al.* 2000). Thus, variations in such selection pressures could influence the result of the trade-off between clutch and egg size. In accordance with a trade-off, we found a negative relationship between clutch size and egg size. However, an intermediate clutch size did not result in a higher hatching success, as would be expected if an optimum value of clutch size and egg size existed (Fig. 1b).

We explored the possibility that parasitism pressure could influence the trade-off between clutch size and egg size. Parasitoids are very common in nature and may drastically reduce host reproductive success (i.e. Weseloh 1993). Natural selection should favour traits that counteract the effects of parasitoids, such as reduced reproductive effort when the risk of parasitism is high, thereby increasing the probability of survival to future reproduction (Keymer & Read 1993, Forbes 1993, Poulin *et al.* 1994, Richner & Heeb 1995). However, insects that reproduce only once do not have this possibility and should therefore invest as much as possible in their unique reproductive attempt.

Clutch size of insects with phytophagous larvae is typically constrained by the quality and quantity of resources available in the plant selected to lay, because large clutch size would decrease resource availability per individual larva (Parker & Begon 1986). However, in capital breeders (laying one single egg batch), the size of egg batches would not be constrained by any characters of the plant selected for oviposition, but would only depend on the resources a female has accumulated as a larva (Tammaru & Haukioja 1996). This should be the case for Pine Processionary moths because females lay all their eggs on the same individual host plant (see above). Occasionally, the infestation of host plants becomes very high, resulting in overcrowed trees and starvation of most of the caterpillars

(Schmidt *et al.* 1999). In this case, parasitism of some of the eggs in the clutch, although decreasing reproductive success of adult moths, increases resource availability per individual larva. Accordingly an increase in clutch size could be adaptive because it counteracts the effect of parasitism.

This possible adaptation to counteract parasitism would have the cost of reducing average egg size and thereby decreasing hatching success (see above). However, parasitoids may select clutches with large eggs, which would provide a larger amount of resources for the parasitoids' offspring development (Rivero 2000). If so, in a population of high parasitism prevalence, larger eggs would not increase the probability of successful hatching. In accordance with this scenario, we found that the percentage of eggs that successfully hatched was higher in clutches of small egg size (Fig. 2), and that this was due to the preferential parasitism of clutches of large egg size (Fig. 4). Therefore, these results suggest that parasitoids pressure favours large clutches of small eggs in the processionary pine moth. In general, female insects maximise clutch size independently of the hypothesized negative effects of the related decrease in egg size (Parker & Courtney 1984, Parker & Begon 1986, García-Barros 2000). The evolutionary explanation for the lack of an optimum clutch and egg size may be related to the differential negative effects that parasitoids exert over clutches of large eggs.

FUNCTIONAL EXPLANATIONS OF EGG-BATCHES' LAYER COATS

Although there are several hypotheses explaining the function of the scales covering egg batches of some moth species (e.g. Montoya & Robredo 1972, Halperin 1990, Kitt & Schmidt 1993), none have been experimentally tested. Our results indicate a clear effect on hatching success. Clutches with experimentally removed layer coats experienced lower hatching success than control clutches. However, this result was mainly mediated by the differential negative effects of parasitoids over the experimental egg batches (Fig. 6). It should be noted that a thermoinsulating function, or factors other than thermal benefits, cannot be disregarded because incubation time was shorter for eggs in the control group (see results). These results are in agreement with another study that has shown that scales

from Pine Processionary moth increase egg-batch temperature (Milani 1990). Thus, scales allow the eggs to develop more quickly.

There are several possible explanations for the result that experimental clutches suffered more from parasitism than did control clutches. One explanation could be related to the hypothetical barrier effects that scales may have for parasitoids trying to gain access to the eggs. However, this hypothesis is unlikely because at least one egg was parasitized in all experimental and control clutches.

A second explanation could be related to the possibility that the scales covering the egg batches confer camouflage to the clutch and thereby minimize the probability of detection. Insects have a very limited visual discrimination (Heinrich 1984) and many species depend on their sense of smell to detect their prey (Vinson 1985, Wardle & Borden 1989). Thus, chemical rather than visual crysis would be more likely in insects. In accordance with this functional hypothesis, we found that experimental clutches were more frequently parasitized (more parasitized eggs per clutch) than control clutches (see results). Alternatively, we also found that both experimental and control clutches were detected by parasitoids. Indeed, larger egg batches did not show more parasitized eggs than smaller egg batches (see results), as would be expected if chemical stimuli increases with egg batch length.

Finally, a third possible explanation for the reduction of parasitism mediated by the scales covering egg batches would be that parasitoids are not able to locate individual eggs within a clutch because of the scales covering them. Parasitoids access the eggs by introducing the ovipositor perpendicularly (Hawkins 1994). The uncertain localization of individual host-eggs could drastically decrease successful parasitism and increase the costs of detecting and parasitizing a host egg. Moreover, parasitoids of Pine Processionary moths in our study area lay a single egg per individual host-egg (Pers. Obs.). Since host eggs are small and contiguous and parasitoids would not be able to estimate the size of these in a clutch, they should select eggs sufficiently distant to ensure that only one egg is laid per host egg. This could also explain why clutches with small eggs suffered less from parasitism (see above). We believe that this explains why clutches without covering scales were more frequently parasitized than clutches with scales.

In summary, we find strong evidences supporting the hypothesis that parasitoids affect the resulting trade-off between egg size and clutch size in the processionary-pine moth, and that scales covering the egg batches reduce the negative effects of parasitism. Most studies showing the influence of parasites in the evolution of host life history traits (see reviews in Clayton & Moore 1997) have been performed on birds. However, because many insects reproduce only once, and some of them lay all their eggs in the same batch, parasitoid-insect systems are ideal models for testing predictions related to the hypothesis that parasites affect their host's life history traits.

AKNOWLEDGMENTS

The Confederacion Hidrografica del Guadalquivir allowed us to carry out this work in their pine plantations. TPC received support from a grant of the Behavioural Ecology research group of the Granada University, and JJS from the Spain's Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica (project PB97-1233-C02-02, PGC-MEC). We thank Ian Hardy, Juan Gabriel Martínez, Liesbeth de Neve, and Manuel Soler for comments that greatly improved a previous version of the article.

REFERENCES

Alexander, R. D. (1974) The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 325-383.

Begon, M. & Parker, G. A. (1986) Should egg size and clutch size decrease with age? *Oikos* 47: 293-302.

Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects.* Chapman & Hall, Nueva York.

Biliotti, E. (1958) Les parasites et predateur de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Entomophaga* 3 : 23-24.

Boggs, C. L. (1997) Reproductive allocation from reserves and income in butterfly species with differing adult diets. *Ecology* 78: 181-191.

Braby, M. F. (1994) The significance of egg size variation in butterflies in relation to hostplant quality. *Oikos* 71: 119-129.

Browder, L. W., Erikson, C. A. & Jeffrey, W. R. (1991) *Developmental biology*. 3ª edición. Saunders College Publishing, Philadelphia.

Buss, L. W. (1981) Group living, competition, and the coevolution of cooperation in a sessile invertebrate. *Science* 213: 1012-1014.

Charnov, E. L., Orians, G. H. & Hyatt, K. (1976) The ecological implications of resource depletion. *The American Naturalist* 110: 247-250.

Clayton, D. H. & Moore, J. (1997) *Host-parasite evolution. General principles and avian models*. Oxford University Press, New York.

Clutton-Brock, T. H. (1991) *The evolution of parental care*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Crowe, M. L. (1995) The effect of season and group size on survivorship and larval growth in *Plagiodera versicolora*. *Ecological Entomology* 20: 27-32.

Damman, H. (1991) Oviposition behaviour and clutch size in a group feeding pyralid moth, *Omphalocera munroei*. *Journal of Animal Ecology* 60: 193-204.

DeBach, P. & Rosen D. (1991) *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press, Cambridge.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Dobson, A. P. (1988) The population biology of parasite-induced changes in host behavior. *Quaterly Review of Biology* 63: 139-165.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Floater, G. J. (1998) Tuft scales and egg protection in *Ochrogaster lunifer* Herrich-Schaffer (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). *Australian Journal of Entomology* 37: 34-39.

Forbes, M. R. L. (1993) Parasitism and host reproductive effort. *Oikos* 67: 444-450.

García-Barros, E. (2000) Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life-history traits in butterflies (Lepidoptera: Papilioidea, Hesperioidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 70: 251-284.

Halperin, J. (1990) Natural enemies of *Thaumetopoea* spp. (Lep., Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal of Applied Entomology* 109 : 425-435.

Hamilton, W. D. (1971) Geometry for the selfish herd. *Journal of Theoretical Biology* 31: 295-311.

Hawkins, B. A. (1994) *Pattern and process in host-parasitoid interactions*. Cambridge University Press, Cambridge.

Heinrich, B. (1984) Strategies of thermoregulation and foraging in two vespid wasps, *Dolichovespula maculata* and *Vespula vulgaris*. *J. Comp. Physiol.* 154B: 175-180.

Hoballah, M. E. F. & Turlings, T. C. J. (2001) Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. *Evolutionary Ecology Research* 3: 553-565.

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

Kaireva, P. & Odell, G. (1987) Swarms of predators exhibit "preytaxis" if individual predators use area-restricted search. *The American Naturalist* 130: 233-270.

Karlsson, B. & Wiklund, C. (1985) Egg weight variation in relation to egg mortality and starvation endurance of newly hatched larvae in some satyrid butterflies. *Ecological Entomology* 10: 205-211.

Kessler, A. & Baldwin, I. T. (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291: 2141-2144.

Keymer, A. E. & Read, A. F. (1993) Behavioral ecology: the impact of parasitism. En: *Parasite-host association. Coexistence or conflict ?* (Eds. C. A. Toft, A. Aeschlimann & L. Bolis), pp: 37-61. Oxford Science Publications, Oxford.

Kitt, J. & Schmidt, G. H. (1993) Parasitism of egg-batches of pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lep., Thaumetopoeidae) in the mountains of Lahav (Israel). *Journal of Applied Entomology* 115: 484-498.

Masutti, L. (1964) Ricerche sui parassiti oofagi della *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Annali del Centro di economia montana delle Venezie* 4: 143-178.

Milani, N. (1990) The temperature of the egg masses of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). *REDIA* LXXIII: 149-161.

Mock, D. W. & Parker, G. A. (1997) *The evolution of sibling rivalry*. Oxford University Press, Oxford.

Montoya, R. & Robredo, F. (1972) *Thaumetopoea pinivora* Tr. La procesionaria del verano. *Boletín de la Estación Central de Ecología* I: 43-56.

Moreau, S. J. M., Doury, G. & Giordanengo, P. (2000) Intraspecific variation in the effects of parasitism by *Asobara tabida* on phenoloxidasa activity on *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 76: 151-153.

Osier, T. L., Hwang, S. Y. & Lindroth, R. L. (2000) Effects of phytochemical variation in quaking aspen *Populus tremuloides* clones on gypsy moth *Lymantria dispar* performance in the field and laboratory. *Ecological Entomology* 25: 197-207.

Parker, G. A. & Begon, M. (1986) Optimal egg size and clutch size: effects of environment and maternal phenotype. *The American Naturalist* 128: 573-592.

Parker, G. A. & Courtney, S. P. (1984) Models of clutch size in insect oviposition. *Theoretical Population Biology* 26: 27-48.

Poulin, R., Brodeur, J. & Moore, J. (1994) Parasite manipulation of host behaviour : should hosts always lose? *Oikos* 70: 479-484.

Pulliam, H. R. & Caraco, T. (1984) Living in groups: Is there an optimal group size? En: *Behavioral ecology: an evolutionary approach* (Eds. J. R. Krebs & N. B. Davies), pp: 122-147. Oxford, Blackwell, Oxford.

Richner, H. & Heeb, P. (1995) Are clutch and brood size patterns in birds shaped by ectoparasites? *Oikos* 73: 435-441.

Ricklefs, R. E. & Stark, M. (1998) Embryonic growth and development. En: *Avian growth and development* (Eds. M. Stark & R. E. Ricklefs). Oxford University Press, Oxford.

Rivero, A. (2000) The relationship between host selection behaviour and offspring fitness in a koinobiont parasitoid. *Ecological Entomology* 25: 467-472.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989. Hannover.

Schmidt, G. H. (1990) The egg-batch of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae): Structure, hatching of the larvae and parasitism in Southern Greece. *Journal of Applied Entomology* 110: 217-228.

Schmidt, G. H., Tanzen, J. & Bellin, S. (1999) Structure of egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae), egg parasitoids and rate of egg parasitism on the Iberian Peninsula. *Journal of Applied Entomology* 123: 449-458.

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

Stearns, S. C. (1992) *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford.

Tammaru, T. & Haukioja, E. (1996) Capital breeders and income breeders among Lepidoptera – consequences to population dynamics. *Oikos* 77: 561-564.

Tiberi, R. (1978) Notizie preliminari sull'incidenza dei parassiti oofagi nelle popolazioni di Processionaria del pino in giovani pinete dell'Italia centrale. *Redia* LXI: 487-501.

Tiberi, R. (1990) Egg parasitoids of the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Italy: distribution and activity in different areas. *Journal of Applied Entomology* 110: 14-18.

Tsankov, G. (1990) Egg parasitoids of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in Bulgaria: Species, importance, biology and behaviour. *Journal of Applied Entomology* 110: 7-13.

Tsankov, G., Schmidt, G. H. & Mirchev, P. (1996) Parasitism of egg-batches of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) in various regions of Bulgaria. *Journal of Applied Entomology* 120: 93-105.

Tsankov, G., Schmidt, G. H. & Mirchev, P. (1998) Studies on the egg parasitism in *Thaumetopoea pityocampa* over a period of four years (1991-1994) at Marikostino/Bulgaria. *Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 71: 1-7.

Vinson, S. B. (1985) The behaviour of parasitoids. En: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. Vol. 9, Behaviour* (Eds. G. A. Kerkut & L. I. Gilbert), pp: 417-469. Oxford, Pergamon, Oxford.

Wajnberg, E. & Hassan, S. A. (1994) *Biological control with egg parasitoids.* CAB International, Wallingford.

Wardle, A. R. & Borden, J. H. (1989) Learning of an olfactory stimulus associated with a host microhabitat by *Exeristes roboyator*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 52: 271-279.

Weseloh, R. M. (1993) Potential effects of parasitoids on the evolution of caterpillar foraging behavior. En: *Caterpillars, ecological and evolutionary constraints on foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 203-223. Chapman & Hall, New York.

Wiklund, C. & Karlsson, B. (1984) Egg size variation in Satyrid butterflies: adaptive vs historical, "Bauplan", and mechanistic explanations. *Oikos* 43: 391-400.

Wiklund, C. & 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.

Wolpert, L. (1991) *The triumph of the embrio*. Oxford University Press, Oxford.

VI

Why do pine processionary caterpillars *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) live in large groups? An experimental study

Tomás Pérez-Contreras, Juan José Soler & Manuel Soler

Annales Zoologici Fennici (2003) 40: 505-515

ABSTRACT

Optimal group size of gregarious larvae is the result of a trade-off between the costs and benefits undergone by individuals living in groups of different sizes. Thus, females should adjust their clutch size to an optimal-minimum group size. In this study, we experimentally manipulated the size of colonies of Pine Processionary caterpillars, a capital breeder species, to test the hypothesis that a large group size enhances larval growth and survival. We also explored whether this relationship fits a quadratic or an asymptotic curve and estimated an optimum or a minimal-optimum group size. The results showed significant differences in the final larval sizes in the various treatments, being greater in the larger groups. In addition, according to the existence of a minimal-optimum group size, we found that a Piecewise Linear Regression fits the above relationship better than does a linear regression. Groups larger than 32 individuals did not differ in growth or survival parameters. Although the number of dead larvae per group did not differ between experimental treatments, large experimental colonies suffered a lower percentage of mortality. Thus, the probability of reaching the pupal stage was greater for larvae from large colonies because of dilution effects. Our results demonstrated a minimum group size, above which group size did predict larval growth or mortality, thereby explaining why Pine Processionary caterpillars live in large groups.

INTRODUCTION

In nature, groups of animals can be considered as "true social" groups or as mere associations of individuals that prefer to forage, breed, or defend against predators in groups (i.e. flocks, colonies). Living in groups may confer benefits such as stronger defences against predators and greater capacity to locate food (Bowers 1993, Fitzgerald 1993). However, group living may also exact costs such as increased competition for resources (Day 2001) and conspicuousness that could attract predators (Elgar 1989). Therefore, an optimal group size is the result of a trade-off between costs and benefits associated with different group sizes, these depending on environmental conditions and specific life-history traits (Stamp 1981, Rannala & Brown 1994, Uetz & Hieber 1997).

In the case of insects, larval aggregation is relatively frequent and occurs mainly in a taxonomically diverse array of Lepidoptera species (Fitzgerald 1993). Gregarious larvae have the advantage of a higher foraging efficiency (feeding facilitation), because aggregation may facilitate the establishment of a feeding site for first-instar siblings (Shiga 1976), or enhance the ability to overcome morphological (i.e. trichomes, Young & Moffett 1979) or chemical (Neuvonen & Haukioja 1991, Tallamy & Raupp 1991) defences of their host plant. As a result, larval growth rate is positively related to aggregation level in some species (Long 1953, Lawrence 1990). Group living may also enhance defence against natural enemies, given that larger larval aggregations reportedly have lower mortality rates from natural enemies than do smaller groups or solitary individuals (Lawrence 1990, Fitzgerald 1993, but see Stamp (1981) for an opposite pattern in Lepidoptera). Moreover, individuals living in groups may have a lower risk of being attacked by predators because of the stronger warning signals (Guilford 1990, Bowers 1993, Fitzgerald 1993, Alatalo & Mappes 1996), chemical, and behavioural (twitching) defences (Stamp 1982, 1984, Peterson *et al.* 1987, Vulinec 1990), or simply because of the dilution effect (Foster & Treherne 1981, Wcislo 1984), which is purely a question of probability without requiring any complex or cooperative behaviour. To some extent the dilution effect may be offset by the increased number of attacks on larger and more conspicuous groups, but usually the net effect probably favours living in a group (Krebs & Davies 1993). Larger groups of caterpillars are also able to construct leaf or web shelters that provide effective protection

from invertebrate predators (Damman 1987). Another advantage to larval aggregation is the facilitation of thermoregulation by group basking (Casey 1993, Fitzgerald 1993), because high body temperatures in aggregated larvae result in a high foraging rate, fast digestion, or in a effective escape from natural enemies (Casey *et al.* 1988, Stamp & Bowers 1990a, b, c, Fitzgerald 1993).

Documented disadvantages of group living include higher risk of infectious disease (Hochberg 1991) and parasitism (Dobson 1988), increased competition for food between grouping larvae (Damman 1991, Le Masurier 1994) and greater visibility to predators (Stamp 1981, Le Masurier 1994). The presence of conspicuous non-warning coloration in gregarious species may prove costly because these individuals are more easily discovered by potential predators. This may also be the case for warning-coloured individuals if their defences are not effective against some predators (Guilford 1990). Thus, above a certain group size, costs associated with competition or coexistence among group members may exceed advantages associated with cooperation (Zemel & Lubin 1995).

Therefore, optimal group size would be the result of the trade-off between the costs and benefits described above (e.g. Wilson 1975, Krebs & Davies 1993). However, optimal group size has two limitations. First, individual in a group may attain different pay-offs and may have different optimal groups sizes, and second, optimal-sized groups may be unstable because they tend to be joined by individuals from smaller groups (Krebs & Davies 1993). Adult fitness and adult body size, which is related to fecundity (e.g. Spurgeon *et al.* 1995, Webber & Ferro 1996, García-Barros 2000), depend on larval growth and size, but ultimately on larval survival (Kamata & Igarashi 1995). Moreover, group size, which is determined mainly by clutch size (Sillen-Tullberg 1988, Gregiore 1988), is positively related to larval survivorship and growth, as suggested by field and laboratory experiments (e.g. Denno & Benrey 1997, Fordyce & Agrawal 2001, Nahrung *et al.* 2001). Since large groups may also suffer repercussions (see above), evidence of stabilizing selection acting on larval group size has been detected in several insect species (e.g. Matsumoto 1990, Crowe 1995).

The Pine Processionary (*Thaumetopoea pityocampa*) is a highly abundant moth species with larvae that constitute the main pest of pines in the Mediterranean region.

Females lay only one clutch (capital breeder), and, after hatching, highly gregarious larvae normally build a single nest where all siblings stay while not feeding. The larvae, highly gregarious in all growth stages, stay on the same tree while food is not a limiting factor. When more than one clutch per pine exists, larvae from different clutches may group and build a single nest to share (Douma-Petridou 1989). Thus, clutch size determines colony size when there is only one clutch per tree because the number of eggs hatched is strongly and positively related to clutch size (Pérez-Contreras & Soler unpubl.); however if more than one clutch exists in the same tree, clutch size determines the minimum group size only. Due to the hypothetical costs associated with small groups, females should adjust their clutch size to that related to an optimal-minimum group size because of the possibility that more than one female may be laying in the same tree and offspring therefore may be suffering the costs associated with groups larger than the optimum.

In the present study, we experimentally manipulated the size of Pine Processionary colonies within their natural range, and tested the hypothesis that a large group size enhances larval growth and survival. We used clutches that were alone in a single pine, reduced the negative effects of competition for food between larvae from different clutches, and ensured that all individuals from the same colony were genetically related. Because of the hypothetical control of group size by adult females explained above, we predicted that group size of natural colonies should be close to that for which the relationship between group size, growth rate, and sizes of larvae reach the optimum. However, due to possible costs associated with an oversized group, we further explored the expected positive relationship between experimental group size and growth because it may be quadratic or asymptotic.

MATERIALS AND METHODS

STUDY SITE

The field study was conducted in an area of pine forestation located in the high-altitude plateau Hoya de Guadix (37°18'N, 3°11'W), Spain, approximately 1000 m above

sea level with a semi-arid climate. Two pine species were present and susceptible to attack by the Pine Processionary moth, the Aleppo pine (*Pinus halepensis*) and the maritime pine (*Pinus pinaster*). The former is the most abundant, representing some 90 % of the trees. The research site is a young forestation area with an average pine height of four meters. Distance between pines is quite uniform, about four-five meters.

STUDY SPECIES

The Pine Processionary caterpillar is highly gregarious and is distributed throughout southern Europe being the principal defoliator of pines in the Mediterranean region (Devkota & Schmidt 1990). The flight and egg-laying period, though depending on factors such as weather and altitude, usually spans from May to October (Douma-Petridou 1989). Females lay a single cylindrical clutch that is covered with scale-like hairs. Oviposition covers one or two pine needles, predominantly from the base of the needles towards the tip. The eggs hatch after five-six weeks (Schmidt 1989). Larval development involves five instars (Douma-Petridou 1989) and, although larvae move around the pine feeding on needles, they build a silk nest where all the larvae from the same clutch stay while not feeding. When more than one clutch is laid in a pine, larvae from different clutches sometimes build a single nest to share. In colonies formed from a single clutch, the number of individuals per colony at the first instar ranges from 47 to 149 in our study area (data from the present study; mean = 94.2, SE = 2.27, $N = 90$). After larval development, the larvae leave the nest in a procession and search for a suitable underground pupation site. The pupal diapause varies from a few months to one-two years (Schmidt 1989).

GENERAL PROCEDURES

In 1995, during egg laying, we randomly selected 90 Aleppo pines that had a single Pine Processionary clutch. All selected pines were of similar size (2.5-3 m), making food availability similar for all selected clutches. We randomly assigned 60 of those 90 clutches to one of the four experimental treatments. Treatments consisted of removing recently hatched larva to leave 25 (Group I), 50 (Group II), 75 (Group III) and 100 (Group

IV) larvae per clutch. The removed larvae were introduced into other colonies of the study area. In addition, we kept 30 colonies as a control to estimate the mortality rate and final larval length of natural colonies. Body length and group size of recently hatched larvae did not differ significantly between colonies of the four different experimental treatments (Table 1), or between experimental and control groups before manipulation (Body length: $F_{1,88} = 0.17$, $P = 0.68$; Group size: $F_{1,88} = 0.02$, $P = 0.90$), indicating that our experimental groups were not biased.

We monitored each of the experimental colonies monthly for up to five visits before larvae left the pine to pupate. Since we selected pines with a single colony, with non-limited resources for larval development, and we did not detect larval movements between different trees, differences in larval numbers between different visits were assumed to be due to larval mortality. If we found no individuals in an experimental colony in a target visit, we assumed that all larvae had died and, consequently reduced sample size for larval length and growth, but not for group size. In subsequent visits, we did not take these defunct colonies into account in our estimates of group size.

On each visit, we counted the number of larvae per colony and estimated mean larval length. Larval lengths were measured with a digital calliper (Mitutoyo, 0.01 mm of accuracy). We measured ten randomly collected individuals per colony when possible. When less than ten individuals were found, we measured all individuals in the colony. Larval growth was calculated as the difference in average larval sizes between two consecutive visits.

STATISTICAL ANALYSES

To achieve an approximately normal distribution of variables, we logarithmically transformed the number and percentage of larvae found dead in each visit. After these transformations, none of these variables differed significantly from normal distributions (Kolmogorov-Smirnov test for continuous variables, $P > 0.2$). Although larval size on the four first visits did not differ significantly from a normal distribution (Kolmogorov-Smirnov test for continuous variables, $P > 0.2$), larval size differed significantly from a

normal distribution on the five last visits. Therefore, parametric tests were applied following Sokal and Rohlf (1995) except for the analyses where final larval length was included, in which we used non-parametric tests.

To explore whether the relationship between group size and mean body size of larvae in experimental groups fit better to a straight line, or rather the fitted function changed for different group sizes, we used a Piecewise linear regression with a breakpoint as implemented by Statistica 6.0 (StatSoft 1998) and compared correlation coefficients. Moreover, breakpoints of that regression would inform us concerning the values of group size where the type of relationship between larval size and group size changes.

RESULTS

EFFECT OF AGGREGATION SIZE ON LARVAL GROWTH

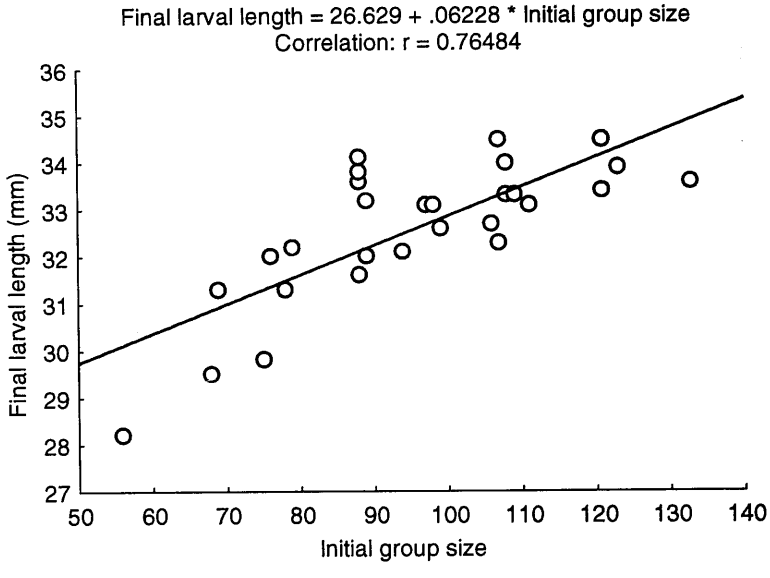

FIGURE 1. RELATIONSHIP BETWEEN THE INITIAL GROUP SIZE AND THE FINAL LARVAL SIZE IN NATURAL COLONIES. TEST USED WAS SPEARMAN RANK CORRELATION. N = 28.

Group size prior to the manipulation did not predict larval-body length either before (r = -0.17, N = 60, P = 0.17), or after the experiment, at the fifth instar close to the pupation time (r_s = 0.16, N = 50, P = 0.26). In natural colonies, initial group size did not predict the initial larval body length (r = -0.12, N = 30, P = 0.51), but did predict the final larval body length (r_s = 0.76, N = 28, P < 0.001, Fig.1).

The experimental group size affected the larval body length during the four months of growth, and larval growth showed significant differences between groups for each visit except for the third (Table 1). After four months of growing, larvae from the largest experimental groups size were largest in terms of body length (Table 1), and paired comparisons between experimental groups revealed significant differences (Mann-Whitney U test, $Z_{(adjusted)}$ > 1.99, P < 0.05), except for groups initially containing 75 and 100 individuals (Table 1; Mann-Whitney U test, $Z_{(adjusted)}$ = 0.54, P = 0.59).

TABLA 1. BODY SIZE, GROUP SIZE, AND GROWTH OF LARVAE FROM EXPERIMENTAL AND CONTROL GROUPS. MEAN VALUES, STANDARD ERRORS (SE) AND SAMPLES SIZE (N) ARE SHOWN FOR EACH GROUP. COMPARISON BETWEEN EXPERIMENTAL GROUPS ARE ALSO SHOWN. VISITS WERE MONTHLY AND FIRST AND FIFTH VISITS CORRESPONDED TO THE FIRST AND THE FIFTH INSTARTS, RESPECTIVELY.

	Groups I (25)	Groups II (50)	Groups III (75)	Groups IV (100)	Natural	ANOVAs between		
	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Experimental groups		
First visit								
Body size	5.57 ± 0.10 (15)	5.59 ± 0.05 (15)	5.43 ± 0.05 (15)	5.42 ± 0.06 (15)	5.47 ± 0.07 (30)	1.48	3, 56	0.23
Group size	92.40 ± 5.69 (15)	91.86 ± 6.29 (15)	98.46 ± 6.31 (15)	93.20 ± 6.08 (15)	94.00 ± 3.39 (30)	0.24	3, 56	0.86
Second visit								
Body size	9.06 ± 0.16 (14)	9.25 ± 0.10 (15)	9.91 ± 0.05 (15)	10.14 ± 0.14 (15)		19.03	3, 55	< 0.0001
Group size	17.73 ± 1.70 (15)	42.47 ± 1.19 (15)	68.07 ± 1.39 (15)	90.73 ± 1.19 (15)		521.7	3, 56	< 0.0001
Growth 1	3.54 ± 0.21 (14)	3.66 ± 0.11 (15)	4.48 ± 0.06 (15)	4.71 ± 0.13 (15)		19.06	3, 55	< 0.0001
Third visit								
Body size	14.30 ± 0.21 (14)	14.93 ± 0.08 (15)	15.40 ± 0.15 (15)	15.90 ± 0.07 (15)		24.8	3, 55	< 0.0001
Group size	12.79 ± 1.05 (14)	35.40 ± 2.07 (15)	62.00 ± 2.18 (15)	83.73 ± 1.59 (15)		209.8	3, 55	< 0.0001
Growth 2	5.24 ± 0.21 (14)	5.68 ± 0.12 (15)	5.49 ± 0.15 (15)	5.76 ± 0.17 (15)		1.962	3, 55	0.13
Four visit								
Body size	23.82 ± 0.21 (12)	24.74 ± 0.18 (14)	25.73 ± 0.13 (15)	26.51 ± 0.17 (14)		46.70	3, 51	< 0.0001
Group size	5.50 ± 1.01 (14)	26.73 ± 2.81 (15)	54.87 ± 2.34 (15)	71.47 ± 5.41 (15)		75.22	3, 55	< 0.0001
Growth 3	9.66 ± 0.25 (12)	9.84 ± 0.16 (14)	10.33 ± 0.23 (15)	10.59 ± 0.15 (14)		4.52	3, 51	< 0.0001
Fifth visit								
Body size*	29.48 ± 0.54 (10)	30.80 ± 0.31 (13)	33.59 ± 0.12 (14)	33.72 ± 0.17 (13)	32.57 ± 0.29 (30)	$X^2 = 39.5$	3	< 0.0001
Group size	3.58 ± 0.81 (12)	17.43 ± 2.39 (14)	44.53 ± 4.51 (15)	66.43 ± 5.59 (14)	62.53 ± 4.45 (30)	48.10	3, 51	< 0.0001
Growth 4	5.60 ± 0.52 (10)	6.09 ± 0.34 (13)	7.82 ± 0.18 (14)	7.25 ± 0.26 (13)		9.91	3, 46	< 0.0001

* since mean body length of larvae in the fifth instar did not follow a normal distribution, we used Kruskal-Wallis ANOVA

In addition, larval growth between consecutive visits was explained by the colony size of the previous visit, except between the second and the third visits (Table 2), and final larval length was explained by final group size both in experimental ($r_s = 0.75$, $N = 50$, $P < 0.001$; Fig. 2) and in control groups ($r_s = 0.58$, $N = 28$, $P = 0.0011$). Thus, since we experimentally manipulated group size, it can be concluded that this factor was causally responsible for variation in body size and growth of larvae from different colonies.

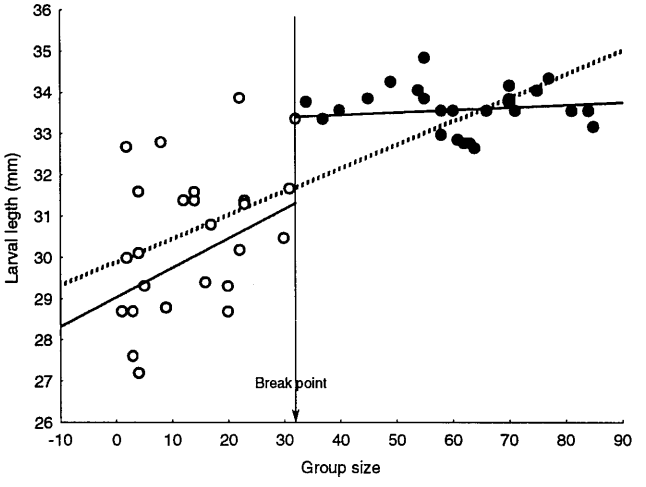

FIGURE 2. RELATIONSHIP BETWEEN GROUP SIZE AND LARVAL LENGTH CLOSE TO PUPATION TIME OF EXPERIMENTAL COLONIES. SOLID LINE REPRESENT THE PIECEWISE LINEAR REGRESSION ($R = 0.91$, $N = 50$, $P < 0.001$) AND DISCONTINUOUS LINES REPRESENT LINEAR REGRESSION ($R = 0.76$, $N = 50$, $P < 0.001$). DIFFERENCES BETWEEN CORRELATION COEFFICIENTS: $P < 0.05$.

Tabla 2: Correlation analyses between larval growth during consecutive visits and number of larvae per experimental colony in the previous visit.

	r	*t*	*p*	*N*
Growth 1 *vs.* group size 0	0.68	7.06	0.001	59
Growth 2 *vs.* group size 1	0.20	1.55	0.124	59
Growth 3 *vs.* group size 2	0.41	3.34	0.001	55
Growth 4 *vs.* group size 3	0.48	3.82	0.001	50

Regarding an optimal group size, we found that a Piecewise Linear Regression fit the relationship between final larval length and group size ($R = 0.91$, $N = 50$, $P < 0.001$) of experimental colonies better than did a linear regression ($R = 0.76$, $N = 50$, $P < 0.001$) (Fig 2), differences between correlation coefficients being statistically significant ($P = 0.012$). When the colonies of final larval smaller and larger than 32 individuals were separated, the frequency distributions of subsamples became approximately normally distributed (Kolmogorov-Smirnov tests for continuous variables, $P > 0.2$). The break point from the Piecewise Linear Regression analysis was 32.08 and regression coefficient of first line (0.072) was more than 10-fold that of the second line (0.006). Moreover, the intercept of the second line proved larger (33.24) than that of the first line (29.04), and the second line did not show negative patterns, with intercept very close to the maximum larval length. Non-experimental colonies demonstrated a similar pattern (linear regression: $R = 0.55$, $N = 28$, $P = 0.002$; Piecewise Linear Regression: $R = 0.83$, $N = 28$, $P < 0.001$; Break point = 32.58; first line equation: Y = 0.040(X) + 29.27; second line equation: Y = 0.002(X) + 33.41; comparisons between correlation coefficients, $P = 0.049$). Thus, a positive relationship between group size and larval length was due mainly to colonies smaller than 32 individuals in our population.

RELATIONSHIP BETWEEN AGGREGATION SIZE AND LARVAL SURVIVAL

All individuals died in 17 % of the experimental colonies ($N = 60$), while only 7% of the non-experimental colonies ($N = 30$) disappeared. That difference was primarily due to the higher mortality rate of the smallest experimental colonies with 25 individuals (5 out of the 15 colonies disappeared before pupation).

The number of dead larvae per group did not differ between experimental treatments (ANOVA, $F_{3,56} = 2.39$, $P = 0.07$) and, thus, experimental colonies with large numbers of individuals suffered a lower percentage of mortality (ANOVA, $F_{3,56} = 19.63$, $P < 0.001$, Fig. 3) regardless of the larval age (ANOVA, $F > 6.4$, df $> 48, 3$, $P < 0.001$). In the natural colonies, initial group size did not predict the final number of dead larvae ($R = -0.14$, $N = 30$, $P = 0.44$) and, as in experimental colonies, those with a large number of individuals suffered a lower percentage of mortality ($R = -0.43$, $N = 30$, $P = 0.016$). Therefore, although

we did not find that experimentally manipulated small colonies suffered more from mortality (i.e. predation or parasitism) than large colonies, the probability of reaching the pupal stage was higher for larvae from colonies with a large number of individuals.

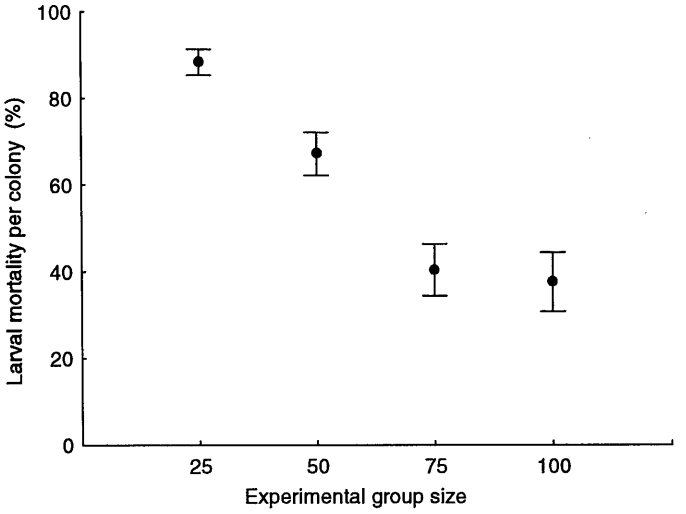

FIGURE 3. THE AVERAGE PERCENTAGE OF LARVAL MORTALITY IN THE FOUR GROUP SIZE TREATMENTS. DIFFERENCES IN THE MEANS WERE SIGNIFICANT (ANOVA: $F_{3, 56}$= 19.63, P < 0.001).

DISCUSSION

Our results with *T. pityocampa* strongly support the hypothesis that aggregation enhances larval growth, in agreement on previous results on gregarious caterpillars (Long 1953, 1955, Lawrence 1990, Stamp & Bowers 1990c). The length of larvae from the experimental groups with the largest number of larvae was significantly greater than that of larvae from groups with a reduced number of individuals. However, there are no significant differences in growth rate or length appeared between the two largest groups, and the positive relationship between the final group size and larval length disappeared when taking into account only groups with more than 32 larvae. A large larval body size in *Thaumetopoea pityocampa* confers several advantages that result in a high probability of

larvae reaching the pupal (Coyle *et al.* 1999) and adult stage (Kamata & Igarashi 1995). Moreover, body size before pupation is positively related to adult body size (Spurgeon *et al.* 1995), which in turn is related to female fecundity and adult dispersal capacity (Webber & Ferro 1996).

Large groups of larvae are known to have feeding advantages that would result in large body mass and growth. For instance, plant allelochemicals affect larval performance (Tallamy & Raupp 1991, Denno & Benrey 1997) and large groups would consume plant structures more quickly than would small groups, thus avoiding the brunt of induced plant defences, given the time required to produce chemicals and deploy them to the feeding site. Large groups may also benefit from their better thermoregulatory capacity (Porter 1982, Joos *et al.* 1988, Stamp & Bowers 1990c), which enhances larval growth (see Introduction). Although we have no data on feeding time or nest temperature, larvae from experimental groups I and II may have remained at the feeding site for a longer time and therefore have reached lower body temperature than those from groups III and IV. Thus, larvae from small groups may be subject to more severe negative effects of an induced chemical response by the pine (as shown for other species, Denno & Benrey 1997), in addition to less foraging time, and lower temperature, which could explain their lower growth rate.

On the other hand, larvae in large groups may suffer from a high intraspecific competition when suitable resources are limited (see Introduction). However, our experimental design considerably reduced intraspecific competition, given that in all pines more than 50% of pine needles remained uneaten after the larvae left the pine for pupation.

In any case, regardless of the causes for the high growth rates and large body sizes of the larvae from our largest experimental groups, our manipulation clearly affected these larval traits. In our experimental population, the average number of larvae per group at the first instar was about 95. Following our results on larval mortality of natural groups (mean 40.2%, N = 30, SE = 4.1), 57 caterpillars from those groups of 95 individuals should survive to the last larval instar. Thus, this group size exceeds the minimum necessary to reach the maximum larval length (see break point in Fig. 2), and intermediate between final group size of our experimental groups III and IV (see Table 1). Interestingly, as is predicted

from the optimisation theory, the average group size in our unmanipulated population coincides with that of maximizing larval size.

The causes of caterpillar death were related to malnutrition, group size (as explained above), parasitism, and predation (see Introduction), the latter being mainly related to group size (e.g. Damman 1987, Stamp & Bowers 1988, Hochberg 1991, see introduction). Thus, some life-history traits of caterpillars should have evolved to reduce these costs (Costa 1993). Defensive evolutionary responses may include specialized structures (setae, spines, tubercles, etc.), allelochemicals (secretion or regurgitation of toxic substances), and/or somatic modifications (crypsis and mimicry) (see examples in Owen 1980) that sometimes increase their effects as the caterpillar group size enlarges (see Introduction). Despite having no data on parasite- or predator-induced mortality for the experimental groups, our results clearly show a significant relationship between the size of the larval aggregation and the survival probability of individual larvae, and, therefore, it can be concluded that group size affects individual probability of survival until pupation.

Our experimental approach greatly reduced competition for resources among developing larvae (see above), and in all experimental groups some larvae survived until their last instar regardless of group size (see Table 1). These facts imply that, although we cannot rule out direct or indirect influences of plant chemical defences differentially affecting mortality in the various experimental group sizes (see above), most of the detected mortality should be due to parasitism and/or predation. Large groups of larvae may have suffered a low mortality rate by responding simultaneously to predator attacks using more effective defensive movements, releasing greater amounts of defensive chemicals, or building more elaborate and effective shelters (e.g. Morris 1972, Damman 1987). Conversely, smaller groups of Pine Processionary caterpillars may be less defended against predation simply because urticant receptacles (one of the main defensive mechanism in this and other species of caterpillars; Fitzgerald & Costa 1999), or other defensive mechanisms, may be more effective in large groups. However, with this explanation, independently of group size, we should find a larger number of dead larvae in the small than in the large experimental groups, but this was not the case (see results). Therefore, although we cannot completely dismiss the possibility that caterpillar defences and group size were related in

our results, it is unlikely mainly because group size also predicts other important variables affecting caterpillar survival (see above).

Another possible explanation for our results on caterpillar mortality is that the main predators and parasitoids of Pine Processionary larvae search for prey randomly, as occurs for some other species (Stamp 1980, Chew & Robbins 1984). Our results showing no differences in number of dead caterpillars between experimental groups (see Results) concurs with this explanation because if costs of individual detectability associated to group size were very important in our species or population, we should have found higher predation rates in larger groups. Thus, our results suggest that the main predators and parasites of Pine Processionary caterpillars are random searchers. In addition, the negative relationship between experimental group size and percentage of mortality also implies that predators and parasites do not detect larger colonies more easily than smaller ones. Hence, it can be predicted that caterpillars in large groups have a larger probability of survival than in smaller groups simply because of the dilution effect. Therefore, the negative relationship between group size and mortality found in this study, and well as the absence of differential mortality between group size treatments can be explained simply by the dilution effect of mortality risk in large groups.

Contrary to the last explanation, we found no differences in mortality rate between experimental groups of 75 and 100 larvae (see Results and Fig. 3). Moreover, we found no differences in larval growth or body size in these two groups. This suggests that growth and body size could directly or indirectly (through associated variables such as foraging ability) affect larval mortality. These two experimental groups on average exceeded the 32 individuals per colony necessary to reach maximum larval size before pupation (see above) and approached the maximum survival rate (see Fig. 3). A larger number of individuals per groups could be very costly for adult females mainly because the strong selection pressure exerted by parasitoids on eggs (more than 30% of the eggs per clutch resulted parasitized in our study population, Pérez-Contreras & Soler unpubl.) and the cost associated to large clutch sizes. Hence, although it is clear from our results that groups with larger numbers of caterpillars than the average number in our population will boost adult fitness because more offspring will reach the pupal stage, groups with a reduced number of caterpillars (less than

32 during the last instar) would greatly reduce fitness because of the impact on offspring body size together with the lower probability of survival of individuals in small groups.

Although reasons for the association between group size and variables related to fitness in processionary caterpillar need further investigation, our results strongly suggest that larvae in large groups develop and survive better than those in small groups, thereby explaining why larvae of *T. pityocampa* live in large groups.

ACKNOWLEDGMENTS

The Confederacion Hidrografica del Guadalquivir allowed us to carry out this work in their pine forestation areas. TPC received support from a grant of the Behavioural Ecology research group of the University of Granada, and JJS from the Spanish Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica (project BOS2001-1947-C02-01). We thank Juan Gabriel Martínez, Liesbeth de Neve, David Martín Gálvez and Manuel Martín-Vivaldi Martínez for comments on a previous version of the article.

REFERENCES

Alatalo, R. V. & Mappes, J. (1996) Tracking the evolution of warning signals. *Nature* 382: 708-709.

Bowers, M. D. (1993) Aposematic caterpillars: life-styles of the warningly colored and unpalatable. En: *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 331-371. Chapman & Hall, New York.

Casey, T. M. (1993) Effects of temperature on foraging of caterpillars. En: *Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 5-28. Chapman & Hall, New York.

Casey, T. M., Joos, B., Fitzgerald, T. D., Yurlona, M. & Young, P. (1988) Synchronized group feeding, thermoregulation, and growth of eastern tent caterpillars in relation to microclimate. *Physiological Zoology* 61: 372-377.

Chew, F. S. & Robbins, R. K. (1984) Egg-laying in butterflies. En: *The biology of butterflies* (Eds. R. I. Vane-Wright & P. R. Ackery), pp: 65-79. Academic Press, London.

Costa, J. T. (1993) Larval ontogeny and survivorship of eastern tent caterpillar colonies. *Journal of Research on the Lepidoptera* 32: 89-98.

Coyle, D. R., McMillin, J. D. & Hart, E. R. (1999) Pupal and adult parameters as potential indicators of cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) fecundity and longevity. *The Great Lakes Entomologist* 32: 107-113.

Crowe, M. L. (1995) The effect of season and group size on survivorship and larval growth in *Plagiodera versicolora*. *Ecological Entomology* 20: 27-32.

Damman, H. (1987) Leaf quality and enemy avoidance by the larvae of a pyralid moth. *Ecology* 68: 88-97.

Damman, H. (1991) Oviposition behaviour and clutch size in a group feeding pyralid moth, *Omphalocera munroei*. *Journal of Animal Ecology* 60: 193-204.

Day, T. (2001) Population structure inhibits evolutionary diversification under competition for resources. *Genetica* 112-113: 71-86.

Denno, R. F. & Benrey, B. (1997) Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecological Entomology* 22: 133-141.

Devkota & Schmidt, G. H. (1990) Larval development of *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from Greece as influenced by different host plants under laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology* 109: 321-330.

Dobson, A. P. (1988) The population biology of parasite-induced changes in host behavior. *Quaterly Review of Biology* 63: 139-165.

Douma-Petridou, E. (1989) European *Thaumetopoea* species (Lep., Thaumetopoeidae): Characteristics and life-cycles. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 12-19. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989, Hannover.

Elgar, M. A. (1989) Predator vigilance and group size in mammals and birds. *Biological Reviews* 64: 13-33.

Fitzgerald, T. D. (1993) Sociality in caterpillars. En: *Caterpillars: Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging* (Eds. N. E. Stamp & T. M. Casey), pp: 372-403. Chapman & Hall, New York.

Fitzgerald, T. D. & Costa, J. T. (1999) Collective behavior in social caterpillars. En: *Information processing in social insects* (Eds. C. Detrain, J. L. Deneubourg & J. M. Pasteels), pp: 379-400. Birkhauser Verlag, Basel.

Fordyce, J. A. & Agrawal, A. A. (2001) The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. *Journal of Animal Ecology* 70: 997-1005.

Foster, W. A. & Treherne, J. E. (1981) Evidence for the dilution effect in the selfish herd from fish predation on a marine insect. *Nature* 293: 466-467.

García-Barros, E. (2000) Body size, egg size, and their interspecific relationships with ecological and life-history traits in butterflies (Lepidoptera: Papilioidea, Hesperioidea). *Biological Journal of the Linnean Society* 70: 251-284.

Gregiore, J. C. (1988) Larval gregariousness. *Biology of the Chrysomelidae* (Eds. P. Jolivet, E. Petitpierre & T. H. Hsio), pp: 253-260. Kluwer Academic Publishers, Boston.

Guilford, T. (1990) The evolution of aposematism. *Insect Defenses* (Eds. D. L. Evans & J. O. Schmidt), pp: 23-62. State University of New York Press, Albany, New York.

Hochberg, M. E. (1991) Viruses as costs to gregarious feeding behaviour in the Lepidoptera. *Oikos* 61: 291-296.

Joos, B., Casey, T. M., Fitzgerald, T. D. & Buttemer, W. A. (1988) Roles of the tent in behavioral thermoregulation of eastern tent caterpillar. *Ecology* 69: 2004-2111.

Kamata, N. & Igarashi, M. (1995) Relationship between temperature, number of instars, larval growth, body size,and adult fecundity of *Quadriculcarifera punctatella* (Lepidoptera: Notodontidae): cost-benefit relationship. *Environmental Entomology* 24: 648-656.

Krebs, J. R. & Davies, N. B. (1993) *An introduction to behavioral ecology*. 3rd edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Lawrence, W. S. (1990) The effects of group size and host species on development and survivorship of a gregarious caterpillar *Halisidota carye* (Lepidoptera: Arctiidae). *Ecological Entomology* 15: 53-62.

Le Masurier, A. D. (1994) Costs and benefits of egg clustering in *Pieris brassicae*. *Journal of Animal Ecology* 63: 677-685.

Long, D. B. (1953) Effects of population density on larvae of Lepidoptera. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 104: 533-585.

Long, D. B. (1955) Observations on subsocial behaviour in two species of lepidopterous larvae, *Pieris brassicae* L & *Plusia gamma* L. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 106: 421-437.

Matsumoto, K. (1990) Population dynamics of *Luehdorfia japonica* Leech (Lepidoptera: Papilioniidae). II. Patterns of mortality in inmatures in relation to egg cluster size. *Research on Population Ecology* 32: 173-188.

Morris, R. F. (1972) Fecundity and colony size in natural populations of *Hyphantria cunea*. *The Canadian Entomologist* 108: 833-836.

Nahrung, H. F., Dunstan, P. K. & Allen, G. R. (2001) Larval gregariousness and neonate establishment of the eucalypt-feeding beetle *Chrysophtharta agricola* (Coleoptera: Chrysomelidae: Paropsini). *Oikos* 94: 358-364.

Neuvonen, S. & Haukioja, E. (1991) The effects of inducible resistance in host foliage on birch-feeding herbivores. En: *Phytochemical Induction by Herbivores* (Eds. D. W. Tallamy & M. J. Raupp), pp: 277-291. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Owen, D. (1980) *Camouflage and mimicry*. University of Chicago Press, Chicago.

Peterson, S. C., Johnson, N. D. & LeGuyader, J. L. (1987) Defensive regurgitation of allelochemicals derived from host cyanogenesis by eastern tent caterpillars. *Ecology* 68: 1268-1272.

Porter, K. (1982) Basking behavior in larvae of the butterfly *Euphydras aurina*. *Oikos* 38: 308-312.

Rannala, B. H. & Brown, C. R. (1994) Relatedness and conflict over optimal group size. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 117-119.

Schmidt, G. H. (1989) Life cycles of *Thaumetopoea* species distributed in different regions of Europe, north Africa and near east. En: *On the biology and control of Thaumetopoea spp.* (Ed. G. H. Schmidt), pp: 20-34. Proc. of the *Thaumetopoea*-Symposium 1989. Hannover.

Shiga, M. (1976) A quantitative study on food consumption and growth of the tent caterpillar *Malacosoma neustria testacea* Motschulsky (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Bulletin of the Fruit Tree Research Station* A 3: 67-86.

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

Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

Spurgeon, D. W., Lingren, P. D., Shaver, T. N. & Raulston, J. R. (1995) Realized and potential fecundity of the Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae) as a function of pupal weight. *Environmental Entomology* 24: 94-98.

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

Stamp, N. E. (1981) Effect of group size on parasitism in a natural population of the Baltimore checkerspot, *Euphydryas phaeton*. *Oecologia* 49: 201-206.

Stamp, N. E. (1982) Behavior of parasitoids and Baltimore chekerspot caterpillars, *Euphydryas phaeton*. *Environmental Entomology* 11: 100-104.

Stamp, N. E. (1984) Interactions of parasitoids and, chekerspot caterpillars, *Euphydryas* spp. (Nymphalidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 23: 2-18.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1988) Direct and indirect effects of predatory wasps *Polistes* sp.: Vespidae on gregarious caterpillars (*Hemileuca lucina*: Saturnidae). *Oecologia* 75: 619-624.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990a). Body temperature, behavior and growth of early spring caterpillars (*Hemileuca leucina*: Saturniidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* 44: 143-155.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990b) Phenology of nutritional differences between new and mature leaves and its effect on caterpillar growth. *Ecological Entomology* 15: 447-454.

Stamp, N. E. & Bowers, M. D. (1990c) Variation in food quality and temperature constrain foraging of gregarious caterpillars. *Ecology* 71: 1031-1039.

StatSoft, Inc (1998) *Statistica for Windows (computer program manual)*. Tulsa, OK.

Tallamy, D. W. & Raupp, M. J. (1991) *Phytochemical induction by herbivores*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Uetz, G. W. & Hieber, C. S. (1997) Colonial webbuilding spiders: balancing the costs and benefits of group living. En: *The evolution of social behaviour in insects and arachnids* (Eds. J. C. Choe & B. J. Crespi), pp: 458-475. Cambridge University Press, Cambridge.

Vulinec, K. (1990) Collective security: aggregation by insects in defense. En: *Insect Defenses* (Eds. D. L. Evans & J. O. Schmidt), pp: 251-288. State University of New York Press, Albany, New York.

Wcislo, W. T. (1984) Gregarious nesting of a digger wasp as a 'selfish herd' response to a parasitic fly (Hymenoptera: Specidae; Diptera: Sarcophagidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 15: 157-160.

Webber, D. C. & Ferro, D. N. (1996) Flight and fecundity of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) fed on different diets. *Annals of Entomological Society of America* 89: 297-306.

Wilson, E. O. (1975) *Sociobiology: The new synthesis*. Belknap Press, Cambridge, MA.

Young, A. M. & Moffett, M. W. (1979) Studies on the population biology of the tropical butterfly *Mechanitis isthmia* in Costa Rica. *American Midland Naturalist* 101: 309-319.

Zemel, A. & Lubin, Y. (1995) Inter-group competition and stable group sizes. *Animal Behaviour* 50: 485-488.

TABLA 1. BODY SIZE, GROUP SIZE, AND GROWTH OF LARVAE FROM EXPERIMENTAL AND CONTROL GROUPS. MEAN VALUES, STANDARD ERRORS (SE) AND SAMPLES SIZE (N) ARE SHOWN FOR EACH GROUP. COMPARISON BETWEEN EXPERIMENTAL GROUPS ARE ALSO SHOWN. VISITS WERE MONTHLY AND FIRST AND FIFTH VISITS CORRESPONDED TO THE FIRST AND THE FIFTH INSTARTS, RESPECTIVELY.

	Groups I (25)	Groups II (50)	Groups III (75)	Groups IV (100)	Natural	ANOVAs between		
	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Mean ± SE (N)	Experimental groups		
First visit								
Body size	5.57 ± 0.10 (15)	5.59 ± 0.05 (15)	5.43 ± 0.05 (15)	5.42 ± 0.06 (15)	5.47 ± 0.07 (30)	1.48	3, 56	0.23
Group size	92.40 ± 5.69 (15)	91.86 ± 6.29 (15)	98.46 ± 6.31 (15)	93.20 ± 6.08 (15)	94.00 ± 3.39 (30)	0.24	3, 56	0.86
Second visit								
Body size	9.06 ± 0.16 (14)	9.25 ± 0.10 (15)	9.91 ± 0.05 (15)	10.14 ± 0.14 (15)		19.03	3, 55	< 0.0001
Group size	17.73 ± 1.70 (15)	42.47 ± 1.19 (15)	68.07 ± 1.39 (15)	90.73 ± 1.19 (15)		521.7	3, 56	< 0.0001
Growth 1	3.54 ± 0.21 (14)	3.66 ± 0.11 (15)	4.48 ± 0.06 (15)	4.71 ± 0.13 (15)		19.06	3, 55	< 0.0001
Third visit								
Body size	14.30 ± 0.21 (14)	14.93 ± 0.08 (15)	15.40 ± 0.15 (15)	15.90 ± 0.07 (15)		24.8	3, 55	< 0.0001
Group size	12.79 ± 1.05 (14)	35.40 ± 2.07 (15)	62.00 ± 2.18 (15)	83.73 ± 1.59 (15)		209.8	3, 55	< 0.0001
Growth 2	5.24 ± 0.21 (14)	5.68 ± 0.12 (15)	5.49 ± 0.15 (15)	5.76 ± 0.17 (15)		1.962	3, 55	0.13
Four visit								
Body size	23.82 ± 0.21 (12)	24.74 ± 0.18 (14)	25.73 ± 0.13 (15)	26.51 ± 0.17 (14)		46.70	3, 51	< 0.0001
Group size	5.50 ± 1.01 (14)	26.73 ± 2.81 (15)	54.87 ± 2.34 (15)	71.47 ± 5.41 (15)		75.22	3, 55	< 0.0001
Growth 3	9.66 ± 0.25 (12)	9.84 ± 0.16 (14)	10.33 ± 0.23 (15)	10.59 ± 0.15 (14)		4.52	3, 51	< 0.0001
Fifth visit								
Body size*	29.48 ± 0.54 (10)	30.80 ± 0.31 (13)	33.59 ± 0.12 (14)	33.72 ± 0.17 (13)	32.57 ± 0.29 (30)	$X^2 = 39.5$	3	< 0.0001
Group size	3.58 ± 0.81 (12)	17.43 ± 2.39 (14)	44.53 ± 4.51 (15)	66.43 ± 5.59 (14)	62.53 ± 4.45 (30)	48.10	3, 51	< 0.0001
Growth 4	5.60 ± 0.52 (10)	6.09 ± 0.34 (13)	7.82 ± 0.18 (14)	7.25 ± 0.26 (13)		9.91	3, 46	< 0.0001

* since mean body length of larvae in the fifth instar did not follow a normal distribution, we used Kruskal-Wallis ANOVA