



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

*"Estudios sobre las causas y consecuencias de la tendencia a la monandria
en la mariposa Callophrys xami (Lycaenidae)".*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

PRESENTA:

LIZETH ABUNDIS SANTAMARIA

TUTOR DE TESIS

DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno:
Abundis
Santamaría
Lizeth
Tel. 58420863
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
2. Datos del tutor
Dr.
Carlos Rafael
Cordero
Macedo
3. Datos del sinodal 1
Dra.
Margarita
Martínez
Gómez
4. Datos del sinodal 2
Dra.
María Marcela
Osorio
Beristain
5. Datos del sinodal 3
Dra.
Blanca Estela
Hernández
Baños
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Miguel Ángel
Moreno
García
7. Datos del trabajo escrito.
“Estudios sobre las causas y consecuencias de la tendencia a la monandria en la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae)”.
32 páginas
2006

A mis padres:

Humberto Abundis Escudero†

y Ana Santamaría Jiménez

Agradecimientos

A Mis Padres

Humberto Abundis†:

*Porque desde donde estás me has guiado por el camino de los sueños.
Gracias, por enseñarme el secreto de la vida...*

Ana Santamaría:

*No hay palabras que puedan expresar cuanto te admiro y quiero...
Gracias por darme la vida, y porque con tu amor he logrado ser quien soy.*

A Mis Hermanos

Eli:

*Gracias porque no eres mi hermana, sino mi segunda mamá,
sin tu apoyo y cuidado yo no sería yo, te admiro muchísimo y te quiero más.*

Humberto:

*Ya que a través de tu silencio puedo interpretar el cariño que me has dado siempre,
gracias por ser tú y porque con tu ejemplo sé lo que significa la fortaleza.*

Alejandro:

*Mil gracias por tus sabios consejos, sin ti tal vez no hubiera escrito estas líneas.
No se me olvida cuando dijiste que si estudiaba biología sería pobre, pero que me iba a
divertir mucho, ahora lo he comprobado.*

Edgar:

*Que sería de mí sin tus fastidiosas molestias y tus múltiples apodos, gracias porque sin
saberlo convertiste los momentos difíciles en sonrisas.*

A mis Amigos:

Por orden cronológico:

Neyda Chávez, gracias porque contigo conocí la amistad y ahora es una de las cosas más valiosas y bonitas que tengo; nunca olvidaré que estuviste en los momentos más difíciles de mi vida.

Carolina Granados, porque siempre me has recordado que la dedicación y voluntad son unas armas muy poderosas, gracias por escucharme siempre.

Laura Reyes, para mí eres el ejemplo de la fuerza y valentía, gracias por recordarme que la vida es hermosa, te admiro mucho.

Alejandro Vite *alias* M---i, por ser tan elocuente y por darme todos los ánimos en mis momentos de debilidad, gracias por ser una persona con muchas ilusiones.

Ivone Mora, gracias porque ser tan especial, siempre le has dado un sentido muy diferente a mi vida y ahora más con **Karol**; sobre todo mil gracias por aguantarme todo.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos:

Los cuales han sido una de las partes fundamentales para la realización de este trabajo ya que han contribuido de manera cualitativa y cuantitativa.

No puedo dejar de mencionar, que en particular tengo que agradecer a las personas que no sólo compartieron su tiempo conmigo sino que se convirtieron en algo más:

Ivette Galicia, gracias porque encontré en ti una amiga muy “auténtica”.

Vivian Méndez, gracias por tus consejos y por creer en mí. Sé que tus palabras cambiarán para bien mi camino.

Haydeé Peralta, gracias porque eres una persona con mucha libertad y sobre todo muy espontánea.

Jorge Canales, no te debería de agradecer, pero el que siempre estuvieras ahí para molestarte me ayudó mucho.

Víctor Sánchez, gracias por resolver siempre y en todo momento mis dudas.

Nubia Caballero, deberías de encabezar esta lista porque sin tu tesis la mía de plano no existiría, pero sobre todo muchas gracias por ayudarme con las mariposas y con “algunos” datos.

Alex Córdoba, gracias por creer en mí no solo en el sentido personal sino profesional.

A todos mis **compañeros y profesores de la Facultad de Ciencias**, con los cuales no sólo compartí salones ó pasillos. Y de los cuales no quiero escribir nombres por temor a olvidar alguno.

A mis sinodales, **Margarita Martínez, Miguel Moreno, Blanca Hernández y Marcela Osorio**, por la revisión, sugerencias y comentarios a este trabajo.

Muy en especial a mi tutor de tesis **Carlos Cordero**, por todo tu tiempo, enseñanzas, consejos y paciencia, pero sobretodo muchísimas gracias porque en uno de los momentos más difíciles me aceptaste como tu alumna, gracias por tu confianza.

C0NTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.....	5
HIPÓTESIS Y PREDICCIONES.....	6
METODOLOGÍA.....	7
Especie estudiada	7
Método de crianza.....	7
Apareamientos.....	9
Oviposición.....	9
Método experimental	
1. Efecto de la poliandria sobre algunos componentes	
del éxito reproductivo de las hembras	10
2. Efecto del tamaño del macho en la tasa de degradación	
del eyaculado	12
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN.....	21
APÉNDICE.....	27
LITERATURA CITADA.....	28

RESUMEN

En lepidópteros se ha observado que la mayoría de las hembras son poliándricas debido al valor adaptativo que tiene para la mayoría de especies. Sin embargo, en algunas se observa una fuerte tendencia hacia la monandria. Se pueden plantear al menos dos hipótesis acerca de la evolución de la monandria en lepidópteros: (1) la monandria no es adaptativa para las hembras, lo cual sugiere que es impuesta por adaptaciones de los machos, y (2) la monandria es adaptativa para las hembras cuando la poliandria no brinda ningún beneficio o los costos son muy altos. Estudios realizados en lepidópteros muestran que las hembras recientemente apareadas disminuyen su receptividad sexual durante un periodo de tiempo y que la duración de este periodo refractario está correlacionado positivamente con el tamaño del eyaculado recibido dentro del *corpus bursae* (estructura en forma de bolsa donde los machos depositan el eyaculado durante la cópula), por lo que, a medida que se va degradando el eyaculado, las hembras van recuperando su receptividad sexual.

En este trabajo se abordan dos problemas, uno acerca del posible valor adaptativo de la monandria (experimento 1) y otro que tiene que ver con las causas próximas de la monandria (experimento 2). En el primer estudio de esta tesis se investigó si la tendencia a la monandria es adaptativa para las hembras o si es “impuesta” por los machos contra los intereses de las hembras. En el segundo estudio se investigó experimentalmente si el tamaño del *corpus bursae* también se mantiene constante cuando el eyaculado es “pequeño” debido a que fue producido por un macho pequeño (mal alimentado).

En el primer estudio se compararon varios componentes del éxito reproductivo de hembras que se asignaron a tres tratamientos (1) “Monándricas Forzadas”, (2) “Monándricas Voluntarias”, (3) “Poliándricas”. No se encontraron diferencias significativas entre las hembras de los tres tratamientos en ninguno de los componentes del éxito reproductivo medidos.

En el segundo estudio se evaluó la tasa de degradación del eyaculado (medido por el cambio en el Área del *Corpus bursae*) y del espermátforo (medido por el cambio en el Área del Espermátforo) dentro de las hembras a medida que transcurría el tiempo después del fin de la cópula con machos de tamaño normal y pequeño. El tamaño del eyaculado se mantuvo constante a través del tiempo, tanto en los machos “Normales” como en los machos “Pequeños”, a pesar de que los primeros transfirieron eyaculados significativamente más grandes que los segundos; por el contrario, el tamaño del espermátforo no fue distinto entre machos “Normales” y “Pequeños” pero disminuyó significativamente con el tiempo en ambos casos.

Los resultados del primer experimento sugieren que un solo eyaculado es suficiente para maximizar el éxito reproductivo de las hembras. Esta probable ausencia de beneficios materiales de la poliandria, aunada a los costos asociados a cópulas adicionales (por ejemplo, el gasto de tiempo o los riesgos de depredación) permitiría explicar la tendencia a la monandria de esta especie. Hay al menos dos hipótesis para explicar por qué solo unas pocas hembras aceptaron una segunda cópula. La primera es que estas hembras no recibieron un eyaculado en su primera cópula o que recibieron uno muy pequeño. La segunda hipótesis plantea que durante la etapa larval éstas no acumularon suficientes reservas para maximizar su producción de huevos, por lo que necesitaron complementarlos con los recursos contenidos en un segundo eyaculado.

Los resultados del segundo experimento sugieren que en *C. xami* los machos, independientemente de su tamaño y su experiencia reproductora, son capaces de producir eyaculados que distienden el *corpus bursae* lo suficiente para “apagar” la receptividad sexual de la hembra y que mantienen dicho grado de distensión constante por un periodo mínimo de entre cuatro y nueve días. Esta habilidad es fácil de entender en términos adaptativos si la receptividad de las hembras está controlada por el grado de distensión del *corpus bursae*, como ocurre o se supone en muchas especies de Lepidoptera.

INTRODUCCIÓN

Los patrones de apareamiento femeninos en los lepidópteros varían entre especies; algunas son monándricas (las hembras se aparean una vez en su vida) y otras son poliándricas (las hembras se aparean con más de un macho en su vida). Los estudios empíricos sugieren que la monandria es un patrón de apareamiento poco común en la naturaleza (Burns, 1968; Thornhill y Alcock, 1983; Smith, 1984; Eberhard, 1985, 1996; Birkhead y Møller, 1998; Simmons, 2001). A pesar de que en general las hembras pueden obtener suficientes espermatozoides para fertilizar todos sus huevos en una sola cópula, en lepidópteros se ha observado que la mayoría de las hembras son poliándricas (Ehrlich y Ehrlich, 1978; Drummond, 1984). Lo anterior es difícil de entender si tomamos en cuenta que la poliandria puede tener efectos negativos o costosos para las hembras, tales como el gasto de energía y tiempo durante la cópula; el incremento en el riesgo de depredación, debido a la reducción en la movilidad; la reducción de la fertilidad debido a la acción acumulativa de algunos compuestos seminales; la transferencia de sustancias tóxicas durante la cópula y la transmisión de enfermedades o parásitos durante el apareamiento (revisiones en: Thornhill y Alcock, 1983; Drummond, 1984; Choe y Crespi, 1997; Mc Neil *et al.*, 1997; Jennions y Petri, 2000; Arnqvist y Nilsson, 2000). Sin embargo, también puede brindar beneficios importantes que se pueden dividir en “directos” e “indirectos”. Entre los beneficios directos (también llamados “beneficios materiales”) se encuentran, la transferencia de sustancias nutricionales contenidas en el eyaculado (= esperma + espermátforo + sustancias adicionales) durante la cópula (Thornhill y Alcock, 1983; Rutowski *et al.*, 1987; Kaitala y Wiklund, 1994), el incremento en la producción de progenie, la fertilidad, la longevidad, el cuidado paternal y la protección contra enemigos naturales brindada por los machos (Opp y Prokopy, 1986; Tregenza y Wedell 1998, Torres-Vila *et al.*, 2004). La magnitud de estos beneficios para las hembras depende de las condiciones en que ellas se encuentran (Arnqvist y Nilsson, 2000), del tamaño del espermátforo recibido (Rutowski *et al.*, 1987) y de la calidad del macho. Estos tres factores están determinados en gran medida por la cantidad de recursos adquiridos durante la etapa larval (Karlsson y Wickman, 1990; Boggs, 1992; Karlsson, 1995).

Los beneficios indirectos (también llamados “beneficios genéticos”) posibles incluyen un incremento en la probabilidad de obtener genes de buena calidad para sus hijos (mediante competencia espermática o elección críptica) o evitar la incompatibilidad genética (Thornhill y Alcock, 1983; Drummond 1984; Arnqvist y Nilsson 2000; Jennions y Petri, 2000; Zeh y Zeh, 2001; Torres Vila *et al.*, 2004).

Lo anterior sugiere que en los lepidópteros la poliandria es la regla debido al valor adaptativo que tiene para las hembras de la mayoría de especies. Sin embargo, existen excepciones y en algunas especies se observa una fuerte tendencia hacia la monandria (Wiklund, 1977; Drummond, 1984; Svard y Wiklund, 1986). Se pueden plantear al menos dos hipótesis acerca de la evolución de la monandria en lepidópteros: (1) la monandria no es adaptativa para las hembras, lo cual sugiere que es impuesta por adaptaciones de los machos, y (2) la monandria es adaptativa para las hembras debido a que la poliandria no brinda ningún beneficio (es decir un incremento en los componentes de adecuación) o los costos son muy altos (Cordero, 1998; Caballero, 2004). La primera explicación sugiere que la monandria es resultado de adaptaciones sexualmente antagonistas de los machos (Holland y Rice, 1998) que les brindan una ventaja al reducir el riesgo de competencia espermática derivada de subsecuentes apareamientos, pero que le imponen un costo a la hembra al impedirle o reducirle la posibilidad de obtener los beneficios de la poliandria (Caballero, 2004; Sánchez, 2004; Cordero, 2005). La segunda explicación sugiere que la monandria es adaptativa para las hembras porque la poliandria es desventajosa.

Los estudios sobre los mecanismos próximos responsables de la regulación de la receptividad sexual de las hembras apareadas de lepidoptera permiten especular acerca de la naturaleza de las adaptaciones consideradas en las dos hipótesis anteriores. Los principales mecanismos que se han identificado fueron revisados por Wedell (2005), (ver **Apendice 1**). En el presente trabajo se enfatiza uno de los mecanismos que parece aplicarse en la mayor parte de las especies (Drummond, 1984; Wedell, 2005), sin dejar de reconocer que otros factores podrían actuar conjuntamente y que, incluso en algunas especies, pudieran ser otros los mecanismos responsables del control de la receptividad sexual de las hembras previamente apareadas. Estudios realizados en lepidópteros muestran que las hembras recientemente apareadas disminuyen su receptividad sexual durante un periodo de

tiempo y que la duración de este periodo refractario está correlacionada positivamente con el tamaño del eyaculado recibido dentro del *corpus bursae* (estructura femenina en forma de bolsa donde los machos depositan el eyaculado durante la cópula; **Fig. 1**); (Sugawara, 1979; Drummond, 1984; Oberhauser 1988, 1989, 1992; He y Tsubaki, 1991; Wiklund y Kaitala, 1995; Bissoondath y Wiklund, 1997; Torres-Vila *et al.*, 1997; Wedell y Cook, 1999) por lo que, a medida que se va degradando el eyaculado, las hembras van recuperando su receptividad sexual. Las investigaciones realizadas sugieren que las presiones mecánicas que ejerce el espermátforo sobre los receptores de distensión del *corpus bursae* son la fase inicial de un circuito nervioso que afecta a la receptividad sexual de la hembra (Sugawara, 1979; Drummond, 1984). Sugawara (1979) demostró que la receptividad sexual de las hembras es inversamente proporcional al grado de distensión del *corpus bursae* al mostrar que las hembras vírgenes de *Pieris rapae*, a las que se les inyectó un mayor volumen de aceite de silicón en su *corpus bursae*, fueron menos receptivas que las hembras que recibieron una menor cantidad. Por otra parte, la producción de eyaculados por parte de los machos es muy costosa fisiológicamente (ver revisiones en Drummond, 1984; Cordero, 2000), por lo que se espera que los machos de tamaño pequeño debido a la limitación de recursos produzcan eyaculados de menor tamaño que los machos más grandes.

Esta tesis forma parte de un proyecto más amplio cuyo objetivo general es entender las causas próximas y últimas (*sensu* Tinbergen) de la tendencia a la monandria de la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae). Conteos de restos de espermátforos en hembras recolectadas en el campo muestran que las hembras copulan en promedio 1.37 ± 0.6 veces (Cordero, 1999). Además, un estudio hecho en cautiverio mostró que las hembras pierden su receptividad sexual después de su primera cópula y que sólo una muy baja proporción de ellas (12.1%) acepta copular por segunda vez (Caballero, 2004). En este trabajo se abordan dos problemas, uno acerca del posible valor adaptativo de la monandria (experimento 1) y otro relacionado con las causas próximas de la monandria (experimento 2). En el primer estudio de esta tesis se investigó si la tendencia a la monandria es adaptativa para las hembras o si es “impuesta” por los machos contra los intereses de las hembras. Caballero (2004) estudió los patrones temporales de degradación de los eyaculados y su relación con

la receptividad sexual de las hembras de *Callophrys xami* y encontró que el volumen del *corpus bursae* (una medida del grado de distensión del *corpus bursae*, el cual depende de la cantidad de eyaculado transferido por el macho) se mantiene constante aunque los espermatozoides se degradan y disminuyen su tamaño a medida que pasa el tiempo después de la primera cópula. Este resultado es muy interesante ya que los estudios con otras especies siempre han mostrado una disminución en el volumen del *corpus bursae* a medida que pasa el tiempo post-cópula. Otra cosa sorprendente fue que el patrón observado es independiente del peso del eyaculado, ya que el volumen del *corpus bursae* se mantuvo constante tanto en hembras que copularon con machos vírgenes como en aquellas que copularon con machos recientemente apareados (Caballero, 2004), a pesar de que estos últimos producen eyaculados menos pesados (Cordero, 1998). Debido a que el volumen del eyaculado también se ve afectado por el tamaño del macho en *C. xami* (existe una correlación positiva entre ambas variables; Cordero, 1998), en el segundo estudio de esta tesis se investigó experimentalmente si el tamaño del *corpus bursae* también se mantiene constante cuando el eyaculado es “pequeño” debido a que fue producido por un macho pequeño (mal alimentado).

OBJETIVOS

1. Evaluar si las hembras de *Callophrys xami* que copulan dos veces con distintos machos vírgenes tienen mayor éxito reproductivo que las que copulan una sola vez.
2. Determinar si los machos “pequeños” de *Callophrys xami* producen eyaculados más pequeños y con una menor capacidad para mantener constante la distensión del *corpus bursae* de las hembras que los machos de tamaño “normal”.

Estudios sobre las causas y consecuencias...

HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

Objetivo 1

Hipótesis

Las hembras de la mayoría de los lepidópteros obtienen beneficios directos contenidos en el eyaculado por aparearse múltiples veces.

Predicciones

- 1.1 Las hembras que copulen dos veces con machos distintos tendrán mayor éxito reproductivo (es decir, valores más altos de los componentes de adecuación) que las hembras a las que se les permitió copular una sola vez.

Objetivo 2

Hipótesis

La competencia espermática ha seleccionado en los lepidópteros machos la capacidad de producir eyaculados que mantienen suficientemente distendido el *corpus bursae* el mayor tiempo posible y, en consecuencia, prolongan el periodo de disminución de receptividad sexual post-cópula de las hembras; tanto esta capacidad como el tamaño de los eyaculados debe depender directamente del tamaño de los machos.

Predicciones

- 2.1 En una especie con una fuerte tendencia a la monandria como *Callophrys xami*, los machos transferirán eyaculados que distienden y mantienen constante el volumen del *corpus bursae* durante un periodo cercano a la duración de la vida reproductiva de una hembra.
- 2.2 El tamaño de los eyaculados (y, por lo tanto, el grado de distensión del *corpus bursae*) y la capacidad de los mismos para mantener constante el volumen del *corpus bursae* son resultado de procesos costosos para los machos, por lo que habrá una relación positiva entre estas dos variables y el tamaño de los machos.

METODOLOGÍA

Especie estudiada

Callophrys xami Reakirt (Lepidoptera:Lycaenidae) (**Fig. 2**) generalmente se encuentra en zonas secas y rocosas que van desde Arizona hasta el sur de México (Beutelspacher, 1980; Pyle, 1981). Su ciclo de vida dura entre 40 y 50 días, y está dividido en: huevo, cuatro estadios larvares, pre-pupa, pupa y adulto (Parlange, 1991). Las duraciones de cada uno de los estadios varían según la época del año (Benrey, *et al.*, 1994). La duración promedio del estadio de huevo dura 8 días, larva de primer estadio 5 días, larva de segundo estadio 4 días, larva de tercer estadio 5 días, larva de cuarto estadio 12 días, la fase de pupa puede durar de 15 a 30 días y el adulto hasta 45 días en laboratorio (Jiménez, 1987; Parlange, 1991). Entre octubre y enero se presenta la mayor abundancia de adultos, aunque se les puede encontrar durante todo el año. Las hembras adultas ovipositan preferente sobre las flores y hojas de las plantas de la familia Crassulaceae, (Soberón *et al.*, 1988), siendo *Echeveria gibbiflora* su principal planta de alimentación en el Pedregal de San Ángel.

Los machos de *C. xami* defienden territorios con la finalidad de conseguir hembras, los machos presentan un sistema de apareamiento poligínico (Cordero y Soberón, 1990); el número máximo de apareamientos de un solo macho registrado en el campo es de cuatro (Cordero *et al.*, 2000). Las hembras tienden a ser monándricas: un estudio de campo muestra que copulan en promedio 1.37 ± 0.6 veces, (Cordero, 1999). Además un estudio hecho en cautiverio mostró que las hembras pierden su receptividad sexual después de su primera cópula y que sólo una baja proporción de ellas (12.1%) acepta copular por segunda vez (Caballero, 2004).

Método de crianza

Durante los meses de abril del 2004 a marzo del 2005 se estableció un cultivo en el insectario del Instituto de Ecología de la UNAM. La colecta de huevos, larvas y hembras adultas de *C. xami*, así como de hojas de *Echeveria gibbiflora*, se realizó en la zona de exhibición del Jardín Botánico exterior de la UNAM y en la Reserva Ecológica del



Figura 1. Fotografía del *corpus bursae* y el espermatóforo transferido a una hembra de *Callophrys xami*.



Figura 2. Macho adulto de *Callophrys xami*.

Pedregal de San Ángel. La técnica de cultivo que se siguió fue la propuesta por Jiménez (1987), Jiménez y Soberón (1988-89) y Parlange (1991).

Los huevos y larvas de *C. xami* se criaron individualmente sobre pedazos de hojas de *E. gibbiflora*, dentro de cajas de Petri que tenían el fondo cubierto por papel secante el cual se mantenía húmedo. Las cajas se revisaron diariamente o cada tercer día, dependiendo del grado de desarrollo de las larvas. Para cada individuo se registraron las fechas de oviposición, emergencia de la larva, transformación a pupa y emergencia del adulto. Un día después de haber emergido el adulto y eliminado el meconio (sustancia rosa excretada por el ano durante las primeras horas de vida como adulto), se le marcó en las alas con un plumón de tinta indeleble marca *Sakura* modelo *IDentipen*; se le midió el largo del ala anterior, desde el punto que se une con el cuerpo hasta la parte más distal, con un vernier marca *Mitutoyo*, y se le pesó en una balanza analítica marca *Scientech*. Los adultos se separaron por sexo y se colocaron en cajas de armazón de madera (descritas en Jiménez y Soberón, 1988-89), se alimentaron “a mano” diariamente con una solución de agua con azúcar al 10% embebida en un pequeño pedazo de esponja. El cultivo se mantuvo con un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad, a temperatura ambiente.

Apareamientos

Los adultos de ambos sexos, se colocaron dentro de jaulas de apareamiento hechas de tela de malla de 48 cm. de alto y 24 cm. de diámetro (Jiménez y Soberón, 1988-89). Estas jaulas fueron colgadas en días soleados, entre las 11AM y las 16 PM (horas en las que se han observado apareamientos en el campo), al aire libre en los jardines del Instituto de Ecología. Se registró la hora de inicio y fin de cada cópula. Los adultos que no se aparearon en un día particular, se alimentaron y se les intentó aparear nuevamente en días posteriores.

Oviposición

Una vez apareadas, las hembras fueron puestas a ovipositar individualmente dentro de botes blancos translúcidos (14 cm. de alto x 11cm de diámetro) que contenían una hoja de *E. gibbiflora* y cuya tapa tenía una abertura cubierta con tela de malla. Estos recipientes

se colocaron aproximadamente 15 cm. por debajo de un foco de 125 W. Los huevos puestos dentro del bote fueron contados, y pesados.

Método experimental

1. Efecto de la poliandria sobre algunos componentes del éxito reproductivo de las hembras

En este experimento se compararon varios componentes del éxito reproductivo de hembras monándricas y poliándricas. Para lo cual se aparearon por primera vez hembras vírgenes con machos vírgenes. Estas hembras se dividieron en tres grupos que se asignaron a cada uno de los siguientes tratamientos: (1) “Monándricas Forzadas”, constituido por hembras a las que no se les dio oportunidad de aparearse nuevamente; (2) “Monándricas Voluntarias”, constituido por hembras a las que se les dio la oportunidad de aparearse nuevamente pero no lo hicieron (después de darles al menos tres oportunidades con machos vírgenes distintos), y (3) “Poliándricas”, constituido por hembras que se aparearon por segunda vez con el primero o segundo macho que se le dio la oportunidad. Las hembras que se intentaron aparear por segunda ocasión (tratamientos 2 y 3) se pusieron con machos vírgenes durante un máximo de tres días consecutivos después de su primera cópula. La inclusión del tratamiento 2 se debió a que de acuerdo con estudios previos (Cordero, datos no publicados; Caballero 2004), en el laboratorio una gran proporción de las hembras no copulan por segunda ocasión aunque se les den varias oportunidades. Las hembras pertenecientes al grupo “Monándricas Voluntarias” podrían brindar información relacionada con nuestra hipótesis, ya que podrían haber sido hembras incapaces de superar las “barreras” impuestas por los machos, en cuyo caso esperaríamos que tuvieran menor éxito reproductivo que las poliándricas (probablemente igual que el de las “Monándricas Forzadas”), o podrían haber sido hembras que no requerían de una segunda cópula para incrementar su éxito reproductivo (por ejemplo, si acumularon suficientes reservas durante la etapa larval para producir el máximo número de descendientes), en cuyo caso esperaríamos que tuvieran al menos igual éxito reproductivo que las poliándricas y mayor que el de las “Monándricas Forzadas”.

Cada que se logró que una hembra se apareara por segunda ocasión, se asignaron al experimento dos hembras de tamaño, edad y fecha de la primera cópula similares a las de la apareada, una del grupo de hembras a las que no se les dio oportunidad de volverse a aparear (“Monándricas Forzadas”) y otra del grupo de hembras que no se aparearon por segunda ocasión a pesar de que se le dio oportunidad (“Monándricas Voluntarias”). Es decir que nuestro diseño experimental fue del tipo de k muestras igualadas ($k = 3$; Siegel 1994).

Un día después de su primera cópula, las hembras de cada uno de los tres grupos experimentales se alimentaron por la mañana, posteriormente, se pusieron a ovipositar por un periodo de 90 minutos; el total de huevos acumulados durante los primeros tres días de oviposición, fueron contados y pesados en una balanza analítica marca *Scientech* y posteriormente fueron puestos individualmente en cajas de petri, y se registró para cada uno el tiempo que tarda en eclosionar la larva, se transforma en pupa y emerge el adulto. Se registraron únicamente los tres primeros días de oviposición debido a que en estudios anteriores (Cordero, 1998; Parlange, 1991) se ha observado que es el periodo donde las hembras ponen el mayor número de huevos.

Se evaluaron para cada una de las hembras las siguientes variables: (a) longevidad de la hembra; (b) número de huevos totales puestos; (c) peso acumulado de los huevos; (d) porcentaje de eclosión de los huevos; (e) mediana de la duración del periodo que va de la fecha de puesta del huevo a la fecha de eclosión de larva; (f) mediana de la duración del periodo que va de la fecha de eclosión de la larva a la fecha en que se convirtió en pupa; (g) mediana de la duración del periodo que va de la fecha en que se convirtió en pupa a la fecha en que emergió el adulto; (h) mediana de la longitud del ala de los descendientes, e (i) mediana del peso de los descendientes adultos.

Los datos de este experimento fueron analizados mediante Análisis de Varianza no paramétricos de dos Clasificaciones por Rangos de Friedman, en los que se compararon cada una de las variables de respuesta mencionadas anteriormente, entre cada uno de los tres grupos experimentales.

2. Efecto del tamaño del macho en la tasa de degradación del eyaculado

En este experimento se evaluó la tasa de degradación del eyaculado (medido por el cambio en el área del *corpus bursae*) y del espermátforo (medido por el cambio en el área del espermátforo) dentro de las hembras a medida que transcurría el tiempo después del fin de la cópula con machos de diferente tamaño.

Para realizar este experimento se obtuvieron dos tipos de adultos que se asignaron (según la cantidad de alimento que recibieron durante su fase larvaria), a los siguientes tratamientos: (1) “Machos Normales”, constituido por adultos que se alimentaron *ad libitum*, y (2) “Machos Pequeños”, constituido por adultos a los que se les retiró el alimento aproximadamente seis días antes de finalizar el cuarto estadio larval (Parlange, 1991). Todas las hembras utilizadas en este estudio eran vírgenes “Normales” antes del apareamiento, mientras que los machos eran vírgenes “Normales” o “Pequeños”.

Para evaluar el grado de degradación de los eyaculados, se colocaron individualmente hembras vírgenes de tamaño normal en jaulas de apareamiento que contenían machos vírgenes (“Normales” o “Pequeños”, según el tratamiento). Después de la cópula, las hembras se extrajeron de la jaula y se colocaron dentro de botes para que ovipositaran en distintos periodos de tiempo antes de ser sacrificadas; los huevos puestos por cada hembra fueron contados. Los periodos de oviposición que se utilizaron en este experimento fueron establecidos de acuerdo con los resultados de Caballero (2004). Posteriormente las hembras fueron sacrificadas por congelación a -20° C en diferentes intervalos de tiempo después de la cópula; se les diseccionó en solución salina para extraer el *corpus bursae* (CB) bajo un microscopio estereoscópico Olympus S2X7. Al periodo de tiempo transcurrido entre el fin de la cópula y el sacrificio de las hembras se le denominó, “Tiempo Post-cópula”. En el **Cuadro 1** se muestran los periodos de oviposición y los tamaños de muestra del experimento.

Los CB se colocaron sobre un portaobjetos (marcado con una rejilla de 1 mm.), y fueron fotografiados con una cámara digital Olympus modelo C5050 montada en el ocular del microscopio; las fotos fueron tomadas con un aumento 30x. Posteriormente, se abrió el CB y se extrajo el espermátforo, el cual fue fotografiado al mismo aumento. Los espermátforos se preservaron en tubos eppendorf con solución salina. Se midieron las

áreas (mm^2) ocupadas por el *corpus bursae* y el espermátforo en las fotografías digitales con ayuda del programa *Image Tool 3.0*.

Los datos de este experimento fueron analizados mediante Análisis de Varianza paramétricos (ANDEVAs), en los que se compararon las variables: duración de la cópula, número de huevos, área cubierta por el *corpus bursae* (*ACB*) y área cubierta por el espermátforo (*AE*), tomando como fuentes de variación el “Tamaño del Macho” y “Tiempo Post-cópula”.

Cuadro1. Lapsos de tiempo transcurridos entre el fin de la cópula y el periodo de congelación de las hembras (Tiempo post-cópula), periodos de oviposición para cada una de las hembras, y número de hembras a las que se les midió el área del *corpus bursae* (*CB*) y el área del espermátforo (*SF*).

		Tamaño de Muestra			
Tiempo post-cópula (min.)	Tiempo de oviposición (min.)	Tamaño del Macho			
		Normal	Pequeño	<i>CB</i>	<i>SF</i>
15	10	6	6	4	4
480	90	5	5	4	5
2880	180	5	5	5	5
5760	360	5	5	5	5

RESULTADOS

1. Efecto de la poliandria sobre algunos componentes del éxito reproductivo de las hembras

En comparación con estudios previos (Cordero, 1998), el porcentaje de hembras vírgenes que aceptó aparearse fue muy bajo, ya que sólo el 53.2% de las 526 hembras

vírgenes (a las que se les dio oportunidad de aparearse entre junio del 2004 y marzo del 2005) lograron copular. Es probable que el estado del tiempo haya influido debido a que durante el periodo de estudio hubo muchos días nublados, fríos y lluviosos, condiciones bajo las cuales esta especie no se aparea. Se aparearon 280 hembras vírgenes, a 120 (42.9%) de las cuales se les dio oportunidad de aparearse por segunda vez durante un periodo máximo de tres días consecutivos después de su primera cópula. Sólo seis hembras (5% de las que tuvieron oportunidad de volverse a aparear) copularon por segunda ocasión. El porcentaje observado en el presente trabajo no es significativamente menor ($\chi^2 = 3.1$, $gl = 1$, $P = 0.078$) al encontrado en el estudio de Caballero (2004), quien obtuvo un porcentaje de re-apareamiento de 12.1% (8 de 66 hembras), aunque puede considerarse marginalmente significativo. Cuatro de las seis hembras se aparearon por segunda ocasión un día después de su primera cópula y las otras dos, dos días después. Este resultado es similar a lo observado por Caballero (2004), quien encontró que seis de las ocho hembras que copularon dos veces lo hicieron en los primeros dos días después de su primera cópula (las otras dos se aparearon por segunda ocasión cinco y seis días después de la primera).

A tres de las seis hembras que copularon dos veces se les inspeccionó el *corpus bursae* después de que murieron de manera natural y se encontró que dos de ellas tenían los *collum* de cada uno de los dos espermatozoides que fueron transferidos (el espermatozoides está formado por un tubo quitinoso denominado *collum* que permanece a pesar de que el resto del espermatozoides ya se ha degradado) (**Fig. 3a**) y en la otra sólo se encontró evidencia de uno (**Fig. 3b**), lo que indica que en esta última alguna de las dos cópulas no resultó en transferencia de espermatozoides. Es probable que la primera cópula de esta última hembra haya fracasado la transferencia de espermatozoides, ya que su duración fue muy corta—12 min—en comparación con la de la segunda que fue de 39 min, muy parecida al

Lizeth Abundis Santamaría

promedio de las cópulas de esta especie que es de alrededor de 30 min (Cordero, 2002). Sin embargo se encontró que otra de las hembras que fue inspeccionada y que sí tenía dos espermatozoides la duración de la primera cópula también fue de muy corta duración 10 min. De las tres hembras poliándricas restantes a las que no se les inspeccionó el *corpus bursae*, sólo una de ellas tuvo una primera cópula de muy larga duración 148 min., lo cual está fuera del promedio normal de duración de cópula en *C. xami*.

Las hembras de los distintos tratamientos no difirieron en peso al nacer, edad a la primera cópula, ni en duración de la primera cópula (peso: $\chi^2 = 0.00$, $gl = 2$, $P = 1.0$; edad a la primera cópula: $\chi^2 = 0.10$, $gl = 2$, $P = 0.95$; duración de la primera cópula: $\chi^2 = 2.33$, $gl = 2$, $P = 0.31$). La comparación del peso y el largo del ala del primer macho que se apareo con las hembras de cada uno de los tratamientos tampoco mostró diferencias significativas entre ellas (todas las $P > 0.81$).

No se encontraron diferencias significativas entre las hembras de los tres tratamientos (“Monándricas Forzadas”, “Monándricas Voluntarias” y “Poliándricas”) en ninguno de los componentes del éxito reproductivo medidos: (a) longevidad de la hembra ($\chi^2 = 4.33$, $gl = 2$, $P = 0.11$); (b) número de huevos totales ($\chi^2 = 3.74$, $gl = 2$, $P = 0.15$); (c) peso acumulado de los huevos ($\chi^2 = 2.33$, $gl = 2$, $P = 0.31$); (d) porcentaje de eclosión de los huevos ($\chi^2 = 2.33$, $gl = 2$, $P = 0.31$); (e) mediana de la duración del periodo que va de la fecha de puesta del huevo a la fecha de eclosión de la larva ($\chi^2 = 2$, $gl = 2$, $P = 0.37$); (f) mediana de la duración del periodo que va de la fecha de eclosión de la larva a la fecha en que se convirtió en pupa ($\chi^2 = 1.73$, $gl = 2$, $P = 0.42$); (g) mediana de la duración del periodo que va de la fecha en que se convirtió en pupa a la fecha en que emergió el adulto ($\chi^2 = 2.6$, $gl = 2$, $P = 0.27$); (h) mediana de la longitud del ala de los descendientes ($\chi^2 = 0.93$, $gl = 2$, $P = 0.63$), e (i) mediana del peso de los descendientes adultos ($\chi^2 = 0.5$, $gl = 2$, $P = 0.78$). Para la comparación de las variables (e), (f), (g), (h) e (i) sólo se consideraron los huevos puestos durante los tres primeros días de oviposición (ver Metodología).

2. Efecto del tamaño del macho en la tasa de degradación del eyaculado

Mediante un ANDEVA de dos factores se compararon las duraciones de cópula y no se encontraron diferencias en el “Tamaño del Macho” ($F = 0.45$, $gl = 1$, $P = 0.51$) y “Tiempo Post-cópula” ($F = 1.81$, $gl = 3$, $P = 0.16$), ni en su interacción ($F = 0.42$, $gl = 3$, $P = 0.74$). No se encontraron diferencias en el peso y largo del ala de hembras y machos entre las cópulas correspondientes a los diferentes niveles del factor “Tiempo Post-cópula”

cuando se analizaron conjuntamente los dos niveles del factor “Tamaño del Macho” ($F_{3,37} < 0.79$, $P > 0.51$), ni cuando se analizaron por separado (“Normales”: $F_{3,17} < 1.19$, $P > 0.34$; “Pequeños”: $F_{3,16} < 1.35$, $P > 0.29$). (Esto significa que no se encontró la relación positiva fortuita entre el peso del macho y los niveles del factor “Tiempo Post-cópula” reportada por Caballero [2004]). Mediante una prueba de t se compararon el peso y largo del ala de las hembras de los dos tratamientos del factor “Tamaño del Macho”, las hembras que se aparearon con “Machos Pequeños” fueron menos pesadas que las hembras que se aparearon con “Machos Normales” ($t = -2.42$, $gl = 1$, $P = 0.0201$); por el contrario el largo del ala de las hembras no mostró diferencia significativa ($t = -1.59$, $gl = 1$, $P = 0.1206$). El número de huevos puestos no fue afectado por el “Tamaño del Macho” ($F = 0.23$, $gl = 1$, $P = 0.63$, **Fig. 4**), pero si por el tiempo que se les permitió oviponer ($F = 12.23$, $gl = 3$, $P = 0.000017$, **Fig. 4**); la interacción entre estos dos factores tampoco fue significativa ($F = 0.13$, $gl = 3$, $P = 0.94$, **Fig. 4**).

Mediante ANDEVAs de dos factores se analizó el efecto del “Tamaño del Macho” y el “Tiempo Post-cópula” sobre la tasa de degradación del eyaculado (medida por el cambio en el área del *corpus bursae*) y del espermátforo (medido por el cambio en el área del espermátforo). Como se esperaba de acuerdo con la predicción 2.1, el tamaño del eyaculado se mantuvo constante a través del tiempo ($F = 2.29$, $gl = 3$, $P = 0.1$, **Fig. 5**). Sin embargo, a diferencia de lo esperado de acuerdo con la predicción 2.2, el tamaño del eyaculado se mantuvo constante tanto en los machos “Normales” (corroborando el resultado encontrado por Caballero [2004]) como en los machos “Pequeños”, a pesar de que los primeros transfirieron eyaculados significativamente más grandes que los segundos ($F = 27.78$, $gl = 1$, $P = 0.00001$, **Fig. 5**) como se esperaba de acuerdo con la predicción 2.2; por el contrario, el tamaño del espermátforo no fue distinto entre machos “Normales” y

“Pequeños” ($F = 0.63$, $gl = 1$, $P = 0.44$, **Fig. 6**), pero disminuyó significativamente con el tiempo en ambos casos ($F = 23.86$, $gl = 3$, $P < 0.000001$, **Fig. 6**), corroborando en el caso de los machos “Normales” el resultado encontrado por Caballero (2004) y ampliándolo a los machos “Pequeños”.

La predicción 2.1 plantea que el periodo de tiempo durante el cual se mantendrá distendido el *corpus bursae* debe de ser cercano a la duración de la vida reproductiva de la hembra (es decir, el periodo en el cual ellas ponen la mayor parte de sus huevos). Para evaluar esta parte de la predicción se estimó el porcentaje del total de huevos puestos durante los primeros cuatro días por las hembras de los tratamientos “Monógamas Voluntarias” y “Monógamas Forzadas” del experimento 1, ya que este periodo corresponde al tiempo mínimo durante el cual el área del *corpus bursae* se mantiene constante (recuérdese que no se evaluó el tamaño del *corpus bursae* más allá de cuatro días después de la cópula). Durante los cuatro días posteriores a la cópula las hembras pusieron entre el 19.8 y el 69.5% del total de sus huevos, con un promedio de 42.5% (Intervalo de confianza al 95%: 35—49.8%, $N = 16$). Caballero (2004) diseccionó hembras apareadas con machos de tamaño “normal” hasta nueve días después de la cópula y también encontró que el volumen del *corpus bursae* se mantenía constante durante todo el periodo. Si este mismo patrón ocurre en los machos de tamaño normal de nuestro experimento, las hembras “Monógamas Voluntarias” y “Monógamas Forzadas” del experimento 1 pusieron durante los nueve días posteriores a la cópula entre el 46.1 y el 100% del total de sus huevos, con un promedio de 83.6% (Intervalo de confianza al 95%: 73—93%, $N = 16$).

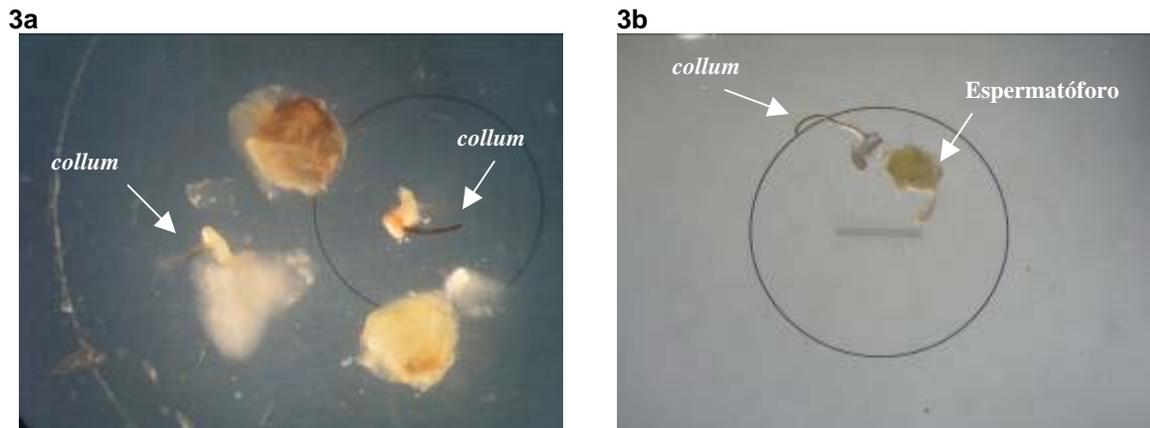


Figura 3. Fotos del espermatóforo en hembras que copularon dos veces. En la **Fig. 3a** se muestran los *collum* de cada uno de los dos espermatóforos que fueron transferidos a la hembra. En la **Fig. 3b** se observa sólo el *collum* de un espermatóforo.

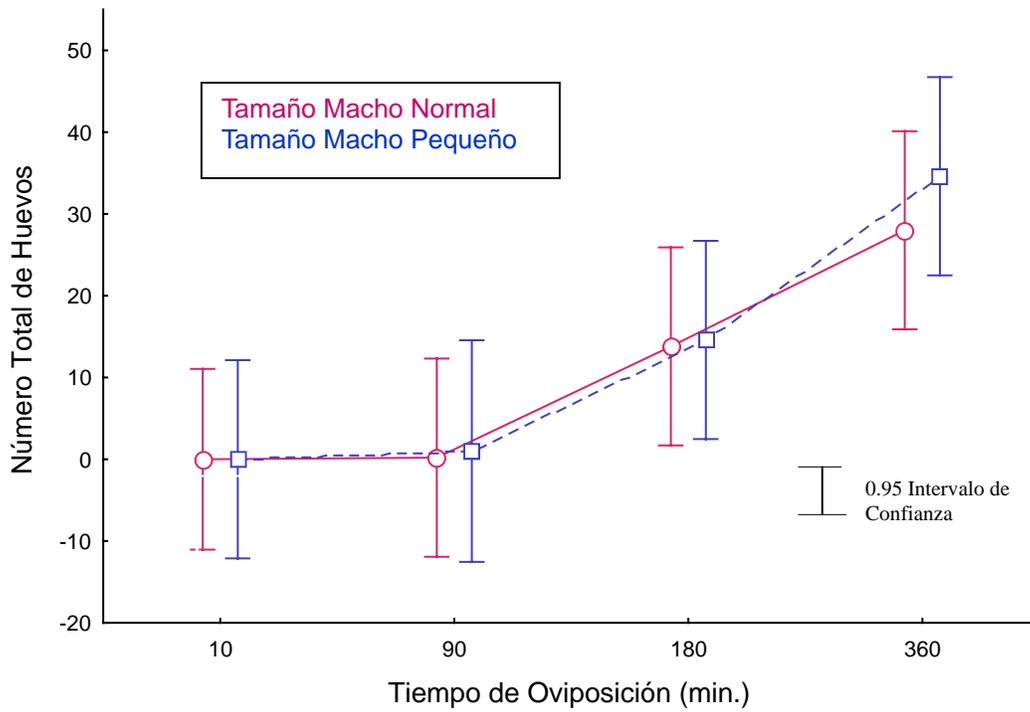


Figura 4. Efecto del “Tamaño del Macho” y el Tiempo de Oviposición, sobre el número total de huevos. El número de huevos no fue afectado por el “Tamaño del Macho”, ($F = 0.23$, $gl = 1$, $P = 0.63$), pero sí por el tiempo que se les permitió oviponer ($F = 12.23$, $gl = 3$, $P = 0.000017$); la interacción entre estos dos factores no fue significativa ($F = 0.13$, $gl = 3$, $P = 0.94$).

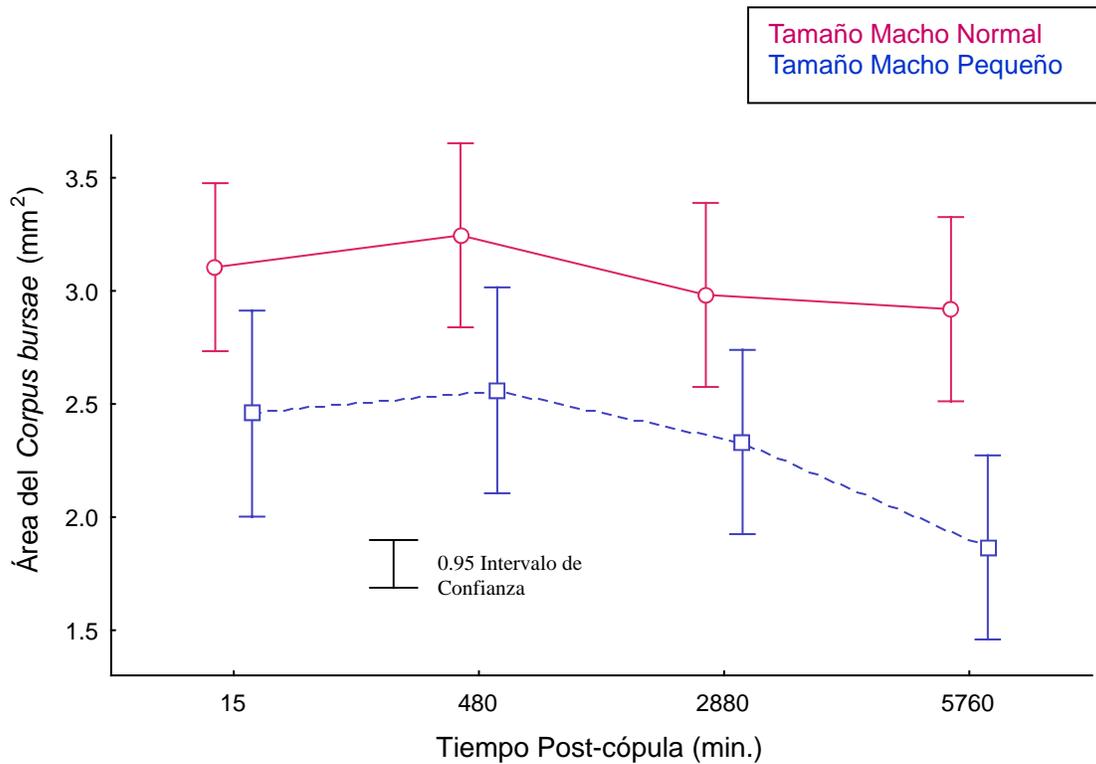


Figura 5. Efecto del Tamaño del Macho y el Tiempo Post-cópula, sobre el área del *corpus bursae*. El tamaño del eyaculado se mantuvo constante a través del tiempo ($F = 2.29$, $gl = 3$, $P = 0.1$) tanto en los machos "Normales" como en los machos "Pequeños". Sin embargo los machos de tamaño "Normal" transfirieron eyaculados significativamente más grandes que los de tamaño "Pequeño" ($F = 27.78$, $gl = 1$, $P = 0.00001$).

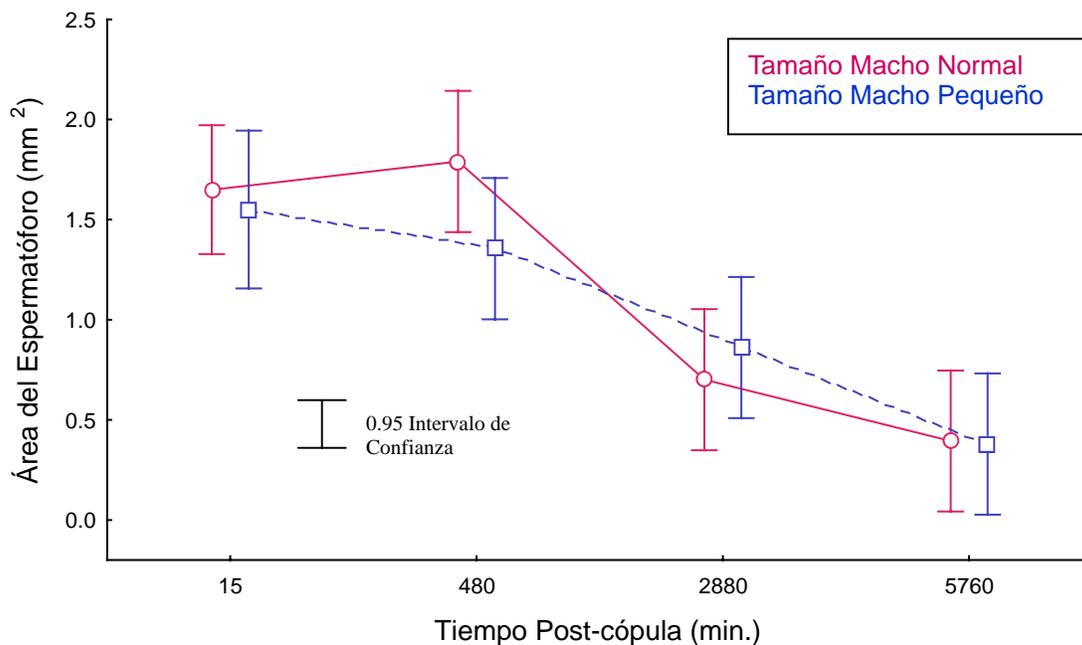


Figura 6. Efecto del Tamaño del Macho y el Tiempo Post-cópula, sobre el área del espermatóforo. El tamaño del espermatóforo no fue distinto en machos de tamaño "Normal" y "Pequeño" ($F = 0.63$, $gl = 1$, $P = 0.44$), pero disminuyó significativamente en ambos casos conforme transcurría el tiempo ($F = 23.86$, $gl = 3$, $P < 0.000001$).

DISCUSIÓN

1. Efecto de la poliandria sobre algunos componentes del éxito reproductivo de las hembras

En contraste con la predicción 1.1 (Las hembras que copulen dos veces con machos distintos tendrán mayor éxito reproductivo que las hembras a las que se les permitió copular una sola vez), los resultados del primer experimento muestran que las hembras que copularon dos veces con machos distintos no obtuvieron mayor éxito reproductivo que aquellas que solo copularon una vez, lo cual sugiere que un solo eyaculado es suficiente para maximizar el éxito reproductivo de las hembras. Esta probable ausencia de beneficios materiales de la poliandria, aunada a los posibles costos asociados a cópulas adicionales (por ejemplo, el gasto de tiempo o los riesgos de depredación) permitiría explicar la tendencia a la monandria de esta especie. Sin embargo, debido al pequeño tamaño de muestra del experimento, estos resultados deben ser considerados tentativos.

Solamente el 5% de las hembras apareadas que tuvieron oportunidad de volver a copular aceptaron hacerlo (6 de 120), lo cual corrobora la tendencia a la monandria de esta especie observada en estudios previos de campo (Cordero, 1999) y de laboratorio (Caballero, 2004). Hay al menos dos hipótesis para explicar por qué solo unas pocas hembras aceptaron una segunda cópula. La primera es que estas hembras no recibieron un eyaculado en su primera cópula o que recibieron uno muy pequeño. En apoyo a esta idea, una de las hembras poliándricas tuvo una primera cópula de muy corta duración (12 min.) y al ser examinada después de morir se encontraron restos de un solo espermátóforo. En un estudio previo (Cordero, 2002) se encontró que la duración de tres de cinco cópulas en que no hubo transferencia de espermátóforo fueron de corta duración (en otro caso la duración no se midió y en el último el tracto reproductor de la hembra presentaba deformidades). Sin embargo, la duración de la primera cópula de dos de las otras cinco hembras poliándricas fue anormal (una fue de 148 y otra de 10 min.), además de que el contenido del *corpus bursae* se examinó post-mortem en estas hembras y se encontró que sí tenían restos de dos espermátóforos. Cabe la posibilidad de que las hembras poliándricas que recibieron eyaculado y cuya duración de cópula estuvo dentro de lo normal hayan recibido eyaculados anormalmente pequeños que disminuyeron la receptividad sexual de las hembras por un

periodo de tiempo muy corto; desafortunadamente no es posible saber si esto ocurrió en las dos hembras cuyo *corpus bursae* fue examinado debido a que ya estaban muy degradados. Es importante aclarar que al referirnos a un eyaculado “anormalmente” pequeño estamos hablando de eyaculados todavía más pequeños que los transferidos por machos que se aparearon previamente el mismo día, los cuales equivalen en promedio al 88% del tamaño de los eyaculados transferidos por machos vírgenes (Caballero, 2004), ya que en un estudio previo no se encontraron diferencias significativas (Probabilidad exacta de Fisher = 0.24) en las tasas de reapareamiento entre hembras que copularon con machos vírgenes (6 de 36 hembras) y machos recientemente apareados (2 de 30) (Caballero, 2004). Con respecto a esta primera hipótesis, es importante considerar que la cantidad de espermatozoides y/o nutrientes contenidos en el eyaculado (cantidad que podríamos denominar la “calidad” del eyaculado) podrían no estar relacionada con el tamaño del mismo (Marshall y Mc Neil, 1989), pero ser las variables utilizadas por las hembras para decidir si se aparean por segunda ocasión. Si este es el caso, conocer el tamaño del eyaculado transferido en la primera cópula podría no permitir explicar los casos de poliandria. Aunque no se conoce la “calidad” del eyaculado recibido durante su primera cópula por las otras cinco hembras poliándricas, es posible que haya sido de menor calidad, ya que estas hembras no incrementaron su éxito reproductivo con respecto a los dos grupos de hembras monándricas. Una implicación de esta hipótesis es que en general los machos vírgenes transfieren eyaculados de buena calidad, lo cual explicaría la baja incidencia de poliandria en esta especie y la ausencia de diferencias entre las hembras “Monándricas Forzadas” y “Monándricas Voluntarias”. Los datos de campo también son congruentes con esta hipótesis, ya que las hembras se aparean principalmente con machos vírgenes (Cordero *et al.*, 1996-2000).

La segunda hipótesis para explicar el bajo porcentaje de hembras poliándricas plantea que durante la etapa larval éstas no acumularon suficientes reservas para maximizar su producción de huevos, por lo que necesitaron complementarlos con los recursos contenidos en un segundo eyaculado. Estudios con otros lepidópteros muestran que las hembras que eclosionan con recursos insuficientes, compensan esta desventaja a través de apareamientos múltiples (Leimar *et al.*, 1994; Bissoondath y Wiklund, 1997). De acuerdo

con esta hipótesis, la baja proporción de hembras poliándricas observada en el experimento y la ausencia de diferencias entre las hembras “Monándricas Forzadas” y “Monándricas Voluntarias” podría ser resultado de que la mayoría de las hembras acumuló suficientes reservas durante la etapa larval debido a que fueron alimentadas *ad libitum*.

Las dos hipótesis anteriores no son mutuamente excluyentes, por lo que ambas podrían explicar los resultados obtenidos. Finalmente, es importante recalcar que los resultados de este experimento deben de ser considerados tentativos debido al pequeño tamaño de muestra obtenido.

2. Efecto del tamaño del macho en la tasa de degradación del eyaculado

Los resultados del segundo experimento apoyan la predicción 2.1 (Los machos transferirán eyaculados que distienden y mantienen constante el volumen del *corpus bursae* durante un periodo cercano a la duración de la vida reproductiva de una hembra), ya que se encontró que los machos, independientemente de su tamaño, mantuvieron distendido el *corpus bursae* de las hembras por un periodo mínimo de cuatro días (tiempo máximo utilizado en el experimento) (**Fig. 4**) y durante este tiempo las hembras pusieron en promedio el 42.5% del total de sus huevos (rango: 19.8—69.5%). Suponiendo que la distensión del *corpus bursae* es el mecanismo que regula la receptividad sexual de las hembras, los resultados de este experimento sugieren que los machos son capaces de asegurar por lo menos la paternidad de más del 40% de los huevos puestos por la hembra. Sin embargo, esta estimación de la ganancia en paternidad casi seguramente es una subestimación por dos razones. La primera es que en el campo las hembras seguramente viven mucho menos tiempo que en el laboratorio (por ejemplo, Scott [1986] considera que la longevidad promedio en el campo de una mariposa de zonas templadas es de aproximadamente una semana), por lo que la reproducción de los primeros cuatro días correspondería a un mayor porcentaje del total de huevos que pone realmente una hembra en la naturaleza. La segunda razón es que en un estudio previo se observó que el *corpus bursae* de las hembras apareadas con machos de tamaño normal, tanto vírgenes como recientemente apareados, se mantenía distendido hasta nueve días después del fin de la cópula (Caballero, 2004), periodo durante el cual las hembras de nuestro experimento

pusieron el 83.6% del total de sus huevos (rango: 46.1—100%). En estudios similares hechos en otros lepidópteros se ha encontrado, (o se ha supuesto) que debido a que el peso del eyaculado disminuye, el *corpus bursae* disminuye de tamaño, aunque cabe la posibilidad de que en algunas de estas especies disminuya el peso del eyaculado sin que se vea afectado el grado de distensión del *corpus bursae* (ver siguiente párrafo).

De acuerdo con la predicción 2.2 [El tamaño de los eyaculados (y, por lo tanto, el grado de distensión del *corpus bursae*) y la capacidad de los mismos para mantener constante el volumen del *corpus bursae* son resultado de procesos costosos para los machos, por lo que habrá una relación positiva entre estas dos variables y el tamaño de los machos], los “Machos Pequeños” produjeron eyaculados de menor tamaño que los producidos por “Machos Normales” (**Fig. 5**), lo que sugiere que las reservas almacenadas durante la fase larval limitan los recursos disponibles para la reproducción en los machos. Sin embargo, existe la posibilidad de que la diferencia encontrada en el tamaño de los eyaculados no se deba a diferencias en las reservas de los machos normales y pequeños, sino a diferencias en la capacidad de almacenamiento del *corpus bursae* de las hembras, ya que se debe recordar que las hembras que se aparearon con los “Machos Pequeños” fueron de menor tamaño que las que se aparearon con los “Machos Normales” y es posible que exista una correlación entre el tamaño de la hembra y la capacidad de su *corpus bursae*. Sin embargo, el *corpus bursae* parece ser una estructura bastante elástica que podría almacenar eyaculados de mayor tamaño que los transferidos por un macho normal. Por ejemplo, Sugawara (1979) encontró que las hembras de *Pieris rapae* podían almacenar un volumen de 16 μ l de aceite de silicón, a pesar de que el volumen promedio de un espermátforo normal es de alrededor de 6 μ l. Por otro lado, contrario a la predicción 2.2, el tamaño del espermátforo no fue distinto entre ambos grupos de machos (**Fig. 6**). En un estudio previo con *Callophrys xami* se encontró una relación positiva entre el tamaño del macho y el peso del espermátforo (Cordero, 1998), lo que indica que el contenido de éste (y, por lo tanto, tal vez su “calidad”) varía independientemente del área que cubre.

Contrario a lo esperado de acuerdo con la predicción 2.2, tanto los “Machos Normales” como los “Machos Pequeños” produjeron eyaculados que mantuvieron constante el tamaño del *corpus bursae*, al menos durante cuatro días, a pesar de que el

espermátforo se fue degradando a lo largo de este periodo. Este resultado y los experimentos realizados por Caballero (2004) sugieren que en *C. xami* los machos, independientemente de su tamaño y su experiencia reproductora (vírgenes vs. recientemente apareados), son capaces de producir eyaculados que distienden el *corpus bursae* lo suficiente para “apagar” la receptividad sexual de la hembra y que mantienen dicho grado de distensión constante por un periodo mínimo de entre cuatro y nueve días. Esta habilidad es fácil de entender en términos adaptativos si la receptividad de las hembras está controlada por el grado de distensión del *corpus bursae*, como ocurre o se supone en muchas especies de Lepidoptera (Sugawara, 1979; Drummond, 1984; Wedell, 2005). Caballero (2004) planteó dos hipótesis para explicar las causas próximas de los patrones de cambio del *corpus bursae*, la primera de ellas sugiere que los materiales producto de la degradación del espermátforo no son absorbidos o desechados por las hembras sino que se mezclan con las sustancias adicionales contenidas en el *corpus bursae*, manteniendo así el volumen constante. La segunda hipótesis plantea que las hembras digieren y absorben gradualmente el eyaculado, y que ellas mismas mantienen constante el volumen del *corpus bursae* mediante la secreción de sustancias hacia el interior del mismo, que compensan las pérdidas debidas a la absorción. Caballero (2004) también menciona que es posible que ambos mecanismos actúen conjuntamente.

3. Una última cuestión

Al considerar conjuntamente la evidencia que indica: (a) la producción de eyaculados es costosa para los machos que sufrieron limitaciones de recursos durante la fase larval (Cordero, 2000), y (b) los eyaculados producidos por los machos “pequeños” (este trabajo) y los recientemente apareados (Caballero, 2004) son igualmente capaces de reducir a un mínimo la receptividad sexual de las hembras, a pesar de ser de un tamaño menor a los producidos por los machos vírgenes (este trabajo; Cordero, 1998; Caballero, 2004), nos llevan a plantearnos la pregunta de ¿por qué no ha evolucionado una reducción en el tamaño de los eyaculados producidos por los machos de *C. xami*? Creemos que la respuesta a esta pregunta radica en el hecho de que las hembras ejercen una presión de selección a favor de eyaculados más grandes, ya que existe evidencia que sugiere (Cordero,

datos no publicados) que las hembras que reciben eyaculados más grandes (= hembras apareadas con machos vírgenes) tienen descendientes con una mayor longitud de alas (esto es un indicador de un mayor tamaño), que las hembras que reciben eyaculados más pequeños (hembras apareadas con machos recientemente apareados que producen eyaculados que pesan entre 50—70% menos que los de los machos vírgenes). Las ventajas de tener mayor tamaño pueden ser: en hembras una mayor producción de huevos, y en machos ventajas en la competencia por territorios [Cordero *et al.*, 1996-2000].

El último dato mencionado parece contradecir los resultados experimentales de este trabajo ya que muestran que las hembras que se aparearon con dos machos no tuvieron un mejor desempeño en ninguno de los parámetros reproductivos medidos (incluidas medidas de tamaño de los descendientes como la longitud de las alas y el peso). Sin perder de vista el carácter tentativo de las conclusiones derivadas del experimento acerca de los efectos de la poliandria en el éxito reproductivo de las hembras, una posible explicación a esta aparente paradoja es que la relación entre el éxito reproductivo de las hembras y la cantidad de eyaculado recibido no se incrementa de manera monótona, sino que alcanza un valor máximo cuando la cantidad de eyaculado recibida es igual a la cantidad transferida por un macho de tamaño normal. ¿Por qué podría haber evolucionado esta relación en las hembras? Una posible respuesta se basa en el hecho de que al menos durante la mayor parte del año la densidad poblacional de *C. xami* en el Pedregal de San Ángel es muy baja (Benrey *et al.*, 1994), por lo que el costo de encontrar un macho para copular por segunda vez podría ser alto para las hembras. Por parte del macho, esperamos que la baja probabilidad que tienen de encontrar hembras a lo largo de su vida (Cordero y Soberón, 1990; Cordero *et al.*, 1996-2000) y la fuerte tendencia a la monandria de las mismas (Cordero, 2000; Caballero, 2004; este trabajo), haya favorecido que ellos inviertan en el eyaculado la cantidad necesaria para maximizar el éxito reproductivo de una hembra virgen.

Apéndice 1. Mecanismos responsables de la regulación de la receptividad sexual en hembras de Lepidoptera revisados en: Wedell (2005).

Antiafrodisiacos	Los machos pueden reducir la receptividad sexual de las hembras disminuyendo la atracción hacia los machos rivales. La mayoría de los machos de Lepidoptera segregan en el apareamiento sustancias químicas o antiafrodisiacos reduciendo así el atractivo de las hembras. Por ejemplo en <i>Pieris napi</i> los machos sintetizan y transfieren una sustancia volátil, methyl-salicylato, el cual es emitido por las hembras apareadas y actúa como un fuerte repelente para los machos que pretenden cortejarla.
Tapones Nupciales	Los machos de muchas especies transfieren a las hembras durante la cópula, sustancias que forman un tapón. Los tapones nupciales “sphraga” son formados por glándulas accesorias y pueden llegar a ser muy grandes y elaborados. La función además de impedir físicamente una segunda cópula es reducir la atracción de los machos hacia las hembras; en algunos funciona como un repelente visual para los machos, ya que las hembras con grandes tapones son menos atractivas. Sin embargo este mecanismo no es completamente efectivo porque las hembras pueden llegar a aparearse después de quitarse el tapón.
Estimulación mecánica	En la mayoría de especies de Lepidoptera la presencia física del espermátforo es suficiente para apagar la receptividad sexual de las hembras. Sugawara (1979) propone que las presiones mecánicas que ejerce el espermátforo sobre los receptores de distensión del <i>corpus bursae</i> son los responsables de la baja receptividad en las hembras.
Esperma	La presencia del esperma en la espermateca (órgano femenino de almacén de esperma) puede "apagar" la receptividad sexual de las hembras y estimular la oviposición. Los machos pueden producir dos tipos de esperma: el esperma normal, fértil "eupirene" y el esperma no fértil anucleado "apyrene". Se han propuesto varias hipótesis para explicar la función del apyrene, una de ellas sugiere que el apyrene juega un papel muy importante en la competencia espermática, desplazando o inactivando el esperma de los machos rivales. Por otro lado el apyrene tiene una alta influencia en la receptividad sexual de las hembras por ejemplo en la mariposa <i>Pieris napi</i> se ha visto que el número de esperma no-fértil contenido en la espermateca es responsable de la reducción de la receptividad sexual.
Fluidos seminales	Las sustancias transferidas en el espermátforo juegan un rol muy importante en la disminución de la receptividad sexual de las hembras además de estimular la oviposición y maduración de los huevos. La hormona juvenil JH juega un papel importante en este mecanismo; sin embargo es importante mencionar que se han descubierto una gran variedad de feromonas que afectan la receptividad sexual de las hembras.

LITERATURA CITADA

- Arnqvist, G. & Nilsson, T. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour*, 60: 145-164.
- Benrey, B., Cordero, C., Jiménez, G. & Soberón, J. 1994. Ecología y conducta de la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae). En: Rojo A. (comp.) Reserva Ecológica "El pedregal de San Ángel: Ecología Historia Natural y Manejo. UNAM
- Beutelspacher, C. R. 1980. Mariposas diurnas del Valle de México. Ed. Científicas L.P.M.M. México 33 pp.
- Birkhead, T.R. & Møller, A. P. 1998. Sperm Competition and Sexual Selection. Academic Press. San Diego.
- Bissoondath, C. J. & Wiklund C. 1997. Effect of male body size on sperm precedence in the polyandrous butterfly *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Behavioral Ecology*, 8: 518-523.
- Boggs, C. L. 1992. Resource allocation: exploring connections between foraging and life history. *Functional Ecology*, 6: 508-518.
- Burns, J. M. 1968. Mating frequency in natural populations of skippers and butterflies as determined by spermatophore counts. *Proceedings of Natural Academic Science USA*, 61: 852-859.
- Caballero N. 2004. Tasa de Utilización de los Espermátóforos y su Efecto en la Receptividad Sexual de las Hembras de la Mariposa *Callophrys xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). Tesis de Licenciatura, México, UNAM.
- Choe, J. C. & Crespi B. J. Edits. 1977. The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids. Cambridge University Press. Cambridge.
- Cordero, C. 1998. Ecología del Comportamiento Sexual de los Machos de la Mariposa *Callophrys xami*, con algunas Consideraciones acerca de la Evolución del Semen de insectos. Tesis Doctoral, UACPYP7CCH, UNAM.
- Cordero, C. 1999. Is spermatophore number a good measure of mating frequency in female *Callophrys xami* (Lycaenidae)? *Journal of the Lepidopterist Society*, 53: 169-170.

- Cordero, C. 2000. Trade-off between fitness components in males of the polygynous butterfly *Callophrys xami* (Lycaenidae): the effect of multiple mating on longevity. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 48: 458-462.
- Cordero, C. 2002. Matings without spermatophore transfer and with transfer of two spermatophores in *Callophrys xami* (Lycaenidae). *Journal of the Lepidopterist Society*, 6: 106-108.
- Cordero, C. 2005. The evolutionary origin of *signa* in female Lepidoptera: natural and sexual selection hypotheses. *Journal of Theoretical Biology*, 232: 443-449.
- Cordero, C. & Soberón, J. 1990. Non-resource based territoriality in males of the butterfly *Xamia xamia* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of insect Behavior*, 3: 719-732.
- Cordero, C., Macías, R. & Jiménez, G. 2000. (1996) The number of copulations of territorial males of the butterfly *Callophrys xami* (Lycenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 35: 78-80.
- Drummond, B. A. 1984. Multiple mating and sperm competition in the Lepidoptera. In: Smith R. L. (ed.) *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*. Academic Press. Orlando.
- Eberhard, W. G. 1985. Sexual selection and animal genitalia. Harvard University Press. Cambridge, U.S.A.
- Eberhard, W. G. 1996. Female Control. Sexual selection by cryptic female choice. Princeton University Press, U.S.A.
- Ehrlich, A. H. & Ehrlich, P.H. 1978. Reproductive strategies in the butterflies: I. Mating frequency, plugging, and egg number. *Journal of Kansas Entomology Society*, 51: 666-679.
- He, Y. & Tsubaki, Y. 1991. Effects of spermatophore size on female remating in the Armyworm, *Pseudaletia separata*, with reference to larval crowding. *Journal of Ethology*, 9: 47-50.
- Holland, B & Rice W.R. 1998. Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. *Evolution*, 52: 1-7.

- Jennions, M. & Petrie, M. 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biological Review*, 75: 21-64.
- Jiménez, G. 1987. Reproducción Mantenimiento y Cultivo en Laboratorio de *Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). Tesis Licenciatura, México, UNAM.
- Jiménez, G. & Soberón, J. 1988-89. Laboratory rearing of *Sandia xami xami* (Lycaenidae, Eumaeini). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 27: 259-271.
- Kaitala, A. & Wiklund, C. 1994. Polyandrous female butterflies forage for matings. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 35: 385-388.
- Karlsson, B. 1995. Resource allocation and mating system in butterflies. *Evolution*, 49: 955-961.
- Karlsson, B. & Wickman, P. O. 1990. Increase in reproductive effort as explained by body size resource allocation in the speckled wood butterfly, *Pararge aegeria* (L.) *Functional Ecology*, 4: 609-617.
- Leimar, O., Karlsson, B. & Wiklund, C. 1994. Unpredictable food and sexual size dimorphism in insects. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 258:121-125.
- Marshall, L.D. & Mc Neil, J. N. 1989. Spermatophore mass as estimate of male nutrient investment a closer look in *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (lepidopters:Noctuidae). *Functional Ecology*, 3: 605-612.
- Mc Neil, J. N., Delisle, J. & Cusson, M. 1997. Regulation of pheromone production in Lepidoptera: The need for and ecological perspective. In. Cardé, R. T. And Minks, A. K. (eds.). *Insects Pheromone Reserch, New Directions*, Chapman & Hall, New York.
- Oberhauser, K. S. 1988. Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. *Animal behavior*, 36: 1384-1388.
- Oberhauser, K. S. 1989. Effects of spermatophores on male and female monarch butterfly reproductive success. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 25: 237-246.
- Oberhauser, K. S. 1992. Rate of ejaculate breakdown and intermating intervals in monarch butterflies. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 31: 367-373.

- Opp, S. B. & Prokopy, R. J. 1986. Variation in laboratory oviposition by *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in relation to mating status. *Annals of the Entomological Society of America*, 79: 705-710.
- Parlange, P., 1991. Ciclo de vida de *Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae) su Biología y Notas Acerca de su Cultivo en el Laboratorio. Tesis de licenciatura, México, UNAM.
- Pyle, R. M. 1981. *The audubon society field guide to North American butterflies*. Alfred A. Knopf, New York.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G.W. & Terkanian, B. 1987. Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20: 319-322.
- Sánchez, V. M. 2004. La Evolución de los *signa* (en) Lepidoptera: Un Estudio Comparativo de Coevolución Sexual. Tesis Licenciatura, México, UNAM.
- Scott, J. A. 1986. *The butterflies of North America*. Stanford University Press, Stanford.
- Siegel, S. 1994. *Estadística No Paramétrica: Aplicada a las Ciencias de la Conducta*. Trillas, México.
- Smith, R.L. 1984. *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*. Academic Press. New York.
- Simmons, L. W. 2001. *Sperm Competition and its Evolutionary Consequences in the Insects*. Princeton University Press. Princeton.
- Soberón, J., Cordero C., Benrey, P., Parlange. P., García-Sáez, C., & Berges, G. 1988. Patterns of oviposition by *Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae) in relation to food plant apparency. *Ecological Entomology*, 13: 71-79.
- Sugawara, T. 1979. Stretch reception in the bursa copulatrix of the butterfly *Pieris rapae crucivora* and its role in behaviour. *Journal of Comparative Physiology*, 130: 191-199.
- Svård, L. & Wiklund, C. 1986. Different ejaculate delivery strategies in first versus subsequent matings in the swallowtail butterfly *Papilo machaon* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18: 325-330.

- Thornhill, R. y Alcock, J. 1983. *The Evolution of Insect Mating Systems*. Harvard University Press. Cambridge.
- Torres-Vila, L. M., Rodríguez-Molina, C. R. & Jennions D. M. 2004. Polyandry and fecundity in the Lepidoptera: can methodological and conceptual approaches bias outcomes? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55: 315-32.
- Torres-Vila, L. M., Stockel, J. & Rodríguez-Molina, M. C. 1997. Physiological factors regulating polyandry in *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Physiological Entomology*, 22: 387-393.
- Tregenza, T. & Wedell, N. 1998. Benefits of multiple mates in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *Evolution*, 52: 1726-1730.
- Wedell, N. 2005. Female receptivity in butterflies and moths. *The Journal of Experimental Biology*, 208: 3433-3440.
- Wedell, N. & Cook P. A. 1999. Butterflies tailor their ejaculate in response to sperm competition risk and intensity. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 266: 1033-1039.
- Wiklund, C. 1977. Courtship behaviour in relation to female monogamy in *Leptidea sinapis* (Lepidoptera). *Oikos*, 29: 275-283.
- Wiklund C. & Kaitala A. 1995. Sexual selection for large male size in a polyandrous butterfly: the effect of body size on male versus female reproductive success in *Pieris napi*. *Behavioral Ecology*, 6: 6-13.
- Zeh, J.A. & Zeh, D. W. 2001. Reproductive mode and genetic benefits of polyandry. *Animal Behavior*, 61: 1051-1063.