



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESTUDIO SOBRE LA CONDUCTA COPULATORIA  
EN LA MARIPOSA *CALLOPHRYS XAMI***

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**ALEJANDRA PARGA CARRILLO**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. CARLOS RAFAEL CORDERO MACEDO**

**2013**



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

### 1. Datos del alumno

Parga  
Carrillo  
Alejandra  
55 13 58 50 76  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
406068396

### 2. Datos del tutor

Dr  
Carlos Rafael  
Cordero  
Macedo

### 3. Datos del sinodal 1

M en C  
Isabel  
Vargas  
Fernández

### 4. Datos del sinodal 2

M en C  
Nubia  
Caballero  
Mendieta

### 5. Datos del sinodal 3

Dr  
Roberto Edmundo  
Munguía  
Steyer

### 6. Datos del sinodal 4

Dr  
Raúl  
Cueva  
del Castillo

### 7. Datos del trabajo escrito

Estudio sobre la conducta copulatoria  
en la mariposa *Callophrys xami*  
28 pp  
2013

### 8. Palabras clave

inversión parental, adecuación, Lepidoptera, espermatóforo

*"I believe that life is a game, that life is a cruel joke, and that life is what happens when you're alive and that you might as well lie back and enjoy it."*

*- Neil Gaiman*

Agradecimientos:

A Julio, por su amor y apoyo incondicionales. Gracias por no dejarme caer nunca y por nunca dudar de mis capacidades, sin ti nada de esto habría sido posible.

A mi mamá, por ser un gran ejemplo de trabajo duro y perseverancia. Por su paciencia y su cariño durante todos estos años. Sobre todo gracias por apoyarme cuando nadie más lo hizo.

A mi asesor Carlos Cordero, por ser un gran maestro, sin él no hubiera descubierto mi gusto por la conducta. Le estoy especialmente agradecida por su confianza y su paciencia a lo largo de todo este proceso.

A mis amigos de la facultad por ayudarme a superar todas mis crisis de carrera y por no abandonarme en los momentos más difíciles. Gracias por llenar mis días de momentos tan especiales.

A mis compañeros del laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos por resolver en todo momento mis dudas técnicas, académicas y existenciales.

A mis sinodales: Nubia Caballero, Isabel Fernández, Roberto Munguía y Raúl Cueva, por su revisión y comentarios que ayudaron a enriquecer este trabajo.

A mis profesores de la facultad de ciencias por aportar tantas cosas a mi formación académica, por despertar en mi el interés en cosas que jamás imagine y por hacerme amar la biología aun más.

A Gabriela Jiménez por todo su tiempo y su apoyo técnico.

Al proyecto PAPIIT UNAM IN213011-2 por el apoyo financiero otorgado a este proyecto.

## Índice general

<b>Resumen</b> .....	6
<b>Introducción</b> .....	7
<b>Objetivos</b> .....	11
<b>Hipótesis</b> .....	11
<b>Predicciones</b> .....	11
<b>Metodología</b> .....	12
<i>Especie de estudio</i> .....	12
<i>Método de crianza</i> .....	13
<i>Diseño experimental</i> .....	13
<i>Estadística</i> .....	15
<b>Resultados</b> .....	16
<i>Efecto en la fecundidad y fertilidad</i> .....	16
<i>Efecto en las características de la descendencia</i> .....	19
<i>Efecto en la longevidad de las hembras</i> .....	19
<b>Discusión</b> .....	21
<b>Bibliografía</b> .....	25

## Resumen

Durante mucho tiempo se supuso que los machos invierten pocos recursos en la reproducción, en comparación con las hembras, sin embargo ahora se sabe que el costo de la reproducción para el macho no es trivial. En los lepidópteros, los machos transfieren a la hembra durante la cópula un eyaculado (espermatozoides + sustancias adicionales), que es costoso de producir. El eyaculado está compuesto por diferentes elementos que pueden beneficiar o perjudicar a las hembras. El estado reproductivo de los machos puede afectar el tamaño de su eyaculado. Los machos que se han apareado recientemente transfieren eyaculados más pequeños que en su primera cópula y requieren de varios días para producir un eyaculado del mismo tamaño que el primero; sin embargo algunos individuos nunca logran alcanzar ese tamaño de nuevo. El efecto del tamaño del eyaculado en la adecuación (medida relativa del éxito reproductivo de un individuo al pasar sus genes a la siguiente generación) de las hembras no es claro y en el laboratorio, se han encontrado resultados distintos, dependiendo del patrón de apareamiento de las especies o del tipo de experimento realizado. En el presente estudio se empleó como modelo de estudio a la mariposa monándrica *Callophrys xami* para determinar si el tamaño del eyaculado recibido influye en los componentes postcopulatorios de adecuación de las hembras. Se realizó un experimento en el que cada macho se apareó dos veces con hembras vírgenes de características similares. Ambas cópulas se realizaron el mismo día o en 2 días consecutivos, esto resultó en que la segunda hembra recibiera un eyaculado entre 50 y 70% más pequeño. Se midió la fecundidad, fertilidad, longevidad de las hembras y tamaño de los hijos. El tamaño del eyaculado tuvo un efecto positivo en el número de huevos eclosionados. Aquellas hembras que recibieron un eyaculado más grande produjeron más larvas. Asimismo, hubo una relación positiva entre el eyaculado y el tamaño de los hijos, de los huevos colectados diez días después de la puesta. Sin embargo, no se observó un efecto en los demás componentes medidos: fecundidad ni longevidad de las hembras

## Introducción

En varios órdenes de insectos, las hembras reciben de sus parejas potenciales regalos nupciales antes o durante la cópula. (Thornhill & Alcock, 1983; Boggs, 1990; Vahed, 1998). Los regalos nupciales son muy variados. En algunas especies, los machos ofrecen presas a las hembras, que ella consume durante la cópula. En otras, los regalos nupciales consisten en sustancias glandulares de las que ella se alimenta, o transfiere estas sustancias junto con los espermatozoides dentro de un paquete, que se va formando durante la cópula dentro del tracto reproductor de la hembra, llamado espermatóforo (Leopold, 1976; Drummond III, 1984). El origen de la elaboración y el mantenimiento de los regalos nupciales no es claro aún. Una de las hipótesis postula que los regalos nupciales se originaron por medio de competencia espermática (competencia intrasexual; (Wickler, 1985)). Ésta ocasionaría que los machos produjeran mucho esperma en respuesta a la presencia de rivales. Las hembras tendrían que digerir el exceso de eyaculado, quizás beneficiándose; el regalo nupcial sería fabricado en respuesta a la elección femenina sobre los eyaculados grandes. Por otro lado, Cordero (1996) propone que los regalos nupciales seminales tienen su origen en la selección intersexual. Los eyaculados contienen químicos (inhibidores de la receptividad sexual y/o estimulantes de la oviposición; RIS y OSS respectivamente por sus siglas en inglés) que constituyen señales entre el macho y la hembra. De acuerdo a esta hipótesis los regalos nupciales pudieron haber evolucionado por medio del principio del *handicap* (al ser costoso, las hembras evalúan al macho por medio de la calidad y cantidad del eyaculado (Zahavi & Zahavi, 1999)) o de un proceso de selección desbocada (*runaway*) (los eyaculados se seleccionan por su capacidad de estimular a las hembras, independientemente de la calidad nutricional). En ambos casos, la selección favorecería un incremento en la cantidad de eyaculado.

No hay un consenso en la función primaria de los regalos nupciales. Algunos argumentan que se trata de esfuerzo de apareamiento (*mating effort*), por parte de los machos para incrementar el número de huevos fertilizados. Otros autores lo ven como inversión parental (*parental investment*), ya que se ha observado un aumento en la adecuación de los hijos de aquellos machos que donan muchos recursos a sus parejas, más que en el número de huevos que fertilizan (Simmons & Parker, 2010). Sin embargo ambas opciones no son mutuamente excluyentes, ya que una vez que el macho ha obtenido una pareja y la ha convencido de utilizar su esperma, la hembra podría aprovechar los recursos transferidos por el macho e invertirlos en los hijos, aumentando la adecuación de ambos. La importancia relativa de cada



una de las funciones podría depender de las condiciones ecológicas a las que estén sometidos los individuos (Cordero, 1996).

En el orden Lepidoptera; dependiendo de la especie, el tamaño del eyaculado (espermátforo + sustancias adicionales) producido en la primera cópula del macho puede representar en promedio entre el 1.3 y el 15.5% de su peso corporal (Svård & Wiklund, 1989). Las sustancias glandulares que se encuentran dentro de los espermátforos y las que se depositan fuera de éste, dentro del *corpus bursae* ("saco" donde las hembras reciben, almacenan y degradan los eyaculados), tienen diferentes componentes que pueden beneficiar a las hembras, aumentando su adecuación. Dentro de estos componentes encontramos:

- a) nutrientes, los cuales son digeridos e incorporados al soma de las hembras y/o a los huevos (Boggs & Gilbert, 1979),
- b) sustancias que estimulan el inicio y la tasa de oviposición o que inhiben la receptividad sexual de las hembras después de una cópula (Thornhill & Alcock, 1983; Cordero, 1995),
- c) tipos diferentes de espermatozoides (eupirénicos y apirénicos) (Friedländer, 1997), que pueden tener funciones distintas a la fertilización, se ha visto que los apirénicos ayudan a aumentar el periodo refractario, es decir, tiempo que tardan en volver a copular (Wedell & Cook, 1999),
- d) sustancias de defensa que se incorporan al soma de las hembras o a los huevos y que les confieren protección contra depredadores o contra elementos naturales, como el viento y la lluvia (Dussourd et al., 1988).

El estado reproductivo de los machos puede afectar la composición y tamaño del eyaculado, y por lo tanto, a las hembras. Aquellos machos que se han apareado recientemente transfieren eyaculados más pequeños que en su primera cópula. Estos eyaculados pequeños inducen a las hembras a periodos refractarios (el tiempo que tardan en volverse a aparear) más cortos, debido a la acción mecánica que ejercen sobre el *corpus bursae* (Sugawara, 1979; Wedell, 2005). En muchas especies los machos requieren varios días de recuperación para poder producir un eyaculado de un tamaño similar al del primer eyaculado producido, y otras jamás llegan a producir un eyaculado del mismo tamaño que el primero (Royer & McNeil, 1993; Hughes et al., 2000; Marcotte et al., 2007). El tamaño y/o calidad del eyaculado también puede ser afectado por la edad del macho al momento del apareamiento, su peso corporal

(Oberhauser, 1988) y la alimentación durante la etapa larval y adulta (Watanabe & Hirota, 1999).

En las especies poliándricas, aquellas donde las hembras copulan con más de un macho, los machos tienen más oportunidades de copular, por lo tanto, se esperaría que el tiempo de recuperación de los machos fuera menor que en las especies monándricas y que el tamaño de los espermátóforos de cópulas sucesivas se mantenga más o menos constante (Svärd & Wiklund, 1989; Bissoondath & Wiklund, 1996). Se espera también que la inversión, en proporción a su peso corporal, sea más alta (Karlsson, 1995), debido a la competencia espermática a la que se ven sometidos. Todo esto ocasiona que entre más cópulas obtengan, se vea disminuida su expectativa de vida.

El efecto de la cantidad de eyaculado sobre la adecuación de las hembras no es muy claro. Torres-Vila y Jennions (2005) sugieren que la relación positiva entre la cantidad de eyaculado recibido y la eficiencia reproductiva, es menos común en especies monándricas, mientras que en las poliándricas las hembras se ven generalmente beneficiadas entre más eyaculado reciban. Sin embargo Torres-Vila y colaboradores (2004) pusieron en evidencia que este resultado se puede deber al diseño experimental empleado para estudiar los beneficios de la poliandria. Los autores plantean que generalmente se utilizan 2 tipos de aproximaciones: la experimental y la descriptiva. En la aproximación experimental, se determinan los grupos *a priori*, y las hembras se reparten aleatoriamente entre el grupo de las que se van a aparear mucho, y las que lo van a hacer poco. En los estudios descriptivos se deja que las hembras copulen libremente las veces que quieran. Los grupos de muchos y pocos apareamientos se determinan *a posteriori*. Aunque en general los resultados de varios estudios en lepidópteros sugieren que el efecto de reaparearse es positivo para las hembras, ellos encontraron que es más probable no encontrar dicho efecto al utilizar el método descriptivo, ya que las hembras de especies monándricas tienen una tendencia a aparearse pocas veces, determinar *a priori* un grupo de hembras que deberían aparearse muchas veces, resulta infructuoso. Es por esto que se ha utilizado más la aproximación descriptiva en el estudio de estas especies, lo cual podría estar favoreciendo que se observe un mayor efecto positivo del eyaculado en las especies poliándricas. Existe un tercer tipo de experimento, en el que en vez de manipular el número de eyaculados que obtienen las hembras, se manipula la cantidad de eyaculado recibido en una cópula, variando el estado reproductivo del macho, como el estudio hecho por Rutowski y colaboradores (1987) con la mariposa *Colias*

*eurytheme*. Ellos observaron que la cantidad de eyaculado recibido sí tiene un efecto positivo sobre la adecuación. En *Pararge aegeria*, los huevos de las hembras que recibieron menos eyaculado, tuvieron una menor probabilidad de eclosión que aquellos puestos por hembras que recibieron eyaculados grandes (Lauwers & Van Dyck, 2006). Elzinga y colaboradores (2011) encontraron una reducción del 30% en la fecundidad y la fertilidad en hembras apareadas con machos no vírgenes en la mariposa *Siederia listerella* (Lepidoptera: Psychidae). En el presente estudio, siguiendo este método las hembras se aparearon con machos vírgenes o recientemente apareados y se midió el efecto en la adecuación de las hembras.

Otro factor importante al considerar cómo las aportaciones del macho afectan a la hembra o a la descendencia, es la cantidad de huevos maduros que se encuentran dentro de la hembra cuando ésta emerge de la pupa. Si la hembra no tiene huevos maduros al momento de copular, la energía aportada por el macho podría verse reflejada desde los primeros huevos que son puestos. En cambio, si la hembra tiene huevos maduros al momento de copular, los primeros huevos no se verían beneficiados por las aportaciones del macho, debido al tiempo que tarda en romper el espermatóforo y absorber el contenido. Se espera que en las hembras que tienen pocas reservas o que obtienen pocos recursos del macho, la inversión puesta en los huevos, vaya disminuyendo con el tiempo y esto se vea reflejado en los huevos que pone o en las características de los hijos. Las hembras utilizadas en el presente estudio cuentan con huevos maduros al momento de emerger como adultos (observación personal).

*Callophrys xami* (Reakirt, 1867) es una especie en la que la mayoría de las hembras copula una sola vez en su vida (Cordero, 1999), mientras que los machos son poligínicos (Cordero et al., 1996 (2000)). Aún cuando la inversión es poca (1.3-3% de su peso corporal (Cordero, 1998), sí se observan costos asociados a la reproducción, como longevidad reducida (Cordero, 2000), cópulas muy prolongadas cuando el macho se aparea dos veces en un mismo día (hasta 24 veces más) (Cordero, 1998) y en ese caso, el segundo espermatóforo producido llega a ser hasta 70% más pequeño que el transferido en la primera cópula del día (Cordero, comunicación personal).

## **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la cantidad de eyaculado recibido por las hembras de la mariposa *Callophrys xami*, en componentes de su adecuación y de la de su descendencia.

## **Objetivos particulares**

- Evaluar experimentalmente el efecto del tamaño del eyaculado recibido por la hembra en el número de huevos que pone y en la fertilidad de los mismos.
- Evaluar experimentalmente el efecto del tamaño del eyaculado recibido por la hembra en la duración del ciclo de vida y el tamaño de sus hijos.
- Evaluar experimentalmente el efecto del tamaño del eyaculado recibido por la hembra en su longevidad.

## **Hipótesis**

Las hembras de la mariposa *Callophrys xami* aumentan su adecuación de manera directamente proporcional a la cantidad de eyaculado que reciben al copular.

## **Predicciones**

- Las hembras que reciban un mayor eyaculado, van a poner más huevos que aquellas que recibieron un eyaculado más pequeño.
- Las hembras que reciban más eyaculado van a poner una mayor cantidad de huevos fértiles que una que recibió un eyaculado pequeño.
- Los hijos de hembras que recibieron más eyaculado se desarrollaran más rápido que los hijos de hembras que recibieron un eyaculado más pequeño.
- Los hijos de hembras que recibieron más eyaculado tendrán mayor tamaño que los hijos de una hembra que recibió un eyaculado más pequeño.
- Las hembras que reciben más eyaculado viven más que aquellas que reciben uno más pequeño.

- Los hijos nacidos de huevos puestos después de primer día de oviposición, tendrán un mayor tamaño y crecerán más rápido que aquellos puestos un día después de la cópula.

## **Metodología**

### *Especie de estudio*

La mariposa *Callophrys xami* Reakirt (Lepidoptera: Lycaenidae) tiene una amplia distribución y habita zonas secas y rocosas desde el sur de Texas y Arizona hasta el estado de Oaxaca (Ziegler & Escalante, 1964). Esta especie se puede encontrar durante todo el año en una densidad poblacional baja, y es más abundante durante los meses de octubre a enero (Soberón et al., 1988). Las hembras oviponen sobre flores, hojas y tallos de plantas de la familia *Crassulaceae*, siendo los tallos los menos utilizados (Soberón et al., 1988). Después de eclosionar las larvas se abren paso hasta el centro de la hoja, donde empiezan a comer los tejidos internos, dejando solamente la cutícula (Ziegler & Escalante, 1964). El ciclo de vida completo de un individuo puede durar de 40 a 50 días en promedio (Parlange, 1991).

Los machos presentan un sistema de apareamiento poligínico de tipo lek; los machos son territoriales y defienden áreas bien delimitadas, en las cuales no se encuentran concentraciones de hembras receptivas o de recursos alimenticios (Cordero & Soberón, 1990). Los machos pueden llegar a defender un mismo territorio hasta por 4 semanas (Cordero, 1998). En campo se han registrado en los machos hasta 4 apareamientos durante su vida (Cordero et al., 1996 (2000)). La duración promedio de una cópula es de 32.3 min, sin embargo la segunda cópula del día del macho puede prolongarse durante varias horas (Cordero, 1998), por lo que el número máximo de cópulas por día es de dos.

Las hembras son ligeramente poliándricas; en una muestra de campo se encontró que el 21.4% de las hembras tenían rastros de más de un espermátforo en el tracto genital. El promedio de espermátforos en hembras que se habían apareado por lo menos una vez fue de  $1.37 \pm 0.6$ , sin embargo el 46.4% de las hembras se habían apareado solamente en una ocasión al momento de ser capturadas (Cordero, 1999). El porcentaje de hembras vírgenes fue de 32.1% (Cordero, 1999; Torres-Vila et al., 1999).

### *Método de crianza*

Se estableció un cultivo de mariposas en el laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos, del Instituto de Ecología (UNAM), para tener disponibles suficientes individuos vírgenes para la realización de los experimentos. Utilizando redes entomológicas, se colectaron hembras adultas de *C. xami* en el Jardín Botánico exterior y en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), ambos dentro del campus principal (Ciudad Universitaria) de la UNAM. Todas las hembras colectadas en el campo se colocaron en recipientes transparentes de plástico (con capacidad de 1 l, 14 cm alto x 11 cm diámetro), con una hoja fresca de la planta hospedera de esta zona (*Echeveria gibbiflora*; De Candolle, 1828) y una esponja, en la que se les suministró diariamente una solución de agua con azúcar al 10% para su alimentación *ad libitum*. Los recipientes se colocaron, durante dos horas en las mañanas debajo de focos de luz difusa de 75 W (125 V) para crear las condiciones de luz y temperatura necesarias para estimular la oviposición. Se colectaron los huevos puestos con un pincel húmedo y se colocaron individualmente sobre un pedazo de hoja fresco en una caja petri, marcada con el número de la madre. Las cajas se revisaron aproximadamente cada 3 días (cuando las larvas eran pequeñas) y diario (en el último estadio), para asegurar que siempre tuvieran comida disponible, y que la hoja no se hubiera infestado de hongos. En la base de la caja se les puso un círculo de papel absorbente con unas gotas de agua, para mantener la humedad dentro del recipiente y para facilitar la limpieza de las cajas. Se registraron las fechas de puesta de huevo, eclosión del adulto, formación de la pupa y emergencia del adulto.

El mismo día de la emergencia, o un día después se determinó el sexo de los individuos y una vez eliminado el meconio (sustancia viscosa de color rosa excretada en las primeras horas después de emerger), se pesaron en una balanza analítica, se les midió la longitud del ala posterior derecha con un calibrador vernier y se les marcó, con un plumón indeleble no tóxico, utilizando el método de marcaje con puntos (Winter Jr., 2000). Los adultos se mantuvieron en cajas de madera, separados por sexo.

### *Diseño experimental*

Para evaluar el efecto del tamaño del eyaculado recibido por la hembra sobre varios componentes de su adecuación. El experimento consistió en aparear con un mismo macho, el mismo día o en dos días consecutivos, a dos hembras vírgenes de edad (Prueba de Wilcoxon: Réplica A:  $z=-0.577$ ,  $p=0.564$ ,  $N=21$ ; Réplica B:  $z=-0.577$ ,  $p=0.564$ ,  $N=16$ ) y tamaño (Prueba de Wilcoxon: Réplica A:  $z=419$ ,  $p=0.419$ ,  $N=21$ ; Réplica B:  $z=-0.903$ ,  $p=0.367$ ,  $N=13$ ) similares, lo que trajo como consecuencia que la primera hembra recibiera un eyaculado considerablemente más pesado que la segunda. Este diseño pareado es el adecuado para disminuir el efecto de que no todos los pares de hembras entraron al experimento al mismo tiempo debido a que la emergencia de las pupas ocurre de manera asincrónica. En algunos casos, dependiendo de la disponibilidad de hembras, se utilizaron hermanas (Réplica A: 14 pares de hembras eran hermanas; Réplica B: 4 pares de hembras eran hermanas). Por razones de espacio de laboratorio y cantidad de tiempo requerido, el tamaño de muestra para el experimento fue limitado, por lo que se decidió replicarlo en dos meses consecutivos (Julio y Agosto). A cada una de estas replicas se les denominó A y B, respectivamente.

Los apareamientos se realizaron en los jardines del Instituto de Ecología de la UNAM, en la mañana (entre 11 a.m. y 3 p.m.), durante días soleados. Se colocaron dentro de “jaulas de apareamiento” (jaulas cilíndricas hechas de malla de 48 cm de alto y 24 de diámetro) dos machos y una hembra, todos vírgenes, hasta que se formara una pareja. Se registraron los individuos involucrados en la cópula, se anotó la hora de inicio y la duración total del apareamiento. Inmediatamente después de terminada la cópula, se colocó al macho apareado con dos hembras nuevas para promover el reapareamiento. Los individuos que no se aparearon en un día particular, se regresaron a las cajas de madera, para utilizarlos otro día. Si un macho no se apareaba dos veces en un mismo día, se volvía a sacar con dos hembras nuevas a la mañana siguiente, si en este segundo día no se volvía a aparear se eliminaba del experimento. Inmediatamente después del apareamiento, las hembras de cada par fueron colocadas juntas en jaulas de apareamiento, de las cuales se transfirieron diariamente, después de ser alimentadas con agua con azúcar, a un recipiente de oviposición de manera individual durante 2 h, siguiendo el método previamente descrito.

Los huevos puestos cada día, se separaron y se contaron, y se registró cuántos de esos huevos eclosionaron. Se siguieron las observaciones hasta que todas las hembras murieron.

Para la réplica A se tomó, al azar, una muestra de 12 huevos el primer día de puesta. En la réplica B se tomó una muestra al azar de 10 huevos, los días 1, 5 y 10 de puesta, para un total de 30 huevos por hembra. Estos huevos y los individuos que emergieron de ellos fueron monitoreados a lo largo de todo su ciclo de vida, registrando la duración de los estadios de larva y pupa, el tamaño del ala posterior derecha del adulto y el sexo.

### *Estadística*

Se utilizó el programa SPSS 17, para hacer el análisis estadístico de los datos. Cada una de las variables fue analizada por separado utilizando principalmente la prueba de Wilcoxon para datos pareados.

Para los datos de duración de ciclo de vida y tamaño de la progenie de la réplica A, se calcularon las medianas de los hijos de cada hembra, y se realizó el análisis con base en estos datos. En la B se calcularon las medianas de las muestras de cada día, de cada una de las hembras, y se realizaron las pruebas estadísticas con estos números, debido a que en esta réplica se contó con muestras de huevos de 3 días diferentes.



## Resultados

En la réplica A, 21 machos se aparearon con 42 hembras vírgenes, 16 de estos machos se reaparearon el mismo día, 3 en días consecutivos y 2 que no se tiene registro de si fue el mismo día o al día siguiente. De este grupo se tomaron 12 pares de hembras, las cuales se utilizaron para medir la longevidad, la fecundidad y la fertilidad de las hembras; sin embargo para medir las características de la descendencia, se tomaron muestras de huevos, de los 21 pares de hembras. Los otros nueve pares de hembras murieron. En la réplica B, 16 machos se aparearon con 32 hembras vírgenes, 13 machos se reaparearon el mismo día y 3 en días consecutivos. En este caso se hicieron todas las mediciones (longevidad, fecundidad, fertilidad y características de la descendencia) en los 16 pares de hembras. Se juntaron los datos de ambas replicas para el análisis de los huevos puestos, eclosionados y la longevidad de las hembras. Debido a que sólo en la réplica B se tomaron muestras de varios días aparte del primero, esos datos no se pudieron juntar. Sin embargo sí se juntaron los datos de los huevos puestos el primer día en ambas réplicas. Los datos que se juntaron se muestran en la tabla 1. En la tabla 2 se muestra la comparación de las características de la descendencia. De nuevo se juntaron los datos del día 1 de las dos réplicas.

### *Efecto en la fecundidad y fertilidad*

En la figura 1 se muestra el patrón de huevos puestos y el de huevos eclosionados a lo largo de los días. El número total de huevos puestos por una hembra no fue influenciado por el tamaño del eyaculado recibido, ( $z=-1.605$   $p=0.108$ ). Una hembra no puso ningún huevo, y vivió pocos días (16), ésta pertenecía al grupo de la segunda cópula.

La cantidad de eyaculado recibido tuvo un efecto positivo en el número de huevos eclosionados ( $z=-3.097$   $p=0.002$ ) (Fig. 2). Hubieron 3 hembras que no pusieron huevos fértiles en la segunda réplica, esas hembras habían recibido poco eyaculado. Se calculó también la proporción de huevos fértiles, con respecto al total de huevos puestos, y se encontró una diferencia significativa ( $z=-2.812$   $p=0.005$ ).

Tabla 1. Comparación de los componentes de adecuación medidos en hembras que recibieron diferente cantidad de eyaculado durante la cópula. Los valores de z y p corresponden a las pruebas de Wilcoxon hechas a cada variable. H-P corresponde al tiempo que pasa el individuo desde el huevo hasta que se forma la pupa. P-A corresponde al tiempo de pupa hasta que emerge el adulto. El tamaño es del ala anterior derecha (en cm).

Variable	Media	Mediana	Q <sub>i</sub> - Q <sub>s</sub>	Mín - Max	N	Media	Mediana	Q <sub>i</sub> - Q <sub>s</sub>	Mín - Max	N	Z	p
Hembra que recibió eyaculado grande					Hembra que recibió eyaculado pequeño							
<b>Huevos puestos</b>	333.46	332.50	301.5 - 363.75	202 - 464	28.00	294.25	323.00	257.5 - 351.75	0 - 410	28.00	-1.605	0.108
<b>Huevos eclosionados</b>	262.61	260.50	225.25 - 293.75	144 - 378	28.00	201.57	228.00	139.75 - 267.75	0 - 392	28.00	-3.097	0.002
<b>Proporción eclosionados</b>	0.81	0.84	0.722 - 0.912	0.50 - 0.96	28.00	0.65	0.75	0.601 - .803	0 - 0.96	28.00	-2.812	0.005
<b>Longevidad</b>	42.00	40.00	33.25 - 53.5	16 - 63	28.00	41.39	39.00	35 - 48.75	16 - 63	28.00	-0.353	0.724
<b>H-P hijos*</b>	30.36	30.00	30 - 31	28 - 33	37.00	30.29	30.00	29 - 31	28 - 33	34.00	-0.231	0.817
<b>P-A hijos*</b>	18.15	17.00	16 - 21	15 - 22	37.00	16.17	17.88	16 - 20	15 - 22	34.00	-0.374	0.709
<b>Tamaño hijos*</b>	1.71	1.73	1.68 - 1.74	1.6 - 1.82	37.00	1.71	1.70	1.68 - 1.73	1.63 - 1.80	34.00	-0.823	0.411

\*Estadísticos calculados a partir de las medias de las muestras de huevos puestos por cada hembra de los tratamientos. Se juntaron los datos de los huevos obtenidos en el día 1 de ambas réplicas.

Tabla 2. Comparación de las características de los hijos de las hembras que recibieron diferente cantidad de eyaculado. Los valores de z y p corresponden a las pruebas de Wilcoxon hechas a cada variable. H-P corresponde al tiempo que pasa el individuo desde el huevo hasta que se forma la pupa. P-A corresponde al tiempo de pupa hasta que emerge el adulto. El tamaño es del ala anterior derecha (en cm).

Variable	Media	Mediana	Q <sub>i</sub> - Q <sub>s</sub>	Mín - Max	N	Media	Mediana	Q <sub>i</sub> - Q <sub>s</sub>	Mín - Max	N	Z	p
Hembra que recibió eyaculado grande					Hembra que recibió eyaculado pequeño							
<b>H-P hijos*</b>	30.36	30.00	30 - 31	28 - 33	37.00	30.29	30.00	29 - 31	28 - 33	34.00	-0.231	0.817
<b>P-A hijos*</b>	18.15	17.00	16 - 21	15 - 22	37.00	16.17	17.88	16 - 20	15 - 22	34.00	-0.374	0.709
<b>Tamaño hijos*</b>	1.71	1.73	1.68 - 1.74	1.6 - 1.82	37.00	1.71	1.70	1.68 - 1.73	1.63 - 1.80	34.00	-0.823	0.411
<b>H-P hijos D5+</b>	30.56	30.00	30 - 31.75	28 - 34	16.00	30.69	31.00	29.75 - 31.75	27 - 33	13.00	-0.359	0.719
<b>P-A hijos D5+</b>	20.38	20.75	20 - 21	18 - 22	16.00	20.19	20.00	20 - 20	20 - 21.5	13.00	-0.812	0.417
<b>Tamaño hijos D5+</b>	1.71	1.72	1.67 - 1.75	1.62 - 1.79	16.00	1.69	1.70	1.66 - 1.73	1.6 - 1.77	13.00	-0.945	0.345
<b>H-P hijos D10+</b>	32.10	32.00	31 - 32.5	30 - 35	15.00	32.82	32.00	31.5 - 34	30.5 - 36	11.00	-1.254	0.210
<b>P-A hijos D10+</b>	19.27	19.00	19 - 20	18 - 20	15.00	19.50	19.00	19 - 20	18.5 - 21	11.00	-0.086	0.931
<b>Tamaño hijos D10+</b>	1.72	1.73	1.68 - 1.78	1.6 - 1.82	15.00	1.66	1.66	1.62 - 1.7	1.6 - 1.74	11.00	-2.225	0.026

\* Estadísticos calculados a partir de las medias de las muestras de huevos puestos por cada hembra de los tratamientos. Se juntaron los datos de los huevos obtenidos en el día 1 de ambas réplicas.

+ Estadísticos calculados a partir de las medias de las muestras de huevos puestos los días 5 y 10 por cada hembra de los tratamientos. Sólo se cuenta con los datos de la réplica B.

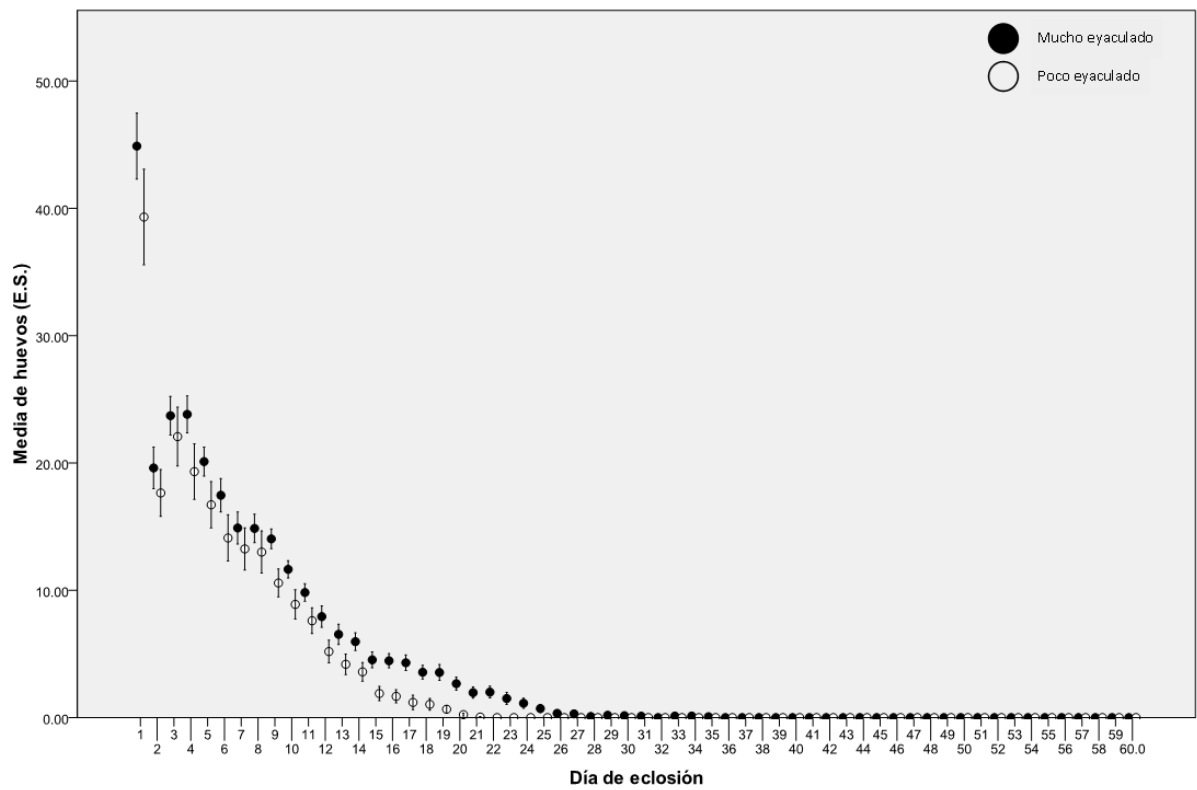
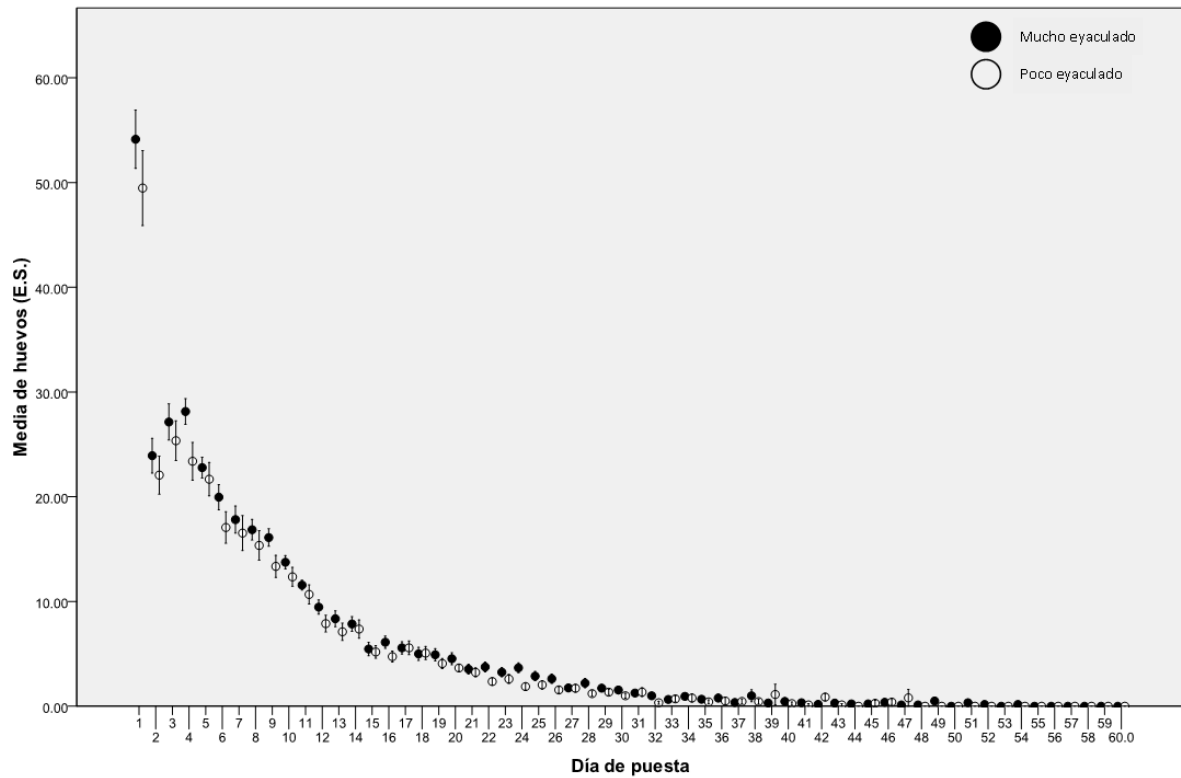


Fig 1. Número promedio de huevos puestos ( $\pm$  E. S.) (arriba) y huevos eclosionados ( $\pm$  E. S.) (abajo) en función del día después de la cópula.

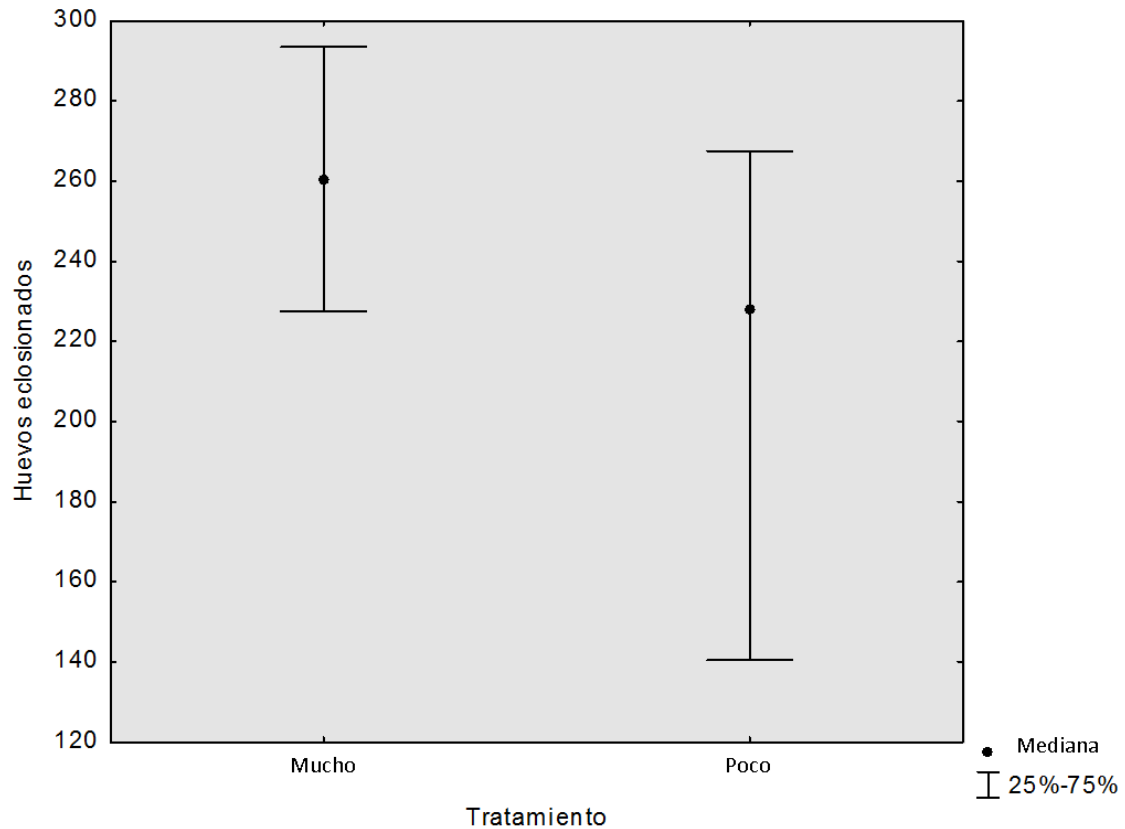


Fig 2. Mediana (Q25%- Q75%) del número total de huevos eclosionados de las hembras que recibieron mucho eyaculado y las que recibieron poco.

### *Efecto en las características de la descendencia*

No se encontró ningún efecto del tamaño del eyaculado en las características de los hijos; ni en duración del ciclo de vida, ni en el tamaño de los adultos, en aquellos hijos cuyos huevos fueron puestos en los días 1 y 5 después de la cópula. Solamente se encontró un efecto positivo de la cantidad de eyaculado en el tamaño de los hijos adultos, cuyos huevos fueron puestos el décimo día después de la cópula ( $z=-2.225$   $p= 0.026$ ) (Fig. 3).

### *Efecto en la longevidad*

La cantidad de eyaculado recibida no tuvo ningún efecto en la longevidad de las hembras ( $z=-.353$   $p=0.724$ ). Se hizo un análisis en el que solamente se tomaron en cuenta los días que vivió la hembra después de haber copulado y tampoco hubo un efecto significativo.

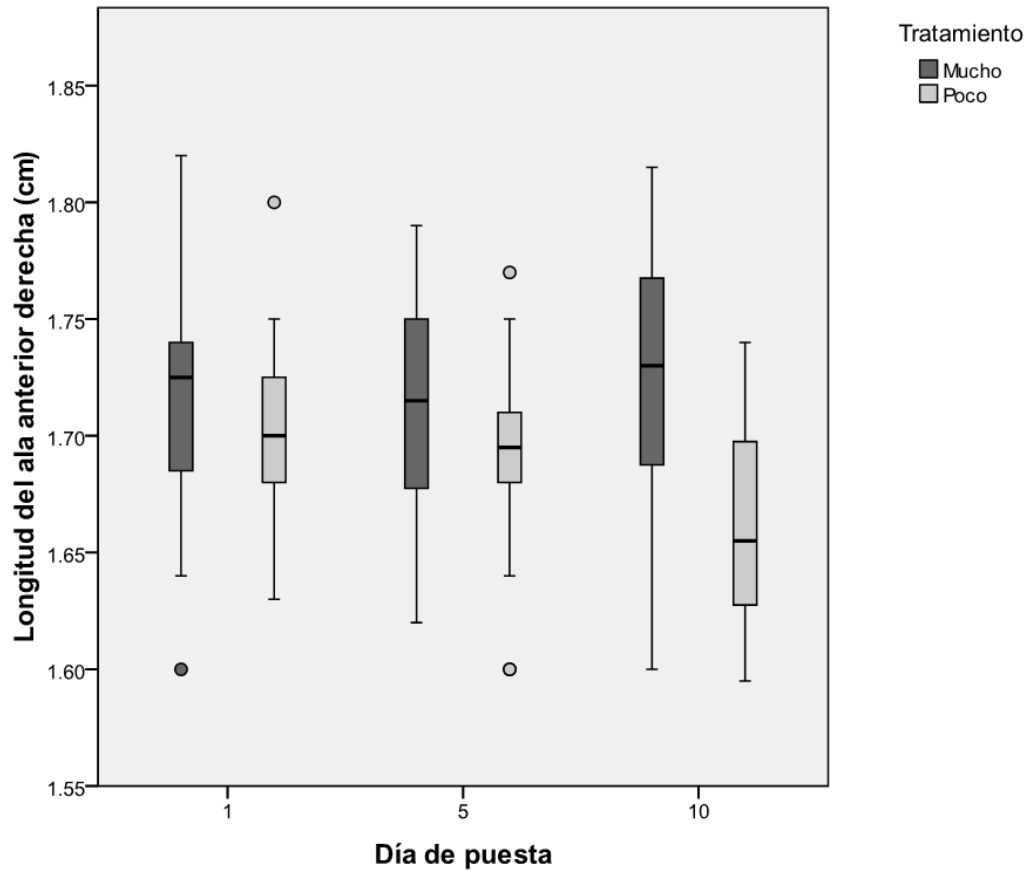


Fig 3. Mediana ( $\pm$  cuartil inferior y cuartil superior;  $\pm$  mínimo y máximo) para longitud total (cm) del ala anterior derecha de una muestra de la progenie según el tratamiento. Se muestran los gráficos para muestras tomadas los días 1, 5 y 10 después de la cópula. Los puntos corresponden a "outliers".

## Discusión

Los resultados muestran que hay una diferencia en el número total de huevos eclosionados entre aquellas hembras que recibieron mucho y las que recibieron poco eyaculado. Esta diferencia se mantiene incluso en la proporción de huevos eclosionados con relación al número de huevos puestos. En la figura 1 se observa que la diferencia en la fertilidad entre tratamientos se hace más evidente 10 días después de la cópula.

Los datos obtenidos muestran una diferencia en la fertilidad de hembras apareadas con machos vírgenes y aquellas apareadas con machos previamente apareados. Esto se puede deber a que los machos están experimentando agotamiento espermático. Sin embargo al ser esta una especie donde la mayoría de las hembras sólo se aparean una vez, se espera que el eyaculado de los machos contuviera suficientes espermatozoides para fertilizar todos los huevos de la hembra. La tasa a la que las hembras ponen huevos en el laboratorio podría no ser la misma que en condiciones naturales, en el laboratorio las hembras están expuestas a estímulos constantes (contacto con la planta hospedera en un espacio pequeño, condiciones de luz y temperatura ideales) que podrían ocasionar que pusieran muchos más huevos por día, agotando más rápido los espermatozoides donados por el macho.

Algo que no se midió en el laboratorio fue la supervivencia de las larvas, esto nos hubiera dado una mejor idea de si los recursos del macho están repercutiendo de manera positiva en la descendencia, asegurando la supervivencia en los primeros estadios larvales. Se encontró que los hijos que nacieron de los huevos puestos 10 días después de la cópula, alcanzaron un mayor tamaño al llegar a adultos. Como ya se había mencionado, las hembras de *C. xami* tienen huevos maduros al momento de emerger, por lo que se espera que las donaciones del macho se vean reflejadas varios días después de la cópula.

Es importante tener en cuenta la posibilidad de que no se haya detectado un efecto positivo de las donaciones del macho, en otro componentes de la adecuación, debido a las condiciones en las que se mantiene a los individuos en el laboratorio. En el laboratorio las larvas siempre tienen acceso a hojas para alimentarse, por lo que no sufren ningún tipo de restricción, mientras que en una situación natural el ambiente es muy cambiante, y la calidad de las plantas varía dependiendo de la estación. El efecto sobre la adecuación podría depender de la cantidad y la calidad de los recursos en el ambiente en un momento determinado. Si las

hembras son sometidas a condiciones desfavorables como falta de alimento o malas condiciones climáticas, y se vieran reducidas en su ingesta energética debido a esto, las aportaciones del macho en el eyaculado se volverían cruciales para el aprovisionamiento de huevos y la supervivencia. En los experimentos de laboratorio los individuos son generalmente mantenidos en condiciones óptimas, y esto podría estar enmascarando posibles costos y beneficios ecológicos. Una forma de medir estos costos sería restringir el alimento a las hembras en diferentes estadios (larval y adulto) y medir cómo afecta la cantidad de eyaculado a la adecuación de hembras "bien alimentadas" en comparación con las hembras "mal alimentadas". Cordero (2000) realizó un experimento en el que midió la supervivencia de machos de *Callophrys xami*, que se apareaban a diferentes tasas, y sólo encontró un efecto negativo en la longevidad en machos que habían sido privados de alimento en el último estadio larval. Otro aspecto interesante sería observar si aquellas hembras que han sido restringidas de alimento, aceptan reaparearse, para compensar la carencia de nutrientes almacenados.

Por otra parte, algunos autores plantean que no se encuentra un patrón claro en cuanto a los beneficios de los eyaculados, debido a que no hay una relación entre el tamaño y la calidad del eyaculado (Delisle 1997). Marshall y McNeil (1989) no encontraron una relación entre la cantidad de algunos componentes del eyaculado como lípidos totales y carbohidratos y el tamaño de éste. Bissoondath y Wiklund (1995), por otro lado, encontraron que los eyaculados de machos de especies poliándricas contienen más proteínas, en comparación con los producidos por machos de especies monándricas. Podría ser que los machos en especies monándricas, aunque producen eyaculados de menor tamaño, estuvieran concentrando otros compuestos, distintos a las proteínas, que no beneficien mucho a la producción de huevos y por tal razón, no se observe un efecto claro en esta especie. Estos compuestos podrían ser otro tipo de nutrientes o sustancias estimulantes y/o inhibitoras.

Un aspecto interesante de *C. xami* es que las hembras tienen una fuerte tendencia a la monandria (Cordero 1999), mientras que en Lepidoptera el patrón de apareamiento más común es la poliandria. En vista de que se ha documentado que las hembras de varias especies obtienen beneficios materiales de ser poliándricas (Karlsson, 1998; Arnqvist & Nilsson, 2000), entonces ¿por qué en algunas especies las hembras muestran una fuerte tendencia a aparearse pocas veces o en sólo una ocasión? Ya se mencionó que los machos tienen la capacidad de manipular a las hembras para prevenir que éstas copulen con otro

macho inmediatamente y así evitar la competencia espermática. Si aparearse muchas veces es beneficioso para las hembras, esperaríamos encontrar adaptaciones para contrarrestar la manipulación y aparearse con el número de machos que maximice su adecuación. En este contexto de coevolución sexual, los machos podrían estar "ganando", al lograr que la tasa de apareamiento de sus parejas sea muy baja. Para poder sacar conclusiones más acertadas, definitivamente se necesita acumular más información sobre la composición de los espermatozoides y las sustancias accesorias, y su relación con la masa y el tamaño de los mismos en especies con diferentes patrones de apareamiento.

Otro escenario que puede explicar los bajos niveles de poliandria, es que a algunas hembras les conviene aparearse una sola vez. Sin embargo esto genera la pregunta de por qué dentro de una especie con tendencia a la monandria, encontramos hembras que se aparean varias veces (21.4% en una muestra de campo (Cordero, 1999)) . La variación individual puede estar jugando un papel importante. Bergström y Wiklund (2002) encontraron que, en la especie *Pieris napi*, las hembras de mayor tamaño (y por lo tanto más fecundas) se aparearon a una tasa mayor que las más pequeñas. Si la monandria se debe a una manipulación de los machos, alguna característica individual de algunas de las hembras (e.g. degradar más rápido el espermatozoides) podría permitirles librarse de las estrategias del macho y obtener los beneficios de copular varias veces. Wedell et al. (2002) sugieren que dentro de una misma especie se pueden encontrar las dos estrategias de reproducción en las hembras, la monandria y la poliandria. El no depender completamente de los recursos donados por los machos puede ser beneficioso, sobre todo en situaciones en las que los machos se vuelven escasos o el ambiente es muy desfavorable y la búsqueda de pareja se vuelve muy costosa. Por lo que algunas hembras adoptarían la estrategia de aparearse poco y depender sólo de los recursos que obtuvieron en la etapa larval. En este escenario, a una proporción de las hembras les es más beneficioso copular muy poco. Si, por el contrario, aparearse muy poco es lo mejor en general, y sólo algunas hembras se verán beneficiadas de una estrategia poliábrica, la explicación podría ser distinta. Elzinga et al. (2011) encontraron que en Naryciinae, un grupo donde las hembras solamente copulan una vez y los machos pueden fallar en transferir un espermatozoides o espermatozoides suficientes, después de copular varias veces; algunas hembras buscaron reaparearse si su primera cópula resultaba infructuosa. En *C. xami*, Abundis (2006) observó que algunas de las hembras que se aparearon en su experimento, habían tenido primeras cópulas muy cortas, o el primer macho había fallado en transferir un espermatozoides, lo cual induciría a las hembras a buscar una segunda pareja para compensar la



falta de eyaculado. Si, como sugieren los resultados de este trabajo, en *C. xami* el tamaño del eyaculado no incrementa la adecuación femenina y a los machos les cuesta producir eyaculados (Cordero, 1995), las observaciones de Abundis (2006) nos ayudan a responder por qué los machos no reducen los costos produciendo eyaculados más pequeños en sus primeras cópulas.

Los resultados de nuestro experimento se suman a estudios recientes en los que se está usando una aproximación experimental más adecuada para evaluar el papel del tamaño de los eyaculados en la adecuación de hembras monándricas (Lauwers & Van Dyck, 2006; Elzinga et al., 2011). Sin embargo, aun se necesitan más datos sobre las estrategias de apareamiento de las hembras en vida libre y su relación con otros factores abióticos.

## Bibliografía

- ABUNDIS, L. (2006). Estudios sobre las causas y consecuencias de la tendencia a la monandria en la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae). — Universidad Nacional Autónoma de México.
- ARNQVIST, G. & NILSSON, T. (2000). The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. — *Animal Behaviour* 60, 145-164.
- BERGSTRÖM, J. & WIKLUND, C. (2002). Effects of size and nuptial gifts on butterfly reproduction: can females compensate for a smaller size through male-derived nutrients? — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 52, 296-302.
- BISSOONDATH, C. J. & WIKLUND, C. (1995). Protein content of spermatophores in relation to monandry/polyandry in butterflies. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 37, 365-371.
- . (1996). Male butterfly investment in successive ejaculates in relation to mating system. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 39, 285-292.
- BOGGS, C. L. (1990). A general model of the role of male-donated nutrients in female insects' reproduction. — *The American Naturalist* 136, 598-617.
- BOGGS, C. L. & GILBERT, L. E. (1979). Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer nutrients at mating. — *Science* 206, 83-84.
- CORDERO, C. (1995). Ejaculate substances that affect female insect reproductive physiology and behavior: honest or arbitrary traits? — *Journal of theoretical biology* 174, 453-461.
- . (1996). On the evolutionary origin of nuptial seminal gifts in insects. — *Journal of Insect Behavior* 9, 969-974.
- . (1998). Ecología del comportamiento sexual de los machos de la mariposa *Callophrys xami*, con algunas consideraciones acerca de la evolución del semen de insectos. — Universidad Nacional Autónoma de México.
- . (1999). Is spermatophore number a good measure of mating frequency in female *Callophrys xami* (Lycaenidae)? — *Journal of the Lepidopterists' Society* 53, 169-170.
- . (2000). Trade-off between fitness components in males of the polygynous butterfly *Callophrys xami* (Lycaenidae): the effect of multiple mating on longevity. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48, 458-462.
- CORDERO, C., MACÍAS, R. & JIMÉNEZ, G. (1996 (2000)). The number of copulations of territorial males of the butterfly *Callophrys xami* (Lycaenidae). — *Journal of Research on the Lepidoptera* 35, 78-89.

- CORDERO, C. & SOBERÓN, J. (1990). Non-resource based territoriality in males of the butterfly *Xamia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). — *Journal of Insect Behavior* 3, 719-732.
- DRUMMOND III, B. A. (1984). Multiple mating and sperm competition in the Lepidoptera. — In: *Sperm competition and the evolution of animal mating systems* (R. Smith, ed). Academic Press, p. 291-370.
- DUSSOURD, D. E., UBIK, K., HARVIS, C., RESCH, J., MEINWALD, J. & EISNER, T. (1988). Biparental defensive endowment of eggs with acquired plant alkaloid in the moth *Utetheisa ornatrix*. — *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 85, 5992-5996.
- ELZINGA, J. A., VERONICA, C., ALESSANDRO, G. & JOHANNA, M. (2011). Influence of male mating history on female reproductive success among monandrous Naryciinae (Lepidoptera: Psychidae). — *Ecological Entomology* 36, 170-180.
- FRIEDLÄNDER, M. (1997). Control of the eupyrene–apyrene sperm dimorphism in Lepidoptera. — *Journal of Insect Physiology* 43, 1085-1092.
- HUGHES, L., SIEW-WOON CHANG, B., WAGNER, D. & PIERCE, N. E. (2000). Effects of mating history on ejaculate size, fecundity, longevity and copulation duration in the ant-tended lycaenid butterfly, *Jalmenus evagoras*. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 47, 119-128.
- KARLSSON, B. (1995). Resource allocation and mating systems in butterflies. — *Evolution* 49, 955-961.
- . (1998). Nuptial gifts, resource budgets, and reproductive output in a polyandrous butterfly. — *Ecology* 79, 2931-2940.
- LAUWERS, K. & VAN DYCK, H. (2006). The cost of mating with a non-virgin male in a monandrous butterfly: experimental evidence from the speckled wood, *Pararge aegeria*. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60, 69-76.
- LEOPOLD, R. A. (1976). The role of male accessory glands in insect reproduction. — *Annual Review of Entomology* 21, 199-221.
- MARCOTTE, M., DELISLE, J. & MCNEIL, J. N. (2007). Effects of different male remating intervals on the reproductive success of *Choristoneura rosaceana* males and females. — *Journal of Insect Physiology* 53, 139-145.
- MARSHALL, L. D. & MCNEIL, J. N. (1989). Spermatophore mass as an estimate of male nutrient investment: a closer look in *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae). — *Functional Ecology* 3, 605-612.
- OBERHAUSER, K. S. (1988). Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. — *Animal Behaviour* 36, 1384-1388.

- PARLANGE, P. (1991). Ciclo de vida de *Sandía xami* (Lepidoptera: Lycaenidae) su biología y notas acerca de su cultivo en laboratorio. — Universidad Nacional Autónoma de México.
- ROYER, L. & MCNEIL, J. N. (1993). Male investment in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae): impact on female longevity and reproductive performance. — *Functional Ecology* 7, 209-215.
- 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, 319-321.
- SIMMONS, L. W. & PARKER, G. A. (2010). Nuptial feeding in insects: mating effort versus paternal investment. — *Ethology* 81, 332-343.
- SOBERÓN, J., CORDERO, C., BENREY, B., PARLANGE, P., GARCIA-SÁEZ, C. & BERGES, G. (1988). Patterns of oviposition by *Sandía 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, A* 130, 191-199.
- SVÄRD, L. & WIKLUND, C. (1989). Mass and production rate of ejaculates in relation to monandry/polyandry in butterflies. — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 24, 395-402.
- THORNHILL, R. & ALCOCK, J. (1983). The evolution of insect mating systems. — *Iuniverse.Com*.
- TORRES-VILA, L. M. & JENNIONS, M. D. (2005). Male mating history and female fecundity in the Lepidoptera: do male virgins make better partners? — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 57, 318-326.
- TORRES-VILA, L. M., RODRIGUEZ-MOLINA, M. C. & JENNIONS, M. D. (2004). Polyandry and fecundity in the Lepidoptera: can methodological and conceptual approaches bias outcome? — *Behavioral Ecology and Sociobiology* 55, 315-324.
- TORRES-VILA, L. M., RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C., ROEHRICH, R. & STOCKEL, J. (1999). Vine phenological stage during larval feeding affects male and female reproductive output of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). — *Bulletin of Entomological Research* 89, 549-556.
- VAHED, K. (1998). The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. — *Biological Reviews* 73, 43-78.
- WATANABE, M. & HIROTA, M. (1999). Effects of sucrose intake on spermatophore mass produced by male swallowtail butterfly *Papilio xuthus* L. — *Zoological Science* 16, 55-61.

- WEDELL, N. (2005). Female receptivity in butterflies and moths. — *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: Biological Sciences* 266, 1033-1039.
- WEDELL, N., WIKLUND, C. & COOK, P. A. (2002). Monandry and polyandry as alternative lifestyles in a butterfly. — *Behavioral Ecology* 13, 450-455.
- WICKLER, W. (1985). Stepfathers in insects and their pseudo-parental investment. — *Zeitschrift für Tierpsychologie* 69, 72-78.
- WINTER JR., W. D. (2000). Basic techniques for observing and studying moths and butterflies. —
- ZAHAVI, A. & ZAHAVI, A. (1999). *The handicap principle: A missing piece of Darwin's puzzle.* — Oxford University Press, USA.
- ZIEGLER, J. B. & ESCALANTE, T. (1964). Observations on the life history of *Callophrys xami* (Lycaenidae). — *Journal of the Lepidopterists' Society*, 85-89.