



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CONDUCTA DURANTE LA CÓPULA DE HEMBRAS  
DE LA MARIPOSA MONÁDRICA *Callophrys xami*.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:**

**DAVID XOCHIPILTECATL GARCÍA**



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

**2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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

Apellido paterno	Xochipiltecatl
García	García
Nombre	David
Universidad Nacional Autónoma de México	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias	Facultad de Ciencias
Carrera	Biología
Número de Cuenta	402054252

### 2. Datos del tutor

Grado	Dr.
Nombre(s)	Carlos Rafael
Apellido paterno	Cordero
Apellido materno	Macedo

### 3. Datos de sinodal 1

Grado	Dra.
Nombre(s)	Margarita
Apellido paterno	Martínez
Apellido materno	Gómez

### 4. Datos del sinodal 2

Grado	Dra.
Nombre(s)	Laura Roxana
Apellido paterno	Torres
Apellido materno	Avilés

### 5. Datos del sinodal 3

Grado	Dr.
Nombre(s)	Carlos Rafael
Apellido paterno	Cordero
Apellido materno	Macedo

### 6. Datos del sinodal 4

Grado	M. en C
Nombre(s)	Enrique
Apellido paterno	González
Apellido materno	Soriano

### 6. Datos del sinodal 4

Grado	M. en C
Nombre(s)	Nubia
Apellido paterno	Caballero
Apellido materno	Mendieta

### 7. Datos del trabajo escrito

Título	Conducta durante la cópula de hembras de la mariposa monándrica <i>Callophrys xami</i>
Número de páginas	38
Año	2013

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVO.....	6
HIPÓTESIS.....	6
MÉTODO.....	7
Especie estudiada.....	7
Método de crianza.....	7
Tratamientos del experimento.....	8
Oviposición.....	9
Apareamientos.....	9
Fase experimental.....	10
Análisis estadísticos.....	12
RESULTADOS.....	17
Descripción del pateo.....	17
Resultados del experimento.....	17
Cópulas en las que la hembra no pateó o no intentó patear.....	19
Observaciones de reapareamientos.....	20
DISCUSIÓN.....	27
Hipótesis 1: Las patadas tienen la función de cortejo copulatorio.....	27
Hipótesis 2: Las patadas tienen la función de finalizar la cópula.....	28
Posible origen evolutivo del pateo.....	30
Cópulas sin pateo o intento de pateo.....	32
Pateo en los reapareamientos.....	33
CONCLUSIONES.....	34
LITERATURA CITADA.....	36

## RESUMEN

Algunos eventos de la conducta durante la cópula pueden ser producto de la selección sexual, la cual puede continuar una vez que ha iniciado la cópula mediante los procesos de selección sexual post-cópula, que ocurren durante y después de la misma. En las cópulas de los lepidópteros el macho transfiere un espermátforo junto con otras sustancias adicionales al *corpus bursae* de la hembra. Los eyaculados contienen nutrientes que pueden ser usados para la producción de huevos o por la misma hembra, y la producción del eyaculado es costosa para los machos, por lo que éstos solo pueden producir una cantidad limitada. Debido a los costos del eyaculado, los machos podrían ser selectivos en la cantidad que transfieren a las hembras. En algunas cópulas de la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae) las hembras patean al macho durante la cópula, lo que sugiere que las hembras podrían estar señalando a los machos que requieren la transferencia de una mayor cantidad de eyaculado. También es posible que los machos busquen prolongar las cópulas para evitar que las hembras se apareen con otros machos y el pateo que realiza la hembra durante el apareamiento podría tener la función de terminar la cópula cuando es conveniente para ella.

En este trabajo se investigó la función de la conducta de pateo de la hembra durante la cópula, para lo cual se evaluaron dos hipótesis: 1) Las hembras patean a los machos para estimular la transferencia de una mayor cantidad de eyaculado; 2) Las hembras patean a los machos para finalizar la cópula en el momento en que ellas deciden, ya sea al (a) forzar la separación del macho o (b) señalar al macho que quieren separarse, induciéndolo a terminar la cópula. Para esto se realizó un experimento en el que se llevaron a cabo apareamientos de hembras vírgenes en una de las siguientes condiciones: 1) Hembras intactas, a las que se les permitió patear al macho durante la cópula; 2) Hembras experimentales, a las cuales se les amputó el último segmento del segundo par de patas, de modo que no se les permitió patear al macho durante la cópula; y 3) Hembras a las que se les cortó el segundo par de patas, el cual no es usado para patear al macho, para controlar el efecto del corte. Se evaluaron las hipótesis comparando el tamaño de los eyaculados transferidos por los machos, la duración de los apareamientos y la forma en que ocurrió el pateo entre las diferentes condiciones.

De acuerdo con la primera hipótesis se esperaba que el pateo aumentara la cantidad de eyaculado que transferían los machos, sin embargo las diferencias en el tamaño eyaculado transferido por los machos que recibieron y los que no recibieron patadas no fueron significativas, por lo que estos resultados no apoyan la predicción de la primera hipótesis.

De acuerdo con la segunda hipótesis se esperaba que las hembras que no patearan a los machos tardaran más en separarse de los machos y que estas cópulas fueran más largas. También se esperaba que el pateo de las hembras ocurriera cerca del final de las cópulas. Se encontró que la duración de las cópulas y del periodo de pateo no fueron significativamente diferentes entre los tres grupos, sin embargo el pateo inició cerca del final de las cópulas y el pateo aumentó el tiempo máximo de duración de las cópulas, por lo que los resultados en apoyo a esta hipótesis fueron ambiguos. Las hembras patean a los machos alternando sus patas para golpearlo y a la vez caminan jalándolo y flexionando su cuerpo, a lo que el macho responde tratando de alejarse de la hembra y retirando su abdomen, por lo que esta conducta podría actuar como una señal para indicar al macho que la hembra quiere terminar la cópula (como lo indica la hipótesis 2b).

Se encontró que las hembras comúnmente recurren a esta conducta en las cópulas independientemente de su condición. En los casos en que las hembras no patearon a los machos estos se separaron al terminar de transferir el eyaculado. Las hembras que no patearon o no intentaron patear a los machos fueron significativamente más grandes y recibieron eyaculados más grandes que las que patearon, lo que sugiere que los machos transfieren eyaculados más grandes a hembras más grandes y que estos se separan al terminar de transferir los eyaculados sin buscar prolongar las cópulas. También se observaron reapareamientos de algunos machos que ocurrieron el mismo día y al día siguiente de su primer cópula y se encontró que las hembras patean a estos al final de las cópulas del mismo modo que patean a los machos vírgenes.

Las observaciones y resultados sugieren que el pateo inicia cuando las hembras perciben que el macho ha terminado de transferir el eyaculado, cuando estos podrían estar buscando prolongar las cópulas. El pateo y los movimientos que lo acompañan podrían ayudar a las hembras separarse de los machos en contra de los intereses de estos cuando ya no reciben eyaculado y reducir así costos de las cópulas, por lo que esta conducta podría estar siendo favorecida por selección natural.

## INTRODUCCION

Algunos aspectos de la conducta durante la cópula pueden ser un producto de la selección sexual y afectar de manera determinante la supervivencia y reproducción de los individuos. La selección sexual puede continuar una vez que ha iniciado la cópula mediante procesos que ocurren durante y después de la misma. A estos procesos se les denomina selección sexual postcópula (Eberhard, 1994, 1996, 2009).

La selección postcópula ocurre principalmente por los procesos de competencia espermática y de elección críptica femenina. La competencia espermática ocurre cuando hay competencia entre eyaculados de diferentes machos por la fertilización de los óvulos dentro del tracto genital femenino (Birkhead & Parker, 1997; Parker & Pizzari, 2010), mientras que la elección críptica ocurre cuando una hembra que copula con varios machos es capaz de elegir el espermatozoide de uno de ellos o modificar la probabilidad de utilizar éste, en base a un rasgo particular del macho, para la fertilización de sus huevos (Eberhard, 1994, 1996, 2009)

De acuerdo con la teoría de la elección críptica femenina, en casos en los que la hembra copula con más de un macho, ella puede ejercer un efecto selectivo sobre los machos mediante procesos que ocurren durante o después de la cópula (Eberhard, 1996). Entre los procesos controlados por la hembra que modifican la probabilidad de que una cópula resulte en la fertilización de los huevos se encuentran el permitir el acceso de los genitales del macho a regiones internas, el acceder a manipulaciones por parte del macho que resultan en la descarga de los espermatozoides, el transporte del espermatozoide a los sitios de almacenamiento o de fertilización y el abstenerse de copular con otros machos (Eberhard, 1994, 1996, 2009). En la elección críptica las hembras llevan a cabo estos procesos de manera diferente ante distintos machos y pueden sesgar la paternidad hacia aquellos que son capaces de inducirlos a llevar a cabo estos procesos mejor que otros machos, por lo que estos tienen una ventaja selectiva. Los rasgos de los machos que pueden ser seleccionados mediante la elección críptica femenina pueden ser morfológicos, fisiológicos o conductuales (Eberhard, 1996, 2009).

Entre los procesos que influyen en la elección críptica femenina se encuentra la conducta de cortejo que realiza el macho durante y después de la cópula, llamado cortejo copulatorio (Eberhard, 1994, 1996, 2009). El cortejo copulatorio ocurre en una gran cantidad de especies y es muy común entre insectos (Eberhard, 1994, 1996). Incluye una gran variedad de movimientos en los que se utilizan distintas partes del cuerpo, los cuales pueden ser identificados como cortejo mediante observación y experimentación (Eberhard, 1994, 1996). Hay evidencia de que los roles en el cortejo copulatorio se invierten en especies en donde los

machos parecen donar recursos a las hembras (Eberhard, 2006; Ortiz, 2002: citado en Eberhard, 2009). Al invertirse los roles en la elección críptica el macho selecciona la cantidad de recursos que invierte en la hembras de acuerdo con su calidad (Bonduriansky 2001).

La producción del eyaculado es costosa para los machos y estos solo pueden producir una cantidad limitada (Dewsbury, 1982; Svard, 1985, Cordero, 2000). En los lepidópteros, los machos transfieren nutrientes durante la cópula, los cuales pueden ser usados para la producción de huevos o para el mantenimiento de la hembra (Boggs & Gilbert, 1979; Marshall, 1982). Debido a los costos del eyaculado, el macho podría ser selectivo en la cantidad de eyaculado que transfiere a la hembra, como ocurre en la mariposa *Pieris rapae* (Lepidoptera), en la cual la calidad de la hembra puede influenciar la cantidad de eyaculado que le transfiere el macho (Wedell & Cook, 1999). La posibilidad de que la hembra reciba nutrientes en el eyaculado por parte del macho podría llevarla a realizar cortejo copulatorio para obtener una mayor cantidad de eyaculado. Observaciones realizadas en el laboratorio del Dr. Carlos Cordero (IE, UNAM) muestran que en algunos apareamientos de la mariposa *Callophrys xami* (Lycaenidae) las hembras patean al macho durante la cópula, lo cual sugiere una función de cortejo. Por medio de esta conducta, las hembras podrían estar señalando a los machos que requieren la transferencia de una mayor cantidad de eyaculado.

En las cópulas de los lepidópteros el macho sujeta la punta del abdomen de la hembra con las *valvulae*, un par de órganos articulados situados lateralmente en la punta de su abdomen que forman una pinza, y por transferencia secuencial de esperma y de secreciones de su tracto reproductivo, forma un espermatóforo en el *corpus bursae* (estructura en forma de bolsa) de la hembra. Previo a la formación del espermatóforo los machos transfieren sustancias adicionales que son secretadas por las glándulas accesorias del macho y forman una masa opaca que se encuentra en el *corpus bursae* junto con el espermatóforo. El espermatóforo es formado por la transferencia secuencial de esperma y de secreciones del tracto reproductivo del macho. Una vez que se ha terminado de transferir el esperma, se transfiere el *collum* (estructura esclerotizada que forma la punta del espermatóforo), el cual es moldeado y retenido en el edeago y es transferido al final de la cópula (Drummond, 1984; Kristensen, 2003).

La competencia espermática, como parte de la selección sexual, es una fuerza selectiva que moldea cambios adaptativos morfológicos, fisiológicos y conductuales. Debido a ésta, los machos desarrollan adaptaciones para evitar que otros machos inseminen a las hembras con las que se aparean (Birkhead & Parker, 1997). Una estrategia común para esto es el resguardo de la hembra. En especies en las que la hembra puede almacenar esperma, el resguardo puede



ocurrir manteniéndose en contacto con la hembra o siguiéndola. Una forma de resguardar a las hembras es prolongar las cópulas. Mediante esta estrategia los machos evitan que las hembras con las que están copulando copulen con otros machos durante este tiempo, evitando que su esperma entre en competencia con el de otros machos (Birkhead & Parker, 1997). Otra forma de evitar la competencia espermática es inhibir la receptividad de la hembra. En los lepidópteros, la receptividad de la hembra está relacionada con la distensión de su *corpus bursae* y al transferir espermátóforos más grandes, los machos pueden inhibir su receptividad, e imponer dificultades mecánicas para que otros machos introduzcan sus propios espermátóforos (Sugawara 1979; Svard, 1985; Svard & Wiklund, 1986).

En *C. xami* las hembras son consideradas ligeramente poliándricas (tasa de apareamiento estimada de hembras apareadas en el campo promedio  $\pm$  error estándar =  $1.37 \pm 0.6$ , Cordero 2000). La posibilidad de que las hembras copulen con varios machos puede llevar a que los machos prolonguen la cópula como forma de resguardo de la hembra o para continuar con la transferencia del espermátóforo hasta que este alcance un tamaño óptimo que les permita inhibir la receptividad de la hembra. Por su parte la hembra podría buscar copular con varios machos debido a los beneficios potenciales de las cópulas, los cuales pueden ser directos, como nutrientes contenidos en el espermátóforo, o indirectos (beneficios genéticos para sus descendientes) tales como diversidad genética y calidad de los genes (Birkhead & Parker, 1997). Los beneficios de copular múltiples veces podrían llevar a la hembra a interrumpir la cópula cuando sea conveniente para ella. El tiempo de inversión en la cópula es costoso ya que este conlleva riesgo de depredación o heridas y gasto de energía (Daly, 1978; Kaitala & Wiklund, 1994; Rowe, 1994; Watson *et al.*, 1998) por lo que para la hembra sería costoso prolongar las cópulas y si no obtiene un beneficio a cambio de esto podría preferir terminarlas en un tiempo distinto que el macho (cuando el macho ya no transfiere eyaculado, o cuando decide terminar la cópula para buscar otro macho con quien copular posteriormente). Cuando los intereses evolutivos de machos y hembras no coinciden ocurre conflicto sexual (Parker, 1979; Birkhead & Parker, 1997). En este caso la diferencia de intereses con respecto a la duración de las cópulas entre machos y hembras debida a la selección sexual puede llevar a la hembra a desarrollar una forma de terminar con las cópulas cuando es conveniente para ella. El pateo que realiza la hembra de *C. xami* podría tener esta función. Mediante esta conducta la hembra podría forzar o indicar al macho el final de la cópula. Se evaluaron experimentalmente estas posibles funciones del pateo explorando esta conducta y su efecto en el eyaculado transferido por los machos y en la duración de las cópulas.

## **OBJETIVO**

El objetivo de este trabajo es investigar la función de la conducta de pateo de la hembra durante la cópula.

## **HIPÓTESIS**

Hipótesis 1: Cortejo copulatorio femenino

Las hembras patean a los machos para estimular la transferencia de una mayor cantidad de eyaculado.

Predicción:

- Entre más patee la hembra, más grande será el eyaculado transferido por el macho.

Hipótesis 2: Mecanismo de finalización de la cópula

Las hembras patean a los machos para finalizar la cópula en el momento en que ellas deciden, ya sea (a) forzando la separación del macho o (b) señalando al macho que quieren separarse, induciéndolo a terminar la cópula.

Predicciones:

- Las hembras que no pueden patear al macho no podrán separarse del macho o tardarán más tiempo en hacerlo que las hembras que los patean.
- Las cópulas en las que las hembras patean al macho durarán menos que las cópulas en las que las hembras no patean.
- El pateo de las hembras ocurrirá siempre hacia el final de una cópula previo a su separación del macho.

## **METODO**

### **Especie estudiada**

*Callophrys xami* (Lepidoptera: Lycaenidae) es una mariposa que habita en zonas secas desde Oaxaca hasta el sur de Texas y Arizona (Beutelspacher, 1980, Pyle, 1981). En el Valle de México se encuentran adultos a lo largo de todo el año y su abundancia varía a lo largo de este (Soberon, *et al.*, 1988). Su ciclo de vida completo tiene una duración en promedio de 40 a 50 días. (Parlange, 1991). Las hembras ovipositan sobre las hojas, flores y tallos de plantas de la familia Crassulaceae y al emerger la larva esta se alimenta de la planta. Su principal planta hospedera en el Pedregal de San Angel es *Echeveria gibbiflora* (Soberon, *et al.*, 1988).

Las cópulas en campo de *C. xami* ocurren en territorios defendidos por los machos, donde estos llevan a cabo el cortejo cuando una hembra pasa cerca de uno de estos territorios (Cordero, 1993). Los machos presentan un sistema de apareamiento poligínico (Cordero y Soberón, 1990). En el campo se han registrado hasta 4 cópulas de un mismo macho, y el número máximo de cópulas que pueden tener en un mismo día son dos (Cordero, 1998; Cordero *et al.*, 2000). Las hembras son consideradas ligeramente poliándricas ya que presentan una tasa estimada de apareamiento en el campo de  $1.37 \pm 0.6$  (promedio  $\pm$  error estándar) la cual representa un nivel bajo de poliandria en comparación con otras especies (Cordero 2000). Las observaciones previas de cópulas muestran que las hembras patean a los machos con el tercer par de patas mientras se encuentran unidos a ellos por la punta del abdomen.

### **Método de crianza**

En este estudio se utilizaron adultos de *C. xami*, para lo cual se realizó un cultivo de esta especie en el insectario del Instituto de Ecología de la UNAM, utilizando técnicas de crianza establecidas por Jiménez (1987) y Parlange (1991). Se criaron lotes de *C. xami* para los cuales se colectaron hembras en el Jardín Botánico y la reserva del Pedregal de San Ángel entre Noviembre del 2010 y Febrero del 2011. Además se realizaron colectas en el jardín botánico durante Abril y Mayo del 2011 en las cuales se obtuvieron hembras y machos que fueron utilizados para la crianza de lotes posteriores.

Los lotes de crianza de *C.xami* se obtuvieron a partir de la oviposición de las hembras grávidas colectadas en campo y de hembras previamente criadas en el insectario que se aparearon en cautiverio. Las hembras seleccionadas con este fin fueron colocadas a ovipositar dentro de un bote cilíndrico con una tapa de malla de tela, que contenía hojas de *Echeveria*

*gibbiflora*, de las cuales se alimentaron la larvas al emerger. Una vez que las larvas alcanzaron un tamaño que facilita su manipulación, cada larva fue colocada dentro de una caja de petri junto con un trozo de hoja de *Echeveria gibbiflora*. Se proporcionaron trozos de hojas frescas continuamente para que las larvas se alimentaran *ad libitum* hasta que puparon. Se registró la fecha de oviposición por parte de la madre, la fecha de pupación y la fecha de la emergencia de los adultos.

Se identificó el sexo de cada individuo adulto y se registró su tamaño el día de su emergencia. Para esto se midió el largo del ala anterior derecha desde la base hasta el ápice y se pesó a los individuos con una balanza científica marca *Radwag*, una vez que el individuo soltaba el meconio (sustancia excretada por el ano durante las primeras horas de vida del adulto). De acuerdo al orden en que emergían, a cada adulto se le asignó un número, el cual se le marcó en un ala utilizando un plumón marca *Azor Signal®* de punto fino, con el cual se les identificó posteriormente. Una vez marcados, los adultos fueron separados por sexos en cajas de madera de 30 x 55 x 40 (ancho x largo x altura) con una parte de la pared y el techo formados de malla de tela.

En el día de emergencia de las hembras estas fueron asignadas aleatoriamente a uno de tres grupos y tratadas de acuerdo al grupo asignado. Se procuró tener siempre un número similar de hembras en cada grupo, por lo que la aleatoriedad del procedimiento estuvo limitada por la disponibilidad de hembras recién emergidas y por el número de hembras pertenecientes a cada grupo, asignadas en los días previos.

Todos los adultos fueron alimentados por la mañana de manera *ad libitum* con una solución de agua con azúcar absorbida en una esponja y fueron mantenidos a temperatura ambiente bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz- oscuridad.

### **Tratamientos del experimento**

- La condición de cada hembra de acuerdo al grupo al que fue asignada fue la siguiente:
- Grupo control 1: Hembras sin tratamiento. Estas fueron capaces de patear a los machos durante las cópulas.
  - Grupo control 2: Hembras a las que se les cortó el último segmento del segundo par de patas (las patas de en medio). Esto no evitó que las hembras patearan al macho durante la cópula ya que lo hacen con el tercer par de patas. Con este tratamiento se buscó provocar en los individuos de *C. xami* los efectos que pudieron presentarse debido al corte de las patas, por lo que este grupo sirvió para controlar el efecto del tratamiento.

- Grupo experimental: Hembras a las que se les cortó el último segmento del tercer par de patas (las patas posteriores), con los que la hembra patea al macho durante la cópula. Al cortar el último segmento de las patas traseras se acorta la distancia de las patas y si la hembra patea, las patadas no alcanzan al macho, de modo que este tratamiento evitó que la hembra pateara al macho y a la vez permitió observar si esta intentaba patear.

## **Oviposición**

Cada una de las hembras seleccionadas para ovipositar fue colocada junto con una hoja de *Echeveria gibbiflora* dentro de un bote cilíndrico de 8 cm de diámetro x 15 cm de largo con un orificio cubierto de malla en la tapa. El bote fue colocado aproximadamente 15 cm por debajo de un foco de 75 watts durante periodos de una a dos horas por día.

## **Apareamientos**

En este trabajo se utilizan los términos cópula y apareamiento de manera indistinta. Los apareamientos o cópulas se llevaron a cabo en jaulas cilíndricas de malla de tela de 26 cm de diámetro x 50 cm de largo, denominadas jaulas de apareamiento. Dentro de cada jaula se colocó a una hembra con dos machos, cuidando que los machos provinieran siempre de distinta madre que la hembra para evitar endogamia y tener un mayor éxito de apareamientos. Los sujetos fueron asignados a las jaulas de apareamiento mediante un procedimiento aleatorio aunque limitado por la disponibilidad de adultos al momento de la elección. Para esto se obtuvo al azar a una hembra y a dos machos de sus respectivas cajas. Posteriormente se identificó por su número a los tres sujetos elegidos, y si la madre de machos y hembras coincidía, se repetía el procedimiento hasta obtener una hembra y machos de distinta madre.

Las jaulas de apareamiento fueron colgadas en un perchero y colocadas al aire libre entre las 10:00 y las 17:00 horas, donde recibían directamente la luz del sol, proporcionando así las condiciones bajo las cuales ocurre la reproducción en cautiverio (Jiménez, 1987).

Algunas de las hembras que se aparearon fueron puestas a ovipositar y sus huevos fueron utilizados para continuar con la crianza. Para este fin se seleccionaron varias hembras con el menor parentesco posible, es decir hembras de distintos padre y madre. También fueron puestas a ovipositar algunas hembras obtenidas durante las colectas realizadas en el jardín botánico y que ya se habían apareado, así como hembras apareadas en cautiverio con los machos que se obtuvieron durante estas colectas. El resto de los apareamientos se utilizaron en el experimento realizado.

## Fase experimental

Al ocurrir una cópula se esperó cinco minutos a partir de su inicio para manipular a los individuos con el fin de evitar que la manipulación pudiera provocar la interrupción de la cópula. Transcurridos los cinco minutos, se utilizó una caja de Petri para capturar al macho y la hembra que se encontraban copulando y mantenerlos en esta el resto de la cópula. Las cópulas se filmaron a través de la caja de Petri (figura 1) con una cámara digital Sony HDR-SR1. Una vez terminada la cópula se sacrificó a la hembra por congelamiento. Las hembras sacrificadas fueron mantenidas en congelamiento y posteriormente estas se diseccionaron para obtener y medir sus *corpus bursae* y los espermatozoides contenidos dentro de estos. Algunas hembras vírgenes fueron sacrificadas y mantenidas en congelamiento para pesar sus *corpus bursae* sin el eyaculado transferido por el macho y obtener una medida promedio de su peso, el cual consiste en el peso de la bolsa y posiblemente de sustancias contenidas dentro de esta. Al terminar el apareamiento los machos que se aparearon fueron colocados en otra caja para separarlos de los machos vírgenes. Los machos que no se aparearon fueron devueltos a la caja donde se encontraban los otros machos vírgenes para poder utilizarlos posteriormente en otros apareamientos.

Las hembras apareadas y vírgenes fueron diseccionadas en un microscopio estereoscópico Olympus SZH10. Se obtuvieron los *corpus bursae* de todas las hembras y los espermatozoides contenidos dentro de los *corpus bursae* en el caso de las hembras apareadas (figura 2). Los espermatozoides y *corpus bursae* fueron fotografiados con una cámara digital Olympus C- 5050 zoom. Estas fotografías fueron utilizadas para medir el área de los *corpus bursae* de las hembras apareadas, los espermatozoides contenidos en estos y el largo de su *collum* utilizando el programa Image Tool 3.0. El área de las sustancias adicionales transferidas en la cópula (el contenido del *corpus bursae* que no forma parte del espermatozoides, el cual forma una masa opaca que se distingue de este; Figura 2) se obtuvo restando del área del *corpus bursae* el área del espermatozoides.

Los espermatozoides y *corpus bursae* fueron pesados con una microbalanza Orion Cahn C-33 (precisión de 0.1 µg). Los *corpus bursae* y espermatozoides fueron secados en papel filtro para retirar el líquido en el exterior y así pesar únicamente su contenido. Se secó cada uno de los *corpus bursae* y espermatozoides rotándolos cuidadosamente sobre el papel filtro al momento de extraerlos y se obtuvo su peso. Una vez pesadas estas estructuras se mantuvieron en el papel filtro durante 10 minutos para permitir que todo el líquido exterior fuera absorbido y se obtuvo su peso nuevamente. De este modo se obtuvo el peso de los *corpus bursae* y

espermátóforos secados en el momento y su peso obtenido a los 10 minutos de mantenerse secándose en el papel filtro con el fin de encontrar el método que permita realizar comparaciones más precisas del peso de estas estructuras.

El peso obtenido del *corpus bursae* de las hembras vírgenes consiste en el peso de la bolsa y el de las sustancias que esta pudiera contener antes de la cópula. Durante las disecciones se realizaron pruebas pinchando algunos de los *corpus bursae* de hembras vírgenes y no se encontraron fluidos dentro de estos, por lo que se consideró que el peso obtenido de estos *corpus bursae* representa principalmente el peso del *corpus bursae* vacío. El peso del *corpus bursae* de las hembras vírgenes secados durante 10 minutos (promedio=0.022 mg, EE=0.002 mg) representó únicamente el 0.13% del peso del *corpus bursae* de las hembras apareadas secados durante 10 minutos (promedio= 1.685 mg, EE=0.101 mg), por lo que se consideró que el peso de la bolsa representa una fracción insignificante del peso de los *corpus bursae* de las hembras apareadas, y que cada medida del peso de estos consiste principalmente en el peso del espermátóforo y sustancias adicionales transferidas durante la cópula.

El peso de los *corpus bursae* y los espermátóforos registrados al secarlos y pesarlos en el momento fue mayor al que se obtuvo después de 10 minutos de secarse, lo que muestra que el primero de los pesos registrados incluye algo de líquido que se queda en el exterior del *corpus bursae* y en el espermátóforo. El peso de los *corpus bursae* de las hembras vírgenes también se registró después de secarse durante una hora y cambió muy poco en comparación con el peso registrado después de secarlo por 10 minutos (5% en promedio), por lo que se consideró que la mayor parte del agua que pudiera encontrarse adherida al exterior del *corpus bursae* se seca en los primeros 10 minutos. Debido a esto y a la posibilidad de que el papel filtro pudiera absorber algo del líquido del interior de los *corpus bursae* y de los espermátóforos obtenidos de hembras apareadas al mantenerse sobre este, se consideró innecesario dejar que estas estructuras se secaran por más de 10 minutos. Se encontró una correlación alta entre el peso de los *corpus bursae* obtenido al momento y el peso obtenido a los 10 minutos de secarse ( $r(47)=.97, p<.01$ ), por lo que se consideró que ambas formas de registrar el peso de los *corpus bursae* y los espermátóforos proporciona una buena estimación del peso y que cualquiera de estas sirve para realizar análisis comparativos entre los pesos obtenidos del mismo modo. Algunos de los *corpus bursae* y espermátóforos se perdieron en el proceso de pesarlos por segunda vez debido a la dificultad de manejarlos cuando están secos. Debido a esto se contó con una muestra más grande de *corpus bursae* y espermátóforos registrados al secarlos solo por un momento, por lo que se utilizaron los pesos registrados en

ese momento para comparar las diferencias en la transferencia del eyaculado entre los grupos. El peso de las sustancias adicionales transferidas en la cópula en las hembras apareadas se obtuvo restando el peso del espermátforo del peso del *corpus bursae*.

Se utilizaron los videos de las cópulas para observar la conducta del pateo por parte de las hembras bajo las tres condiciones en que estas se encontraban. Se realizó una descripción general de la conducta de pateo en base a las observaciones. De cada uno de los videos de las cópulas se registró la duración del pateo, el tiempo de duración de la cópula y la latencia desde el inicio de la cópula al inicio del pateo. Utilizando el tiempo de duración de la cópula y la latencia al inicio del pateo se obtuvo el porcentaje del tiempo total de la cópula que había transcurrido en el momento en que inició el pateo en cada caso.

Para descartar la posibilidad de que las diferencias entre las cópulas en los grupos estuvieran relacionadas con tamaño de las hembras o los machos se realizaron ANOVAS o pruebas de Kruskal- Wallis en los casos en los que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos para comparar el peso y el largo de las alas de las hembras y de los machos entre los grupos control 1, control 2 y experimental. También se realizó una correlación de Pearson, o de Spearman cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, entre el peso y el largo del ala de los individuos para corroborar la relación entre ambas medidas. El tamaño de las hembras no fue significativamente diferente entre los tres grupos, tanto en el peso (ANOVA  $F(2,58)=0.010$ ,  $p=0.990$ ) como en la longitud del ala (ANOVA  $F(2,58) =1.354$ ,  $p=0.266$ ) y se encontró una correlación entre ambas medidas del tamaño ( $r(60)=0.63$ ,  $p<0.01$ ). El tamaño de los machos tampoco fue significativamente diferente entre los tres grupos en su peso (Kruskal Wallis,  $N=61$ ,  $p=0.68$ ) ni en el largo del ala (ANOVA  $F(2,58) =1.315$ ,  $p=0.276$ ) y ambas medidas se encontraron relacionadas ( $r_s(60)=0.63$ ,  $p<0.01$ ), por lo que se consideró que el tamaño de los individuos no fue un factor que influyera en de las diferencias encontradas entre los grupos.

Se evaluaron las hipótesis y las predicciones comparando el tamaño de las sustancias adicionales y espermátforos transferidos por los machos, la duración de las cópulas y del pateo y la forma en que ocurrió el pateo entre los grupos.

### **Análisis estadísticos**

Para evaluar las diferencias en el eyaculado transferido por el macho entre los grupos control 1, control 2 y experimental se comparó el peso y área de los *corpus bursae*, sustancias adicionales y espermátforos y el largo del *collum* transferidos en los tres grupos mediante



ANOVAS o pruebas de Kruskal-Wallis en los casos en los que no se cumplieron los supuestos de normalidad de los datos.

A partir de la observación de los videos de las cópulas se comparó el tiempo de duración del pateo, el tiempo de duración de la cópula, la latencia del pateo y el porcentaje de cópula transcurrida al momento en que inició el pateo entre los grupos control 1, control 2 y experimental mediante una ANOVA para cada una de estas variables o una prueba de Kruskal- Wallis en los casos en los que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos. También se realizó una descripción de la conducta de pateo observada en los grupos.

Se compararon las características de las cópulas en que se presentó la conducta de pateo con aquellos en los que no se presentó esta conducta. Para esto se clasificó a las hembras en dos grupos, independientemente de su condición inicial: 1) hembras que patearon (hembras que patearon o que intentaron patear) y 2) hembras que no patearon durante la cópula (que no presentaron esta conducta). Se comparó la duración de la cópula, el peso y área de los *corpus bursae* y espermátóforos, y el largo del *collum* de estos dos grupos. Se realizaron pruebas de T de Student para las comparaciones entre estos dos grupos y pruebas de U de Mann-Whitney en los casos en los que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Para evaluar la posibilidad de que el pateo estuviera relacionado con el tamaño de los individuos se comparó el peso y largo del ala de machos y hembras entre el grupo en que las hembras patearon y en el que no patearon mediante pruebas de T de Student.

Para observar si el pateo se presenta cuando las hembras se aparean con machos previamente apareados, lo cuales transfieren espermátóforos más pequeños en sus siguientes cópulas y cuyas cópulas suelen ser más largas (Cordero, 1998; Svard & Wiklund, 1986), algunos machos que se aparearon en el experimento fueron colocados en jaulas de apareamiento con dos hembras vírgenes al terminar la cópula. Las jaulas fueron colocadas al sol durante el resto del día y durante el día siguiente de su primer apareamiento. Algunos de estos machos se volvieron a aparear y sus segundos apareamientos fueron grabados. Debido a que algunos de estos apareamientos fueron muy largos, estos fueron grabados a intervalos de tiempo de 30 minutos de grabación y 30 minutos sin grabar. De las grabaciones de reapareamientos de los machos se registraron las mismas variables que en los apareamientos de machos vírgenes.

Los datos se presentan como promedio y error estándar (EE) para las variables distribuidas normalmente y como mediana y cuartiles 25%-75% para las variables que no se distribuyeron normalmente.

Los tratamientos, conductas y datos que se registraron de las cópulas y las disecciones del experimento se resumen en los cuadros 1 y 2.



Figura 1. Apareamiento de *Callophrys xami* en el experimento.

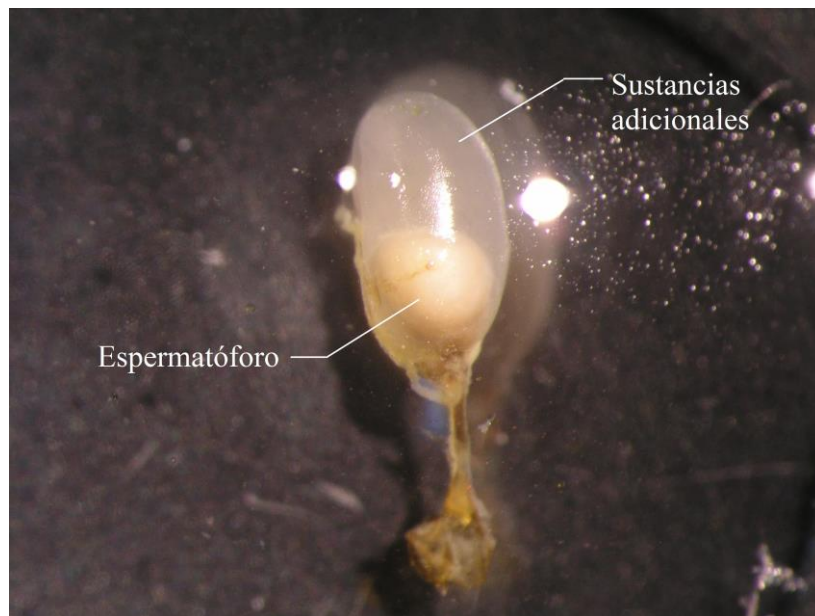


Figura 2. *Corpus bursae* de una hembra apareada de *Callophrys xami*. En su interior se observa el espermatóforo y las sustancias adicionales

Cuadro 1. Tratamiento o condición en base a la que se diferenciaron los grupos.

<b>Grupo</b>	<b>Tratamiento o condición</b>
Control 1	Hembras sin tratamiento
Control 2	Corte del último segmento del segundo par de patas de las hembras
Experimental	Corte del último segmento del tercer par de patas de las hembras
Con pateo	Apareamientos en los que la hembra pateó o intentó patear al macho
Sin pateo	Apareamientos en los no hubo pateo o intento de pateo por parte de la hembra

Cuadro 2. Conductas registradas a partir de la observación de los videos y medidas del eyaculado obtenidas.

<b>Registro de conductas</b>	<b>Medidas del eyaculado</b>
Duración de la cópula	Peso del <i>corpus bursae</i>
Presencia/ausencia de pateo	Peso del espermatóforo
Tiempo de inicio del pateo (latencia del pateo)	Peso del sustancias adicionales
% de duración de cópula transcurrida al inicio del pateo	Peso de <i>corpus bursae</i> (10 min)
Duración del pateo (o intento)	Peso de espermatóforo (10min)
	Peso de sustancias adicionales (10 min)
	Área del <i>corpus bursae</i>
	Área del espermatóforo
	Área de sustancias adicionales
	Largo del <i>collum</i>

## **RESULTADOS**

### **Descripción del pateo**

El pateo es un movimiento que realiza la hembra con sus dos patas posteriores, con los que toca al macho en la parte posterior del abdomen en la parte en donde este se encuentra sujetado a la hembra. Este movimiento generalmente inicia con una o dos patadas con alguna de las dos patas traseras, seguidas de pausas cortas de tiempo y a los pocos segundos éstas se repiten. Después de unos segundos el pateo se vuelve un movimiento más rápido y continuo en el que la hembra alterna ambas patas posteriores para patear al macho, que a su vez genera un movimiento ligero de sacudida en ambos. En algunos casos este movimiento alternado de patas continúa de forma ininterrumpida y en otros se presenta como series o “ráfagas” de patadas que duran algunos segundos y son separadas por pausas cortas. Al mismo tiempo que realiza este movimiento, o después de unos segundos de realizarlo, la hembra camina hacia adelante (jalando al macho) o hacia atrás (empujándolo) mientras continúa con el pateo, siendo en algunos casos el macho el que camina. En las cópulas con periodos de pateo más cortos el macho se separa en el transcurso de este movimiento. Si la separación no ocurre después de unos segundos y la cópula continua, la hembra se flexiona llevando su cabeza en la misma dirección que la del macho, colocándose en una posición paralela a este en la cual ambos se encuentran unidos por sus colas formando una “V” y en esta posición la hembra realiza el pateo con mayor velocidad y frecuencia y utiliza también el segundo par de patas para patear al macho. En la mayoría de las cópulas el macho se separa en esta posición. Si la separación no ocurre en esta parte de la cópula, la hembra vuelve a caminar mientras patea y alterna este movimiento con las flexiones y el pateo hasta que el macho se separa. La separación ocurre por un movimiento rápido en el que el macho parece soltar su abdomen y retirarlo del abdomen de la hembra. La cópula termina con la separación.

El tiempo de duración del pateo o intento de pateo no fue significativamente diferente entre el grupo control 1, el grupo control 2 y el grupo experimental (Kruskall Wallis, N=52,  $p= 0.18$ ; Fig. 3, tabla 2).

### **Resultados del experimento**

El pateo ocurrió de forma similar en los tres grupos. El corte del último segmento de las patas posteriores y medias en el grupo experimental y el grupo control 2 respectivamente no cambió la conducta de las hembras durante la cópula. Las hembras de los tres grupos patearon de manera similar y todas las hembras fueron capaces de separarse de los machos. Al

no encontrarse diferencias significativas entre el grupo control 1 y el grupo control 2 en ninguna de las variables registradas se considera que no hubieron diferencias provocadas por el tratamiento.

Los resultados del tamaño del eyaculado transferido en las cópulas en el experimento se presentan en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas en el peso de los *corpus bursae* de las hembras (ANOVA,  $F_{(2,41)} = 0.24$ ,  $p = 0.78$ ), en el peso del espermátforo (Kruskall Wallis,  $N = 43$ ,  $p = 0.51$ ; Fig. 4a), o de las sustancias adicionales (ANOVA,  $F_{(2,36)} = 0.48$ ,  $p = 0.62$ ; Fig. 4a) transferidas por los machos en los grupos control 1, control 2 y experimental. Tampoco se encontraron diferencias significativas en el área de los *corpus bursae* (ANOVA,  $F_{(2,39)} = 0.56$ ,  $p = 0.57$ ), de los espermátforos (Kruskall Wallis,  $N = 43$ ,  $p = 0.55$ ; Fig. 4b) o de las sustancias adicionales (ANOVA,  $F_{(2,35)} = 0.85$ ,  $p = 0.43$ ; Fig. 4b) de los tres grupos. El largo del *collum* no fue significativamente diferente entre los tres grupos (ANOVA,  $F_{(3,39)} = 1.41$ ,  $p = 0.62$ ). El tamaño del *corpus bursae*, espermátforo, sustancias adicionales y *collum* de las hembras que no patearon no fueron incluidas al comparar el tamaño de estas estructuras entre los tres grupos. De este modo se obtuvo una comparación del tamaño del eyaculado entre las cópulas en que la hembra pateó al macho y aquellas en las que se evitó el pateo y su efecto en la transferencia del eyaculado.

Los resultados de la duración de las cópulas, latencia y duración del pateo en el experimento se presentan en la tabla 2. La duración de las cópulas no fue significativamente diferente entre el grupo control 1, el grupo control 2 y el grupo experimental (ANOVA,  $F_{(2,49)} = 0.46$ ,  $p = 0.95$ ; Fig. 5). Al igual que en las comparaciones del tamaño del *corpus bursae*, espermátforo, sustancias adicionales y *collum*, las cópulas en que las hembras no intentaron patear no fueron incluidas al comparar la duración de las cópulas entre los tres grupos, para así comparar las cópulas en las que hubo pateo con aquellas en las que se evitó el efecto del pateo.

No se encontraron diferencias significativas en la latencia del pateo entre el grupo control 1, el grupo control 2 y el grupo experimental (ANOVA,  $F_{(2,49)} = 0.13$ ,  $p = 0.86$ ). El pateo inició cerca del final de la cópula (promedio de duración de cópulas de los tres grupos = 36 min,  $EE = 1.8$  min), cuando había transcurrido entre el 74 y el 99% del tiempo de la duración total de la cópula (promedio = 94.57%,  $EE = 0.72\%$ ). El porcentaje del tiempo de duración total de la cópula transcurrido en el momento en que inició el pateo no fue significativamente diferente entre los tres grupos (Kruskall Wallis,  $N = 52$ ,  $p = 0.2$ ).

## Cópidulas en las que la hembra no pateó o no intentó patear

Se encontraron 8 cópidulas en las que las hembras no patearon o no intentaron patear al macho. Dos de las cópidulas en las que las hembras no patearon al macho se encontraron en el grupo control 1 (el 10% de las cópidulas), 2 en el grupo control 2 (10%) y hubieron 4 cópidulas en el grupo experimental (20%) en las que la hembra no intentó patear al macho. La proporción de individuos que patearon no fue significativamente diferente entre los tres grupos (Prueba binomial, proporción= 0.9,  $p$  (1-via)=0.13).

El tamaño de los machos no fue significativamente diferente en el peso (prueba de T,  $t(59) = -0.77$ ,  $p = 0.44$ ) ni en el largo del ala (prueba de T,  $t(49) = -0.59$ ,  $p = 0.61$ ) entre las cópidulas en las que las hembras patearon y en aquellas en las que no lo hicieron. El peso de las hembras que no patearon (promedio= 0.068 g, EE=0.004 g) fue significativamente mayor que el de las hembras que patearon (promedio= 0.059 g, EE=0.001 g, prueba de T,  $t(49) = 2.57$ ,  $p = 0.01$ ) aunque el largo de las alas de las hembras que no patearon (promedio=17.66 mm, EE= 0.27 mm) no fue significativamente mayor que el de las hembras que patearon (promedio=17.06 mm, EE=1.2 mm, prueba de T,  $t(59) = 1.83$ ,  $p = 0.07$ ).

El peso del *corpus bursae* de las hembras que no patearon (promedio= 3.25 mg, EE=1.28 mg) fue significativamente mayor que el *corpus bursae* de las hembras que patearon (o intentaron patear) al macho (promedio=2.35 mg, EE=0.85 mg, prueba de T,  $t(47) = 2.27$ ,  $p = 0.02$ ). El peso de las sustancias adicionales fue significativamente mayor en las hembras que no patearon (promedio=2.37 mg, EE=0.46 mg) que en las hembras que patearon (promedio=1.38 mg, EE=0.13 mg, prueba de T,  $t(42) = 2.56$ ,  $p = 0.01$ ; Fig. 6a), mientras que el peso del espermátóforo no fue significativamente diferente entre estos grupos (prueba de T,  $t(47) = -0.821$ ,  $p = 0.41$ ; Fig. 6a)

No se encontraron diferencias significativas en el área del *corpus bursae* (prueba de T,  $t(47) = 1.34$ ,  $p = 0.18$ ), en el área del espermátóforo (prueba de T,  $t(48) = 0.50$ ,  $p = 0.61$ ; Fig. 6b), en el área de las sustancias adicionales (prueba de T,  $t(43) = 1.19$ ,  $p = 0.23$ ; Fig. 6b), o en el largo del *collum* (prueba de T,  $t(48) = -0.06$ ,  $p = 0.94$ ) entre las hembras que patearon y las que no patearon.

La duración de las cópidulas en las que las hembras no intentaron patear no fue significativamente más larga que en aquellas en las que las hembras patearon (prueba de Mann-Whitney,  $Z = -1.556$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.12$ ; Fig. 7).

## Observaciones de reapareamientos

Se observaron 3 reapareamientos de machos que ocurrieron el mismo día de su primer apareamiento y 4 reapareamientos que ocurrieron al día siguiente. En todos los reapareamientos de los machos se observó que la hembra pateó al macho cerca del final de la cópula del mismo modo en que ocurre en los apareamientos de machos vírgenes y la duración del pateo en los reapareamientos (mediana= 87 s,  $Q_{25\%}-Q_{75\%}= 31 -135$  s) fue similar a la duración del pateo en apareamientos de machos vírgenes (mediana= 85 s,  $Q_{25\%}-Q_{75\%}= 44 -143$  s). Los reapareamientos que ocurrieron el mismo día del primer apareamiento del macho tuvieron una duración mucho mayor (promedio=561 min, EE=72 min) que los primeros apareamientos de estos mismos machos (promedio=25 min, EE= 1.2 min) y que el promedio de duración de los apareamientos de todos los machos vírgenes (promedio=36.4 min, EE=1.79 min). Los reapareamientos que ocurrieron al día siguiente que los primeros apareamientos de los machos fueron ligeramente más cortos (promedio=20.75 min, EE=1.10 min) que los primeros apareamientos de estos machos (promedio=36 min, EE=2.79 min) y que el promedio de duración de los apareamientos de todos los machos vírgenes. Debido a que el tamaño de la muestra es muy pequeño no fue posible analizar estadísticamente las diferencias en la duración del pateo y en la duración de los apareamientos entre los primeros apareamientos de los machos y sus reapareamientos.



**Tabla 1. Resultados del tamaño del eyaculado transferido durante la cópula en el experimento.**

Grupo		<i>Corpus bursae</i>	Espermatóforo	Sustancias adicionales	Longitud del <i>collum</i>
Control 1	Peso (mg)	2.40 ± 0.30 n= 14	1.12 ± 0.17 n=15	1.27 ± 0.17 n=13	
	Área (mm <sup>2</sup> )/ longitud (mm)	3.21 ± 0.20 n=14	1.39, 1.04 - 2.16 n=15	1.46 ± 0.19 n=13	1.05 ± 0.05 n=15
Control 2	Peso (mg)	2.54 ± 0.22 n= 16	1.18 ± 0.15 n=14	1.59 ± 0.29 n=13	
	Área (mm <sup>2</sup> )/ longitud (mm)	3.35 ± 0.21 n=15	1.62, 1.29 - 1.88 n=14	1.82 ± 0.22 n=13	1.09 ± 0.04 n=14
Experimental	Weight (mg)	2.29± 0.23 n=14	0.92 ± 0.11 n=14	1.38 ± 0.22 n=13	
	Area (mm <sup>2</sup> )/ longitud (mm)	3.05 ± 0.18 n=13	1.43, 1.22 - 1.63 n=14	1.63 ± 0.16 n=12	0.96 ± 0.06 n=13
<i>P</i>	Peso (mg)	0.78 (a)	0.51 (b)	0.62 (a)	
	Area (mm <sup>2</sup> )/ longitud (mm)	0.57 (a)	0.55 (b)	0.43 (a)	0.62 (a)

Los datos se presentan como promedio ± error estándar para las variables distribuidas normalmente y como mediana y cuartiles 25%-75% para las variables que no se distribuyeron normalmente. Se presentan los niveles de significancia (valores de *P*) para las pruebas de ANOVA (a) y las pruebas de Kruskal-Wallis (b).

**Tabla 2. Resultados del pateo y la duración de la cópula en el experimento.**

Grupo	n	Duración de cópula (min)	Duración del pateo (s)	Latencia del pateo (min)	Porporción de la copula cuando inició el pateo (%)
Control 1	18	37:06 ± 3:49	63, 41 – 176	35 ± 3	96, 92-98
Control 2	18	35:46 ± 2:28	66, 36 – 108	33 ± 2	97, 93-98
Experimental	16	36:18 ± 3:01	96, 73 – 168	34 ± 2	94, 92-96
<i>P</i>		0.95 (a)	0.18 (b)	0.86 (a)	0.2 (a)

Los datos se presentan como promedio ± error estándar para las variables distribuidas normalmente y como mediana y cuartiles 25%-75% para las variables que no se distribuyeron normalmente. Se presentan los niveles de significancia (valores de *P*) para las pruebas de ANOVA (a) y las pruebas de Kruskal-Wallis (b).

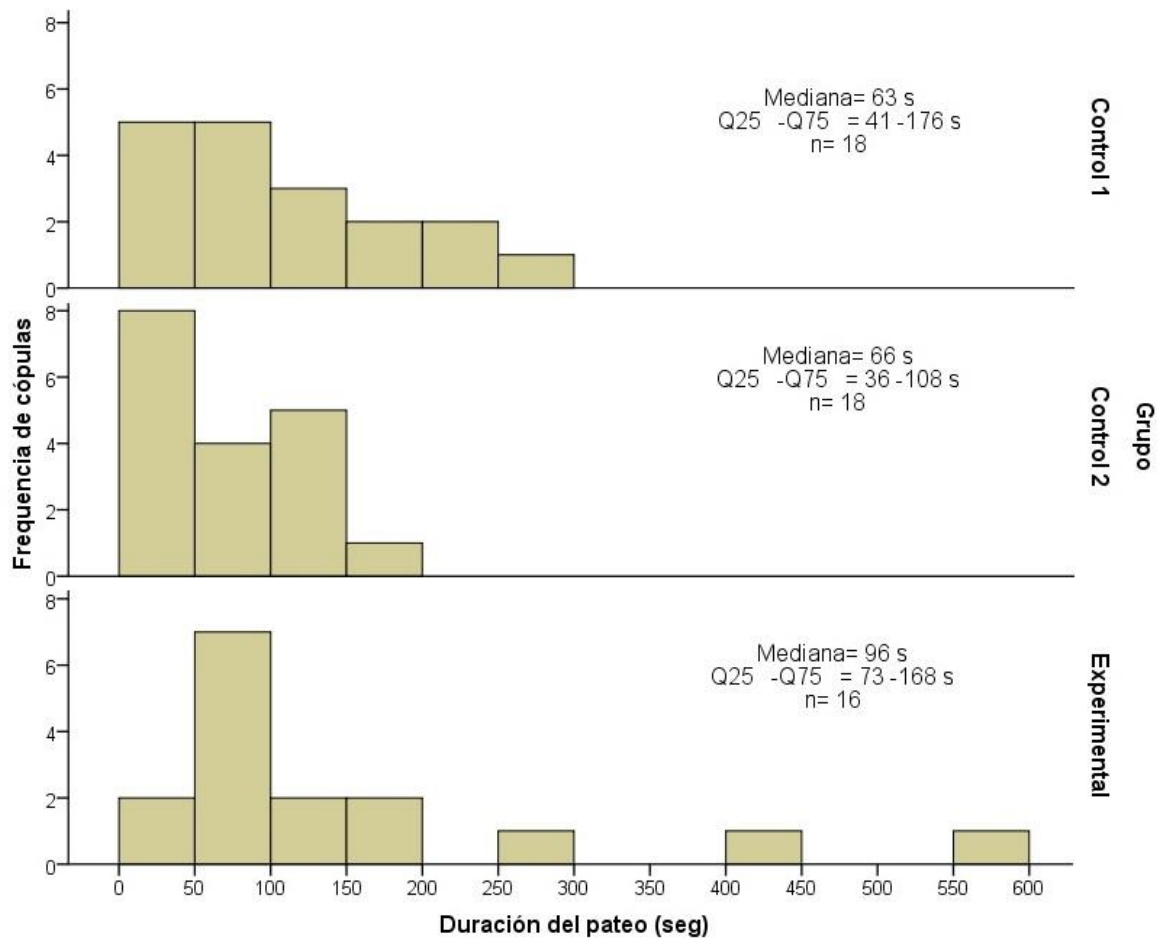
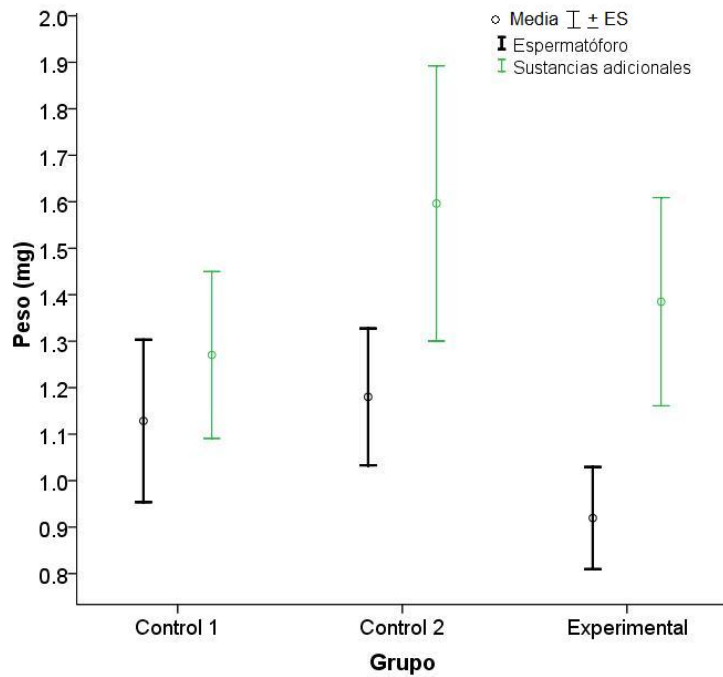


Figura 3. Comparación de la duración del periodo de pateo o intento de pateo por parte de las hembras en los grupos control 1, control 2 y experimental. No se encontraron diferencias significativas en la duración del pateo entre estos 3 grupos.

a)



b)

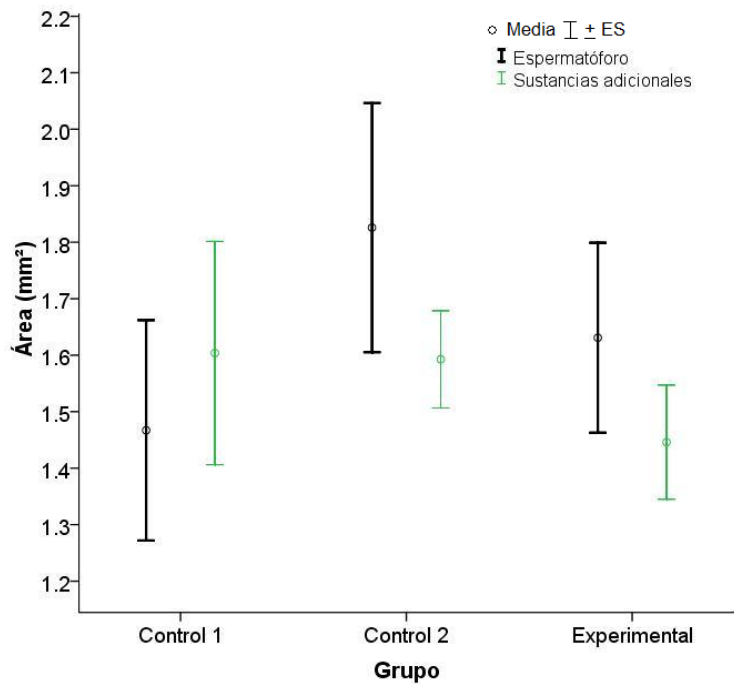


Figura 4. Comparación del tamaño del contenido del *Corpus bursae* de hembras apareadas de los grupos control 1, control 2 y experimental. a) Comparación del peso de los espermatozoides (n=43) y de las sustancias adicionales (n=39). No se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos tanto en el peso de los espermatozoides como en el peso de las sustancias adicionales. b) Comparación del área de los espermatozoides y de las sustancias adicionales. No se encontraron diferencias significativas en el área de los espermatozoides, ni en el área de las sustancias adicionales entre los tres grupos.

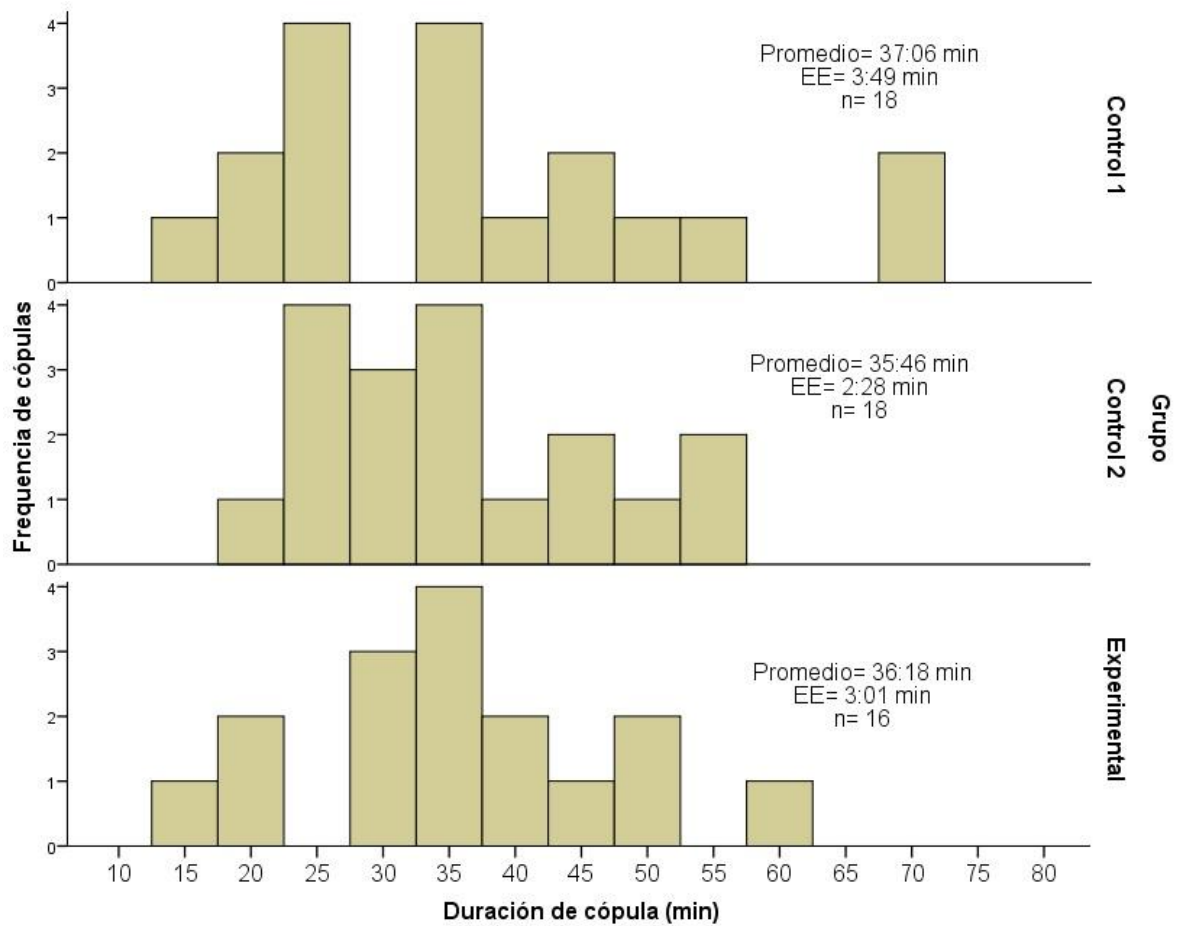
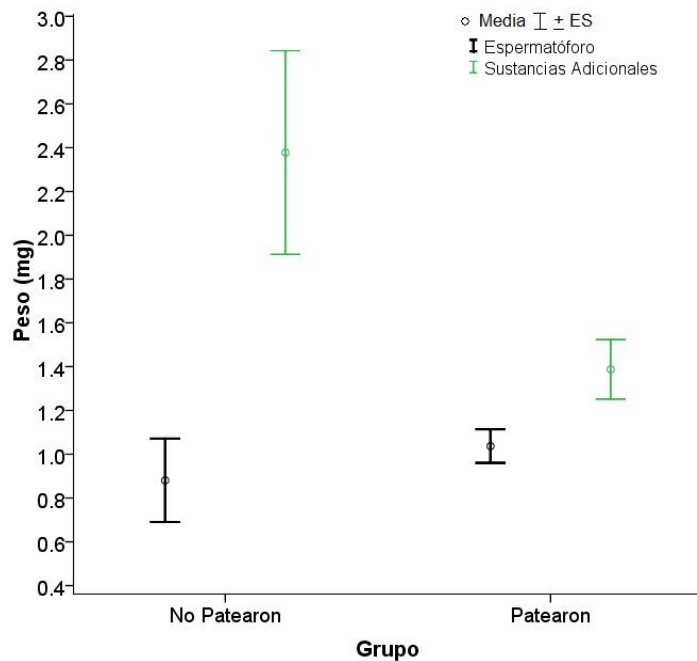


Figura 5. Comparación de la duración de las cópulas en los grupos control 1, control 2 y experimental. No se encontraron diferencias significativas en la duración de las cópulas entre los 3 grupos.

a)



b)

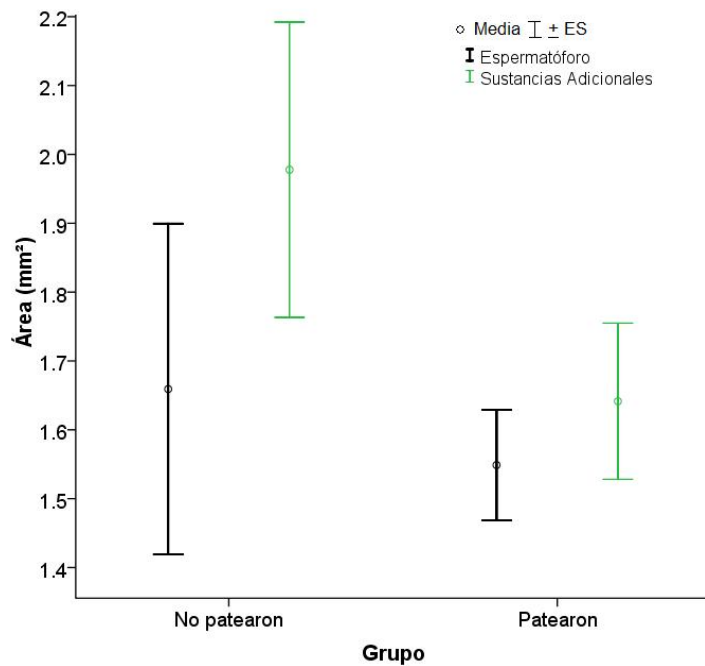


Figura 6. Comparación del tamaño del contenido del *Corpus bursae* entre hembras que patearon o intentaron patear durante el apareamiento y las que no lo hicieron. a) Comparación del peso de los espermátóforos (n=49) y de las sustancias adicionales (n=44). El peso de las sustancias adicionales fue significativamente mayor en las hembras que no patearon en comparación con las hembras que patearon aunque el peso del espermátóforo no fue significativamente diferente entre ambos grupos. b) Comparación del área de los espermátóforos (n=50) y de las sustancias adicionales (n=45). No se encontraron diferencias en el área de los espermátóforos, o en el área de las sustancias adicionales entre las hembras que patearon y las que no patearon.

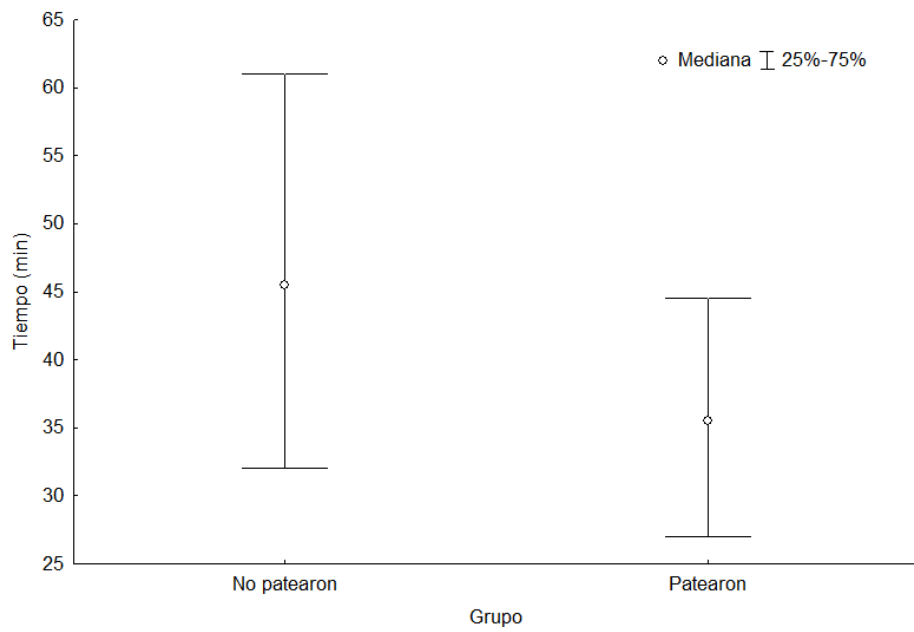


Figura 7. Comparación de la duración de las cópulas en las que las hembras no patearon (n=8) y aquellas en las que patearon durante el apareamiento (n=52). No se encontraron diferencias significativas entre la duración de las cópulas entre estos grupos.

## DISCUSION

En la mayoría de las cópulas (87%) las hembras patearon (hembras intactas o con segundo par de patas amputado) o intentaron patear (hembras con tercer par de patas amputado) a los machos y la proporción de hembras que no patearon o intentaron patear no fue significativamente diferente entre los tres grupos, lo que indica que las hembras comúnmente recurren a esta conducta en las cópulas y que el tratamiento no afectó la tendencia a patear.

### **Hipótesis 1: Las patadas tienen la función de cortejo copulatorio**

De acuerdo con la primera hipótesis el pateo tiene la función de cortejo copulatorio y es realizado para estimular la transferencia de eyaculado. El pateo cumplió con los criterios de decisión utilizados por Eberhard (1994, 1996) para distinguir el cortejo copulatorio de otras conductas mediante observación, los cuales se describen en el cuadro 3.

Eberhard (1994) observó en varias especies de insectos algunas conductas de las hembras que también cumplen con los criterios que utilizó para distinguir el cortejo copulatorio (cuadro 2), para las cuales sugiere funciones como terminar el apareamiento, desacoplarse rápidamente de los machos o inducir a estos a transferir más nutrientes. Posiblemente estas conductas son similares al pateo de las hembras de *C. xami* y al igual que esta sean conductas cuya función sea difícil de determinar mediante observación. La función de algunas de estas conductas ha sido estudiada en laboratorio. Rodríguez (1998) estudió el efecto de la incidencia de golpeo con las patas de las hembras de *Ozophora baranowskii* (Heteroptera: Lygaeidae) a los machos durante la cópula, para la cual sugirió una función de cortejo. Esta conducta ocurrió con mayor incidencia en cópulas cortas, sin embargo el golpeo no se encontró relacionado al tamaño del macho o a la transferencia del espermátforo.

Movimientos similares al pateo de *C. xami* que presentan la función de cortejo copulatorio realizado por las hembras han sido observados en el escarabajo *Ditemnus acantholabus*, cuyas hembras frotan al macho con sus patas durante la cópula, posiblemente para inducirlo a proveer secreciones de las cuales ella puede alimentarse (Eberhard, 2006). En comparación con esta y otras conductas similares al pateo que funcionan como cortejo en otras especies de insectos, en estas el macho o hembra golpea suavemente o frota al otro individuo con sus patas, mientras que el pateo de *C. xami* parece actuar de manera más agresiva.

De acuerdo con esta hipótesis se espera que las hembras que patean obtengan una mayor cantidad de eyaculado ya sea al estimular al macho a continuar con la transferencia del eyaculado o al estimular un aumento en la tasa de transferencia del eyaculado. Los resultados del tamaño del eyaculado transferido no apoyan las predicciones de esta hipótesis ya que las diferencias en el tamaño del espermatozoido y las sustancias adicionales transferidas por los machos que recibieron y los que no recibieron patadas no fueron significativas (tabla 1).

### **Hipótesis 2: Las patadas tienen la función de finalizar la cópula.**

De acuerdo con la segunda hipótesis, el pateo le permite a la hembra forzar (hipótesis 2a) o inducir la finalización de la cópula (hipótesis 2b). Esta hipótesis predice que las hembras que no patean al macho tienen mayor dificultad para separarse de él y debido a esto la cópula será más prolongada. También predice que el pateo de las hembras ocurrirá siempre hacia el final de la cópula, poco antes de su separación del macho.

El que en el experimento no se hayan encontrado diferencias significativas en el tiempo de duración de las cópulas ni en el tiempo de duración del pateo no apoya la primera predicción de esta hipótesis (tabla 2). Sin embargo el tiempo de duración del pateo o intentos de pateo muestra una tendencia a aumentar en las hembras con el tercer par de patas amputado (figura 3). Aunque evitar que las hembras toquen al macho durante el pateo no alteró de manera significativa la duración de la cópula ni la duración del periodo de intentos de pateo, si aumentó mucho la duración máxima del periodo de intentos de pateo, ya que en el grupo experimental fue de 9:26 minutos, mientras que en los grupos control 1 y control 2 fue de 4:02 y 2:41 minutos respectivamente. Esto sugiere que las patadas sirven como ayuda a la hembra para terminar la cópula (hipótesis 2) ya que podrían ayudarla a separar al macho más rápidamente en algunos casos, aunque estas no sean necesarias para terminarla.

Un factor metodológico que pudo influir en la eficiencia del pateo es que las mariposas parecían tener dificultades para adherirse al plástico de las cajas de Petri. Esto pareció afectar especialmente a las hembras durante el periodo de pateo, cuando intentan sujetarse mientras el macho camina ya que parecían resbalar y así el macho parecía moverlas con mayor facilidad, lo que dificultaba a las hembras el patear. Posiblemente las plantas en donde las cópulas suelen llevarse a cabo en el campo permiten que la hembra se sujete con más fuerza, por lo que en el campo el pateo podría ser más efectivo para terminar la cópula.

El pateo siempre se presenta acompañado de otros movimientos de la hembra, como caminar jalando o empujando al macho, flexionar su cuerpo formando una V con el cuerpo



del macho e incluso patear con el segundo par de patas cuando se encuentra flexionada. A su vez, el movimiento de las patas de la hembra también genera un movimiento ligero de sacudida en ambos individuos. Es posible que durante este conjunto de movimientos la hembra realice otros movimientos con su genitalia interna, posiblemente mediante movimientos de los músculos que operan los últimos segmentos abdominales o los que rodean al *corpus bursae*. Estos movimientos en conjunto podrían formar un estímulo que lleve al macho a responder soltando a la hembra, de modo que estos podrían ser suficientes para separar al macho aun cuando las patadas no lo alcancen.

En todos los casos el pateo inició cerca del final de la cópula, lo que concuerda con la tercera predicción de esta hipótesis (tabla 2). El pateo correspondió en todos los casos con el periodo de finalización de la cópula, que es un periodo que comprende sólo a una pequeña proporción de esta (promedio=  $5.43 \pm 0.28\%$  del tiempo total de cópula), por lo que diferencias en la duración del periodo de pateo podrían no afectar la duración total de la cópula. A pesar de la corta duración del periodo de pateo, todas los *corpus bursae* de las hembras que patearon contenían sustancias adicionales y un espermátóforo con *collum*, lo que sugiere que en el momento en que la hembra patea al macho, este ya ha transferido las sustancias adicionales, el espermátóforo y posiblemente el *collum* debido a que estos son transferidos en este orden (Drummond, 1984). En todos los casos el *collum* tuvo una longitud similar (promedio =  $1.04 \pm 0.03$  mm) a pesar de que en algunos casos la duración del pateo fue muy corta, incluso en el apareamiento en que el periodo de pateo fue el más corto (10s, longitud del *collum* = 1.17 mm), lo que sugiere que en el momento en que la hembra comienza a patear al macho, este ya ha terminado de transferir todo el eyaculado.

Durante el pateo las hembras alternan ambas patas traseras (tercer par) para golpear el abdomen del macho y las patas no se coordinan para ejercer fuerza simultáneamente y empujarlo, por lo que el pateo no parece ejercer una fuerza directa con la cual la hembra obligue al macho a separarse (coerción). Para el macho el pateo podría actuar como un estímulo aversivo que podría molestarlo o incluso lastimarlo, esto es congruente con las observaciones ya que el macho responde caminando o separándose de la hembra, lo que aparentemente le permite escapar del estímulo. Al inducir una respuesta en el macho el pateo actúa como señal (hipótesis 2 b) y no como coerción (hipótesis 2 a) (Maynard Smith & Harper, 2003). De acuerdo con la definición de Maynard Smith y Harper (2003), una señal es una acción que altera la conducta de otros organismos, la cual evolucionó por este efecto y que es efectiva porque la respuesta del receptor también ha evolucionado. De acuerdo con esta definición el pateo de las hembras de *C. xami* está actuando como una señal que pudo

haberse desarrollado con la función de transmitir al macho la información de que la hembra quiere terminar la cópula. El pateo como señal de terminación de la cópula se ha observado en las hembras de *Culicoides melleus* (Díptera, Ceratopogonidae) siendo importante para inducir al macho a soltar a la hembra con su genitalia, por lo que parece actuar como forma de comunicación (Linley, 1975).

### **Posible origen evolutivo del pateo**

Se ha encontrado que las hembras de algunas especies de lepidópteros perciben la distensión de su *corpus bursae* y responden ante el tamaño del espermátforo transferido. En la mariposa *Pieris rapae* los nervios del *corpus bursae* responden a su grado de distensión y las hembras se aparean o se niegan a aparearse con base en esta información (Sugawara, 1979). En las hembras de *Papilio machaon* el periodo refractario de las hembras es dependiente del tamaño del espermátforo (Svard & Wiklund, 1986). Es posible que al igual que en otras especies de lepidópteros, las hembras de *C. xami* perciban los cambios en la distensión de su *corpus bursae* y así reciban información sobre la transferencia del eyaculado. De acuerdo con las observaciones del pateo y los resultados de las disecciones que sugieren que el pateo inicia cuando ya se ha terminado de transferir el eyaculado, las hembras podrían percibir que el macho ha dejado de transferir el eyaculado cuando no perciben cambios en la distensión de su *corpus bursae* después de algún tiempo y patear en respuesta a esto. En muchas especies de lepidópteros las hembras se aparean pocas veces en su vida ya que los costos de búsqueda de pareja podrían ser altos (Rutowski, 1984; Bonduriansky, 2001). En *Callophrys xami* los reapareamientos en campo ocurren con poca frecuencia (promedio del número de cópulas exitosas=  $1.37 \pm 0.14$ ; Cordero, 2000) por lo que la probabilidad de que las hembras se apareen de nuevo después de su primera cópula es baja. Al patear al macho cuando este ha dejado de transferir eyaculado, las hembras podrían evitar interrumpir la cópula cuando el macho aún puede aportar espermatozoides que podría requerir para fertilizar sus huevos y nutrientes que podrían ser aprovechados por ella o para la producción de los huevos (Boggs & Gilbert, 1979; Svard, 1985).

Para los machos las cópulas prolongadas son convenientes ya que les permiten retener a las hembras durante más tiempo, en el que la hembra podría reaparearse llevándolo a entrar en competencia espermática. Al mantenerse acoplados, los machos podrían estar buscando prolongar las cópulas como forma de resguardo de las hembras. Esta estrategia de los machos va en contra de los intereses de la hembra debido a que el tiempo de cópula puede incluir

costos tales como riesgo de depredación o heridas y gasto de energía (Daly, 1978; Kaitala & Wiklund, 1994; Rowe, 1994; Watson *et al.*, 1998) y a que las hembras podrían alimentarse, poner huevos y reaparearse durante este tiempo, por lo que el pateo podría haber surgido como respuesta a esta estrategia. El pateo podría actuar en favor de los intereses de la hembra si esto le facilita el terminar la cópula en el momento que a esta le convenga, aún si esto va en contra de los intereses del macho. Si esta conducta le resulta a la hembra en un beneficio, tal como reducir los costos de las cópulas, entonces esta podría ser favorecida por la selección natural. El que el pateo actúe a favor de los intereses de la hembra no excluye la posibilidad de que el macho también se esté beneficiando de terminar la cópula en el momento en que a la hembra le conviene, ya que esto podría reducir los costos de la cópula para ambos.

El pateo en situación de conflicto sexual ha resultado benéfico para las hembras del escarabajo *Callosobruchus maculatus*, especie en la que los machos entierran espinas en el tracto femenino de la hembra durante la cópula, lo cual podría ayudarlo a reducir la competencia espermática al demorar o prevenir reapareamientos de la hembra, pero también podría reducir la vida de esta (Crudginton & Siva Jothy, 2000). En esta especie se encontró que las cópulas en que las hembras patean a los machos son más cortas y en estas la hembra recibe menor daño en la región genital que cuando no patea, por lo que esta conducta pudo haber surgido como contra adaptación de las hembras al daño infringido en la región genital (Crudginton & Siva Jothy, 2000).

Las hembras de *C. xami* patean en zonas donde se encuentran estructuras importantes del tracto reproductivo del macho que secretan, forman y transportan el espermátforo y las sustancias adicionales, las cuales son el *ductus ejaculatorius*, las glándulas accesorias, los *vasa deferentia*, vesículas seminales y los testículos (Drummond, 1984; Kriestensen, 2003), por lo que la sensibilidad de los machos en esta zona podría transformar el pateo (e incluso a los movimientos que lo acompañan) en un estímulo muy fuerte e incluso resultar en un estímulo similar al ataque de algún depredador. Mediante el pateo las hembras podrían estar aprovechando una respuesta previamente desarrollada hacia estímulos recibidos en la región genital, los cuales podrían generar en el macho una respuesta encaminada a evitar un ataque o a escapar. De manera similar a lo que ocurre en la seducción antagonista, en la cual los machos explotan un sesgo sensorial de la hembra para llevarla a aparearse con ellos a pesar de que esto no sea lo óptimo para ellas (Holland & Rice, 1998), el pateo podría estar explotando un sesgo sensorial del macho para inducirlo a emitir una respuesta que beneficie a la hembra aunque esta no sea benéfica para él.

## Cópulas sin pateo o intento de pateo

En las cópulas en las que la hembra no pateó o no intentó patear, parece ser que el macho es quien termina la cópula ya que separa su abdomen de la hembra y en algunos casos camina alejándose de ella, sin que esta realice los movimientos que suelen acompañar al pateo. En estos casos se encontraron eyaculados completos en el *corpus bursae* de las hembras, de modo que el macho ya había terminado de transferir el espermatozoido cuando se separó de la hembra. En estos casos el macho pudo separarse de la hembra al terminar de transferir el espermatozoido sin intentar prolongar la cópula, antes de que esta detectara que ya no transfería eyaculado.

El tamaño de los machos que no fueron pateados no fue significativamente diferente del de los machos que fueron pateados en la cópula, mientras que las hembras que no patearon fueron significativamente más pesadas que las que patearon ( $p=0.01$ ) y el largo de sus alas mostró una tendencia marginalmente significativa a ser mayor ( $p=0.07$ ). El eyaculado total (el peso del *corpus bursae*) y las sustancias adicionales transferidos a las hembras que no patearon fueron significativamente más pesados que los que se transfirieron a las hembras que patearon, mientras que el peso del espermatozoido no fue significativamente diferente entre estos grupos (figura 6a), por lo que en los casos en que las hembras no patearon, los machos transfirieron una mayor cantidad de sustancias adicionales, lo que resultó en una mayor cantidad de eyaculado total. Estos resultados sugieren que una vez que terminan de transferir el espermatozoido, es más probable que los machos suelten a las hembras grandes sin esperar a que estas pateen, que a las hembras más pequeñas. Esto podría deberse al mayor tamaño del eyaculado transferido en estos casos, ya que los eyaculados grandes reducen la receptividad de la hembra más que los eyaculados pequeños (Sugawara, 1979), por lo que posiblemente estos machos no perciban la necesidad de resguardar a la hembra.

Una explicación alternativa es que las hembras pateen cuando el *corpus bursae* alcance una distensión que les indique que el tamaño del eyaculado transferido ya ha alcanzado un tamaño ideal para ellas. De acuerdo con esta idea la ausencia de pateo podría explicarse por el mayor tamaño de estas hembras ya que en términos relativos el eyaculado pudo ser pequeño para distender su *corpus bursae* lo suficiente para indicar a la hembra que debe terminar la cópula, a pesar de que en estos casos el eyaculado fue significativamente más grande que el de las cópulas en las que las hembras patearon. Se exploró esta posibilidad evaluando el tamaño del macho y del eyaculado transferido en relación con el tamaño de la hembra. Los cocientes del peso del macho sobre el de la hembra no fueron significativamente

diferentes entre cópulas en que la hembra pateó (promedio= 0.83, EE= 0.03) y aquellas en las que no pateó (promedio= 0.68, EE= 0.05; prueba de T,  $t(59)=-1.81$ ,  $p=0.075$ ). Los cocientes del peso del *corpus bursae* sobre el peso de la hembra no fueron significativamente diferentes entre cópulas en las que las hembras patearon (promedio= 0.041, EE= 0.002) y aquellas en las que no patearon (promedio= 0.047, EE= 0.007; prueba de T,  $t(47)=-0.84$ ,  $p=0.40$ ), por lo que el mayor tamaño de las hembras que no patearon no significó eyaculados más pequeños en relación con su tamaño que el que recibieron las hembras que patearon, lo que sugiere que la ausencia de pateo no es debida al tamaño de los eyaculados.

### **Pateo en los reapareamientos**

Hay evidencia de que la producción de los espermatozoides es costosa en *Callopriaxami*. Los machos recientemente apareados producen eyaculados significativamente más pequeños y al reaparearse la duración de su siguiente cópula aumenta (Cordero, 1998). Esto podría explicar porque al reaparearse los machos el mismo día tuvieron cópulas mucho más prolongadas (promedio=561 min, EE=72 min) en comparación con la duración de sus primeras cópulas del día (promedio=25 min, EE= 1.2 min). Las observaciones que muestran que las hembras patean a machos previamente apareados del mismo modo en que patean a machos vírgenes sugieren que la hembra podría ayudarse del pateo para terminar la cópula tanto en los casos en que ha recibido un eyaculado de un tamaño normal, como en los casos en los que probablemente haya recibido eyaculados pequeños. Estas observaciones también muestran que las hembras patean al final de cópulas muy prolongadas, las cuales podrían ser muy costosas y no tratan de interrumpir estas antes para reducir los costos. Si las hembras determinan el momento en que deben finalizar la cópula cuando dejan de percibir cambios en la distensión de su *corpus bursae* después de algún tiempo, los machos podrían inducir a las hembras a aceptar estas cópulas prolongadas mediante una eyaculación lenta pero constante. Esta hipótesis puede ponerse a prueba estudiando la transferencia del eyaculado durante cópulas prolongadas.

## CONCLUSIONES

Las observaciones y resultados de este trabajo permiten descartar la hipótesis de que el pateo tiene la función de cortejo copulatorio femenino, ya que a pesar de que el pateo cumple con los criterios conductuales que definen al cortejo copulatorio, esta conducta no incrementó la cantidad de eyaculado recibido como predice dicha hipótesis.

Los resultados con respecto a la hipótesis de la terminación de la cópula son ambiguos, ya que los resultados de la duración de las cópulas y del pateo no apoyan las primeras predicciones de esta hipótesis de aumentar el tiempo de separación y de duración de la cópula. Sin embargo de acuerdo con la tercera predicción de esta hipótesis el pateo ocurrió siempre al final de la cópula y en algunos casos la incapacidad de patear al macho prolongó el periodo de pateo.

La interpretación del pateo que nosotros proponemos es que esta conducta se presenta cuando el macho ha terminado de transferir el eyaculado y actúa en conjunto con otros movimientos que lo acompañan para señalar al macho que la hembra quiere separarse, por lo que esta conducta puede facilitar a la hembra terminar con la cópula.

Cuadro 3. Criterios utilizados por Eberhard (1994, 1996) para distinguir el cortejo copulatorio mediante observación y su aplicación al pateo de las hembras de *Callophrys xami*

Criterio	Descripción	En <i>C. xami</i>
1	La conducta debe repetirse durante una cópula y en diferentes cópulas.	El pateo se repite de manera rítmica durante una cópula y en diferentes cópulas.
2	La conducta debe ser apropiada para estimular al macho o hembra.	Las patadas de las hembras tocan constantemente a los machos, de modo que podrían ser un estímulo.
3	Se descarta la conducta que sea relevante para mantenerse acoplado durante el apareamiento.	El pateo no parece ser necesario para iniciar o mantener el acoplamiento de la hembra con el macho.
4	La conducta no debe ocurrir en un contexto que sugiera otra posible función.	Las patadas no ocurren en un contexto que nos sugiera otra función, tal como una respuesta a algún movimiento del macho o la aproximación de algún otro sujeto.
5	La conducta no debe ser parte de los movimientos rítmicos propios de la cópula.	El pateo no involucra movimientos rítmicos que pudieran ser parte del mecanismo de la cópula misma.
6	La conducta no induce a la hembra a evitar la captura del macho al terminar la cópula.	El pateo no induce a evitar la captura del macho al terminar la cópula ya que esto no sucede en los lepidópteros.

## LITERATURA CITADA

- Beutelspacher, C.R. 1980. *Mariposas diurnas del valle de México*. Ed. Científicas L.P.M.M. México. 33 pp.
- Birkhead T. R. & Parker G.A. 1997. Sperm Competition and Mating Systems. En *Behavioural Ecology: an Evolutionary Approach* (eds- R. Krebs and N.B. Davies) Cambridge University Press, Cuarta edición, pp 121-145.
- Boggs, C. L. & Gilbert, L. E. 1979. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer nutrients at mating. *Science*, 206(4414): 83-84.
- Bonduriansky, A. 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*, 76: 305-339.
- Cordero, C. 1993. The courtship behavior of *Callophrys xami* (Lycaenidae). *Journal of research on the Lepidoptera*, 32: 99-106.
- 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, UACPyP/CCH, UNAM. 100 pp.
- Cordero, C. 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. y Soberón, J. 1990. Non-resource based territoriality in males of the butterfly *Xamia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of insect behavior*, 3: 719-732.
- Cordero, C. Macías, R. y Jiménez, G. 2000, The number of copulations of territorial males of the butterfly *Callophrys xami* (Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*, 35: 78-89.
- Crudginton, H. & Siva-Jothy, M. 2000. Genital damage, kicking and early death. *Nature* 407, 855-856.
- Daly, M. 1978. The Cost of Mating. *The American Naturalist*, 112(986): 771-774.
- Dewsbury, D. 1982. Ejaculate cost and male choice. *The American Naturalist*, 119: 601-610.
- Drummond, B. 1984. Multiple mating and sperm competition in the Lepidoptera, In: *Sperm competition and the evolution of animal mating systems*, Academic press. pp 291-318.
- Eberhard, W. 1994. Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implications for cryptic female choice. *Evolution*, 48: 711-733.
- Eberhard, W. 1996. *Female Control, Sexual Selection by Female Cryptic Choice*, Princeton University Press, 501 pp.



- Eberhard, W. 2006. Sexually reversed copulatory courtship roles and possible nuptial feeding in the soldier beetle *Ditemnus acantholabus* (Champion 1915) (Coleoptera: Cantharidae). *Journal of the Kansas entomological society*, 79(1): 13-22.
- Eberhard, W. 2009. Postcopulatory sexual selection: Darwin's omission and its consequences. *PNAS*, 106:10025–10032.
- Holland, B., & Rice, W. R. 1998. Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance. *Evolution*, 52(1): 1-7.
- Jiménez, G. 1987. Reproducción, mantenimiento y cultivo en el laboratorio de *Sandia xami* (Lepidoptera; Lycaenidae). Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias 1987, U.N.A.M., pp. 89.
- Kaitala, A. & Wiklund C. 1994. Female mate choice and mating costs in the polyandrous butterfly *Pieris napi* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Behavior*, 8(3): 355-363.
- Kristensen, N. 2003. *Lepidoptera: Moths and Butterflies* Volume 2: Morphology, Physiology, and Development, Handbook of Zoology. Volume IV: Arthropoda, Insecta Part 36, Hawthorne, N.Y., Walter de Gruyter, Inc, 564 pp.
- Linley, J. 1975. Termination of copulation and associated behaviour in *Culicoides melleus* (Coq.) (Diptera, Ceratopogonidae). *Bulletin of Entomological Research* 65, 143-156.
- Marshall, L. 1982. Male nutrient investment in the Lepidoptera: what nutrients should males invest? *The American Society of Naturalists*, 120: 273-279.
- Maynard Smith & Harper, D. 2003. *Animal signals*. Oxford University Press, 166 pp.
- Parker, G. 1979. Sexual selection and sexual conflict. En: *Sexual selection and reproductive competition in insects*. (eds. M. Blum MS and M. Blum NA), Academic press, New York, pp 123-166.
- Parker, G.A., and Pizzari, T. 2010. Sperm competition and ejaculate economics. *Biological Reviews*, 85: 897-934.
- Parlange, P. 1991. Ciclo de vida de *Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae) su biología y notas acerca de su cultivo en laboratorio. Tesis de Licenciatura. Fac. De Ciencias, U.N.A.M. México, 99 pp.
- Pyle, R. M. 1981. *The audubon society field guide to north American butterflies*. Alfred A Knopf, New York. 917 pp.
- Rodríguez, R. L. 1998, Possible female choice during copulation in *Ozophora baranowskii* (Heteroptera: Lygaeidae): Female behavior, multiple copulations, and sperm transfer. *Journal of Insect Behavior*, 11(5): 725-741.
- Rutowski, R. L. 1984. Sexual selection and the evolution of butterfly mating behavior. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 23: 125-142.

Soberón, J. Cordero, C. Benrey, B. Parlangue, P. García-Sáez C. y 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 A*, 130(3): 191-199.

Svard, L. 1985. Paternal investment in a monandrous butterfly, *Pararge aegeria*, *OIKOS* 45: 66-70.

Svard, C & Wiklund. C. 1986. Different ejaculate delivery strategies in first versus subsequent matings in the swallowtail butterfly *Papilio machaon*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18: 325-330.

Wedell, N. & Cook, P. 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.