



Universidad Autónoma de Tlaxcala

División de Ciencias Biológicas

CÓPULAS PROLONGADAS Y CONDUCTAS
COPULATORIAS MASCULINAS EN EL
ESCARABAJO *Asphaera lustrans*

T e s i s

para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Biológicas
P r e s e n t a

Biólogo: Omar Paniagua Sotelo

Directora de tesis

Dra. Marcela Osorio Beristain

Codirector

Dr. Carlos Lara

Tlaxcala, Tlax.

Febrero 2009



Universidad Autónoma de Tlaxcala

División de Ciencias Biológicas

CÓPULAS PROLONGADAS Y CONDUCTAS
COPULATORIAS MASCULINAS EN EL
ESCARABAJO *Asphaera lustrans*

T e s i s

para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Biológicas
P r e s e n t a

Biólogo: Omar Paniagua Sotelo

Comité Tutorial

Dra. Marcela Osorio Beristain

Dr. Carlos Lara

Dr. Carlos Cordero

Dr. Amando Bautista

Dr. Rogelio Macías Ordóñez

Dr. Raúl Cueva del Castillo

AGRADECIMIENTOS

Por el principal apoyo a este proyecto de vida agradezco a mi madre Julieta Sotelo Cienfuegos y por contagiar de ánimo e inspiración en lo que hago a Brenda P. Morales. A la Dra. Marcela Osorio Beristain y al Dr. Carlos Lara por dirigir este proyecto. A los sinodales Dr. Carlos Cordero, Dr. Amando Bautista, Dr. Rogelio Macías y Dr. Raúl Cueva del Castillo por los acertados comentarios y sugerencias a la presente. A los profesores de la Maestría en Ciencias Biológicas y en especial a la Generación Gris (Aurora, César, Abdiel, Mine, Esme, Susan y el buen Juan) por los grandes momentos compartidos. Al Dr. Raúl Alcalá por el apoyo con el material requerido para el congelamiento de las parejas, a la M. en C. B. Cecilia Cuatianquiz por la ayuda en la técnica de disección de los escarabajos y a los alumnos Jaime Hernández, Alejandro Medina Mazari y Cecilia Torres por su aporte en el mantenimiento de los mismos y por amenizar el tiempo en el laboratorio. Agradezco el apoyo de CONACYT por la beca con número de registro 198752 otorgada durante la Maestría en Ciencias Biológicas. La cual forma parte del Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. También agradezco el apoyo del Proyecto del Cuerpo Académico Ecología Evolutiva SEP – UAEM y al proyecto de Consolidación # 19 UAEM de Marcela Osorio Beristain.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Cópulas prolongadas.....	8
1.2 Hipótesis relacionadas con selección intrasexual.....	9
1.3 Hipótesis relacionadas con selección intersexual.....	12
1.4 Características de la familia Chrysomelidae.....	15
2. PRIMER OBJETIVO.....	18
2.1 Métodos (estudio de campo).....	18
2.2 Resultados.....	20
2.3 Discusión.....	23
3. SEGUNDO OBJETIVO.....	27
3.1 Métodos.....	27
3.2 Resultados.....	29
3.3 Discusión.....	31
4. TERCER OBJETIVO.....	34
4.1 Métodos.....	34
4.1.1 Experimentos de selección intrasexual.....	34
4.1.2 Experimentos de selección intersexual.....	36
4.2 Resultados.....	39
4.3 Discusión.....	46
5. PERSPECTIVAS.....	53
6. GLOSARIO.....	55
7. LITERATURA CITADA.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1 Foto del escarabajo <i>Asphaera lustrans</i> sobre su planta hospedera	17
Figura 2 Método de marcaje de individuos	18
Tabla 1 Medidas morfométricas de machos y hembras	20
Tabla 2 Número de espermatecas con y sin espermátforo en cada una de las conductas copulatorias masculinas	29
Figura 3 Espermatecas extraídas de hembras que copularon durante a) 2 minutos, b) 15 minutos, c) 40 minutos y d) 4 horas	30
Figura 4 Unión de los tractos reproductivos masculino y femenino	30
Figura 5 Endófalo del macho y espermátforo	31
Tabla 3 Predicciones de los experimentos	38
Figura 6 Gráfica de la duración de la cópula en diferentes proporciones de sexos	39
Figura 7 Duración total de la cópula en apareamientos con diferentes probabilidades de interferencia de machos rivales	40
Tabla 4 Resultados de la latencia de monta y tasas de las conductas copulatorias masculinas en apareamientos con diferentes probabilidades de interferencia de machos rivales	41
Figura 8 Duración de cada conducta copulatoria masculina en diferentes probabilidades de interferencia de machos rivales	42
Tabla 5 Resultados de las tasas de las conductas copulatorias masculinas en apareamientos con hembras de diferente tamaño abdominal	43
Figura 9 Duración de cada conducta copulatoria masculina en diferentes tamaños abdominales de hembras	44
Figura 10 Correlaciones entre la duración de la cópula y las conductas copulatorias masculinas	45

RESUMEN

El apareamiento en algunas especies de insectos involucra cópulas que se prolongan más del tiempo requerido para la transferencia del esperma. Se han propuesto varias hipótesis para explicar la función de estas cópulas prolongadas. Algunas de ellas se relacionan con la probabilidad de competencia espermática (selección intrasexual) o con la elección críptica de pareja (selección intersexual). En este estudio se utilizó como modelo al escarabajo de la hoja *Asphaera lustrans* para (1) describir la conducta copulatoria de las parejas en condiciones naturales; (2) determinar la ocurrencia o no de la transferencia del esperma relativa a las conductas copulatorias masculinas y (3) evaluar, experimentalmente, el efecto de diferentes proporciones sexuales y probabilidad de interferencia de machos rivales (lo cual modifica el riesgo de competencia espermática), tamaño abdominal de la hembra e intensidad de las conductas copulatorias masculinas en la duración de la cópula.

La duración de la cópula en condiciones naturales fue en promedio de 3.23 h (1.4-4.4 h, N = 29). No hubo diferencias en tamaño abdominal entre las hembras que copularon y las que no copularon ($z = -0.17$, $n_1 = 11$ y $n_2 = 29$, $P = 0.44$). La proporción sexual cercana a la pareja fue en promedio 1.07 machos por cada hembra (± 0.8 , 0.25 - 3). Se registró interferencia de machos rivales en 12 de las 29 cópulas registradas. Sin embargo, la duración de la cópula no se relacionó con la proporción sexual ($r_s = 0.09$, $n = 29$, $P = 0.63$), ni con el tamaño abdominal de las hembras ($r_s = 0.21$, $n = 29$, $P = 0.25$) ni con la interferencia de los machos rivales ($r_s = 0.22$, $n = 29$, $P = 0.22$). En todas las cópulas los machos realizaron las siguientes conductas: toqueteos de antenas hacia las hembras, intromisiones profundas del edeago, fase pasiva (sin movimiento externo) e intromisiones constantes del edeago. Estas conductas copulatorias se realizaron siempre en la misma secuencia. Las observaciones de 40 espermatecas extraídas de hembras congeladas a diferentes momentos indicaron que

la transferencia del espermatozoido ocurrió principalmente durante la conducta de intromisiones constantes ($X^2 = 28.60$, g. l. = 3, $P < 0.0001$, figura 1), esto pudiera indicar que el macho debe estimular a la hembra para lograr transferir el espermatozoido. En cuanto a los experimentos, los resultados indicaron que la duración de la cópula no difirió entre distintas proporciones sexuales ($H = 1.32$, g. l. = 2, $P = 0.51$, $n_1 = 18$, $n_2 = 19$ y $n_3 = 18$) ni se incrementó por la probabilidad de interferencia de machos rivales ($U = 45.5$, $n_1 = 9$ y $n_2 = 11$, $P = 0.87$) ni por el tamaño abdominal de la hembra ($U = 27$, $n_1 = 7$ y $n_2 = 9$, $P = 0.63$). Los análisis de correlación indicaron que la duración de la cópula es mayor cuando disminuyen las tasas de intromisiones profundas ($r_s = -0.34$, $P = 0.03$) e intromisiones constantes ($r_s = -0.51$, $P = 0.001$) y cuando aumenta la duración de la fase pasiva ($r_s = 0.38$, $P = 0.02$).

En el escarabajo *Asphaera lustrans* existen cópulas que se prolongan más del tiempo requerido para la transferencia del espermatozoido. Los resultados sugieren que la duración de estas cópulas se relacionan con la intensidad de las conductas copulatorias masculinas, las cuales pueden ser importantes para lograr una cópula exitosa ya que el macho debe estimular a la hembra para conseguir una penetración completa y lograr transferir el espermatozoido en la última fase conductual.

INTRODUCCIÓN

Cópulas prolongadas

La función principal de la cópula, en organismos con fertilización interna, es la transferencia del espermatozoides y productos del fluido seminal de los machos hacia las hembras (Simmons 2001). En insectos, esta transferencia puede realizarse de manera directa o por medio de un espermatóforo (espermatozoides cubiertos por una envoltura formada de secreciones de las glándulas accesorias masculinas, Kotrba 1996). En general, este proceso requiere pocos segundos o minutos, sin embargo, en muchos insectos los machos permanecen en cópula más del tiempo necesario para inseminar a la hembra llegando a mantener el contacto genital por horas, como en los heterópteros *Lygaeus equestris* (Sillén – Tullberg 1981) y *Phyllomorpha laciniata* (García – González y Gomendio 2004), días como en la mariposa *Rhodocera rhamni* (Labitte 1919) e incluso más de diez semanas como ocurre con el insecto palo *Necrosia sparaxes* (Gangrade 1963 en Simmons 2001). Se ha registrado que estas cópulas prolongadas resultan costosas para machos y hembras debido a que pueden incrementar la probabilidad de: depredación, transmisión de enfermedades e interrupción de la cópula antes que el macho insemine a la hembra y reducir el tiempo para realizar otras actividades como alimentarse y buscar más apareamientos (Eberhard 1996, García – González y Gomendio 2004).

Se han propuesto varias hipótesis, no excluyentes, para tratar de explicar el valor adaptativo de las cópulas prolongadas. Debido a que la copula y lo que ocurre durante este proceso (conductas copulatorias, transferencia de espermatozoides) son resultado de las presiones de selección sexual, las hipótesis que a continuación se mencionan las he dividido en hipótesis

relacionadas con selección intrasexual y en hipótesis relacionadas con selección intersexual.

Hipótesis relacionadas con selección intrasexual

La selección intrasexual involucra la competencia entre individuos del mismo sexo (generalmente machos) para conseguir apareamientos con individuos del sexo opuesto (Darwin 1871). Sin embargo, esta competencia no termina al momento del apareamiento, sino que puede continuar después de la cópula. Un resultado de este proceso continuo es la competencia espermática (Birkhead y Moller 1998). Este tipo de competencia ocurre entre espermas de más de un macho para la fertilización de los huevos (Parker 1970). Los machos de muchas especies se han adaptado morfológica, fisiológica y/o conductualmente para evitar o disminuir la competencia espermática. Algunas de estas adaptaciones promueven un incremento en el tiempo que dura la cópula. En la literatura, se han reportado hipótesis para explicar las cópulas prolongadas como consecuencia del riesgo de competencia espermática, las cuales se mencionan a continuación.

- **Resguardo de pareja.** Una forma de evitar o disminuir la competencia espermática es por medio del resguardo de pareja. Este se define como cualquier conducta realizada por los machos para evitar que su pareja sea inseminada por otros machos. Alcock (1994) propuso que una estrategia que pueden utilizar los machos para resguardar a su pareja es incrementar la duración de la cópula más del tiempo requerido para la transferencia del esperma. Esta hipótesis sugiere que el contacto genital entre la pareja puede prolongarse después de que el macho ha inseminado a la hembra. De esta manera, mientras un macho esté copulando se evita el riesgo de que su pareja copule con machos rivales (Andrés y Cordero 2000, Simmons 2001) ya que se bloquea el

tracto reproductivo de la hembra (Danielsson 1998).

- **Carga espermática.** En situaciones de alta probabilidad de competencia espermática, algunos machos pueden incrementar la cantidad de espermias que transfieren a la hembra al aumentar el tiempo que dura la cópula (Dickinson 1986, García – González y Gomendio 2004). De esta manera, se aumenta la probabilidad de que su espermia sea el que fertilice el mayor número de huevos (Danielsson 1998).
- **Desplazamiento de espermia.** Esta hipótesis sugiere que las cópulas prolongadas se presentan debido a que los machos requieren tiempo para eliminar o reducir la cantidad de espermia de otros machos que se aparearon previamente con su pareja antes de transferir su propio espermia (Parker 1970). El desplazamiento del espermia puede ocurrir mecánicamente, por medio de estructuras especializadas de la genitalia de los machos, mediante sustancias químicas presentes en el eyaculado que provocan una disminución o muerte en los espermias rivales o por dilución debido a diferencias en el volumen del eyaculado (Danielsson 1998).

La proporción de sexos y la densidad de machos son dos importantes factores que determinan la probabilidad de competencia espermática (Simmons 2001). Se ha registrado que el tiempo que el macho permanece copulando con su pareja puede aumentar cuando la proporción de sexos es sesgada a machos o disminuir si existen más hembras en la población. (Alcock, 1994 y Andrés y Cordero, 2000). Cuando se presenta un mayor número de machos en el sitio de apareamiento la competencia por copular con las escasas hembras podría aumentar. Por tal motivo, un macho podría aumentar la probabilidad de fertilizar el mayor número de huevos de su pareja copulando con ella por más tiempo evitando con esto que otros machos la

inseminen (Alcock, 1994). Si la proporción de hembras en los sitios de apareamiento es mayor, los machos podrían disminuir el tiempo que copulan con su pareja e invertir ese tiempo para copular con otras hembras disponibles y así incrementar su éxito reproductivo. Por ejemplo, García – González y Gomendio (2004) reportaron que la duración de la cópula en la chinche *Phyllomorpha laciniata* fue significativamente mayor cuando la proporción de sexos fue sesgada a machos ($X \pm e.e. = 21.18 \pm 1.68$ hrs.) que cuando la proporción de sexos no tuvo sesgos (13.61 ± 2.1 hrs.). De igual manera, Clark (1988) reportó que la duración de la cópula fue significativamente mayor en el hemíptero *Gerris remigis*, cuando la proporción de sexos fue sesgada a machos (3:1) que cuando fue sesgada a hembras (1:3). Resultados similares reportan Sillén – Tullberg (1981) para la chinche *Lygaeus equestris*.

Cuando la densidad de machos de una población aumenta es probable que también aumenten los intentos de machos rivales para interrumpir una cópula (interferencia de machos rivales). Además, dada la dificultad de encontrar a otra hembra, un macho que tenga pareja podría invertir más tiempo en la cópula y evitar que su pareja sea inseminada por otros machos. En la revisión de Alcock (1994) se muestran algunos ejemplos en los cuales se ha reportado que altas densidades de machos se correlacionan con cópulas prolongadas. De igual manera, Andrés y Cordero (2000) reportaron que la duración de la cópula en la libélula *Ceriagrion tenellum* fue de 62.82 ± 5.48 minutos (promedio \pm d. e.) cuando se presentó una densidad de 22 a 27 machos, y de 42.03 ± 3.48 minutos cuando la densidad fue de 1 a 3 machos. Resultados similares reportan Saeki y colaboradores (2005) en el escarabajo japonés *Popillia japonica*.

Por otra parte, se ha reportado para odonatos que en condiciones de riesgo de

competencia espermática la duración de la cópula aumenta cuando el macho realiza desplazamiento de esperma de machos rivales. Los machos pueden eliminar completamente el esperma de un macho apareado previamente con su pareja o solo colocarlo en un sitio menos favorable para la fertilización antes de depositar su propio esperma (Simmons y Siva – Jothy 1998). Los machos en algunos odonatos que eliminan esperma de otros machos realizan cópulas de mayor duración (1 – 20 minutos) que los que solo cambian el esperma de lugar (7 – 20 segundos) (Waage 1984). En otras especies de insectos los machos no realizan desplazamiento de esperma, en cambio incrementan la cantidad de espermatozoides que depositan en la hembra. Por ejemplo, cuando la frecuencia de reapareamiento de las hembras del escarabajo del frijol *Callosobruchus chinensis* es alta, los machos transfieren significativamente mayor cantidad de espermatozoides si el apareamiento ocurre en altas densidades de machos, además en estas condiciones, se presentan cópulas de mayor duración (Yamane y Miyatake 2007).

Hipótesis relacionadas con selección intersexual

La selección intersexual se refiere a la elección de pareja en base a los atributos que posea el sexo que es escogido (Darwin 1871). Este tipo de selección puede continuar durante o después de finalizada la cópula (Birkhead y Moller 1998). Así, cuando una hembra se ha apareado con diferentes machos puede escoger o favorecer el esperma de un determinado macho para fertilizar sus huevos, lo cual se denomina elección críptica femenina (Thornhill 1983, Eberhard 1996). De igual manera, algunos machos pueden evaluar a las hembras durante la cópula lo cual podría derivar en una inversión diferencial de ciertas características reproductivas tales como la duración de la cópula o la cantidad de esperma transferido a la

hembra. A continuación se mencionan dos hipótesis que se han propuesto para explicar la existencia de las cópulas prolongadas como consecuencia de la selección intersexual.

- **Condición de la hembra.** Se ha reportado que algunas características de las hembras tales como el historial de apareamiento (virgen o no virgen) y el tamaño abdominal pueden influir en el tiempo que dura la cópula (Bateman *et al.* 2001, Simmons 2001). La hipótesis de la condición de la hembra supone que la duración de la cópula está controlada, al menos parcialmente, por los machos y que la variación en el tiempo destinado a esta actividad está en función de ciertas características de la hembra, entre ellas el tamaño abdominal (Simmons 2001) ya que éste se ha relacionado como un indicador de fecundidad, que refleja el desarrollo de más huevos dentro de la hembra (Bateman *et al.* 2001; Bonduriansky 2001; y Knox y Scott, 2005). Un ejemplo que apoya esta predicción lo reportan Engqvist y Sauer (2003) en un estudio con el mecoptero *Panorpa cognata*, donde el tiempo de cópula de los machos y la cantidad de esperma inseminado fue significativamente mayor en los apareamientos con hembras de mayor tamaño. Existen otros trabajos que han encontrado una relación positiva entre el tamaño de la hembra y el tiempo que el macho permanece copulando con su pareja en insectos como el escarabajo carroñero *Necrophila americana* (Knox y Scott, 2005), el escarabajo japonés *Popillia japonica* (Saeki *et al.*, 2005) y el grillo *Grylloides sigillatus* (Bateman *et al.* 2001).
- **Elección críptica de la hembra.** Eberhard (1996) propuso que el tiempo que dura la cópula puede estar determinado por la hembra mediante la elección críptica. La cópula y las conductas que el macho realice durante ésta funcionan como características que la

hembra evalúa para aceptar y utilizar el esperma del macho. Esta hipótesis sugiere que las hembras imponen barreras a los machos y solo aquellos que logren estimular con mayor intensidad o por más tiempo lograrán una cópula exitosa (Eberhard 1996). La hipótesis de elección críptica femenina supone que la inseminación no siempre ocurre al comienzo de la cópula. Por ejemplo, los machos del crisomélido *Diabrotica undecimpunctata howardi* deben de estimular a la hembra por medio de toqueteos con sus antenas para que ésta acepte el espermátóforo. Cuando la hembra recibe suficiente estimulación el macho cesa el movimiento de sus antenas y el edeago penetra hasta la bursa copulatrix y deposita el espermátóforo. Por lo tanto, en este escarabajo el tiempo que dura la cópula depende de la intensidad (frecuencia de toqueteos) con que el macho estimule a la hembra (Tallamy *et al.* 2002). Otro ejemplo, en el cual además se registró el momento de la transferencia del espermátóforo, fue realizado por Takami (2002) con el escarabajo terrestre *Carabus insulicola*. Este autor congeló, con nitrógeno líquido, a diferentes parejas a los 20, 40 y 60 minutos de haber comenzado la cópula. Con esto encontró que la transferencia del espermátóforo se lleva a cabo después de los 40 minutos. Takami sugiere que, durante la cópula, los machos primero necesitan estimular a la hembra para que ésta acepte el espermátóforo, lo cual pudiera indicar que existe elección críptica femenina.

Las conductas estereotipadas y repetitivas que los machos realizan durante la cópula han sido nombradas por Cuatianquiz y Cordero (2006) como conductas copulatorias masculinas aparentemente estimuladoras (en adelante conductas copulatorias masculinas o C. M.). Por medio de estas conductas es probable que un macho estimule a la hembra para que acepte la cópula o su esperma (o espermátóforo). Los criterios para que una conducta sea

interpretada como conducta copulatoria masculina pudieran ser los mismos que propuso Eberhard (1996) para el cortejo copulatorio. Estos son: (1) la conducta debe repetirse durante la cópula y en diferentes cópulas, (2) la conducta tiene que ser percibida por la hembra, (3) la conducta debe estimular a la hembra. Las estructuras que los machos utilizan para estimular a las hembras durante la cópula son las antenas, patas, alas, abdomen y genitalia. Entre las conductas observadas se encuentran los toqueteos por medio de las antenas, patadas, frotamientos, golpeteos, agitaciones, sacudidas y movimientos de la genitalia (Eberhard 1996).

Características de la familia Chrysomelidae

Los crisomélidos constituyen uno de los grupos más abundantes y diversos de los coleópteros. Son conocidos comúnmente como escarabajos de las hojas, ya que desde que emergen se les puede observar en las hojas o raíces de las plantas (Burgos-Solorio y Anaya-Rosales, 2004). La subfamilia Galerucinae es la segunda mayor subfamilia de los crisomélidos, comprende cinco tribus y contiene aproximadamente 5800 especies descritas. Presenta una amplia distribución, principalmente en los trópicos. (Aslan *et al.* 2000).

Los Alticini son una tribu de la subfamilia Galerucinae, en la región Neotropical se conocen 230 géneros, siendo muchos de ellos endémicos. Varían en tamaño de 1 ó 2 mm a casi 20 mm. Generalmente presentan colores y patrones muy vistosos, incluyendo metálicos brillantes así como llamativos puntos y franjas. Los adultos producen daños característicos en forma de agujero de bala en las hojas de sus plantas hospederas, mientras que las larvas se alimentan principalmente de raíces o de hojas de las misma planta de la que se alimenta el adulto (Barror y White, 1970).

En los miembros de la familia Chrysomelidae, es común observar prolongadas asociaciones de apareamiento, en las que el macho permanece sobre la hembra por periodos de horas o días (Dickinson, 1997). En estas asociaciones, los machos inseminan a su pareja una o varias veces. La transferencia del esperma puede ser de manera directa o mediante el empaquetamiento de este en un espermátforo (Dickinson, 1997). Además, en esta familia es común la existencia de múltiples apareamientos de las hembras (Dickinson 1997) en los cuales, por lo general, el segundo macho que se aparee con una hembra consigue un mayor número de huevos fertilizados (Arnaud *et al* 2001).

El escarabajo de la hoja *Asphaera lustrans* (figura 1) es un coleóptero que pertenece a la tribu Alticini, la cual forma parte de la subfamilia Galerucinae y se encuentra dentro de la familia Chrysomelidae. Una vez que emergen, los individuos del escarabajo *A. lustrans* pueden observarse alimentándose y reproduciéndose sobre las hojas de la Buddlejaceae *Buddleia sessiflora*. No se presenta competencia por interferencia (agresiones) entre los machos, pero si existe “scramble competition” (sensu Thornhill y Alcock 1983), en la cual la competencia radica en conseguir, mediante desplazamientos entre el follaje, una hembra receptiva antes que los otros machos (Obs. Per.). No se ha observado donde se realiza la puesta de huevos por parte de la hembra, pero otros miembros de la tribu Alticini la realiza en las raíces de las plantas hospederas (Barror y White, 1970 y Aslan *et al.* 2000). Se sabe que el crisomélido *Asphaera lustrans* realiza cópulas prolongadas y que las hembras pueden copular con más de un macho. Además, los machos presentan conductas copulatorias de movimiento de las antenas y del edeago (Osorio-Beristain obs. per). Sin embargo, no se ha realizado un estudio detallado sobre su biología reproductiva. Lo anterior sugiere que en el escarabajo *A. lustrans* existe probabilidad de competencia espermática y que, además, las hembras pudieran

estar seleccionando a los machos vía elección críptica. Por lo tanto, esta especie resulta un modelo ideal para evaluar si estas presiones de selección sexual pudieran influir en el tiempo que dura la cópula, para lo cual es necesario conocer primero con más detalle la conducta copulatoria de las parejas.



Figura 1. Foto del escarabajo *Asphaera lustrans* sobre su planta hospedera.

OBJETIVO 1

Describir la conducta copulatoria de las parejas del escarabajo *Asphaera lustrans* en condiciones naturales

MÉTODOS

Sitio de estudio

El trabajo se realizó en un jardín del campus Chamilpa (Cuernavaca, Morelos) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), específicamente en un parche de arbustos de *Buddleia sessiflora* que es la planta hospedera del escarabajo *A. lustrans*. Todos los individuos de estas plantas fueron marcados con barniz (figura 2). Además, se sexaron por diferencias en el último segmento abdominal: las hembras presentan una abertura en forma horizontal al final del segmento mientras que en los machos el segmento es convexo y se observa un punto que corresponde al ápice del edeago en la parte media del segmento. Se midió el largo total, largo, ancho y grosor del abdomen a partir del primer segmento abdominal con un Vernier digital para registrar diferencias en tamaño entre sexos. Enseguida, se volvieron a colocar los individuos en el sitio exacto en que fueron capturados.

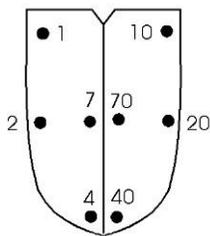


Figura 2. Los primeros 100 individuos fueron marcados con un color (crema), del 101 al 200 se utilizó otro color (púrpura). Así cada 100 individuos se cambió el color.

Durante los meses de junio y julio del 2006 y 2007 entre las 0800 y 1400 hrs se describió la conducta copulatoria de 40 parejas marcadas utilizando el método de muestreo focal (Martin y Bateson 1993). Particularmente se registró lo siguiente: formación de pareja, monta, intento de cópula e inicio de cópula. Se definió pareja desde el momento en que un macho montó a una hembra solitaria. Se definió monta al momento en que el macho permaneció sobre los élitros de la hembra. Se definió intento de cópula cuando el macho montó a la hembra y expuso el edeago sin que existiera intromisión. Se definió cópula desde la intromisión del edeago en el tracto reproductivo de la hembra hasta su extrusión. Para determinar si existen diferencias en el tamaño abdominal de las hembras que copularon y las que se quedaron en intentos de cópula se midió el volumen abdominal aplicando la fórmula de la elipse: $V = \pi slhw/6$ propuesta por Macías – Ordóñez y Draud (2005), donde sl es la longitud, h es la altura o grosor y w es el ancho. Esta misma fórmula se utilizó para determinar si existen diferencias en el tamaño abdominal de las hembras que tuvieron pareja y las que permanecieron solitarias. Durante la cópula se describieron y cuantificaron las conductas copulatorias masculinas y se registró la duración de la cópula. Además, se registró la interferencia de machos rivales (medida como número de contactos) a la pareja o a algún miembro de esta y el número de machos y hembras presentes en un radio de 15 cm de la pareja focal (que corresponde aproximadamente al largo de una hoja de la planta hospedera). Por último, se realizó una correlación de Spearman para poner a prueba la predicción de que la duración de la cópula puede estar en función de la condición de las hembras, de la proporción de sexos y/o de la interferencia de machos rivales.

RESULTADOS

Los resultados de las medidas morfométricas se presentan en la tabla 1. En cada una de las medidas realizadas las hembras son estadísticamente más grandes que los machos.

Tabla 1. Medidas morfométricas de machos y hembras. Los datos representan las medias, desviación estándar y rango (grados de libertad = 210).

Sexo	Largo total (mm)	Largo abdomen (mm)	Ancho abdomen (mm)	Grosor abdomen (mm)
Machos				
N = 81	9.14	7.02	4.32	2.55
Promedio	0.58	0.39	0.3	0.14
D. E.	7.88 – 10.45	6 – 8.06	3.66 – 5	2.27 – 2.78
Rango	0.06	0.06	0.07	0.06
Coef. Variación				
Hembras				
N =131	10.76	8.61	5.2	3.68
Promedio	0.76	0.62	0.36	1.18
D. E.	9 – 12.6	7 – 11	4.19 – 6.23	2.2 – 6.3
Rango	0.07	0.07	0.07	0.32
Coef. Variación				
Análisis estadístico	t = - 16.62, P < 0.001	t = - 20.78, P < 0.001	t = -18.72, P < 0.001	t = 8.59, P < 0.0001

Se registraron 40 parejas, de las cuales 29 (72.5%) copularon mientras que las 11 restantes (27.5%) solo intentaron copular. No hubo diferencias significativas en el tamaño abdominal de las hembras que copularon y las que se quedaron en intentos de cópula ($Z = -0.17$, $n_1 = 11$ y $n_2 = 29$, $P = 0.44$) ni entre las que tuvieron pareja y las solitarias ($Z = -0.57$, $n_1 = 40$ y $n_2 = 91$, $P = 0.29$). La duración promedio de la cópula fue de 3.23 h (± 0.82 , 1.4 – 4.4). No existe correlación significativa entre la duración de la cópula y el tamaño abdominal de las hembras ($r_s = 0.21$, $n = 29$, $P = 0.25$). Durante la cópula existe interferencia de machos rivales

(en forma de contactos) hacia la pareja. Esta puede ocurrir de dos maneras: **(1)** el macho que está copulando (macho A) es montado por el macho rival (macho B). Mientras ocurre esto, el macho B expone el edeago y el macho A comienza a tocar con sus antenas a la hembra. Ésta enseguida se desplaza entre las hojas hasta que el macho B se desmonta. **(2)** el macho B se interpone entre el abdomen del macho A y los élitros de la hembra. De igual manera, el macho A comienza a tocar con sus antenas a la hembra y ésta se desplaza entre las hojas hasta que el macho B deja de tener contacto con la pareja. La interferencia de machos rivales ocurrió en 12 (41.37%) de las 29 parejas. En estas parejas se presentó la primer forma de interferencia y en 4 la segunda forma de interferencia. En ningún caso, el macho rival consiguió separar a la pareja. La interferencia de machos rivales no se correlacionó significativamente con la duración de la cópula ($r_s = 0.22$, $n = 29$, $P = 0.22$). En las parejas en las cuales no ocurrió la cópula, el macho montó a la hembra exponiendo su edeago pero la hembra comenzó a caminar y a sumir las placas que comprenden el abdomen evitando el contacto genital hasta que el macho la desmontó.

Las parejas pueden copular en hojas aisladas de otros individuos o en sitios donde existe agrupamiento de machos y hembras. El mayor número de individuos cercanos a una pareja dentro de un diámetro de 15 cm fue de 4 machos y 4 hembras, y en promedio la proporción de sexos dentro de esa área fue de 1.07 machos (± 0.8 , 0.25 – 3) por cada hembra. Los registros de la duración de la cópula se realizaron en los meses de junio y julio-2006 y 2007, época en la cual la proporción sexual por planta estuvo sesgada a hembras (promedio = 0.53 machos por cada hembra, ± 0.16 , 0.25 – 0.75) mientras que a finales de la temporada, en el mes de noviembre, la proporción de sexos fue sesgada a machos (promedio = 2.4 machos por cada hembra, ± 0.5 , 1.5 – 3), estas diferencias en la proporción sexual a lo largo de la

temporada son estadísticamente significativas ($U = 0$, $n_1 = 8$ y $n_2 = 10$, $P = 0.0004$). No se registró correlación significativa entre la proporción de sexos por sitio y la duración de la cópula ($r_s = 0.09$, $n = 29$, $P = 0.63$).

Durante los registros, se observaron cuatro diferentes conductas copulatorias masculinas. Estas conductas se presentaron en todas las cópulas observadas ($n = 29$) y en la misma secuencia. A continuación se describen cada una de ellas.

- **Toqueteos de antenas.** Secuencia de movimientos del edeago y toqueteos que el macho realiza con sus antenas sobre las antenas y cabeza de la hembra. En promedio los machos realizan 3.8 movimientos de antenas por minuto (± 1.3 , 2 – 7.1). Esta fase dura en promedio 2.76 minutos (± 0.74 , 2 – 5).
- **Intromisiones profundas.** Movimientos del edeago dentro del tracto reproductivo de la hembra. El macho intromete totalmente el edeago de manera arrítmica. En promedio los machos realizan 24.1 intromisiones por minuto (± 7.81 , 16.3 – 59). Esta fase dura en promedio 19.07 minutos (± 2.71 , 12 – 25).
- **Fase pasiva.** Al terminar la conducta de intromisiones profundas, los machos permanecen inmóviles con el edeago parcialmente dentro de la hembra. Solo toquetean con las antenas a la hembra cuando ésta camina o cuando existe interferencia de un macho rival. En promedio la duración de esta conducta es de 41.3 minutos (± 8.1 , 27 – 58).
- **Intromisiones constantes.** Movimientos del edeago dentro del tracto reproductivo de la hembra. El macho intromete parcialmente el edeago de manera rítmica. Esta conducta termina hasta el final de la cópula. En promedio los machos realizan 69.3

intromisiones por minuto (± 7.71 , 53.5 – 83.3). Esta fase dura en promedio 1.78 horas (± 0.78 , 0.36 – 3.18).

Las cópulas finalizan cuando cesa el contacto entre el edeago y la apertura genital de las hembras, acto seguido por el desmonte de los machos. Antes de finalizar las cópulas, las hembras se desplazan de manera rápida y constante entre el follaje hasta que los machos las desmontan. Al finalizar las montas, los machos se alimentan y posteriormente se desplazan por la planta; las hembras permanecen más tiempo en el mismo sitio sin alimentarse (ellas se alimentan durante la cópula). No se observó que las parejas tuvieran una segunda cópula.

DISCUSIÓN

Las hembras del escarabajo *Asphaera lustrans* son significativamente mayores en tamaño total y abdominal que los machos. Este dimorfismo sexual en talla es característico en muchos órdenes de insectos y particularmente en miembros de la familia Chrysomelidae (Jolivet 1999). Estas diferencias, principalmente en el tamaño abdominal, pueden deberse a que las hembras necesitan un mayor espacio para el desarrollo de los huevos que el macho fertilizará o bien puede ser una característica que ha evolucionado como respuesta a la selección sexual. Por ejemplo, en insectos como el chapulín *Sphenarium purpurascens*, las hembras de mayor tamaño son más fecundas y se aparean con mayor frecuencia que las hembras pequeñas (Cueva del Castillo *et al* 1999). Los resultados muestran que las hembras varían en el tamaño abdominal, principalmente en el grosor del abdomen. Estas diferencias en el abdomen no se relacionan con la madures sexual de la hembra ya que se observaron a machos copulando con hembras de diferentes tamaños. En algunos insectos el tamaño corporal de las hembras se

relaciona con la madurez de los huevos, así una hembra grande está potencialmente lista para que sus huevos sean fertilizados y el tiempo entre la inseminación y la oviposición será menor que para las hembras pequeñas (Bateman *et al* 2001). Contrario a lo esperado, la duración de la cópula no estuvo significativamente correlacionada con el tamaño de las hembras.

Jolivet (1999) encontró que, en muchas especies de crisomélidos, el tiempo destinado a la cópula oscila entre las 3 y 4 horas. La duración de la cópula promedio observada en este trabajo para el escarabajo *A. lustrans* cae dentro de dicho rango. Simmons (2001) encontró que la interferencia de machos rivales durante la cópula, así como la proporción de sexos y la densidad de machos son factores que afectan la probabilidad de competencia espermática. Las interferencias de cópulas registradas no afectaron significativamente la duración de la cópula, además, ningún macho rival consiguió interrumpir una cópula. La proporción de sexos en las plantas hospederas se modificó durante la temporada reproductiva, al inicio se encontró sesgo hacia las hembras, por lo tanto, es probable que la competencia espermática sea menos intensa que al final de la temporada cuando la proporción sexual está sesgada a machos. En otros insectos como el chapulín *Sphenarium purpurascens* también existen diferencias en la proporción sexual a lo largo de la temporada reproductiva, ya que al inicio de la temporada de 1992 y 1993 se observaron más machos que hembras (Cueva del Castillo *et al.* 1999). El hecho de que la proporción sexual esté sesgada a las hembras al inicio de la temporada podría indicar que son ellas las primeras en emerger del suelo, quizá debido a que tienen un desarrollo larval más rápido o bien, el mayor número de hembras se deba a que estas presentan una mayor sobrevivencia (periodo de vida largo) respecto a la temporada anterior. Por lo tanto, se esperaría que los machos que emerjan primero y alcancen su madurez sexual antes que el

resto pudieran obtener un mayor número de apareamientos breves con el mayor número de hembras posibles. No obstante, la proporción sexual en un diámetro de 15 cm alrededor de las parejas focales no se correlacionó significativamente con la duración de la cópula.

En su revisión Dickinson (1997) encontró que los machos de los crisomélidos no realizan cortejo precopulatorio pero si exhiben conductas estereotipadas después de la monta, durante la cópula y al final de ésta. De igual manera, los machos de *A. lustrans* no realizan cortejo precopulatorio pero si presentan cuatro diferentes conductas copulatorias. Todas se presentan en cada cópula y con la misma secuencia. Las estructuras externas que los machos utilizan durante estas conductas son las antenas y el edeago. Además, las conductas son percibidas muy probablemente por las hembras, ya que involucran toqueteos a las antenas y cabeza de éstas y contactos entre las genitalia. La conducta copulatoria de toqueteo entre las antenas es muy común en los coleópteros como el melyrido *Psilothrix viridicoeruleus* (Shuker *et al* 2002), el escarabajo terrestre *Carabus insulicola* (Takami 2002) y en los crisomélidos *Diabrotica virgifera* (Lew y Ball 1979) y *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Tallamy *et al* 2002 y Tallamy 2004). Esta conducta generalmente ocurre al comienzo de la cópula y en el escarabajo *Diabrotica undecimpunctata howardi* termina cuando la hembra ha recibido el estímulo suficiente para permitir que el edeago se introduzca hasta la bursa copulatrix (Tallamy 2004). Lo anterior también podría suceder en el escarabajo *A. lustrans*, ya que todos los machos presentan esta conducta al comenzar la cópula y termina cuando el macho realiza movimientos en los cuales el edeago es introducido totalmente en el tracto reproductivo de la hembra (segunda conducta copulatoria). En la tercera conducta copulatoria los machos no realizaron ningún movimiento visible. Si la primera conducta le sirve al macho para estimular

a la hembra y conseguir una completa penetración del edeago, lo que ocurre en la segunda conducta copulatoria, es posible que el periodo en el que el macho no realiza movimientos se lleve a cabo la formación del espermátforo. Esta conducta se presenta en promedio a los 20 minutos del inicio de la cópula y se prolonga por un poco más de 40 minutos. En otros coleópteros, como el escarabajo terrestre *Carabus insulicola*, la formación del espermátforo se lleva a cabo en un periodo de tiempo similar, entre los 40 y 60 minutos de iniciada la cópula (Takami 2002). La conducta copulatoria masculina que comprende movimientos del edeago también se ha observado en otros escarabajos. Tallamy y colaboradores (2002) registraron que los machos del crisomélido *Diabrotica undecimpunctata howardi* realizan movimientos rítmicos y lentos del abdomen y edeago una vez que logran introducir el edeago a la bursa copulatrix, mientras que Takami (2002) reportó que una de las conductas que el macho del escarabajo terrestre (*Carabus insulicola*) realiza en ocasiones durante la cópula implica “empujes” del edeago dentro de la vagina. Debido a que en todas las cópulas del escarabajo *A. lustrans* se presenta la conducta de movimientos del edeago, es posible que dicha conducta sea necesaria para lograr una cópula exitosa.

OBJETIVO 2

Determinar la ocurrencia o no de la transferencia del esperma relativa a las conductas copulatorias masculinas.

MÉTODOS

En los meses de julio y agosto del 2006 se realizó un experimento piloto para observar si la duración de la cópula y las conductas que los machos realizan durante la misma son similares a lo observado en el campo. Los resultados de este experimento mostraron que los machos realizaron las mismas conductas copulatorias pero la duración de la cópula fue mayor a la registrada en el campo (mediana en condiciones de laboratorio = 6.53, 5.35 – 8.2, mediana en condiciones naturales = 2.4, 1.4 – 4.4; $Z = 6.93$, $n_1 = 29$, $n_2 = 37$, $P < 0.0001$). Estos datos sirvieron de base para realizar el siguiente experimento.

Durante los meses de junio y julio del 2007 se realizaron colectas de individuos sexualmente inactivos en los jardines de la UAEM y en la vegetación paralela a la carretera Cuernavaca – Tepoztlán dentro del Corredor Biológico Ajuzco – Chichinautzin. Los individuos fueron trasladados al laboratorio de Ecología del CEAMISH y se mantuvieron separados por sexo en cajas de plástico (30 cm de largo x 20 cm de ancho y 15 cm de alto) con comida y agua *ad libitum* y temperatura ambiente hasta el inicio del experimento.

En los meses de julio y agosto del 2007 se congelaron a 40 parejas en cópula a diferentes momentos correspondientes a cada una de las conductas copulatorias masculinas descritas anteriormente. Para esto, las parejas se dividieron en cuatro grupos. En el primer

grupo, las parejas se congelaron a los dos minutos de haber iniciado la cópula. En el segundo grupo, las parejas se congelaron a los 15 minutos de haber iniciado la cópula. En el tercer grupo, las parejas se congelaron a los 40 minutos de haber iniciado la cópula. En el cuarto grupo, las parejas se congelaron a las cuatro horas de haber iniciado la cópula.

Se seleccionaron individuos al azar para cada uno de los grupos a los cuales se midió el largo corporal y el largo y ancho del abdomen y el peso. Posteriormente, se colocó a un macho y una hembra en una caja de petri y se les permitió copular. Cuando se cumplió el tiempo asignado de la cópula para cada grupo se pasó a la pareja a un mortero. Enseguida, se vertió nitrógeno líquido al mortero y se congeló a la pareja en cópula. Cuando el nitrógeno se evaporó se colocó a la pareja en un tubo eppendorf con etanol al 70%. Posteriormente se observó y disectó a la pareja a través de un microscopio estereoscópico hasta obtener los tractos reproductivos y las espermatecas de las hembras. Enseguida, las espermatecas se colocaron en un tubo de vidrio con hidróxido de potasio (KOH, a una concentración del 10%) y se calentó a fuego lento por 90 segundos, esto con el objetivo de eliminar residuos de grasa y aclarar la estructura de la espermateca. Por último, las espermatecas obtenidas de las hembras se colocaron en un portaobjetos para observarlas y fotografiarlas (con una cámara digital Canon modelo PowerShot A550) a través de un microscopio óptico.

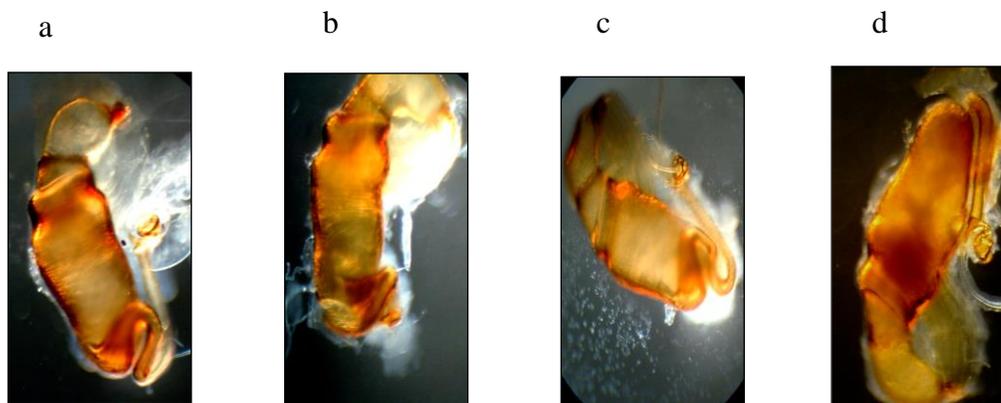
RESULTADOS

Las observaciones realizadas en las 40 espermatecas obtenidas de las hembras indican que la transferencia del esperma ocurre principalmente durante la cuarta conducta copulatoria (análisis de correspondencia $X^2 = 28.60$, g. l. = 3, $P < 0.0001$, tabla 2, figura 3).

Tabla 2. Número de espermatecas con y sin espermátforo en cada uno de los grupos.

Grupos	Espermatecas sin espermátforo	Espermatecas con espermátforo
2 minutos	8	2
15 minutos	9	1
40 minutos	10	0
4 horas	0	10

Figura 3. Espermatecas extraídas de hembras que copularon durante a) 2 minutos, b) 15 minutos, c) 40 minutos y d) 4 horas. Cada uno de estos tiempos corresponde a una conducta copulatoria masculina.



La unión de los tractos reproductivos masculino y femenino se pudo observar durante el proceso de disección de las parejas (figura 4 a). Dentro del tracto reproductivo de las hembras se observó un par de estructuras en la región cercana a la vagina (figura 4 b). Debido a la manipulación, los genitalia se separaron fácilmente en parejas de los tres primeros grupos, en cambio, en las parejas del último grupo (congeladas a las 4 horas) la unión fue muy fuerte y difícil de separar. Además, solo en este periodo, que corresponde a la conducta copulatoria de intromisiones constantes, se observó el endófalo de los machos introducidos en el tracto reproductivo de las hembras y la excreción de una sustancia similar a un espermátforo de uno de los machos (figura 5).

Figura 4. a) Unión de los tractos reproductivos masculino y femenino de una pareja congelada a las 4 horas de iniciada la cópula. b) Amplificación del par de estructuras internas de la hembra.

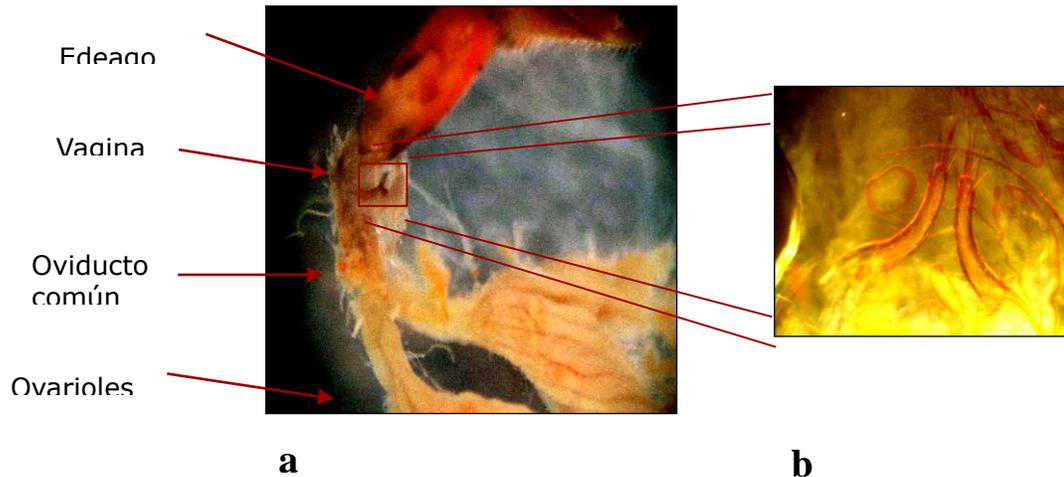
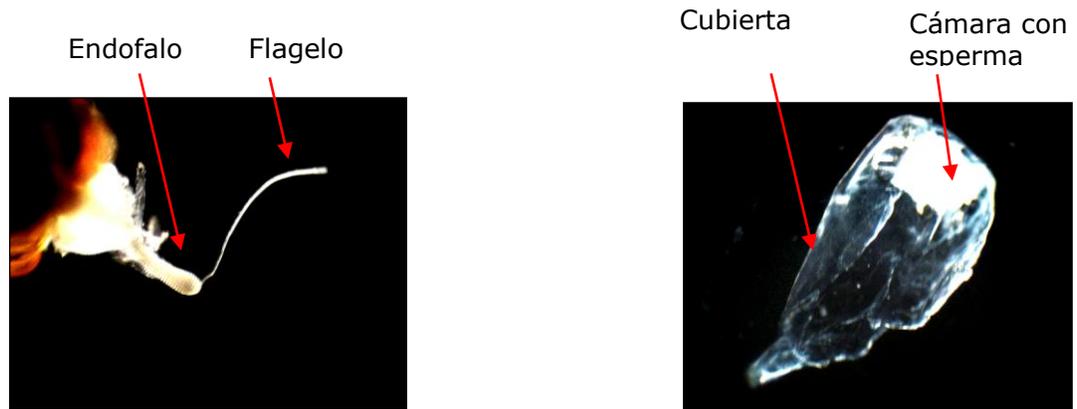


Figura 5. a) Estructuras internas del edeago de *A. lustrans* observadas en machos congelados durante la cuarta conducta copulatoria. b) Excreción tomada de un macho, similar a un espermatóforo.



DISCUSIÓN

Las disecciones de las hembras nos permitieron observar la presencia de una estructura pareada en el área de la vagina cerca de donde penetra el edeago. Debido a que las parejas congeladas en las tres primeras fases conductuales fácilmente se separan durante la manipulación (no así las parejas congeladas en la última fase) se sugiere que las estructuras antes mencionadas permiten el paso del edeago y que las primeras conductas copulatorias masculinas funcionen como estímulo a la hembra, lo que facilitaría una completa penetración. Por lo tanto, es posible que en el escarabajo *A. lustrans* la duración de la cópula esté determinada por la hembra en base a la intensidad de estímulo que reciba del macho. En otros crisomélidos como el escarabajo *Diabrotica undecimpunctata howardi* los machos realizan toqueteos a las hembras con sus antenas al comienzo de la cópula. Tallamy y colaboradores

(2002) mencionan que estas conductas son críticas para lograr una completa penetración y que los machos terminan de realizarlas cuando el edeago ha penetrado a la bursa copulatrix para transferir su espermatóforo.

Los resultados del momento de la transferencia del eyaculado indican que este proceso ocurre principalmente durante la última conducta copulatoria que el macho despliega. Solo en tres hembras congeladas durante las primeras dos conductas copulatorias se observó que las espermatecas no estaban vacías. Lo anterior pudiera deberse a que: a) existen machos que transfieran el espermatóforo al comienzo de la cópula, b) estas tres hembras quizá fueron capturadas cuando ya habían alcanzado su madurez sexual y copularon previo a la captura, o c) algunos individuos, particularmente hembras, pudieran sobrevivir de una temporada reproductiva a otra y por lo tanto lo observado en las espermatecas fue el espermatóforo transferido en una cópula del año anterior.

Unión de los tractos reproductivos

La cópula comienza cuando el edeago penetra la vagina. Esta unión es mas fuerte durante la cuarta fase conductual, ya que para este momento el flagelo ha salido del edeago. Al igual que en otros crisomélidos, el flagelo solo se observa cuando el edeago se encuentra dentro de la hembra (Dickinson 1997). Es probable que para este momento de la cópula el flagelo se encuentre en el ducto de la espermateca o cerca de éste. En otros crisomélidos como *Labidomera clavicollis*, los machos colocan el extremo del flagelo en la entrada del ducto de la espermateca, mientras que en el alticini *Macrohaltica jamaicensis* el flagelo del macho es reducido y no entra al ducto de la espermateca pero produce un espermatóforo que se ajusta a la entrada del ducto (ver Dickinson 1997). El ducto de la espermateca de *A. lustrans* es

estrecho y largo y se conecta con la parte inferior de la espermateca. La espermateca, como en la mayoría de los crisomélidos, es rígida y esclerotizada (Rodríguez *et al.* 2004), por lo tanto su tamaño no depende de la cantidad de eyaculado que se deposite en ella. Cuando se ha realizado la transferencia de esperma se observa una masa de color blanco dentro de la espermateca.

Durante las disecciones no se pudo observar si la transferencia del esperma es de manera directa o por espermatóforo, sin embargo, al interrumpir una cópula en la cuarta fase se observó una excreción por parte del macho similar a los espermatóforos reportados por Kotrba (1996) para algunas especies de dípteros. Estos espermatóforos, al igual que el observado en *A. lustrans* presentan las siguientes estructuras: una capa de material claro que cubre el espermatóforo, una cámara donde se encuentra el esperma y una porción conocida como cuello.

OBJETIVO 3

Determinar el efecto de la proporción sexual, interferencia de machos rivales, tamaño abdominal de la hembra e intensidad de las conductas copulatorias masculinas en la duración de la cópula en el escarabajo *Asphaera lustrans*.

MÉTODOS

Para los experimentos, en los meses de junio y julio de ambos años de estudio (2006 y 2007) se capturaron machos (N = 160) y hembras (N = 200) de la vegetación paralela a la carretera Cuernavaca – Tepoztlán dentro del corredor biológico Ajuzco – Chichinautzin. A todos los individuos se les midió el largo corporal y el largo, ancho y grosor del abdomen. Los individuos colectados se separaron por sexo en cajas de plástico (30 cm de largo x 20 cm de ancho y 15 cm de alto) y se mantuvieron con alimento *ad libitum* y a temperatura ambiente. Todos los individuos utilizados para los experimentos se mantuvieron al menos por 15 días sin tener contacto con el sexo opuesto. Ninguna de las hembras utilizadas en los experimentos puso huevos durante estos 15 días.

Experimentos de selección intrasexual

Para probar si el incremento en el riesgo de competencia espermática influye en el tiempo destinado a la cópula se realizaron dos experimentos. En el primero se presentaron diferentes proporciones sexuales y en el segundo se modificó la probabilidad de interferencia de machos rivales variando en ambos la densidad de machos.

•Proporción de sexos

En este experimento se establecieron tres tratamientos. En el primer tratamiento no hubo sesgos en la proporción de sexo (tratamiento control). En el segundo tratamiento la proporción de sexos fue sesgada a machos. En el tercer tratamiento la proporción de sexos fue sesgada a hembras. Para cada tratamiento se utilizaron cajas de petri de 100 mm de diámetro y 20 mm de alto. Para controlar un posible efecto del tamaño corporal, los machos utilizados en este experimento no difirieron en talla ($F = 0.45$, g. l. = 2, 87, $P = 0.64$) la cual osciló entre 9.08 y 9.5 mm. De igual manera, las hembras asignadas al experimento fueron similares en talla ($F = 0.26$, g. l. = 2, 87, $P = 0.77$) la cual osciló entre 10.83 y 11.17 mm y el mismo ancho abdominal ($F = 0.02$, g. l. = 2, 87, $P = 0.98$) cuyo rango fue entre 5.16 y 5.5 mm. Durante los experimentos los escarabajos se mantuvieron con comida *ad libitum* y a temperatura ambiente. Ningún individuo fue utilizado más de una vez.

Tratamiento 1 (N = 18). En una caja de petri se colocó a una pareja, cuando comenzó la cópula se introdujo, al mismo tiempo, otro macho y otra hembra a la caja.

Tratamiento 2 (N = 19). En una caja de petri se colocó a una pareja, cuando comenzó la cópula se introdujeron, al mismo tiempo, otros dos machos a la caja.

Tratamiento 3 (N = 18). En una caja de petri se colocó a una pareja, cuando comenzó la cópula se introdujeron, al mismo tiempo, otras dos hembras a la caja.

En cada tratamiento se registró la duración de la cópula. Cuando terminó la cópula los individuos fueron separados y puestos en diferentes cajas. Debido a que en el experimento hay tres tratamientos y los datos no presentan distribución normal (de acuerdo a la prueba de

Kolmogorov – Smirnov) se utilizó el análisis estadístico no paramétrico de Kruskal – Wallis (utilizando el programa Statview) para comparar las variables registradas, por lo tanto, los resultados se presentan en medianas, rangos y cuartiles.

•**Interferencia de machos rivales**

Para este experimento se establecieron dos tratamientos. En el primer tratamiento (baja probabilidad de interferencia, $N = 9$) se colocó a una hembra y dos machos en una caja de petri. En el segundo tratamiento (alta probabilidad de interferencia, $N = 11$) se colocó a una hembra y seis machos en una caja de petri. Para controlar un posible efecto de la talla, los machos utilizados en este experimento fueron del mismo tamaño corporal que en el experimento anterior el cual osciló entre 9.08 y 9.5 mm. De igual manera, las hembras asignadas a este experimento presentaron el mismo tamaño corporal que osciló entre 10.83 y 11.17 mm y el mismo ancho abdominal cuyo rango fue entre 5.16 y 5.5 mm.

En cada tratamiento se registró la latencia de la monta, la duración de la cópula y la duración y frecuencia de las conductas copulatorias masculinas. Además, durante la cópula se registró el número de intentos de machos rivales para interrumpir la cópula. Se utilizó el análisis estadístico U de Mann-Whitney para comparar las variables registradas. Los resultados se presentan en medianas, rangos y cuartiles.

Experimentos de selección intersexual

Para probar si la duración de la cópula está relacionada con algunas características que posean los miembros de cada sexo, se realizaron dos experimentos. En el primero se puso a prueba la hipótesis de que el tiempo destinado a la cópula está en función del tamaño abdominal de las

hembras. En el segundo se relacionó la duración de la cópula con la intensidad con que los machos estimulan a la hembra.

- **Tamaño abdominal de la hembra**

En este experimento se establecieron dos tratamientos. En el primer tratamiento se colocó a un macho con una hembra de tamaño abdominal grande (N = 9). En el segundo tratamiento se colocó a un macho con una hembra de tamaño abdominal pequeño (N = 7). Los machos utilizados en este experimento tuvieron un largo corporal entre 9.08 y 9.5 mm. Las hembras asignadas al primer tratamiento presentaron un largo abdominal entre 9 y 11 mm, un ancho abdominal entre 5.5 y 6.23 mm y un grosor abdominal entre 5 y 6.2 mm (volumen abdominal entre 129.59 mm³ y 222.46 mm³). Las hembras asignadas al segundo tratamiento presentaron un largo abdominal entre 7 y 8.16 mm, un ancho abdominal entre 4.19 y 5 mm y un grosor abdominal entre 2.2 y 3 mm (volumen abdominal entre 33.78mm³ y 64.09mm³). Estadísticamente las medidas anteriores resultaron diferentes para cada tratamiento (t = 14028, g. l. = 14, P < 0.0001; t = 7.98, g. l. = 14, P < 0.0001 y t = 8.7, g. l. = 14, P <0.0001, respectivamente). Para los dos tratamientos, el largo corporal de las hembras osciló entre 10.83 y 11.17 mm. Durante los experimentos los escarabajos se mantuvieron con comida *ad libitum* y a temperatura ambiente. Ningún individuo fue utilizado más de una vez. En cada tratamiento se registró la latencia de la monta, la duración de la cópula y la duración y frecuencia de las conductas copulatorias masculinas. Cuando terminó la cópula los individuos fueron separados y puestos en diferentes cajas. Debido a que en el experimento hay dos tratamientos y los datos no presentan distribución normal se utilizó el análisis estadístico U de Mann-Whitney para comparar las variables registradas, por lo tanto, los resultados se

presentan en medianas, rangos y cuartiles.

- **Intensidad de las conductas copulatorias masculinas**

En cada una de las cópulas que se llevaron a cabo en los experimentos anteriores, se registró la tasa y duración de las conductas copulatorias masculinas. Esto con el fin de probar si el tiempo invertido en la cópula está determinado por la hembra en función de la intensidad de estímulo que reciba por parte del macho. Para analizar esto se utilizó la prueba estadística de correlación de Spearman.

En la tabla 3 se muestran las predicciones establecidas para cada uno de los experimentos.

Tabla 3. Predicciones de los experimentos. Para proporción sexual solo se registró la duración de la cópula.

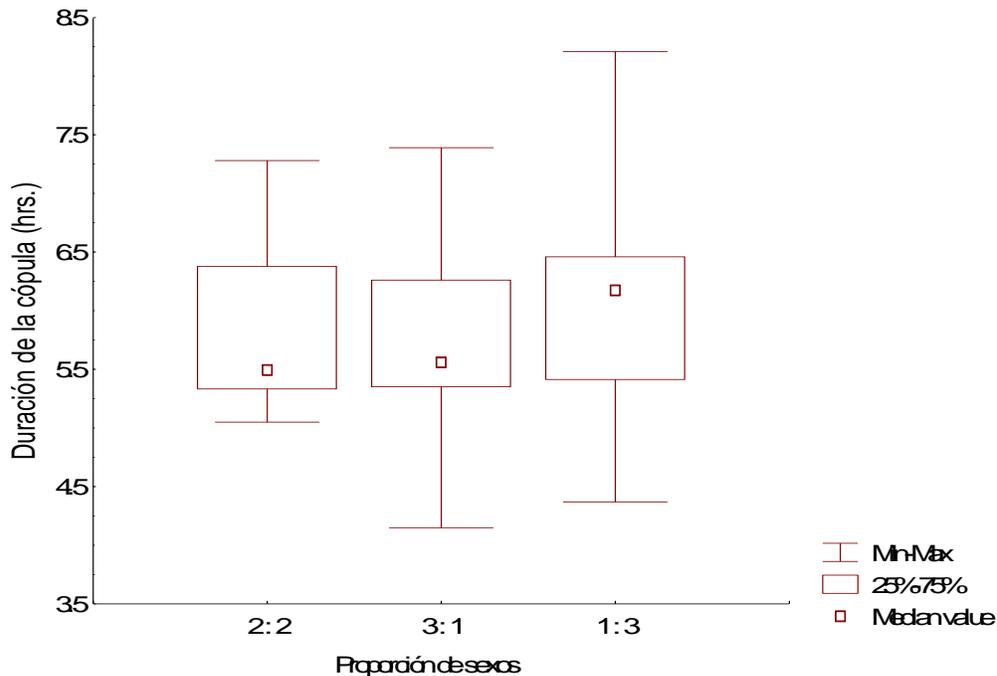
Experimento	Latencia de monta	Duración de la cópula	Duración y frecuencia de las C. C. M.
Proporción sexual	-----	Mayor duración de cópula en proporciones sesgadas a machos	-----
Interferencia de machos rivales	Menor latencia de monta a mayor probabilidad de interferencia	Mayor duración de cópula a mayor interferencia	Mayor duración y frecuencia de las C. C. M. a mayor interferencia
Tamaño abdominal de las hembras	Menor latencia de monta con hembras en buena condición	Mayor duración de cópula con hembras en buena condición	Mayor duración y frecuencia de las C. C. M. con hembras en buena condición

RESULTADOS

Proporción sexual

Las medianas de la duración de la cópula de cada tratamiento fueron similares (sin sesgo: 5.5, 5.05 – 7.28 hrs Q1 = 5.33, Q3 = 6.33; sesgado a machos: 5.56, 4.15 – 7.39 hrs Q1 = 5.36, Q3 = 6.24 y sesgado a hembras: 6.18, 4.37 – 8.21 hrs Q1 = 5.43, Q2 = 6.44). Estadísticamente no hubo diferencias entre cada una de ellas ($H = 1.32$, g. l. = 2, $P = 0.51$, $n_1 = 18$, $n_2 = 19$ y $n_3 = 18$; figura 6).

Figura 6. Duración total de la cópula en apareamientos con diferentes proporciones de sexo. El gráfico muestra las medianas, el primer y tercer cuartil y el rango.



Interferencia de machos rivales

La interferencia de machos rivales resultó significativamente mayor en los apareamientos de

altas densidades de machos ($U = 9.5$, $n_1 = 9$ y $n_2 = 11$, $P = 0.001$). En todas las cópulas registradas bajo este tratamiento se observó interferencia de machos rivales (mediana = 2, 1 – 7). En cambio, solo en tres de las nueve cópulas registradas en bajas densidades de machos se observó interferencia de machos rivales (mediana = 0, 0 – 2). De acuerdo al coeficiente de correlación de Spearman no existe relación entre la interferencia de machos rivales (número de contactos de machos rivales a la pareja) y la duración de la cópula ($r_s = -0.19$, $n = 20$, $P = 0.4$).

La interferencia de machos rivales no afectó la latencia de monta ni las frecuencias de las conductas copulatorias masculinas (tabla 4). El análisis estadístico reveló que no existen diferencias significativas en la duración total de la cópula (mediana baja probabilidad = 7.51, 6.13 – 8.56 hrs Q1 = 7.1, Q3 = 8.1; mediana alta probabilidad = 7.29, 6.2 – 8.44 hrs Q1 = 7.07 Q3 = 7.86; $U = 45.5$, $n_1 = 9$ y $n_2 = 11$, $P = 0.87$, figura 7) ni en la duración de cada conducta copulatoria masculina (figura 8) al comparar los dos tratamientos.

Figura 7. Duración total de la cópula en apareamientos con baja y alta probabilidad de interferencia de machos rivales. La figura muestra la mediana, el primer y tercer cuartil y el rango.

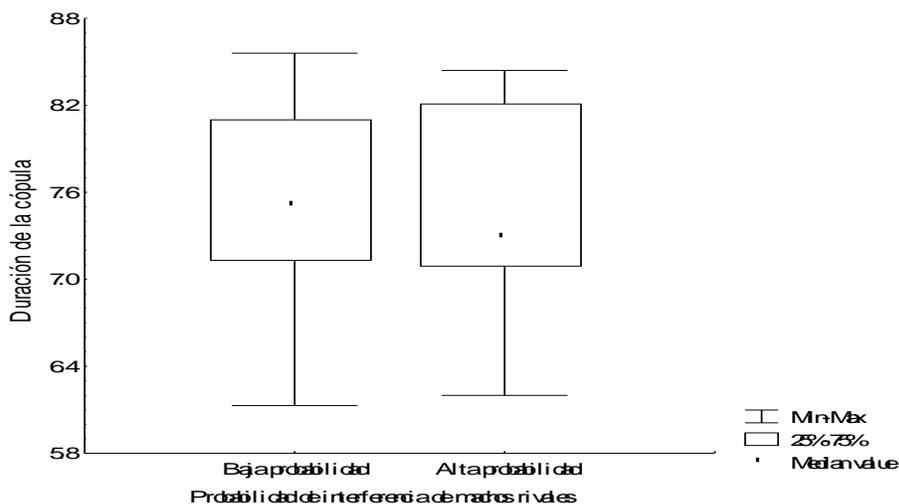
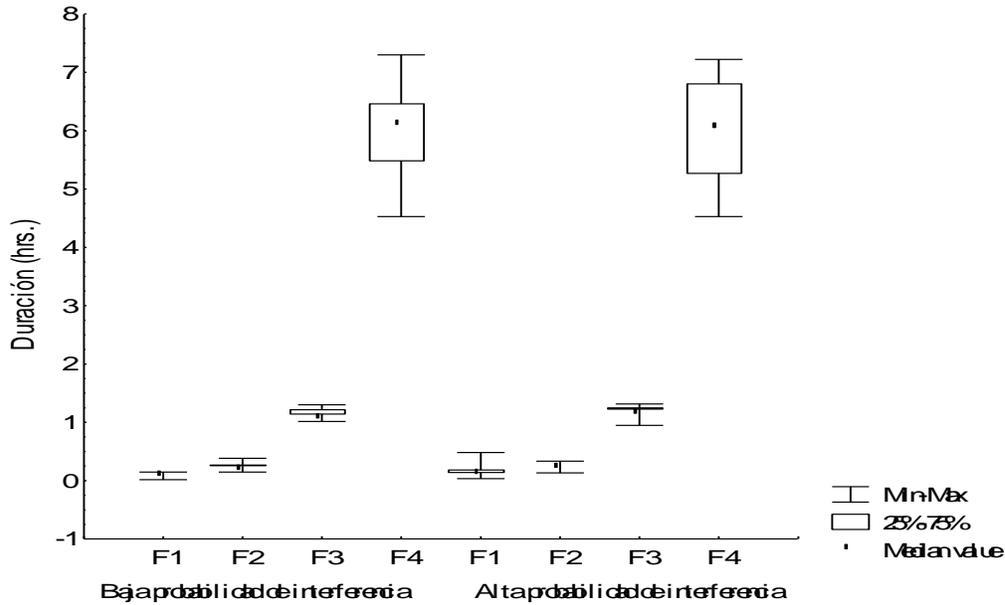


Tabla 4. Latencia de monta y tasas de las conductas copulatorias masculinas en apareamientos con baja y alta probabilidad de interferencia de machos rivales. Los datos representan la mediana y el rango.

Tratamiento	Latencia de monta (min.)	Toqueteos de antenas / minuto	Intrusiones profundas / minuto	Duración fase pasiva (min.)	Intrusiones constantes / minuto
Baja probabilidad	5 2 – 28	2.5 1 – 4	21.75 16 – 29	64 61 – 78	59.6 53.6 – 67.5
n = 9					
Alta probabilidad	5 2 – 14	2 1 – 3.5	23 17 – 27	69 57 – 79	65 57 – 69.6
n = 11					
Análisis estadístico	U = 49 P = 0.96	U = 37 P = 0.33	U = 34.5 P = 0.62	U = 44 P = 0.67	U = 25 P = 0.06

Figura 8. Duración de cada conducta copulatoria masculina en diferentes probabilidades de interferencia de machos rivales. No se observaron diferencias significativas al comparar cada fase entre los tratamientos: Fase 1 (F1) $U = 37$, g. l. = 18, $P = 0.33$; Fase 2 (F2) $U = 47$, g. l. = 18, $P = 0.84$; Fase 3 (F3) $U = 44$, g. l. = 18, $P = 0.67$ y Fase 4 (F4) $U = 42.5$, g. l. = 18, $P = 0.59$.



Tamaño abdominal de las hembras

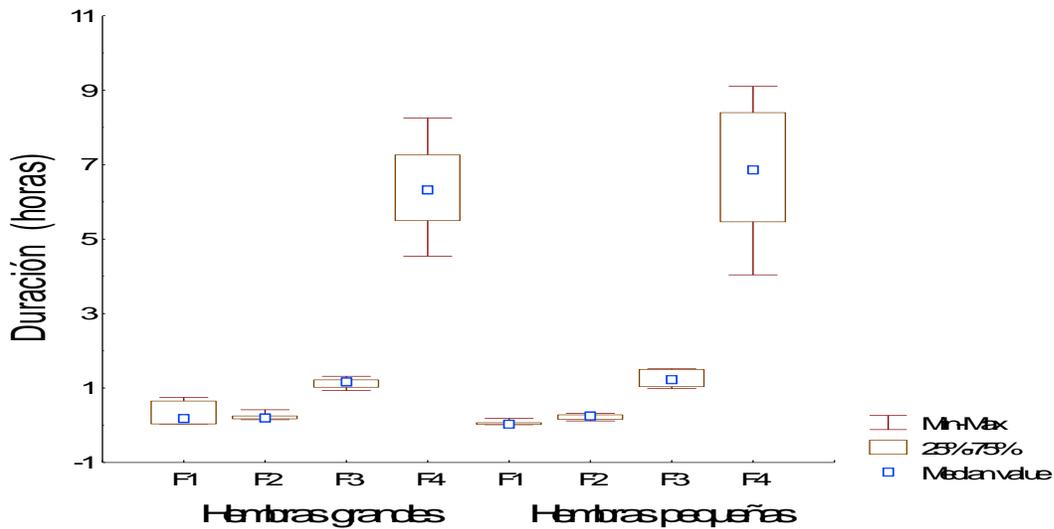
La latencia de monta en apareamientos con hembras de tamaño abdominal grande fue de 46.33 minutos (4 – 158), mientras que en los apareamientos con hembras de tamaño abdominal pequeño fue de 66.43 minutos (2 – 197). El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ($U = 30.5$, $n_1 = 7$ y $n_2 = 9$, $P = 0.91$). La mediana de la duración de la cópula en las hembras de tamaño abdominal grande fue de 8.21 hrs. (6 – 10.42 $Q_1 = 7.08$, $Q_3 = 8.36$) y en las hembras de tamaño abdominal pequeño de 8.26 hrs. (5.11 – 11 $Q_1 = 7.19$, $Q_3 = 9.37$). El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($U = 27$, $n_1 = 7$ y $n_2 = 9$, $P = 0.63$). Las frecuencias de las conductas copulatorias masculinas no fueron afectadas por el tamaño

abdominal de las hembras (tabla 5). De igual manera, no hubo diferencias significativas en la duración de cada fase al compararlas entre los dos tratamientos (ver figura 9).

Tabla 5. Tasas de las conductas copulatorias masculinas en apareamientos con hembras de diferente tamaño abdominal. Los datos representan la mediana y el rango.

Tratamiento	Toqueteos de antenas / minuto	Intromisiones profundas / minuto	Duración fase pasiva (min.)	Intromisiones constantes / minuto
Tamaño abdominal grande n = 9	2.3 1 – 3.3	22 10.8 – 28	70 56 – 79	61.3 56.7 – 83.6
Tamaño abdominal pequeño n = 7	1.5 1 – 3	21.3 17.3 – 36	73.5 59 – 91	57.9 45.2 – 71.5
Análisis estadístico	U = 9 P = 0.23	U = 28.5 P = 0.75	U = 19.5 P = 0.37	U = 18 P = 0.28

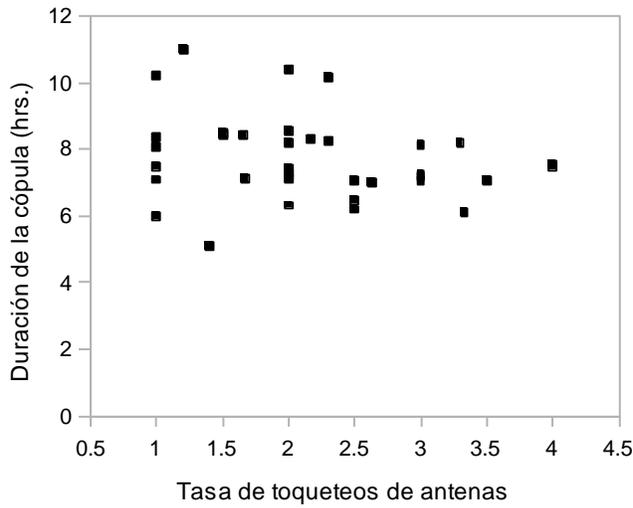
Figura 9. Duración de cada conducta copulatoria masculina en diferentes tamaños abdominales de las hembras. No se observaron diferencias significativas al comparar cada fase entre los tratamientos: Fase 1 (F1) $U = 11.5$, g. l. = 14, $P = 0.10$; Fase 2 (F2) $U = 28$, g. l. = 14, $P = 0.71$; Fase 3 (F3) $U = 19.5$, g. l. = 14, $P = 0.37$ y Fase 4 (F4) $U = 22$, g. l. = 14, $P = 0.55$.



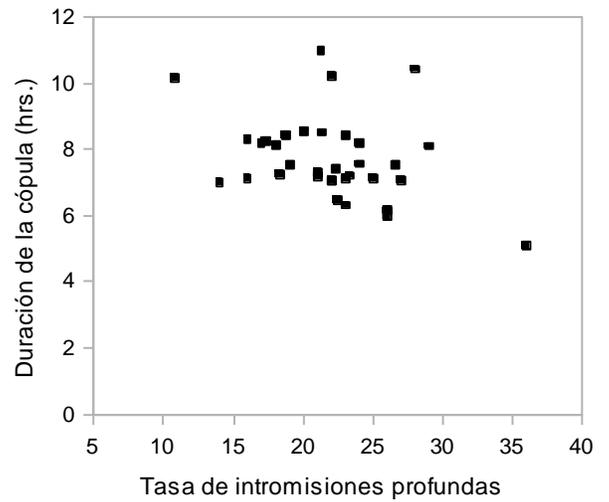
Intensidad de las conductas copulatorias masculinas

Las pruebas de correlación de Spearman indicaron que la duración de la cópula presentó asociación positiva con la duración de la fase pasiva y asociación negativa con las tasas de intromisiones profundas y constantes; no hubo asociación significativa con la tasa de toqueteos de antenas (figura 10). En todas las cópulas, la conducta de intromisiones constantes fue la que presentó mayor duración. (mediana = 6.22, 4.04 – 9.1, $Q1 = 5.37$ y $Q3 = 6.89$).

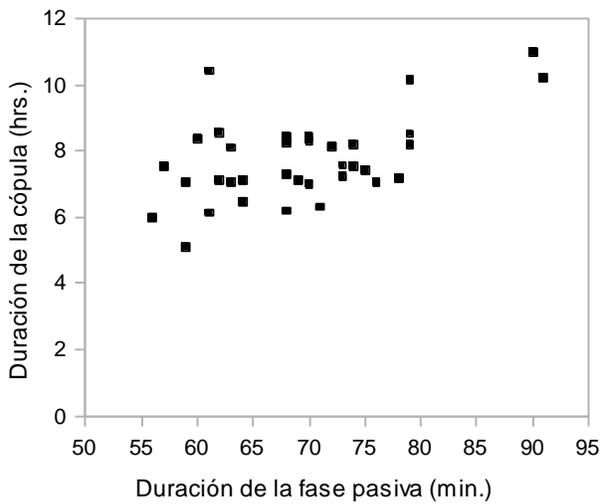
Figura 10. Correlaciones entre duración de la cópula y las conductas copulatorias masculinas. a) duración de cópula vs tasa de toqueteos de antenas, $r_s = -0.24$, $P = 0.14$; b) duración de cópula vs tasa de intromisiones profundas, $r_s = -0.34$, $P = 0.03$; c) duración de cópula vs fase pasiva, $r_s = 0.38$, $P = 0.02$; d) duración de cópula vs tasa de intromisiones constantes, $r_s = -0.51$, $P = 0.001$. En todas las correlaciones la n fue de 36.



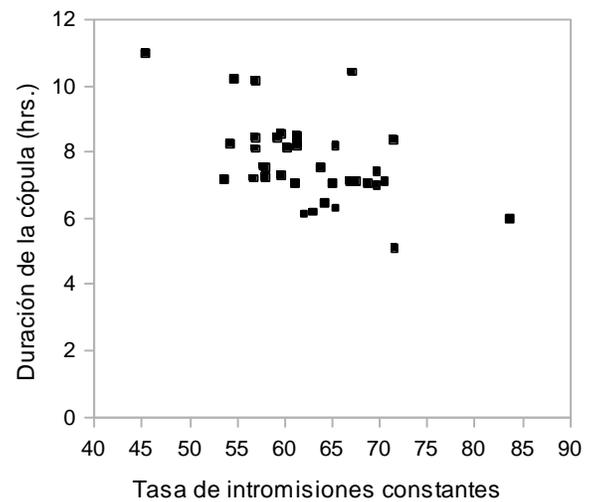
a)



b)



c)



d)

DISCUSIÓN

En todos los experimentos el tiempo invertido en la cópula fue mayor que en los registros realizados en el campo. Es probable que estas diferencias se deban al efecto de las condiciones climáticas. Por ejemplo en el campo los individuos están más expuestos a los rayos del sol y a mayores temperaturas que en el laboratorio. En otros artrópodos se ha registrado efecto de la temperatura sobre el tiempo que dura la cópula, por ejemplo, en la mosca *Lucilia cuprina* la cópula dura 26 minutos a temperaturas de 17 °C y 7 minutos a temperaturas de 41°C (Cook 1994). En la araña *Lycosa malitiosa* la duración de la cópula se relacionó inversamente con la temperatura (Costa y Sotelo 1984).

Selección intrasexual

En este trabajo, se modificó la probabilidad de competencia espermática variando la proporción sexual y la probabilidad de interferencia de machos rivales modificando la densidad de machos. En el primer experimento se esperaba que la duración de la cópula se incrementaría cuando la proporción sexual estuviera sesgada a machos como ocurre en otras especies de insectos (por ejemplo, chinches *Phyllomorpha laciniata*, García – González y Gomendio 2004 y *Lygaeus equestris*, Sillén – Tullberg 1981 y hemíptero *Gerris remigis*, Clark 1988). Sin embargo, en el escarabajo *A. lustran* esta tendencia no se presentó. A pesar de que la proporción sexual es el factor que más se ha estudiado en diversos insectos, no en todos produce un efecto sobre la duración de la cópula. Por ejemplo, en el saltamontes chino *Gampsocleis gratiosa* la duración de la cópula no difirió significativamente entre cinco diferentes proporciones de sexo (4:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 1:4) sin embargo, los ambientes con mayor sesgo de machos (proporción 4:1) provocaron un incremento significativo en otros aspectos reproductivos como el peso fresco de la ámpula y el número de espermatozoides

transferidos a las hembras (Gao y Kang 2006). Esto mismo pudiera estar ocurriendo en el escarabajo *A. lustrans*.

Las predicciones del segundo experimento fueron que la latencia de monta disminuiría cuando la probabilidad de interferencia de machos rivales aumentara, mientras que la duración de la cópula y la duración y frecuencia de las conductas copulatorias masculinas se incrementarían cuando dicha probabilidad fuera mayor. Contrario a lo esperado, ninguna de estas variables se vio afectada de manera significativa al modificar la interferencia de machos rivales. Es probable que los machos respondan a estas presiones de competencia espermática no con un incremento en el tiempo invertido en la cópula pero sí con otros aspectos como es el número de espermatozoides inseminados o el volumen del espermátforo transferido a la hembra (Simmons 2001). Por ejemplo, en el coleóptero *Callosobruchus chinensis* los machos transfieren significativamente mayor número de espermatozoides en altas densidades de machos (Yamane y Miyatake 2007).

Los resultados de nuestros experimentos no apoyan la hipótesis de que las cópulas sean prolongadas como consecuencia de que los machos realicen desplazamiento de espermas rivales. Esto debido a que las hembras utilizadas en los experimentos fueron colectadas a principio de la temporada, cuando aun no son sexualmente activas, lo cual supone virginidad en ellas. Además, no se observó durante la cópula expulsión de espermátforos o esperma que pudiera sugerir desplazamiento de esperma por parte del macho.

Selección intersexual

En este trabajo se analizaron dos características de los individuos para probar si funcionan como atributos que el sexo opuesto evalúa para determinar el tiempo que dura la cópula. El

primero fue el tamaño abdominal de las hembras y el segundo las conductas copulatorias masculinas. En el primer experimento se esperaba que la latencia de monta disminuyera cuando se les presentara a los machos hembras de mayor tamaño abdominal, mientras que la duración de la cópula y la duración y frecuencias de las conductas copulatorias masculinas se incrementarían en apareamientos con hembras de mayor tamaño abdominal. Contrario a lo esperado, ninguna de estas variables se vio afectada de manera significativa por el tamaño abdominal de las hembras. Debido a que no hubo diferencias significativas en la latencia de monta se sugiere que los machos, previo a la cópula, no discriminan entre diferentes tamaño abdominales de las hembras. La duración de la cópula tampoco se vio afectada por el tamaño abdominal de las hembras. Lo anterior puede ser explicado por las siguientes razones: **(1)** los machos no discriminan durante la cópula (ni antes) entre los tamaños abdominales de las hembras y por lo tanto el tiempo invertido en la cópula no es diferente. **(2)** es probable que los machos no invirtieran en la duración de la cópula de manera diferente debido a que fueron capaces de detectar la virginidad de las hembras. Se ha sugerido que los machos invierten más tiempo en la cópula cuando se aparean con hembras que ya han recibido esperma de apareamientos previos, esto debido a la importancia que se ha reportado, para insectos, del segundo apareamiento. Por ejemplo, en la chinche *Lygaeus equestris* existe mayor número de cópulas prolongadas en apareamientos con hembras no vírgenes que con hembras vírgenes (Sillén – Tullberg 1981). De igual manera, los machos de la mosca *Drosophila melanogaster* invierten más tiempo en la cópula cuando detectan que la hembra no es virgen (Friberg 2006). De acuerdo con lo anterior, el segundo macho que insemina a una hembra tiene más probabilidad de fertilizar un mayor número de huevos (Simmons y Siva – Jothy 1998). **(3)** probablemente los machos no invierten de manera distinta en la duración de la cópula pero sí

en otras características reproductivas como la cantidad de espermatozoides transferidos (Simmons 2001). Un ejemplo de esto lo reportan Engqvist y Sauer (2003) en el mecoptero *Panorpa cognata* donde los machos transfieren significativamente mayor número de espermatozoides cuando se aparean con hembras en buena condición (medida como peso corporal).

En el segundo experimento se esperaba que existiera una correlación entre la duración de la cópula y las tasas de las conductas copulatorias masculinas. Esta correlación se presentó en tres de las cuatro conductas. La tasa de intromisión profunda se correlacionó negativamente con la duración de la cópula, lo cual pudiera indicar que las hembras que reciban mayor intensidad de estímulo acepten más rápido la penetración del edeago al sitio donde se lleve a cabo la inseminación. La duración de la fase pasiva se correlacionó positivamente con la duración de la cópula, quizá durante esta fase se produzca la formación del espermátforo en el tracto reproductivo de los machos. La tasa de intromisiones constantes se correlacionó negativamente con la duración de la cópula, esto pudiera indicar que las hembras que reciban mayor intensidad de estímulo acepten la penetración del endófalo y flagelo para que ocurra la transferencia del espermátforo. En otros escarabajos la intensidad de algunas conductas copulatorias masculinas tiene una relación con el tiempo que dura la cópula. Por ejemplo, se sabe que en el crisomélido *Diabrotica undecimpunctata howardi*, los machos que toquetean con las antenas a las hembras a mayor intensidad consiguen el estímulo suficiente para que esta acepte el espermátforo, mientras que aquellos que lo hacen a menor intensidad tardan más tiempo en transferir el espermátforo y por lo tanto, la cópula se prolonga por más tiempo (Tallamy *et al* 2002). Otro ejemplo se reporta en el melyrido *Psilothrix viridicoeruleus*, en este

escarabajo los machos realizan de 1 a 6 conductas copulatorias. Aquellos que presentan mayor número de conductas tienen cópulas de mayor duración. De igual manera, existe una relación positiva entre la duración de la cópula y la conducta de “empujes”, que es la más utilizada por los machos (Shuker *et al* 2002).

Duración de la cópula, selección sexual y explicaciones alternativas

El tiempo que dura la cópula puede ser resultado de las presiones de selección sexual que actúan sobre machos y hembras. De esta manera, la competencia espermática o la elección críptica de pareja pueden determinar el tiempo invertido a esta actividad. En el escarabajo *Asphaera lustrans* encontramos que las hembras podrían estar ejerciendo elección críptica en base a la intensidad con la cual los machos realizan las conductas copulatorias, esto debido a que: **(1)** todos los machos realizan las mismas cuatro conductas copulatorias siempre en la misma secuencia **(2)** se observó correlación entre la intensidad de las conductas copulatorias masculinas y la duración de la cópula, **(3)** solo durante la última conducta copulatoria la unión entre los tractos reproductivos es fuerte y difícil de separar, además de que en esta etapa el endofalo y flagelo han salido del edeago lo cual pudiera indicar que el macho necesita estimular a la hembra para que esta permita el paso de dichas estructuras hacia los sitios donde podría ocurrir la inseminación, **(4)** en todas las hembras disectadas se observó un par de estructuras quitinizadas cerca de la entrada de la vagina que pudieran funcionar como una barrera que los machos necesitan estimular para permitir la entrada del edeago. Por lo anterior, se sugiere que las hembras podrían estar determinando el tiempo que dura la cópula en este escarabajo. Sin embargo, pudieran existir otros factores que influyan en la duración de la cópula. Bajo condiciones de competencia espermática, las cópulas prolongadas podrían

funcionar para incrementar el número de espermatozoides, la cantidad de fluido seminal o el tamaño del espermatozoides que el macho transfiere a la hembra (Simmons 2001) como ocurre en otros insectos como la chinche *Phyllomorpha laciniata*, en la cual los machos que copularon en promedio 12 horas transfirieron significativamente mayor número de espermatozoides que los que copularon por 1 hora (García – González y Gomendio 2004). Otro posible factor responsable de la variación en la duración de la cópula pudiera ser el intervalo de tiempo entre la cópula y la oviposición (Simmons 2001). Si la hembra está próxima a ovipositar, al macho le convendría destinar más tiempo en la cópula para asegurar ser el último que copule con ella y aumentar la probabilidad de que su espermatozoides fertilice los huevos de la hembra. También, pudiera ocurrir que las cópulas de mayor duración sean una estrategia para estimular el desarrollo de los ovarios y de la puesta de huevos, como ocurre en el crisomélido *Diabrotica virgifera virgifera* (Sherwood y Levine 1993). En otros insectos como los odonatos, se ha registrado que la duración de la cópula depende de la territorialidad. Los machos que poseen territorios destinan menos tiempo a la cópula que aquellos que no lo tienen. Esto con el fin de evitar que otros machos ganen su territorio (Simmons 2001). También en odonatos se ha reportado que existe correlación negativa entre la duración de la cópula y el momento en el día en que comienza la cópula. Por ejemplo en la libélula *Ceriagrion tenellum* las cópulas que comenzaron a las 12 horas tuvieron significativamente mayor duración que aquellas que comenzaron a las 15 horas (Andrés y Cordero 2000). Esto pudiera estar relacionado con diferencias en el riesgo de depredación durante el día o con cuestiones climáticas como variación en la temperatura. Por último, podría ocurrir que la duración de la cópula esté en función de la experiencia reproductiva tanto de los machos como de las hembras y que los individuos evalúen esta característica de su pareja por medio de feromonas u otras sustancias químicas. Por ejemplo,

en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, los machos invierten más tiempo en cópulas con hembras que presentan elevadas concentraciones de carbono cuticular, lo cual en condiciones naturales supone que la hembra no es virgen (Friberg 2006). Determinar quien controla la cópula probablemente sea el resultado de una serie de conflictos que actúan sobre los intereses de machos y hembras, por lo que la duración de la cópula puede entonces representar un balance entre las presiones selectivas ejercidas sobre los individuos.

PERSPECTIVAS

Con este trabajo se pudo conocer más acerca de la biología reproductiva del escarabajo *Asphaera lustrans*. Sin embargo, son muchos los planteamientos que se pueden desprender de esta investigación. Particularmente, sería interesante conocer como es que las presiones de selección sexual pudieran moldear las características relacionadas a la reproducción, en especial a la transferencia del esperma. Las cópulas en este escarabajo pueden durar horas pero sería aun más relevante el conocer si las presiones selectivas modifican aspectos tan importantes como es la cantidad de esperma o tamaño del espermátforo transferido por los machos. Ahora se sabe que los machos transfieren un espermátforo principalmente durante la última conducta copulatoria y que este es depositado en la espermateca de la hembra, en un futuro sería relevante conocer si existen diferencias entre los espermátforos y si dichas diferencias se deban a las características propias de los machos (tamaño corporal, edad o experiencia reproductiva) o que sean resultado de la influencia de factores como la competencia espermática.

Otro punto interesante que genera varios planteamientos se deriva de las conductas copulatorias realizadas por lo machos. En este trabajo se realizó una descripción de estas conductas para conocer el momento en que ocurre la transferencia del espermátforo pero resultaría importante determinar la función de cada una de ellas, por ejemplo, ¿Qué ocurre en el interior del tracto reproductivo de las hembras cuando los machos realizan las conductas copulatorias? ¿Cuál es la función de la conducta de toqueteo de antenas que es una conducta muy común entre los crisomélidos? ¿Qué efecto tendría sobre la duración de la cópula y la transferencia del espermátforo el evitar que las hembras perciban las

conductas? Además, sería relevante realizar una descripción más fina del par de estructuras observadas en el tracto reproductivo de las hembras para conocer la función y el mecanismo de operación y comparar si estas estructuras están presentes en hembras de otras especies de crisomélidos y si pueden ser determinantes para que los machos consigan una cópula exitosa. Con lo anterior, se tendría más evidencia de cómo las presiones selectivas moldean los aspectos reproductivos tan importantes para conseguir incrementar la adecuación de los individuos.

GLOSARIO

Alticini. Tribu perteneciente a la familia Chrysomelidae y a la subfamilia Galerucinae. Son escarabajos que presentan colores y patrones muy vistosos incluyendo metálicos brillosos y fémures muy desarrollados.

Carga espermática. Cantidad de espermatozoides que el macho eyacula o transfiere a la hembra mediante la cópula.

Chrysomelidae. Uno de los grupos más abundantes y diversos de los coleópteros, comúnmente conocidos como escarabajos de las hojas.

Competencia espermática. Competencia entre espermatozoides de dos o más machos para fertilizar los huevos de una hembra.

Conductas copulatorias masculinas. Conductas estereotipadas y repetitivas que algunos machos realizan durante la cópula y son aparentemente estimuladoras para la hembra.

Cópula. Unión de los tractos reproductivos masculino y femenino mediante la cual se lleva a cabo la transferencia del espermatozoides y otros productos del fluido seminal.

Cópulas prolongadas. Término asignado a las cópulas que duran más del tiempo requerido para la transferencia del espermatozoides.

Densidad de machos. Medida poblacional del número de machos presentes en un determinado lugar.

Desplazamiento de espermatozoides. Eliminación o recolocación que un macho realiza durante la cópula al espermatozoides o espermatozoides de otros machos que hayan inseminado previamente a la hembra.

Edeago. Órgano intromitente o pene de machos de la mayoría de los insectos. Este es la parte externa más quitinizada y retráctil del falo.

Elección críptica femenina. Elección que se realiza dentro de la hembra para seleccionar entre los espermatozoides de varios machos al que fertilizará sus huevos.

Endófalo. Estructura que se encuentra dentro del edeago de los insectos. Es una estructura tubular flexible y es el verdadero órgano intromitente.

Espermateca. Saco o contenedor conectado al tracto genital de las hembras en los insectos, el cual actúa como un almacén de espermatozoides.

Espermatóforo. Es un paquete de espermatozoides cubierto por una envoltura proteica formada de secreciones de las glándulas accesorias masculinas.

Flagelo. Estructura que se encuentra dentro del endófalo en el edeago de los machos. Esta estructura puede introducirse en algunas especies de insectos hasta la espermateca.

Galerucinae. Subfamilia de los crisomélidos, comprende cinco tribus y aproximadamente 5800 especies descritas.

Genitalia. Término usado para describir cada uno de los órganos sexuales externos masculino y femenino.

Intento de cópula. Término usado cuando el macho monta una hembra y expone el edeago sin que exista intromisión.

Interferencia de machos rivales. Intentos que los machos rivales realizan para interrumpir una cópula. Estos intentos pueden presentarse en forma de contactos.

Latencia de monta. Periodo de tiempo que comprende desde que se encuentran un macho y una hembra sexualmente activos hasta que ocurre la monta del macho a la hembra.

Monta. Momento en que el macho permanece sobre los élitros de la hembra.

Pareja. Interacción macho – hembra que se da desde el momento en que el macho monta a la hembra.

Proporción sexual. Número de machos sexualmente activos entre el número de hembras sexualmente activas presentes en un determinado lugar.

Resguardo de pareja. Cualquier conducta realizada por un macho que reduzca o impida que su pareja sea fertilizada por otro macho.

Selección intersexual. Tipo de selección sexual que se refiere a la elección de pareja en base a los atributos que posea el sexo que es escogido.

Selección intrasexual. Tipo de selección sexual que involucra la competencia entre individuos del mismo sexo para conseguir apareamientos con individuos del sexo opuesto

Selección sexual. Es un tipo especial de selección natural. La selección sexual actúa sobre la habilidad de los organismos para obtener una cópula exitosa con una pareja.

LITERATURA CITADA

- Alcock, J. 1994. Postinseminations associations between males and females in insects: the mate guarding hypothesis. *Annual Review of Entomology* 39: 1-21.
- Andrés, J. A. y Cordero, A. R. 2000. Copulation duration and fertilization success in a damselfly: an example of cryptic female choice. *Animal Behaviour*. 59: 695-703.
- Arnaud, L., Gage, M. J. G. y Haubruge, E. 2001. The dynamics of second – and third – male fertilization precedence in *Tribolium castaneum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 99: 55-64.
- Aslan, I., Warchalowsky, A. y Ozbek, H. 2000. A preliminary review of the subfamily Galerucinae (Coleoptera, Chrysomelidae) in Turkey. *Journal of Entomological Research Society*. 2 (2): 27-42.
- Barror, D. J. y White, R. E. 1970. Peterson field guides. Insects.
- Bateman, P. W., Gilson, L. N. y Ferguson, J. W. H. 2001. Investment in mate guarding may compensate for constraints on ejaculate production in the cricket *Gryllodes sigillatus*. *Ethology* 107: 1087-1098.
- Birkhead, T. R. y Moller, A. P. 1998. Sperm competition and sexual selection. Academic Press.
- Bonduriansky, R. 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*. 72: 305-339.
- Burgos-Solorio, A. y Anaya-Rosales, S. 2004. Los crisomélinos (Coleoptera: Chrysomelidae: Chrysomelinae) del estado de Morelos. *Acta Zoológica Mexicana* 20: 3: 39-66.
- Clark, S. J. 1988. The effects of operational sex ratio and food deprivation on copulation

- duration in the water strider (*Gerris remigis* Say). Behavioral Ecology and Sociobiology. 23: 317-322.
- Cook, D. F. 1994. Influence of temperature on copula duration and mating propensity in *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). Australian Journal of Entomology. 33 (1): 5-8.
- Costa, F. G. y Sotelo R. 1984. Influence of temperature on the copulation duration of *Lycosa malitiosa* Tullgren (Araneae, Lycosidae). The Journal of Arachnology. 12: 273-277.
- Cuatianquiz, C. y Cordero, C. 2006. Experimental manipulation of male behaviour during copulation in *Stenomacra marginella* (Heteroptera: Largidae): effect on copula duration, female remating and oviposition. Behavioural Processes. 73: 222-227.
- Cueva del Castillo, R, Núñez – Farfán, J. y Cano – Santana, Z. 1999. The role of body size in mating success of *Sphenarium purpurascens* in Central Mexico. Ecological Entomology. 24: 146-155.
- Danielsson, I. 1998. Mechanisms of sperm competition in insects. Annales Zoologici Fennici. 35: 241-257.
- Darwin, C. 1871. The descent of man, and selection in relation to sex. John Murray, London.
- Dickinson, J. L. 1986. Prolonged mating in the milkweed leaf beetle *Labidomera clivicollis* (Coleoptera: Chrysomelidae): a test of the “sperm loading” hypothesis. Behavioral Ecology and Sociobiology. 18: 331-338.
- Dickinson, J. L. 1992. Scramble competition polygyny in the milkweed leaf beetle: combat, mobility and the importance of being there. Behavioral Ecology. 3: 32-41.
- Dickinson, J. L. 1997. Multiple mating, sperm competition, and cryptic female choice in the leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). En: Choe, J. y Crespi, B. (eds.), The

- evolution of mating systems in insects and arachnids. Cambridge Univ-Press, Cambridge, pp. 164-183.
- Eberhard, W. G. 1996. Female control: sexual selection by cryptic female choice. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Engqvist, L. y Sauer, K. P. 2003. Determinants of sperm transfer in the scorpionfly *Panorpa cognata*: male variation, female condition and copulation duration. *Journal of Evolutionary Biology*. 16: 1196-1204.
- Friberg, U. 2006. Male perception of female mating status: its effect on copulation duration, sperm defence and female fitness. *Animal Behaviour*. 72: 1259-1268.
- García-González, F. y Gomendio, M. 2004. Adjustment of copula duration and ejaculate size according to the risk of sperm competition in the golden egg bug (*Phyllomorpha laciniata*). *Behavioral Ecology* 15: 1: 23-30.
- Gao, Y. y Kang, L. 2006. Operacional sex ratio and alternative reproductive behaviours in chinese bushcricket, *Gampsocleis gratiosa*. *Ethology*. 112: 325-331
- Jolivet, P. 1999. Sexual behaviour among Chrysomelidae. En: Cox, M. L. (eds.), advances in Chrysomelidae biology. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 391-409.
- Knox, T. T. y Scott, M. P. 2005. Size, operational sex ratio, and mate – guarding success of the carrion beetle, *Necrophila Americana*. *Behavioral Ecology*. 17: 88-96.
- Kotrba, M. 1996. Sperm transfer by spermatophore in Diptera: news results from the Diopsidae. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 117: 305-323.
- Labitte, A. 1919. Observations sur *Rhodocera rhamni*. *Bulletin Museum of Natural History*. Paris. 25: 624-625.
- Lew. A. C. y Ball, H. J. 1979. The mating behavior of the western corn rootworm in

- Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 72: 391-393.
- Macías – Ordóñez, R. y Draud, M. 2005. An optimum estimator of body size to relate to behavioural and physiological parameters in field studies. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. 38 (3): 159-168.
- Martin, P. y Bateson, P. 1993. *Measuring behaviour. An introductory guide*. 2a ed., Cambridge Univ. Press, Cambridge, Inglaterra.
- Parker, G. A.. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*. 45: 525-567.
- Rodríguez, V., Windsor, D. M. y Eberhard, W. G. 2004. Tortoise beetle genitalia and demonstrations of a sexually selected advantage for flagellum length in *Chelymorpha alternans* (Chrysomelidae, Cassidini, Stolinae). En: Jolivet, P., Santiago-Blay, J. A. y Schmitt, M. (eds.), *New developments in the biology of Chrysomelidae*. Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp. 739-748.
- Saeki, Y., Kruse, K. C. y Switzer, P. V. 2005. The social environment affects mate guarding behavior in Japanese beetles, *Popillia japonica*. *Journal of Insect Science*. 5: 18: 1-6.
- Sherwood, D. R. y Levine, E. 1993. Copulation and its duration affect female weight, oviposition, hatching patterns and ovarian development in the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomological Society of America*. 86 (6): 1664-1671.
- Sillén – Tullberg, B. 1981. Prolonged copulation: a male “postcopulatory” strategy in a promiscuous species, *Lygaeus equestris* (Heteroptera: Lygaeidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 9: 283-289.

- Simmons, L. W. y Siva – Jothy, M. J. 1998. Sperm competition in insects: mechanisms and the potential for selection. En Birkhead, T. R. y Moller, P., eds., *Sperm competition and sexual selection*, pp. 341 – 434. Academic Press, London.
- Simmons, L. W. 2001. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. Princeton University Press.
- Shuker, D., Bateson, N., Breitsprecher, H., O'Donovan, R., Taylor, H., Barnard, C., Behnke, J., Collins, S. y Gilbert, F. 2002. Mating behavior, sexual selection, and copulatory courtship in a promiscuous beetle. *Journal of Insect Behavior*. 15 (5): 617-631.
- Takami, Y. 2002. Mating behavior, insemination and sperm transfer in the ground beetle *Carabus insulicola*. *Zoological science*. 19: 1067 – 1073.
- Tallamy, D. W., Powell, B. E. y McClafferty, J. A. 2002. Male traits under cryptic female choice in the spotted cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Behavioral Ecology*. 13 (4): 511-518.
- Tallamy, D. W. 2004. Mate choice after intromission in spotted cucumber beetles. En: Jolivet, P., Santiago-Blay, J. A. y Schmitt, M. (eds.), *New developments in the biology of Chrysomelidae*. Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp. 709-720.
- Thornhill, R. 1983. Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly *Harpobittacus nigriceps*. *American Naturalist*. 122: 765-788.
- Thornhill, R. y Alcock, J. 1983. *The evolution of insect mating systems*. University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Waage, J. K. 1984. Sperm competition and the evolution of odonate mating systems. En: Smith, R. L. (eds.), *Sperm competition and the evolution of animal mating systems*. Academic Press London. pp. 251-290.

Yamane, T. y Miyatake, T. 2007. Strategic ejaculation and level of polyandry in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Ethology. DOI 10.1007/s10164-007-0051-2.