



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE ECOLOGÍA**

**BIOLOGÍA EVOLUTIVA**

**IMPORTANCIA DE LA ESTIMULACIÓN GENITAL DURANTE LA CÓPULA DE  
*Meccus pallidipennis*: UN POSIBLE MECANISMO DE LA SELECCIÓN SEXUAL**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**ALDO ARTURO TÉLLEZ GARCÍA**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Alejandro Córdoba Aguilar**  
Instituto de Ecología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Paz María Silvia Salazar Schettino**  
Facultad de Medicina, UNAM

**Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza**  
Instituto Nacional de Salud Pública

**MÉXICO, CD. MX.**

**DICIEMBRE, 2016**



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**IMPORTANCIA DE LA ESTIMULACIÓN GENITAL DURANTE LA CÓPULA DE  
*Meccus pallidipennis*: UN POSIBLE MECANISMO DE LA SELECCIÓN SEXUAL**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**ALDO ARTURO TÉLLEZ GARCÍA**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Alejandro Córdoba Aguilar**  
Instituto de Ecología, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. Paz María Silvia Salazar Schettino**  
Facultad de Medicina, UNAM

**Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza**  
Instituto Nacional de Salud Pública

**MÉXICO, CD. MX.**

**DICIEMBRE, 2016**

Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, en su sesión ordinaria del día 12 de septiembre de 2016, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del Posgrado en Ciencias Biológicas, del alumno **TÉLLEZ GARCÍA ALDO ARTURO** con número de cuenta: **515015524** con la tesis titulada: **"IMPORTANCIA DE LA ESTIMULACIÓN GENITAL DURANTE LA CÓPULA DE *Meccus pallidipennis*: UN POSIBLE MECANISMO DE LA SELECCIÓN SEXUAL"**, bajo la dirección del **DR. ALEJANDRO CÓRDOBA AGUILAR**:

Presidente:	DR.	RODOLFO OMAR ARELLANO AGUILAR
Vocal:	DRA.	ANA ERIKA GUTIÉRREZ CABRERA
Secretario:	DR.	CUAUHTEMOC JUAN HUMBERTO LANZ MENDOZA
Suplente:	M EN C.	ENRIQUE GONZÁLEZ SORIANO
Suplente	M EN C.	MARGARITA CABRERA BRAVO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 08 de noviembre de 2016

  
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **Agradecimientos**

- Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.
- Al CONACYT por la beca otorgada, No. De CVU/Becario: 631374/330547.
- A PAPIIT por el apoyo otorgado al proyecto IN-203115.
- A los miembros del comité tutor: Dr. Alejandro Córdoba Aguilar, Dra. Paz María Silvia Salazar Schettino y Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza.

- Agradezco infinitamente a la Universidad Nacional Autónoma de México por darme tanto durante estos años.
- A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma de Querétaro.
- Al Dr. Alejandro Córdoba Aguilar por el apoyo brindado, por compartirme sus conocimientos, por motivarme a seguir estudiando este campo tan fascinante que es la biología evolutiva y por ser maestro y amigo.
- Al Instituto de Ecología, UNAM, y al Laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos.
- A los miembros del comité tutor, Dr. Humberto Lanz y Dra. Paz María Salazar, por haber enriquecido esta tesis con sus comentarios durante cada reunión.
- Al jurado de la tesis por revisar el escrito de este trabajo y por sus valiosas aportaciones: Dra. Ana Erika Gutiérrez Cabrera, Dr. Rodolfo Omar Arellano Aguilar, Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza, M. en C. Enrique González Soriano y Dra. Margarita Cabrera Bravo.
- Al M. en C. Raúl Iván Martínez Becerril por el apoyo técnico en el Laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos del Instituto de Ecología, UNAM.
- Al Biol. Mauro Omar Vences Blanco por el apoyo técnico en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM.
- Al Dr. Roberto Munguía Steyer por su apoyo en el análisis estadístico.
- A la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias y al Laboratorio de Microscopía Electrónica del Instituto de Biología, UNAM, por su apoyo con la obtención de las imágenes microscopía electrónica.
- A los miembros del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM: Dra. Paz María Salazar Schettino, Dra. Margarita Cabrera Bravo, M. en C. Martha Irene Bucio Torres, Biol. José Santiago Rosales Piña, M. en C. Any Laura Flores Villegas, M. en C. Yolanda Guevara Gómez y M. en C. Elia Torres Gutiérrez, por todo el apoyo técnico, por facilitarme los insectos utilizados en este trabajo y por recibirme amablemente en el laboratorio para trabajar parte de esta tesis.

- A David Schneider por ayudarme con los videos de la presentación, por prestarme apoyo técnico en la edición de los videos y las fotografías, y por ser un buen amigo durante las horas de trabajo en el laboratorio.
- Al Dr. Jhony Navat Enríquez Vara por ser un gran colega y amigo, por sus buenos consejos relacionados con la experimentación y por siempre estar dispuesto a discutir ideas del proyecto.
- A la Dra. Guiehdani Villalobos Castillejos por compartirme parte de su amplia experiencia con el manejo de los triatóminos.
- A mis amigos y compañeros del laboratorio por haber hecho de éste un lugar donde siempre dio gusto estar: Migue Rivas, Angelita Nava, Adri Nava, David Schneider, Kari Cuevas, David Vrech, Tania López, Jaime Camacho, David Xochipiltecatl y los que no mencioné.
- A mis amigos del posgrado: Emiliano Mora, Ana Santacruz, Lilí Mata, Erick García, Itzi Rivero, Laura Figueroa, Pau Zedillo, Paty Ortega, Ale Luévano, Pale Llamas, Humberto Peraza, Helena Hernández y el señor José.
- A Erika Rodríguez Reyes por su excelente trabajo con todo lo relacionado con el posgrado, por su amabilidad, paciencia y apoyo.
- A Fernanda Herce quien siempre fue un apoyo en casa y alguien con quien contar en las buenas y en las malas. Gracias Fer por recibirme, por compartir tanto y por ser una amiga.
- A mis amigos de tantísimo tiempo: Cecilia Barragán, Daniel Ávila, Christian Robles, Mauricio Tepos, Ana Santacruz, Braulio Ayala, Camila Vera y Oscar García.

- A todas la chinches que amablemente contribuyeron con este trabajo.
- A mis padres, Ma. de Lourdes García Alcántara y Arturo Téllez Ángeles, a quienes les debo tantísimo, por preocuparse por que este trabajo siempre llegara a buen término y porque sin ellos no habría llegado hasta aquí. Con todo mi amor les dedico este esfuerzo.
- A mis hermanos, Ana Isabel y David Arturo. Gracias por las alegrías, por recibirme siempre en casa y por compartir tanto conmigo.
- A Verónica Martínez, Germán Rodríguez y Cynthia Rodríguez, con mucho cariño por ser una segunda familia y por todo el apoyo que siempre me brindaron.
- Finalmente quiero agradecer a Ana Laura Rodríguez Martínez. Gracias por todo tu apoyo, por tu comprensión y paciencia en las largas jornadas de trabajo, por escuchar en innumerables ocasiones los altibajos de este proyecto, por tus palabras de ánimo, por estar siempre a mi lado y por compartir parte de tu vida conmigo. Con todo mi amor también te dedico a ti esta tesis. Gracias Lau.

# Índice

Resumen.....	3
Abstract.....	4
Capítulo 1. Introducción.....	5
1.1. Mecanismos de selección sexual.....	5
1.1.1. Modelos de elección femenina.....	6
1.1.1.1. Beneficios directos.....	6
1.1.1.2. Fisher-Zahavi.....	6
1.1.1.3. Compatibilidad genética.....	7
1.1.1.4. Explotación sensorial.....	7
1.2. Selección sexual postcopulatoria.....	8
1.2.1. Competencia espermática.....	9
1.2.2. Elección críptica de la hembra.....	9
1.2.3. Coevolución sexual antagonista.....	10
1.3. Selección sexual en <i>Meccus pallidipennis</i> .....	11
1.3.1. Generalidades de <i>M. pallidipennis</i> .....	11
1.3.2. Conducta sexual.....	12
1.4. Objetivo de la tesis.....	13
Capítulo 2. Estimulación genital.....	14
2.1. Introducción.....	14
2.1.1. Hipótesis de la evolución genital.....	14
2.1.1.1. Hipótesis de llave-cerradura.....	14
2.1.1.2. Hipótesis de la pleiotropía.....	15
2.1.1.3. Hipótesis de la selección sexual.....	16
2.1.2. Genitales de <i>M. pallidipennis</i> .....	16
2.1.2.1. Genitales de la hembra.....	16
2.1.2.2. Genitales del macho.....	17
2.2. Antecedentes.....	19
2.3. Objetivo.....	20
2.4. Hipótesis.....	21
2.5. Predicciones.....	21
2.6. Materiales y métodos.....	21
2.6.1. Insectos.....	21
2.6.2. Determinación de las setas que entran en contacto durante la cópula.....	22
2.6.3. Tratamientos.....	22
2.6.4. Duración de la cópula.....	23
2.6.5. Densidad de espermatozoides.....	24
2.6.6. Análisis estadístico.....	26
2.7. Resultados.....	28
2.7.1. Éxito de la cópula.....	28
2.7.2. Duración de la cópula.....	29
2.7.3. Densidad de espermatozoides.....	29
2.7.4. Relación entre la duración de la cópula y la densidad de espermatozoides.....	29
2.7.5. Densidad de espermatozoides en las espermatecas derechas vs. izquierdas.....	30
2.7.6. Densidad de espermatozoides en las espermatecas control vs. experimental.....	31
2.8. Discusión.....	36
Capítulo 3. Cortejo copulatorio.....	42
3.1. Introducción.....	42
3.2. Antecedentes.....	43
3.3. Objetivo.....	44
3.4. Hipótesis.....	44
3.5. Predicciones.....	44
3.6. Materiales y métodos.....	44

3.6.1. Registro de los toques y roces .....	44
3.6.2. Análisis estadístico .....	45
3.7. Resultados .....	48
3.7.1. Toques.....	48
3.7.2. Relación entre la cantidad de toques y la duración de la cópula .....	49
3.7.3. Relación entre la cantidad de toques y la densidad de espermatozoides.....	49
3.7.4. Frecuencia de los toques .....	50
3.7.5. Relación entre la frecuencia de los toques y la densidad de espermatozoides .....	50
3.8. Discusión .....	53
4. Conclusiones.....	56
5. Referencias .....	57

## Resumen

Las estructuras genitales y el cortejo copulatorio son rasgos que han evolucionado por presiones de selección sexual como la elección críptica de la hembra en una gran cantidad de animales. *Meccus pallidipennis* es una especie cuya morfología genital y conducta copulatoria han sido pobremente estudiadas bajo una perspectiva de elección críptica de la hembra. En este trabajo se estudió el papel que juegan la setas genitales de los machos de este insecto y los toques y roces que éstos efectúan durante la cópula. Se determinó que los machos a los cuales se les amputaron la setas genitales de manera experimental presentaron menor probabilidad de copular y menor duración de la cópula, pero transfirieron la misma cantidad de espermatozoides a las hembras que los machos control. También se determinó que la cantidad toques y roces efectuados por los machos no está correlacionada con la duración de la cópula ni con la cantidad de espermatozoides transferidos a las hembras. Estos resultados sugieren que las setas genitales de los machos son necesarias para llevar a cabo la cópula pero su mantenimiento no está mediado por un proceso de elección críptica de la hembra. Asimismo se sugiere que los toques y roces efectuados por los machos no son una forma de cortejo copulatorio. Se discuten otras posibles explicaciones para la existencia de estos rasgos como una función mecanorreceptiva de las setas genitales y elección críptica masculina en el caso de los toques y roces efectuados por los machos.

## **Abstract**

Sexual selection has shaped the evolution of genital structures and copulatory courtship behaviour by cryptic female choice in a wide variety of animals. *Meccus pallidipennis* is a species whose genital morphology and copulatory behaviour have been poorly studied under a cryptic female choice perspective. In this work I studied the role of male genital setae and the effect of tapping and rubbing the female's body during copula by males. Results show that males with genital setae experimentally ablated had a lower probability to copulate as well as lower copula duration than the un-ablated males. However there were no differences in the quantity of sperm cells transferred to females. It was also determined that tapping and rubbing intensity was not correlated with the duration of copula nor with the quantity of sperm cells transferred to females. These results suggest that male genital setae are necessary to copulate but their maintenance is not mediated by cryptic female choice. In the same way, these results suggest that tapping and rubbing the female's body is not a form of copulatory courtship behaviour. I discuss other possible explanations for the existence of these traits, for example a mechanoreceptive function for male genital setae and cryptic male choice in the case of the tapping and rubbing behaviour.

## Capítulo 1. Introducción

La selección sexual puede definirse como el proceso a través del cual se seleccionan los rasgos asociados con la competencia por el acceso a los gametos de una pareja (Shuker 2010). Puesto que en la mayoría de las especies animales la inversión en la producción de crías no es la misma entre machos y hembras (siendo las hembras las que más invierten), resulta común que la competencia sea más intensa entre machos que entre hembras (Trivers 1972; Janicke 2016). De este modo, los machos son el sexo cuyos rasgos —aquellos relacionados con el acceso a los gametos— serán seleccionados por las hembras. Aunque esto es lo más común, la relación inversa entre sexo seleccionado y sexo seleccionador también ocurre en la naturaleza (Bonduriansky 2001; Shuker 2014).

### 1.1. Mecanismos de selección sexual

De acuerdo con Darwin (1871), la selección sexual puede dividirse en selección intrasexual y selección intersexual. En la primera, los machos compiten por el acceso a los gametos de las hembras independientemente de la preferencia que éstas tengan por algún rasgo. En cambio, en la selección intersexual, la competencia entre machos está mediada por la preferencia que las hembras tengan sobre un cierto rasgo que poseen los machos (Shuker 2014). Actualmente existen cuatro principales modelos teóricos de selección intersexual que contemplan la evolución del rasgo del macho —el cual tiende a exagerarse— y de la preferencia de la hembra: beneficios directos, Fisher-Zahavi, compatibilidad genética y explotación sensorial (Hunt y Sakaluk 2014).

### 1.1.1. Modelos de elección femenina

#### 1.1.1.1. Beneficios directos

Este modelo supone la evolución simultánea de los rasgos del macho seleccionado y de la preferencia de la hembra debido a que dichos rasgos afectan directamente la adecuación de la hembra —incrementan el número de hijos promedio— (Kirkpatrick 1985). Así, las hembras tenderán a seleccionar a los machos que le provean de beneficios como cuidado parental, defensa del territorio, protección y regalos nupciales, por citar algunos (Jones y Ratterman 2009); o bien, machos que sean más conspicuos y requieran menor inversión de recursos en ser encontrados (Kirkpatrick y Ryan 1991).

#### 1.1.1.2. Fisher-Zahavi

En la actualidad se considera que este modelo es el resultado de la fusión de dos modelos preexistentes (Hunt et al. 2004; Kokko et al. 2002; se ha argumentado lo contrario por Kuijper et al. 2012): el proceso desbocado de Fisher y el principio del “*handicap*” o de los buenos genes de Zahavi. El proceso de Fisher implica que, sin importar cómo haya surgido la preferencia de las hembras de una población por algún rasgo presente en los machos, una hembra que se aparee con un macho que tiene un rasgo con un cierto valor, tendrá como descendencia machos con ese valor en el rasgo y hembras con preferencia por ese valor (Fisher 1930; Lande 1981; Pomiankowski, Iwasa, y Nee 1991). La correlación genética entre preferencia y rasgo provoca un ciclo de retroalimentación positiva entre ambos (Shuker 2014).

El principio de los buenos genes señala que los rasgos exagerados de los machos son preferidos por las hembras porque indican la condición genética del macho. Un macho que posee un rasgo exagerado se encuentra bajo una mayor presión

de selección natural —porque es más conspicuo ante los depredadores, por ejemplo—, pero su condición genética le ha permitido sobrevivir a pesar de esa desventaja; por lo tanto, una hembra que se aparee con ese macho tendrá descendientes con esa condición genética (Maynard Smith 1991; Zahavi 1975, 1977). De manera similar, este mismo principio aplica para los rasgos cuya expresión implica un alto costo para el machos, ya sea de manera inherente o porque se encuentran sometidos a cargas parasitarias (Hamilton y Zuk 1982). Como se ha mencionado anteriormente, se considera que ambos modelos son uno mismo debido a que explican que los caracteres tienden a exagerarse por medio de la selección sexual debido a que la adecuación de la descendencia de las hembras se incrementa, ya sea porque es más atractiva o porque tiene mayor viabilidad (Hunt et al. 2004; Kokko et al. 2002).

#### 1.1.1.3. Compatibilidad genética

Alternativamente, las hembras pueden ejercer preferencia por ciertos machos dependiendo de las combinaciones genéticas que puedan resultar. Esto sucede cuando los fenotipos con mayor adecuación surgen de ciertas combinaciones de genomas parentales —genomas compatibles— y, por lo tanto, las hembras preferirán a machos cuya composición génica maximice la adecuación de la descendencia (Hunt y Sakaluk 2014; Neff y Pitcher 2005; Puurtinen, Ketola, y Kotiaho 2009; Zeh y Zeh 1996, 1997).

#### 1.1.1.4. Explotación sensorial

El modelo de la explotación sensorial está quizás más ligado con el origen de la preferencia de una hembra por un rasgo que con el mantenimiento de esta preferencia. Sin embargo, es importante considerarlo porque existen rasgos, especialmente conductuales, que difícilmente pueden entenderse como señales de la condición de un macho (Arnqvist 2006). A diferencia de los otros modelos, en

éste la preferencia y el rasgo no surgen al mismo tiempo sino que la preferencia se establece primero y después, por casualidad como es frecuentemente el caso de una mutación, surge un rasgo en los machos que resulta ser atractivo para las hembras (Ryan 1990). Otro aspecto que diferencia a la explotación sensorial del resto de los modelos es que ni los rasgos de los machos ni los machos mismos suponen una ventaja para la adecuación de las hembras ni de su descendencia al ser elegidos. Sin embargo, también es posible que las hembras tengan esta preferencia previa por los rasgos de los machos debido a que éstos simulan o se parecen a señales presentes en el medio por los que las hembras se sienten atraídas bajo otros contextos diferentes al apareamiento —colores similares a los del alimento, formas parecidas a los refugios, señales relacionadas con la depredación, entre otros— y que les suponen una ventaja adaptativa (Endler y Basolo 1998; Ryan y Keddy-Hector 1992; Ryan 1990). A esta forma de explotación sensorial se le conoce como trampas sensoriales (Ryan 1990).

## 1.2. Selección sexual postcopulatoria.

Si bien la selección sexual trata de la competencia por el acceso a los gametos de una pareja (Shuker 2010), los modelos de selección sexual anteriormente mencionados han sido desarrollados principalmente a partir de estudios enfocados a los momentos previos a la cópula. Sin embargo, se ha demostrado que durante la cópula o después de la misma —postcópula en conjunto— el proceso de selección sexual continúa. La selección sexual postcopulatoria, igual que la precopulatoria, puede dividirse en dos con respecto a si la hembra efectúa o no una elección: competencia espermática (CE) —selección intrasexual— y elección críptica de la hembra (ECH) —selección intersexual— (Eberhard 2015). Sin embargo, dado que ambos mecanismos de selección sexual postcopulatoria ocurren dentro de la hembra y ésta influye de alguna u otra manera en la competencia, se ha planteado que los dos son en sí elección críptica de la hembra

(Arnqvist 2014). Para fines prácticos en este trabajo se considerarán por separado.

#### 1.2.1. Competencia espermática

Definida por Parker (1970), la CE es la competencia llevada a cabo dentro de una misma hembra entre el espermatozoides de dos o más machos por la fertilización de los óvulos. Las estrategias adaptativas de la CE cubren un rango entre evitar la competencia hasta la competencia directa. Se mencionan algunas de estas estrategias revisadas por Parker (1970) y Simmons (2001; 2014) en orden de dicho rango: i) comportamiento de resguardo sobre la hembra; ii) producción de sustancias que inhiben la receptividad; iii) producción de tapones que evitan la entrada de otros eyaculados; iv) inseminación traumática; v) incremento en la producción y en la transferencia espermática; vi) racionamiento estratégico del eyaculado para varias hembras; vii) espermatozoides con morfologías adaptadas para la competencia; y viii) remoción mecánica de eyaculados previos.

#### 1.2.2. Elección críptica de la hembra

Mencionada por primera vez por Thornhill (1983), la ECH puede definirse como el éxito postcopulatorio diferencial en la fertilización entre diferentes machos causado por un rasgo en la hembra (Arnqvist 2014; Eberhard 1996). Dicho rasgo no se limita al sistema nervioso femenino como cuando ocurre en la selección sexual precopulatoria (Eberhard 1996), sino que abarca rasgos morfológicos, conductuales y fisiológicos (Arnqvist 2014). Por ejemplo, si la forma del tracto reproductor de la hembra es capaz de discriminar entre distintos aparatos intromitentes de los machos con los que se aparea, el rasgo sería morfológico (Arnqvist 2014). Por otro lado, si la hembra es capaz de manipular la duración de la cópula se trataría de un rasgo conductual; o bien, si la hembra digiere los espermatozoides de un macho no favorecido, el rasgo se consideraría fisiológico

(Arnqvist 2014). Una lista de más de veinte mecanismos a través de los cuales las hembras pueden ejercer la elección críptica se detalla en dos trabajos de Eberhard (1996; 2015): entre éstos destacan detener la cópula prematuramente; transportar o no los espermatozoides a los sitios de almacenaje; eliminar el eyaculado de machos anteriores; facilitar la remoción espermática por otros machos; ovular; mantener en su sitio el tapón colocado por el macho; y, remoción del espermatóforo antes de que se liberen todos los espermatozoides.

A pesar de la relevancia que se le da a los mecanismos de elección de la hembra, debe recordarse que éstos se encargan de elegir rasgos de los machos que presentan variabilidad intrasexual, y que estos últimos están relacionados con el éxito reproductivo de los machos —*e.g.* cortejo copulatorio, morfología de los genitales, productos del eyaculado, regalos nupciales, entre otros— (Arnqvist 2014).

### 1.2.3. Coevolución sexual antagonista

Como ya se ha señalado, las hembras suelen ser el sexo que más invierte en la reproducción (Trivers 1972); aunado a lo anterior, se ha demostrado que la adecuación de las hembras suele verse disminuida con la reproducción debido a que los machos pueden desarrollar estrategias que favorezcan su éxito reproductivo a costa de generarle un daño a la hembra (Bateman 1948; *e.g.* Chapman et al. 1995). A esta diferencia de intereses que tienen machos y hembras con respecto a la reproducción se le conoce como conflicto sexual (Chapman et al. 2003). Bajo este conflicto se espera que la selección natural y la selección sexual favorezcan valores diferentes en los rasgos de machos y hembras (Shuker 2014). Una consecuencia de este conflicto sexual es la coevolución sexual antagonista: en la competencia por el acceso a los gametos de las hembras, los machos desarrollan rasgos o estrategias para manipular a las hembras, los cuales tienen un costo para éstas impuesto por la selección sexual;

en respuesta, las hembras responden con nuevos rasgo o estrategias que les permitan disminuir su susceptibilidad a la manipulación de los machos (Eberhard 2015).

De manera similar que en la ECH, los machos pueden utilizar la explotación sensorial para acceder a los gametos de las hembras, pero en un proceso de coevolución sexual antagonista, esta explotación implicaría un daño a la hembra que sería contrarrestado con una adaptación de ésta (Holland y Rice 1998). Cabe señalar que los rasgos de los machos aparentemente dañinos para una hembra pueden resultar beneficiosos si se considera que dicha hembra tendrá descendientes machos con los mismos rasgos que le permitan incrementar su éxito reproductivo (Cordero y Eberhard 2003; Córdoba-Aguilar y Contreras-Garduño 2003; Eberhard y Cordero 2003).

### 1.3. Selección sexual en *Meccus pallidipennis*

#### 1.3.1. Generalidades de *M. pallidipennis*

Los triatóminos (Hemiptera: Reduviidae) son un grupo de insectos hematófagos cuya biología ha sido ampliamente estudiada debido a que son el vector de *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas (Lent y Wygodzinsky 1979). Este grupo de insectos comprende alrededor de 140 especies distribuidas principalmente en el continente americano, a excepción de algunas especies de los géneros *Triatoma* y *Linshcosteus* que habitan en Asia y el Viejo Mundo (Schofield y Galvão 2009). La subfamilia Triatominae está conformada por cinco tribus y 15 géneros de acuerdo con la revisión de Schofield y Galvão (2009).

*M. pallidipennis* es una especie que se distribuye principalmente en el oeste de México, en los estados de Colima, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla Querétaro, Veracruz y

Zacatecas; prácticamente desde el nivel medio del mar hasta los 1700 m.s.n.m. (Carcavallo et al. 2000; López-Cárdenas et al. 2005; Salazar Schettino et al. 2010; Vidal-Acosta, Ibáñez-Bernal, y Martínez-Campos 2000). Éste es un organismo que habita principalmente el peridomicilio, lo que lo vuelve un vector de *T. cruzi* de importancia humana (Magallón-Gastelum et al. 1998). Bajo condiciones de laboratorio, se ha reportado que esta especie tiene un tiempo de desarrollo —de huevo a adulto— de  $168 \pm 11.71$  días y un tiempo de supervivencia de los adultos de  $357 \pm 217.86$  días para los machos y  $262.53 \pm 167.71$  para las hembras (Bautista et al. 2001; Martínez-Ibarra y Katthain-Duchateau 1999).

### 1.3.2. Conducta sexual

La conducta reproductiva de *M. pallidipennis* es prácticamente igual a la conducta reproductiva del resto de los triatóminos (Lima, Jurberg, y de Almeida 1986a; Manrique y Lazzari 1994; Manrique y Lorenzo 2012; Rojas y Cruz-Lopez 1992; Vitta y Lorenzo 2009). No existe un cortejo precopulatorio aparente y el apareamiento consiste en: a) la adopción de una posición "vigilante" del macho al detectar a la hembra, b) el macho monta o salta sobre la hembra, c) ocasionalmente el macho hace un giro por encima de la hembra, d) el macho adopta una posición dorsolateral hacia cualquiera de los costados de la hembra, e) el macho sujeta el cuerpo de la hembra con los tres pares de patas y extiende los parámetros para sujetar los genitales externos de la hembra, f) se lleva a cabo la cópula y, finalmente, g) el macho desciende de la hembra (Rojas y Cruz-Lopez 1992). Bajo condiciones de laboratorio se ha registrado que el tiempo de cópula de *M. pallidipennis* es de  $11 \text{ min } 47 \text{ s} \pm 3 \text{ min } 36 \text{ s}$  (Rojas y Cruz-Lopez 1992).

En otras especies de triatóminos, la receptividad de las hembras depende principalmente de la edad y su estado nutricional (Lima, Jurberg, y de Almeida 1986b; Nattero et al. 2011; Vitta y Lorenzo 2009), y cuando éstas no están receptivas, despliegan una serie de conductas para rechazar a los machos. Estas

conductas incluyen evasión, movimientos abdominales y el aplanamiento del abdomen para evitar que el macho pueda hacer contacto sus genitales. Adicionalmente, las hembras de *T. infestans* y *Rhodnius prolixus* estridulan al rozar el aparato bucal contra el surco estridulatorio del proesterno, lo que induce la interrupción de la cópula en el macho (Manrique y Lazzari 1994; Manrique y Schilman 2000; Roces y Manrique 1996). En *M. pallidipennis* no se ha descrito ninguna de estas conductas de rechazo.

Como se ha mencionado anteriormente, no se ha reportado un cortejo precopulatorio aparente en *M. pallidipennis*, sin embargo en otras especies de triatóminos como *Panstrongylus geniculatus*, *T. dimidiata* y *T. infestans* se han reportado danzas de cortejo y movimientos nupciales cuya relación con el éxito reproductivo no ha sido probada (Hase, 1932 y Gaillard, 1936 en Rojas et al. 1990; Silva, 1982 en Lima, Jurberg, y de Almeida 1986a).

#### 1.4. Objetivo de la tesis

El objetivo de esta tesis es determinar la existencia de procesos de selección sexual postcopulatoria en *M. pallidipennis* y la posible función que puedan tener los genitales en estos procesos.

## Capítulo 2. Estimulación genital

### 2.1. Introducción

La principal función de los genitales es la transferencia y aceptación de los gametos durante la reproducción sexual. Sin embargo, como señala Eberhard (1985; 2010a; 2010b), una revisión de la morfología genital en la mayoría de los grupos animales demuestra que estas estructuras evolucionan en los machos de manera más rápida y divergente que el resto de las estructuras corporales. Esta diversidad morfológica ha permitido que los genitales sean caracteres diagnósticos usualmente utilizados para separar especies en los estudios taxonómicos. Asimismo, este patrón evolutivo, aunado a la complejidad o “extravagancia” de la forma, ha hecho suponer que los genitales no son simples estructuras de intercambio gamético. Para explicar la diversidad y la complejidad morfológica de los genitales se han propuesto las siguientes hipótesis —cabe señalar que existe un sesgo importante hacia el estudio de los genitales masculinos y, por lo tanto, estas hipótesis siguen siendo parciales en tanto no se consideren los genitales femeninos y sus implicaciones evolutivas (Ah-King, Barron, y Herberstein 2014; Méndez y Córdoba-Aguilar 2004)—.

#### 2.1.1. Hipótesis de la evolución genital

##### 2.1.1.1. Hipótesis de llave-cerradura

Propuesta por Dufour (1844 en Mayr 1963), la hipótesis de llave-cerradura establece que los genitales de los machos de una especie evolucionan para que puedan “encajar” solamente con los genitales de las hembras de su misma especie, produciendo aislamiento reproductivo al no haber correspondencia con los genitales de otra especie —una llave para una cerradura—. Aunque en la actualidad aún existen ejemplos que apoyan esta hipótesis (e.g. Yassin y Orgogozo 2013), con el paso del tiempo ésta ha dejado de usarse como una

explicación general debido al creciente número de trabajos que han demostrado la posibilidad de unión mecánica entre individuos de diferentes especies. Asimismo, la existencia de filtros precopulatorios como el cortejo y la diversidad de la forma en zonas genitales que no tienen contacto entre sí, hacen que teóricamente la disparidad morfológica en los genitales sea innecesaria para producir aislamiento reproductivo (Eberhard 1985).

#### 2.1.1.2 Hipótesis de la pleiotropía

Esta hipótesis sostiene que los genes implicados en la expresión de la forma de los genitales están también involucrados en otros procesos y, en consecuencia, los cambios en los genes del organismo por cualquier otra razón, pueden tener como efecto un cambio en la forma de los genitales. Dado que los genitales sólo sirven para transferir los gametos y ovipositar en el caso de las hembras, los cambios morfológicos que en ellos suceden están sujetos a muy pocas presiones de selección y son altamente variables (Mayr 1963). Además, para compensar los cambios en uno de los sexos, el otro sexo tiene modificaciones en la forma que le permitan mantener correspondencia morfológica con el primero (Arnold 1973). Existen trabajos que de manera indirecta sugieren que los efectos pleiotópicos pueden producir variabilidad intraespecífica de la forma genital (ver revisión de Reinhardt 2010) y son pocos los que han probado esta hipótesis de manera directa (e.g. House y Simmons 2005). Por otro lado, al no tratarse de simples estructuras para la transferencia de gametos y estar directamente involucradas en el éxito reproductivo, la evolución de los genitales por pleiotropía presenta complicaciones como hipótesis (Eberhard 1985). Sin embargo, estudios como los de Arnqvist *et al* (1997) y Morrow *et al* (2003) demuestran que ésta no puede ser descartada.

### 2.1.1.3. Hipótesis de la selección sexual

Darwin (1871) distinguió entre rasgos sexuales primarios y secundarios: los primeros son aquellos que están directamente relacionados con la reproducción — genitales— y los segundos son aquellos relacionados con la competencia por el acceso a los gametos del otro sexo y que presentan dimorfismo sexual —e.g. el plumaje colorido de los machos en algunas aves, la conducta de cortejo, las armas involucradas en la selección sexual intraespecífica, etc.—. Sin embargo, los trabajos de Eberhard (1985; 1996) han permitido un nuevo análisis de esta distinción ya que se ha demostrado que los rasgos sexuales primarios también están sometidos a los mecanismos de selección sexual (Ghilsen 2010); particularmente a la selección sexual postcopulatoria, ya sea por CE, ECH o mediante ciclos de coevolución sexual antagonista. Bajo esta hipótesis, los genitales y sus subestructuras son rasgos a través de los cuales las hembras pueden discriminar entre varios machos y llevar a cabo una elección de acuerdo a una determinada preferencia. Esta perspectiva permite entender de otra manera la evolución rápida y divergente de los genitales entre especies.

### 2.1.2. Genitales de *M. pallidipennis*

#### 2.1.2.1. Genitales de la hembra.

Los genitales de *M. pallidipennis* han sido pobremente estudiados y por eso a continuación se describe el plano general de los genitales femeninos de los triatóminos. En términos generales, los genitales externos de las hembras está compuesto por una serie de uroesternitos divididas por la mitad en pares: dos pares de gonocoxas —o valvifers— pertenecientes a los segmentos 8 y 9, y tres pares de gonapófisis —o válvulas (Davis 1966). Como en otros insectos, los triatóminos presentan una gran variedad de setas en el cuerpo. Estas setas se vuelven más abundantes en la región terminal del abdomen, alrededor de las

gonocoxas y gonapófisis en las hembras de algunas especies de *Panstrongylus*, *Rhodnius* y *Triatoma* (da Rosa et al. 2010, 2014).

La vagina se extiende de manera interna a partir de las gonapófisis hasta conectarse en su región dorsal con el oviducto común por medio del vestíbulo. El oviducto común se divide en dos oviductos laterales, los cuales se dividen nuevamente en 7 pedicelos unidos a la base del ovario, el cual, a su vez, se subdivide en 7 ovariolas. Las dos espermatecas, encargadas de recibir y almacenar el espermatozoos del macho, se insertan a cada uno de los lados del oviducto común (Davis 1966; Schuh y Slater 1995).

#### 2.1.2.2. Genitales del macho.

Los genitales del macho, compuestos por los uroesternitos de los segmentos 8 y 9, se encuentran situados ventralmente en la séptimo uroesternito. El uroesternito 8 está reducido a una delgada banda anterior al noveno uroesternito, el cual se conoce como cápsula genital o pigóforo. El pigóforo es una estructura semiglobular esclerotizada con una superficie dorsal membranosa que separa el intestino de los genitales internos. Su margen posterior presenta una proyección esclerotizada en el medio con forma de espina conocida como proceso medio del pigóforo (Davis 1966; Lent y Wygodzinsky 1979). La apertura del pigóforo, por donde salen los genitales internos durante el apareamiento, se encuentra flaqueada por un par de parámetros que la cubren cuando están en reposo (Carcavallo et al. 1998). Tanto los parámetros como el margen posterior y el proceso medio del pigóforo se encuentran cubiertos por arreglos de suetas (Figura 2.1).

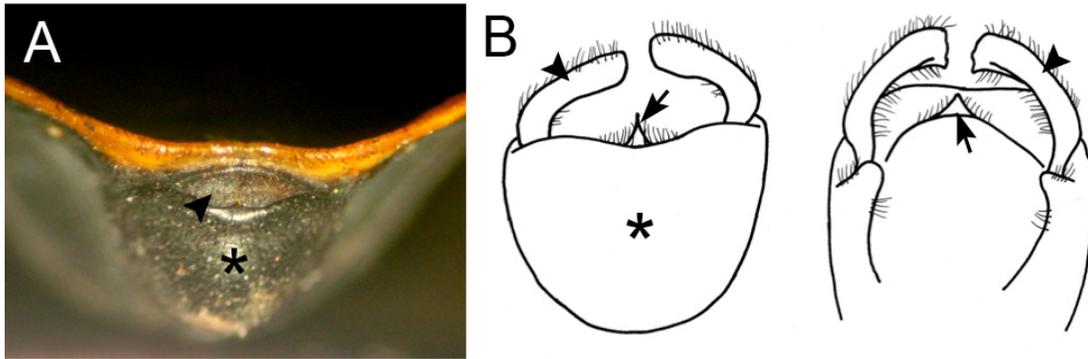


Figura 2.1. Pigóforo de *M. pallidipennis*. A, fotografía de una vista posterior del abdomen del macho donde se aprecia el pigóforo y los parámetros en reposo. B, ilustración del pigóforo en una vista posterior (izquierda) y en una vista dorsal con la parte posterior hacia arriba (derecha); en ambas vistas se aprecian los parámetros extendidos y las setas genitales que recubren los parámetros y el proceso medio del pigóforo. \*, pigóforo; cabezas de flecha, parámetro izquierdo; flechas, proceso medio del pigóforo.

Dentro del pigóforo se encuentra el edeago, el cual está compuesto por el aparato articular —basal— y el falo —apical—. El aparato articular tiene la función de darle soporte al falo y sirve a manera de bisagra para facilitar que este último salga del pigóforo. El falo está compuesto por el falosoma y el endosoma. El falosoma envuelve al endosoma, el cual es una estructura evertible que se encuentra invaginada cuando no presenta actividad y que es capaz de extenderse durante la cópula para depositar el espermátóforo dentro de la hembra (Carcavallo et al. 1998; Lent y Wygodzinsky 1979).

Los testículos están unidos con los *vasa deferentia* hacia el interior del animal (Davis 1966). Tres de las cuatro mesadenias producen el material con que se forma el espermátóforo. La cuarta mesadenia o glándula opaca produce una sustancia que se secreta junto con el espermátóforo durante la cópula. Davey (1958) ha demostrado que esta sustancia producida por el macho de *R. prolixus* es responsable de generar contracciones en la musculatura de la *bursa copulatrix* que provocan la migración de los espermatozoides hacia las espermatecas.

## 2.2. Antecedentes

En algunos estudios se han asociado algunas estructuras de los genitales masculinos con un mayor éxito reproductivo. Por ejemplo, en el caso de *Anomala orientalis*, el edeago contiene un par de grupos de espículas que hacen contacto directo con los genitales internos de la hembra durante la cópula. Una posible función que se le ha atribuido a estas espículas es que sirven como mecanismo de anclaje. Sin embargo, dado que se ha observado que aquellos machos que tienen una mayor abundancia de estas estructuras presentan una mayor probabilidad de fertilización, se ha propuesto que también pueden tener la función de estimular a la hembra bajo un contexto de ECH (Wenninger y Averill 2006). De manera similar, los genitales masculinos de *Ontophagus taurus* contienen una serie de escleritos cuya variabilidad morfológica está asociada con el éxito reproductivo diferencial de los machos (House y Simmons 2003).

Existen también estudios donde se han manipulado algunas estructuras genitales masculinas para dilucidar su posible función durante la cópula. En la mosca *Glossina pallidipes* los machos presentan un par de cercos laterales en el aparato reproductor adornados por setas que hacen contacto directo con los genitales femeninos durante la cópula (Briceño y Eberhard 2009). Igualmente, durante este proceso, un grupo de setas presentes en el quinto esternito rozan el sexto tergito de la hembra. La remoción de las setas de ambas estructuras o la ablación de los mismo cercos, así como cubrir las zonas de contacto de la hembra con barniz, disminuye la probabilidad de encontrar espermatozoides en las espermatecas de las hembras (Briceño y Eberhard 2009). Esto indica que la estimulación genital y la percepción de la misma juegan un papel importante durante la fertilización que concuerda con la hipótesis de la selección sexual bajo ECH (Briceño y Eberhard 2009). En el mismo sentido, se ha observado que los machos de *Callosobruchus maculatus* a los cuales se les han removido las espinas presentes en el endofalo o que presentan espinas de tamaño reducido, presentan menor éxito de fertilización. Una posible explicación para este fenómeno es que las espinas tienen la función

de romper los genitales internos de la hembra para permitir el paso de algunas sustancias seminales que inducen el uso de los espermatozoides (Hotzy et al. 2012). En conjunto, estos estudios demuestran que la estimulación genital mediada por estructuras como espinas, setas y escleritos, está íntimamente relacionada con el éxito reproductivo de los organismos.

Como se ha mencionado anteriormente, la distinción entre la CE y la ECH, aunque práctica, no es necesariamente real puesto que ambos mecanismos están bajo cierto control desde el punto de vista de la hembra (Arnqvist 2014). En su conjunto, ambos mecanismos gozan de un buen soporte empírico como una explicación general de la evolución de la morfología genital. En cambio, la evolución mediante coevolución antagonista tiene menos peso pero se reconoce que se trata de un fenómeno que ha ocurrido en casos particulares (Eberhard 2010a, 2010b). Determinar una función distinta a la simple transferencia de gametos para los genitales, bajo una perspectiva de ECH, sigue siendo un reto.

De manera preliminar, en este trabajo se observó que los genitales masculinos de *M. pallidipennis* presenta algunos arreglos de setas en su parte interna (Fig. 2.1). Dado que i) las hipótesis de evolución genital previamente descritas suponen un papel funcional para las estructuras genitales bajo un contexto de selección sexual postcopulatoria; y que ii) los trabajos anteriormente mencionados confirman que este tipo de estructuras están involucradas en el éxito reproductivo, resulta interesante esclarecer qué papel pueden jugar estas setas durante la cópula.

### 2.3. Objetivo

El objetivo de este capítulo es determinar la función de las setas presentes en los genitales internos de los machos de *M. pallidipennis*.

## 2.4. Hipótesis

Las setas genitales de los machos son estructuras estimuladoras necesarias durante la cópula de *M. pallidipennis*.

La estimulación provista por las setas genitales masculinas afecta la densidad de espermatozoides transferidos a la hembra durante la cópula.

## 2.5. Predicciones

Si los machos de *M. pallidipennis* presentan ausencia en las setas genitales, los machos tendrán menor éxito de la cópula.

Si los machos de *M. pallidipennis* presentan ausencia en las setas genitales, los machos serán capaces de transferir una menor cantidad de espermatozoides a las hembras.

## 2.6. Materiales y métodos

### 2.6.1. Insectos

Ninfas en quinto estadio de *M. pallidipennis* obtenidas del insectario del Laboratorio de Biología de Parásitos de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), fueron alimentadas a partir de septiembre de 2014 con sangre de ratón cada semana hasta llegar a estadio adulto. Los adultos siguieron el mismo régimen de alimentación y se mantuvieron dentro del mismo insectario. Seis parejas se mantuvieron en un mismo contenedor como pie de cría, colectándose los huevos ovipositados cada semana. Las crías obtenidas de estas seis parejas fueron alimentadas con sangre de ratón o conejo cada dos semanas hasta que llegaron al estadio adulto. Una vez emergidos los adultos, éstos se mantuvieron en frascos individuales y se alimentaron hasta llegar a la

madurez sexual. Mediante pruebas preliminares se determinó que los adultos de la colonia utilizada alcanzan la madurez sexual después de dos semanas de haber emergido y después de haberse alimentado dos veces; de no ser así, muy pocos individuos intentan aparearse. Todos los insectos se mantuvieron en obscuridad constante salvo para la alimentación, para recibir los tratamientos experimentales y para la experimentación misma.

#### 2.6.2. Determinación de las setas que entran en contacto durante la cópula

Para determinar cuáles setas de los genitales masculinos entran en contacto con los genitales femeninos, una pareja en cópula fue sacrificada al rociarle cloruro de etilo en aerosol. La parte terminal del abdomen de ambos individuos, aún ensamblada por los genitales, fue separada del resto de los cuerpos y se deshidrató con etanol (70%, 80%, 90% y 100%). Se tomaron microfotografías de barrido en el Laboratorio de Microscopía del Instituto de Biología, UNAM (Fig. 2.2).

#### 2.6.3. Tratamientos

Los machos fueron divididos en grupo experimental y grupo control. Los machos del grupo experimental fueron inmovilizados bajo un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 2000-C para llevar a cabo la amputación de las setas presentes en los genitales internos. Para esto, con la ayuda de pinzas de disección, el pigóforo fue suavemente separado del abdomen mientras que los parámetros se jalaban hacia fuera dejando expuesto el proceso medio del pigóforo y la cara interna de los parámetros. Posteriormente se rozó varias veces la superficie de estas dos últimas estructuras con las pinzas de disección para amputar las setas presentes. Finalmente se colocaron los parámetros en la entrada del pigóforo y se presionó éste suavemente contra el abdomen para colocarlo en su posición original. Los machos del grupo control fueron tratados de la misma manera con la excepción de la amputación de setas; en vez de esto, las mismas estructuras fueron tocadas varias veces con la punta de las pinzas cuidando de no alterar la integridad de las

setas. A ambos grupos se les dio un periodo de recuperación de al menos dos días antes de pasar a la fase experimental.

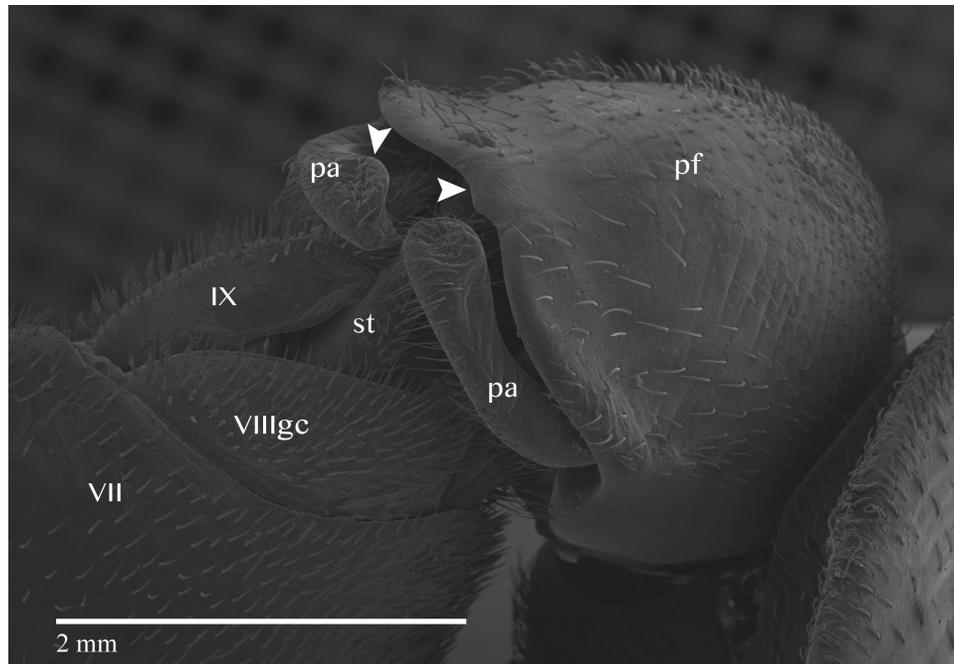


Figura 2.2. Genitales ensamblados de la hembra (derecha) y del macho (izquierda) de *M. pallidipennis*. El pigóforo (pf) del macho gira con respecto al resto del abdomen y sujeta los estiloides (st) y las gonapófisis (no visibles) con los parámetros (pa). Las cabezas de flecha señalan las setas del proceso medio del pigóforo y de las caras internas de los parámetros que hacen contacto con los genitales de la hembra. VII, séptimo segmento de la hembra; VIIIgc, gonocoxa del octavo segmento de la hembra; IX, noveno segmento de la hembra.

#### 2.6.4. Duración de la cópula

Se construyó un escenario que consistió en un recipiente de cristal (17.5 cm de diámetro X 7 cm de altura) con un papel blanco como sustrato. Este recipiente se colocó dentro de una caja (32 cm de largo X 25 cm de ancho X 22 cm de altura) con las paredes forradas de color negro y un fondo de color blanco. Las parejas fueron alimentadas a repleción una semana antes de ser introducidas al escenario para la experimentación y los machos de ambos grupos fueron asignados de manera aleatoria con sus respectivas hembras. Para esto se seleccionaron de tres a cinco machos y el mismo número de hembras que habían alcanzado la madurez

sexual con base su fecha de emergencia y su estatus alimentario, y se les asignó un número del uno al cinco dependiendo de cuántos individuos se tuvieran disponibles en ese momento. Posteriormente, utilizando el sitio web random.org, el cual cuenta un algoritmo de aleatoriedad basado en ruido atmosférico, se sortearon, uno por uno, los números de las hembras para asignarlos a cada uno de los números de los machos.

Para los experimentos, primero se colocó a la hembra dentro del escenario por al menos un minuto y posteriormente se introdujo el macho. Se consideró que el macho intentó copular si éste montó a la hembra, se posicionó dorsolateralmente y extendió tanto el pigóforo como los parámetros; se consideró iniciada una cópula si los genitales de ambos individuos hicieron contacto luego de haberse presentado la conducta precopulatoria descrita por Rojas y Cruz-Lopez (1992); y se consideró terminada cuando los genitales externos de ambos se separaron. Para registrar la duración de la cópula, las parejas fueron filmadas por un periodo máximo de 18 minutos o hasta que la cópula hubiese terminado.

En caso de no darse la cópula en el primer intento, los individuos fueron separados en frascos individuales. Luego de un periodo mínimo de una semana fueron nuevamente alimentados y repartidos aleatoriamente para una prueba subsecuente.

#### 2.6.5. Densidad de espermatozoides

Veinte horas después de llevada a cabo la cópula se disecaron las espermatecas de las hembras y se llevó a cabo el conteo espermático modificando la metodología de Lane et al. (2015). Se anestesió a la hembra por 10 minutos a -2 °C para después ser colocada bajo un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 2000-C en una caja de Petri con la parte ventral hacia arriba. Con un bisturí se llevó a cabo un corte longitudinal por la parte media del abdomen ventral desde la terminalia, comenzando entre las gonocoxas 8, hasta la unión de los segmentos

abdominales 4 y 5. Este corte se llevó a cabo sólo con la punta del bisturí, cuidando de no profundizar más allá del integumento. Con las pinzas de disección se retiró el integumento situado a ambos lados del corte dejando al descubierto los órganos internos en una ventana cuyas orillas fueron la unión de los segmentos abdominales 4 y 5, y ambos conexivos. Las espermatecas fueron extraídas desde su base, en el punto de inserción con el oviducto común, y cada una fue tratada como se describe a continuación.

En el centro de un portaobjetos se colocó una gota de 5  $\mu\text{l}$  de agua destilada dentro de la cual se rompió una espermateca usando un par de alfileres entomológicos. Después se agregaron 5  $\mu\text{l}$  más de agua destilada en el punto donde se rompió la espermateca y se resuspendió la dilución 3 veces para recuperar el eyaculado que pudiera haber quedado adherido al portaobjetos. Los 10  $\mu\text{l}$  fueron transferidos con una micropipeta a un tubo con 500  $\mu\text{l}$  de agua destilada, enjuagando la punta de los alfileres dentro de la misma para dejar la menor cantidad de eyaculado adherido a los alfileres. Finalmente se añadieron 90  $\mu\text{l}$  de agua destilada al tubo para obtener un volumen final de 600  $\mu\text{l}$ .

Los 600  $\mu\text{l}$  se agitaron en el vórtex a velocidad mínima por 15 s y se tomaron 3 muestras de 1  $\mu\text{l}$ , las cuales se colocaron cada una en un portaobjetos diferente y se dejaron secar a temperatura ambiente. Las muestras se tiñeron con un hemocolorante (Hemocolorante Rápido 548, Hycel) siguiendo las instrucciones del fabricante. Cada muestra se observó bajo un microscopio óptico OLYMPUS BX41 con el objetivo 20X o 40X dependiendo de la aglomeración de los espermatozoides en las preparaciones y se tomaron fotografías con una cámara digital OLYMPUS C-5050 ZOOM de distintas secciones de la muestra haciendo un barrido hasta cubrirla por completo. Posteriormente las fotografías fueron ensambladas con el programa Adobe Photoshop CS5 (Adobe Systems Inc.) sin modificar ningún aspecto de la fotografía y se calculó la densidad de espermatozoides contando los espermatozoides de la muestra. La densidad de espermatozoides por cada espermateca es la suma de tres muestras de 1  $\mu\text{l}$  (3  $\mu\text{l}$

tomados a partir de 600  $\mu\text{l}$ ) y la densidad de espermatozoides de ambas espermatecas es la suma de las seis muestras de 1  $\mu\text{l}$  (6  $\mu\text{l}$  tomados a partir de 1200  $\mu\text{l}$ ).

#### 2.6.6. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se llevaron a cabo pruebas paramétricas cuando se cumplieron los supuestos estadísticos. Sin embargo, dada la limitada cantidad de datos obtenidos en el grupo experimental (excepto en el análisis del éxito de la cópula), también se llevaron a cabo pruebas no paramétricas para confirmar los resultados. Los datos fueron analizados con el programa R 3.2.1 (R Core Team 2015).

Para determinar la importancia de las setas genitales en la cópula se evaluó el efecto de su presencia y ausencia (variable predictiva) en el éxito de la cópula mediante un modelo lineal generalizado utilizando una distribución binomial y una función de enlace logit ( $N_{\text{control}} = 26$ ,  $N_{\text{experimental}} = 30$ ). Este modelo se comparó con un modelo nulo en el cual no se incluyó la variable predictiva por medio de una prueba de razón de verosimilitud. El resto de los análisis se llevaron a cabo utilizando los datos de los individuos que sí lograron copular en este experimento.

Para evaluar la existencia de una diferencia en la duración de la cópula y en la densidad de espermatozoides presentes en las espermatecas (variables dependientes) entre los tratamientos (variable independiente), se generaron modelos lineales generales ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). Para el análisis de la duración de la cópula se aplicó una transformación logarítmica a los datos de duración con la finalidad de normalizar la distribución de los residuales del modelo. Luego de la transformación se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.95$ ,  $p = 0.104$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene ( $W = 0.48$ ,  $p = 0.492$ ). En el caso de la densidad de espermatozoides también se verificó la normalidad de los residuales con una

prueba e Shapiro-Wilk ( $W = 0.94$ ,  $p = 0.053$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene ( $W = 2.46$ ,  $p = 0.126$ ). A partir de estos modelos se calcularon los valores predichos de cada variable por tratamiento.

Para evaluar la relación entre la duración de la cópula y la densidad de espermatozoides se calculó una regresión lineal simple para predecir la densidad espermática en las hembras con base en la duración de la cópula por cada tratamiento ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). A los datos de la duración se les aplicó una transformación logarítmica para ajustar la linealidad, mientras que a los datos de la densidad espermática se les aplicó una transformación de poder Box-Cox ( $\lambda = 0.5$ ,  $Y_i + 1$ ) para ajustar la distribución de los residuales de la regresión. Se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk tanto para el grupo control ( $W = 0.96$ ,  $p = 0.433$ ) como para el grupo experimental ( $W = 0.93$ ,  $p = 0.493$ ).

Mediante un modelo lineal general se evaluó la existencia de un efecto en la densidad de espermatozoides incluyendo como variables predictivas la duración de la cópula, el tratamiento y su interacción. Se utilizaron las mismas transformaciones de los datos llevadas a cabo en las regresiones lineales simples. No se detectó un efecto colectivo de la duración y del tratamiento ( $F(3,31) = 2.22$ ,  $p = 0.105$ ) ni una interacción entre las variables predictivas ( $t = -0.50$ ,  $p = 0.621$ ). Por esta razón se generó un modelo más simple en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas. Se verificó la normalidad de los residuales del modelo con una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.97$ ,  $p = 0.559$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene ( $W = 2.35$ ,  $p = 0.135$ ).

Para determinar la capacidad de las hembras de almacenar de manera preferencial los espermatozoides en las espermatecas izquierda o derecha, se comparó la cantidad de espermatozoides presentes en éstas con una prueba de  $t$  de Student para muestras pareadas ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). Se corroboró la distribución normal de las diferencias entre las espermatecas derecha e izquierda

para cada uno de los tratamientos con una prueba de Shapiro (control:  $W = 0.95$ ,  $p = 0.274$ ; experimental:  $W = 0.96$ ,  $p = 0.761$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene (control:  $W = 0.30$ ,  $p = 0.588$ ; experimental:  $W = 0.43$ ,  $p = 0.522$ ).

Para evaluar la existencia de una diferencia en la densidad de espermatozoides entre tratamientos ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ) para las espermatecas derechas e izquierdas por separado se generó un modelo lineal general. Se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk (derechas:  $W = 0.96$ ,  $p = 0.216$ ; izquierdas:  $W = 0.94$ ,  $p = 0.052$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene (derechas:  $W = 1.76$ ,  $p = 0.193$ ; izquierdas:  $W = 0.82$ ,  $p = 0.372$ ).

## 2.7. Resultados

### 2.7.1. Éxito de la cópula

Los resultados mostraron un efecto significativo de la presencia o ausencia de setas genitales sobre el éxito de la cópula (Desviación = 7.43, g.l. = 1,  $p < 0.001$ ). El grupo control mostró una mayor probabilidad de éxito que el grupo experimental (0.96 vs. 0.33, respectivamente; Fig. 2.3).

En el caso de los machos que no lograron copular, se observó que estos acercaron el pigóforo a la terminalia de las hembras, rozándola en repetidas ocasiones pero sin lograr ensamblar los genitales. Luego de mover su cuerpo con el pigóforo y los parámetros extendidos a lo largo del cuerpo de las hembras, los machos que no lograron copular desmontaron a la hembra y se apartaron.

### 2.7.2. Duración de la cópula

La duración de la cópula del grupo control fue de  $732.20 \pm 192.84$  segundos (datos presentados como media  $\pm$  desviación estándar,  $N = 25$ ), mientras que la del grupo experimental fue de  $585.30 \pm 93.08$  segundos ( $N = 10$ ). Se detectó una diferencia estadísticamente significativa en la duración entre los tratamientos ( $F(1,33) = 5.66$ ,  $p = 0.023$ ; Fig. 2.4)

Mediante una prueba de suma de rangos de Wilcoxon se confirmó una diferencia en la duración de la cópula ( $W = 200.5$ ,  $p = 0.006$ ).

### 2.7.3. Densidad de espermatozoides

En  $6 \mu\text{l}$  tomados a partir de una dilución de  $1200 \mu\text{l}$  por ambas espermatecas, se contaron  $409.80 \pm 320.76$  ( $N = 25$ ; Tabla 2.1) espermatozoides contenidos en ambas espermatecas de las hembras que copularon con los machos del grupo control. Extrapolando se calculó una media total aproximada de  $81\ 960$  espermatozoides por hembra. En las hembras que copularon con machos del grupo experimental se contaron  $436.00 \pm 217.91$  ( $N = 10$ ; Tabla 2.1) espermatozoides contenidos en ambas espermatecas. Extrapolando se calculó una media total aproximada de  $87\ 200$  espermatozoides por hembra. No se detectó una diferencia estadísticamente significativa en la densidad de espermatozoides entre los tratamientos ( $F(1,33) = 0.05$ ,  $p = 0.814$ ; Fig. 2.5).

Mediante una prueba de suma de rangos de Wilcoxon se confirmó la ausencia de diferencia en la densidad de espermatozoides ( $W = 117$ ,  $p = 0.784$ ).

### 2.7.4. Relación entre la duración de la cópula y la densidad de espermatozoides

Se determinó una ecuación significativa de la regresión ( $F(1,23) = 4.96$ ,  $p = 0.035$ ) con una  $r^2$  de 0.18 para el grupo control y una ecuación no significativa ( $F(1,8) = 0.43$ ,  $p = 0.531$ ) con una  $r^2$  de 0.05 para el grupo experimental (Fig. 2.6).

Para confirmar las regresiones calculadas, se evaluó la relación entre las variables con un análisis de correlación de Spearman. Se determinó una correlación positiva y significativa para el grupo control ( $\rho = 0.40$ ,  $p = 0.045$ ) y una correlación no significativa para el grupo experimental ( $\rho = 0.30$ ,  $p = 0.400$ ).

Mediante un modelo lineal general en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas se detectó un efecto colectivo del tratamiento y la duración de la cópula ( $F(2,32) = 3.28$ ,  $p = 0.050$ ). No se detectó un efecto del tratamiento controlado por la duración ( $t = 1.64$ ,  $p = 0.109$ ), pero sí un efecto de la duración controlada por el tratamiento ( $t = 2.44$ ,  $p = 0.020$ ).

#### 2.7.5. Densidad de espermatozoides en las espermatecas derechas vs. izquierdas

El número de espermatozoides observados en 3  $\mu\text{l}$  tomados a partir de una dilución de 600  $\mu\text{l}$  en las espermatecas izquierda y derecha de los grupos control y experimental se encuentra detallado en la Tabla 2.1. Con una prueba de  $t$  de Student para muestras pareadas no se detectó una diferencia en la cantidad de espermatozoides presentes en ambas espermatecas tanto para el grupo control ( $t = 0.68$ , g. l. = 24,  $p = 0.503$ ) como para el grupo experimental ( $t = 0.43$ , g. l. = 9,  $p = 0.675$ ; Fig. 2.7).

Mediante una prueba de rangos con signo de Wilcoxon se confirmó la ausencia de diferencias en las espermatecas del grupo control ( $V = 140.5$ ,  $p = 0.394$ ) y del grupo experimental ( $V = 26$ ,  $p = 0.921$ ).

#### 2.7.6. Densidad de espermatozoides en las espermatecas control vs. experimental

Con el modelo lineal generado no se detectó una diferencia estadísticamente significativa en la densidad de espermatozoides entre los tratamientos para las espermatecas derechas ( $F(1,33) = 0.02$ ,  $p = 0.902$ ) ni para las izquierdas ( $F(1,33) = 0.26$ ,  $p = 0.613$ ; fig. 2.8).

Mediante una prueba de suma de rangos de Wilcoxon se confirmó la ausencia de diferencias en las espermatecas derechas ( $W = 122$ ,  $p = 0.927$ ) e izquierdas ( $W = 106$ ,  $p = 0.496$ ).

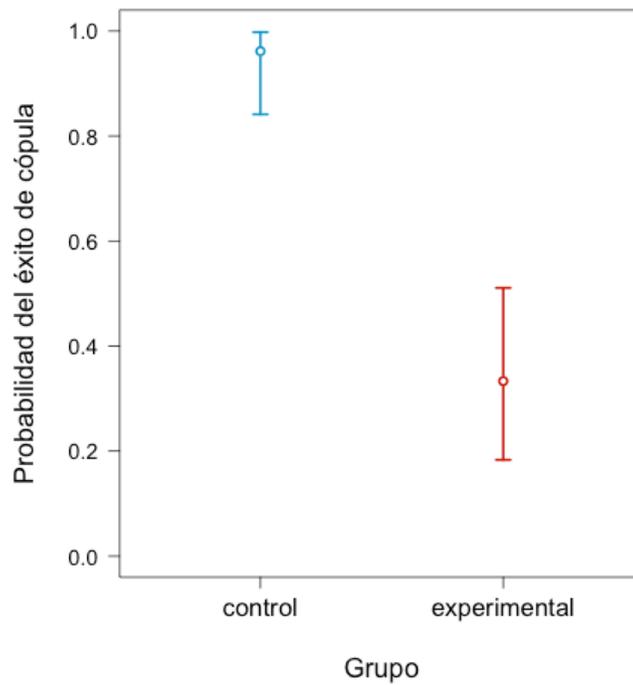


Figura 2.3. Probabilidad del éxito de cópula e intervalos de confianza del 95% (barras de error) para machos de los grupos control y experimental.

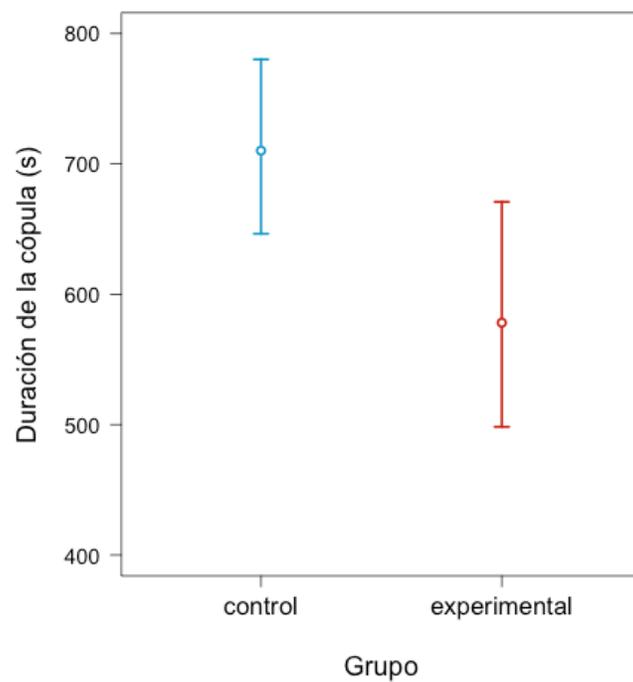


Figura 2.4. Valores predichos para la duración de la cópula e intervalos de confianza del 95% (barras de error) para parejas con machos de los grupos control y experimental.

Tabla 1. Media  $\pm$  desviación estándar de la cantidad de espermatozoides contados en las espermatecas derecha, izquierda y ambas, tanto en el grupo control (con) como en el experimental (exp).

Espermateca			
	Derecha	Izquierda	Ambas
con	214.40 $\pm$ 167	195.50 $\pm$ 182.16	409.80 $\pm$ 320.76
exp	207.20 $\pm$ 113.52	228.80 $\pm$ 152.62	436.00 $\pm$ 217.91

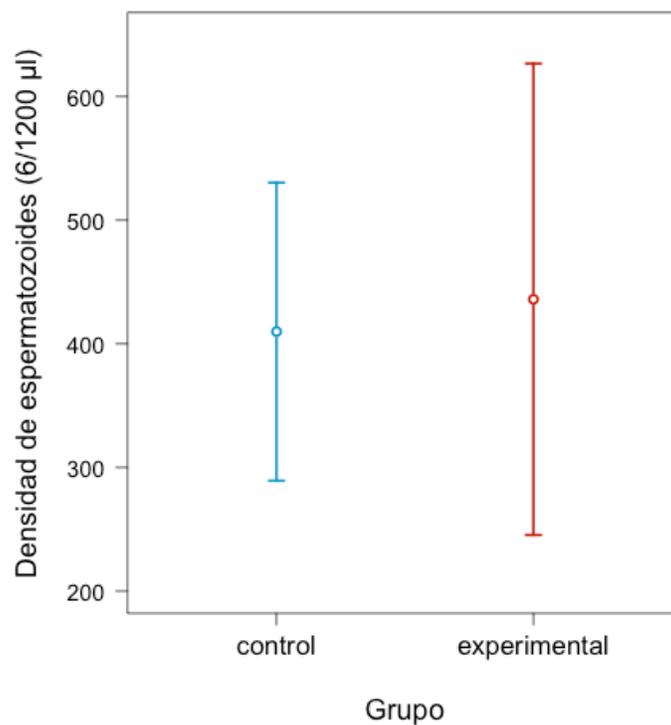


Figura 2.5. Valores predichos e intervalos de confianza del 95% (barras de error) para la densidad de espermatozoides contenidos en ambas espermatecas de las hembras que copularon con machos de los grupos control y experimental.

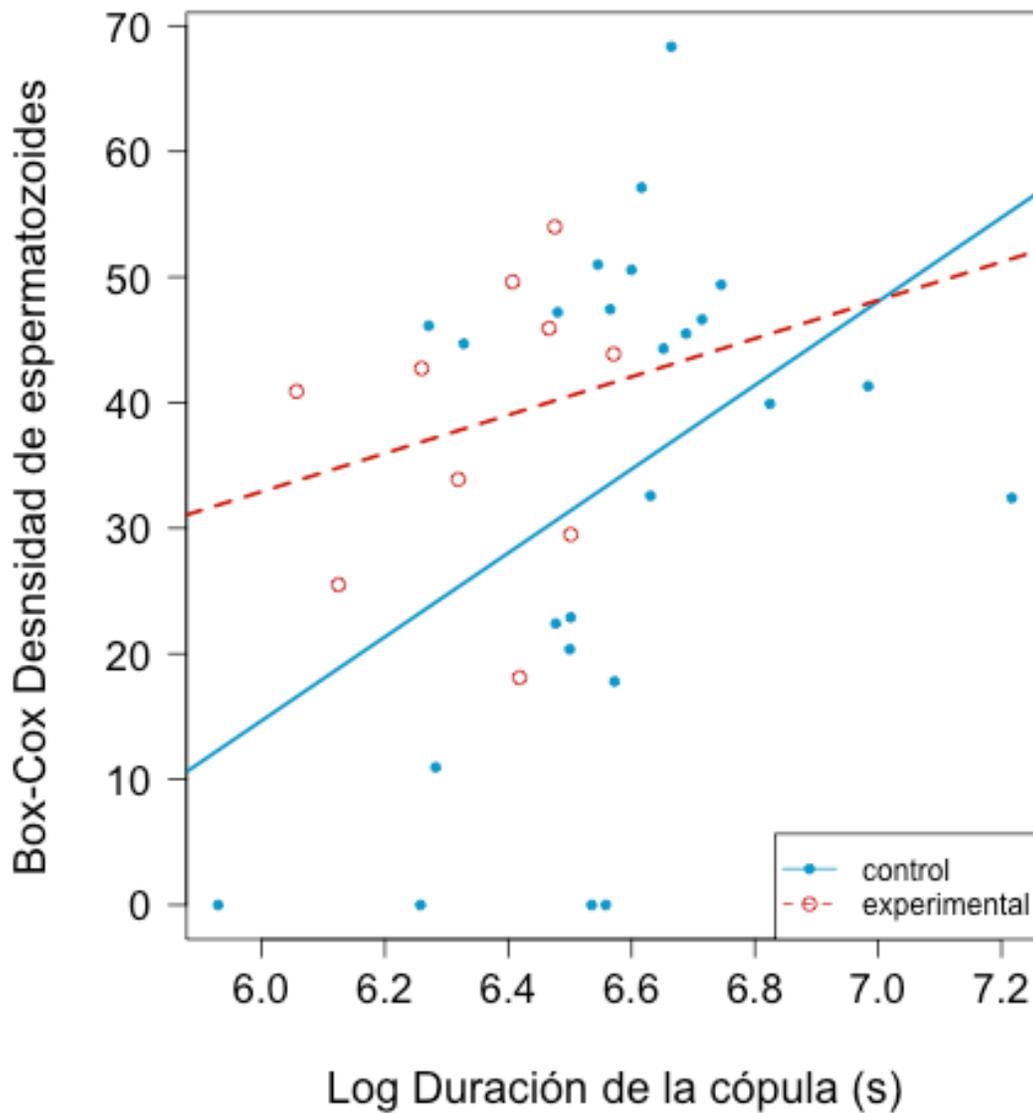


Figura 2.6. Regresiones de la duración de la cópula en segundos con transformación logarítmica y la densidad de espermatozoides con transformación de poder Box-Cox ( $\lambda = 0.5$ ,  $Y_i + 1$ ) del grupo control ( $y = -93.14 + 16.89x$ ) y del grupo experimental ( $y = -28.29 + 7.62x$ ).

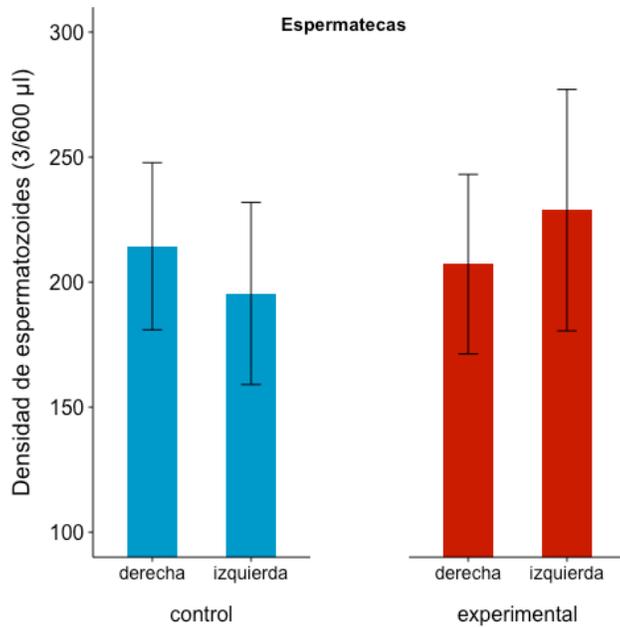


Figura 2.7. Densidad de espermatozoides (media  $\pm$  barra de error estándar) en 3  $\mu$ l tomados de una dilución de 600  $\mu$ l de las espermatecas derecha e izquierda de los grupos control y experimental.

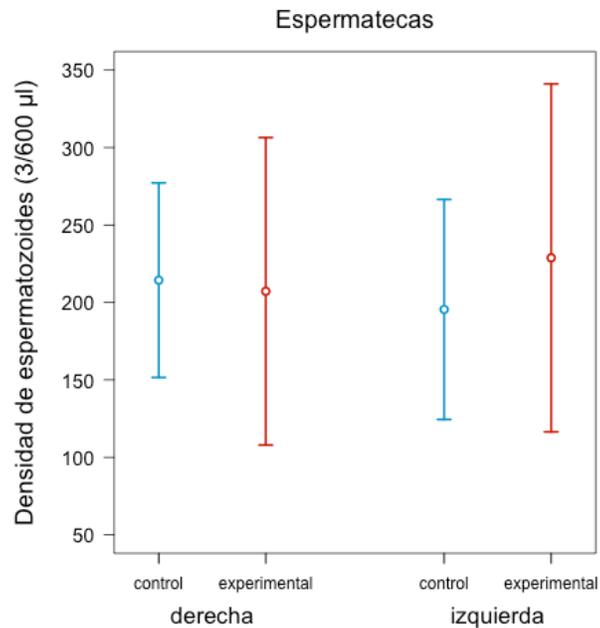


Figura 2.8. Valores predichos para la densidad de espermatozoides e intervalos de confianza del 95% (barras de error) para muestras de 3  $\mu$ l tomadas a partir de una dilución de 600  $\mu$ l de las espermatecas derechas e izquierdas de hembras que copularon con machos de los grupos control y experimental.

## 2.8. Discusión

Los resultados aquí presentados confirman la primera hipótesis planteada en tanto que hubo una menor proporción de machos que lograron copular cuando presentaron ausencia de setas genitales. Resulta poco probable que la propia manipulación al eliminar las setas haya sido la causante de esta diferencia puesto que los individuos del grupo control fueron manipulados de la misma manera con excepción de la eliminación de setas; asimismo se observó que los individuos del grupo experimental fueron capaces de extender el pigóforo y los parámetros al intentar copular, signo de que no sufrieron lesiones durante el tratamiento.

En todos los casos en donde los machos intentaron copular pero no lo lograron, se observó que, una vez que montaron a la hembra, estos individuos se mantuvieron moviendo el cuerpo hacia adelante y hacia atrás con los genitales extendidos durante varios minutos. Luego de varios intentos por encontrar los genitales femeninos, los machos cesaron los movimientos, ya fuera con el pigóforo muy por detrás de los genitales de la hembra o, bien, con este órgano pegado al abdomen de la misma, y finalmente desmontaron a la hembra. En cambio, los machos del grupo control que sí lograron copular encontraron los genitales de la hembra inmediatamente después de haberse colocado en posición dorsolateral. Estas observaciones sugieren una función mecanorreceptora de las setas genitales, las cuales son utilizadas para percibir los genitales de la hembra, poder ensamblar el pigóforo a las gonocoxas y posteriormente llevar a cabo la intromisión de edeago.

En varias especies de artrópodos se ha observado que existe una relación positiva entre la duración de la cópula y la cantidad de espermatozoides transferidos, la cantidad de espermatozoides almacenados por la hembra, el tamaño del eyaculado y/o la cantidad de proteínas seminales presentes en el eyaculado involucradas en la CE (Dickinson 1986; Herberstein et al. 2011; Edvarsson y Canal 2006; Bretman et al. 2009; Wigby et al. 2009). Asimismo, se ha observado que el

grado de CE tiene un efecto sobre la duración de la cópula, generalmente dando como resultado un incremento en la duración conforme la CE es mayor (Gage y Barnard 1996; Wigby et al. 2009; Price et al. 2012; Bretman et al. 2013). De hecho, un modelo matemático presentado por Parker y Ball (2005) predice un incremento en la cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado cuando los riesgos de la CE son leves, pero conforme esta se incrementa, los costos de la misma favorecen eyaculados con menos espermatozoides. En el presente trabajo se observó una disminución en la duración de la cópula en los machos del grupo experimental aún sin estar sometidos a un contexto de CE, lo que indica que esta disminución en la duración puede atribuirse directamente a la ausencia de las setas genitales. Más aún, a pesar de que hubo una disminución en la duración de la cópula, el modelo lineal llevado a cabo demostró que las hembras que copularon con estos machos no presentaron menos espermatozoides en la espermatecas comparadas con las del grupo control. Esta falta de diferencia en la cantidad de espermatozoides presentes en las espermatecas hace suponer que las hembras no son capaces de ejercer elección críptica sobre la presencia o ausencia de setas en los genitales del macho. Sin embargo, demuestra que los machos de *M. pallidipennis* son capaces de modular la cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado (o el tamaño del eyaculado mismo) en un contexto distinto al de la CE. Esto quiere decir que a pesar de que los machos del grupo experimental no lograron tener cópulas tan largas como los del grupo control debido a la ausencia de setas genitales, sí fueron capaces de modular la rapidez a la cual eyacularon.

Una alternativa distinta a la modulación de la rapidez de la eyaculación es que la misma eyaculación estuviera restringida a un periodo determinado de la cópula y que el periodo de tiempo faltante en las cópulas del grupo experimental correspondiera a un periodo de la cópula que no estuviera relacionado con la eyaculación. Esta alternativa, aunque posible, resulta poco probable dados los resultados encontrados en este trabajo. Por un lado, la relación positiva entre la duración de la cópula y la densidad de espermatozoides presentes en las

espermatecas indica que la transferencia espermática es progresiva como sucede en otros artrópodos (e.g., Herberstein et al. 2011; Edvarsson y Canal 2006). Por otro lado, y quizás más importante, la pérdida de esta relación en el grupo experimental sugiere que estos machos son capaces de transferir la misma cantidad de espermatozoides en menor tiempo, particularmente los que tienen duraciones de cópula más cortas. Esto no significa que la eyaculación toma todo el tiempo que dura la cópula después de la inserción de edeago, pero sí hace suponer que el periodo de tiempo faltante en las cópulas del grupo experimental corresponde a un periodo de tiempo comprendido dentro del periodo total de la eyaculación.

En otros trabajos donde se ha manipulado la longitud y la presencia de estructuras genitales como setas o escleritos, se ha observado que los machos con menor tamaño en estas estructuras o a los que experimentalmente se les han removido las mismas, tienen una duración de la cópula menor, transfieren menos espermatozoides o tienen una menor probabilidad de que sus espermatozoides alcancen los sitios de almacenamiento dentro del aparato reproductivo de la hembra (Briceño y Eberhard 2009; Rodríguez et al. 2004; Takami 2003). En el presente trabajo se ha demostrado que la ausencia de setas genitales afecta solamente el éxito de cópula y la duración de la misma. Resultados muy similares a éste se observaron en el trabajo de Polak y Rashed (2010) con *Drosophila bipectinata*. Esta especie cuenta con un par de espinas en los lóbulos de los cercos genitales, las cuales hacen contacto con los genitales de la hembra durante la cópula. Mediante cirugía láser, Polak y Rashed (2010) eliminaron estas espinas en un grupo de machos y observaron que estos machos presentaron menor probabilidad de copular comparados con machos controles; asimismo, encontraron que la duración de la cópula tuvo un efecto ligero (no significativo) en la cantidad de espermatozoides transferidos y un efecto significativo en la fecundidad y la fertilidad de las hembras. Sin embargo, la presencia o ausencia de espinas en los lóbulos no tuvo un efecto sobre la cantidad de espermatozoides

transferidos, lo cual también está con concordancia con los resultados que en esta tesis se obtuvieron.

Una explicación propuesta para los resultados obtenidos en los experimentos de Polak y Rashed (2010) es que las espinas de los lóbulos están sometidas a selección sexual precopulatoria y no tienen un efecto postcopulatorio. A pesar de que tanto las espinas de *D. bipectinata* como las setas de *M. pallidipennis* son estructuras cuya ausencia se ha generado de manera artificial y no se tiene registro de que existan machos que naturalmente se encuentren desprovistos de este rasgo, resulta factible que el mantenimiento de estas estructuras esté mediado por selección sexual precopulatoria. Asimismo, también resulta factible que en el caso de *M. pallidipennis*, la disminución en la duración de la cópula de los machos desprovistos de setas esté causada por la incapacidad del macho de sentir adecuadamente los genitales de la hembra y no porque se esté dando un proceso de ECH.

En el presente trabajo se observó una gran variabilidad en la duración de la cópula y en la cantidad de espermatozoides encontrados en las espermatecas de las hembras que copularon con machos del grupo control. Una amplia variabilidad en la duración de la cópula ha sido observada en otros organismos como *Merosargus cingulatus* (Barbosa 2011) y *Ceratitis capitata* (Field et al. 1999), en donde esta variabilidad se ha asociado al grado de CE, al tamaño de las hembras o al tamaño relativo de las hembras con respecto al macho. La duración de la cópula está normalmente controlada por el macho si éste es capaz de evaluar la calidad de la hembra (e.g., Andrés y Cordero-Rivera 2000; Córdoba-Aguilar et al. 2009), a menos que la hembra posea mecanismos para interrumpir la cópula (e.g., van Lieshout et al. 2014). En el caso de *M. pallidipennis*, no se observaron conductas que a simple vista pudieran interpretarse como mecanismos a través de los cuales las hembras intentaran retirar a los machos durante la cópula. Dado lo anterior, es posible que los machos de esta especie sean capaces de evaluar la calidad de la hembra (en función del tamaño, fecundidad o gravidez, por mencionar algunos) y

modificar la duración de la cópula (y la cantidad de espermatozoides transferidos), lo que haría suponer la existencia de un proceso de elección críptica masculina (Bonduriansky 2001).

Las espermatecas son sitios de almacenamiento espermático de los insectos que liberan los espermatozoides para la fertilización de los huevos una vez que éstos pasan a través del oviducto común antes de la oviposición (Parker 1970). Se ha demostrado que las hembras de algunos insectos son capaces de almacenar los espermatozoides de manera diferencial en cada una de las espermatecas (Fritz 2004; Ward 1993; Hellriegel y Bernasconi 2000) y que, a su vez, son capaces de utilizar las espermatecas también de manera diferencial para la fertilización con base en algún atributo de los machos con los que se aparean (Ward 1993; Hellriegel y Ward 1998), lo que es un claro mecanismo de ECH. En *R. prolixus* se ha observado que las espermatecas están cubiertas por músculo estriado e invadas junto con el resto de los genitales internos, lo que permite que las espermatecas tengan contracciones tanto autónomas como coordinadas con el oviducto común y la vagina (Huebner 1980; Chiang y O'Donnell 2009). Esto sugiere cierta capacidad de cada una de las espermatecas para contraerse o relajarse de manera independiente y, por lo tanto, permitir el acceso o no de los espermatozoides luego de la inserción del espermatóforo. En el presente trabajo se observó que las hembras de *M. pallidipennis* no almacenan los espermatozoides de manera diferencial en alguno de los lados, esto es, no muestran preferencia por almacenar más espermatozoides en la espermateca derecha con respecto a la espermateca izquierda, ni *viceversa*. Esto, nuevamente, sugiere la ausencia de un proceso de elección críptica de la hembra a nivel del almacenamiento de los espermatozoides. Del mismo modo, el no encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la densidad de espermatozoides de las espermatecas del mismo lado, sugiere que las hembras de *M. pallidipennis* no son capaces de discriminar la ausencia de setas en los machos y almacenar de manera diferencial los espermatozoides.

Con base en lo anterior se propone que las setas genitales de los machos de *M. pallidipennis* están involucradas en la percepción de los genitales de las hembras para llevar a cabo el ensamble genital y la intromisión del edeago. En esta especie no se lleva a cabo ECH sobre la presencia o ausencia de estas setas pero probablemente éstas son mantenidas por selección sexual precopulatoria. Asimismo se plantea que en esta especie existe una relación positiva entre la duración de la cópula y la cantidad de eyaculado transferido a las hembras y que los machos son capaces de modular la rapidez a la cual eyaculan.

## Capítulo 3. Cortejo copulatorio

### 3.1. Introducción

El cortejo copulatorio es un rasgo conductual que ha sido observado ampliamente en diversos grupos de animales. Éste puede tomar distintas formas, como alimentar a la hembra durante la cópula, rozarla, tocarla, morderla, levantarla, presionarla, transmitirle vibraciones corporales o producir cantos, entre otros (Calbacho-Rosa y Peretti 2015; Eberhard 1994). De estas conductas, tocar y rozar a las hembras en zonas específicas durante la cópula se ha registrado en una gran cantidad de artrópodos como en las arañas *Psilochorus simoni* (Huber 1994) y *Xenonemesia platensis* (Ferretti et al. 2012). Estos toques y roces pueden tener muy diversos efectos en las hembras. Por ejemplo, los machos de la pulga *Ceratophyllus gallinae* estimulan una región particular del cuerpo de las hembras utilizando un serie de setas ubicadas en la octava esternita, lo que trae como consecuencia la inhibición del movimiento de la hembra para que pueda llevarse a cabo la cópula (Humphries 1967). Por su parte, los machos de *Tribolium castaneum* utilizan los tarsos de las patas para rozar los bordes de los elitros de las hembras durante la cópula. Se ha observado que los machos que rozan los elitros con mayor intensidad tienen un mayor éxito de fertilización, quizás debido a que este estímulo induce el transporte de espermatozoides de la *bursa copulatrix* a las espermatecas (Edvardsson y Arnqvist 2000). De manera similar, los machos de *Diabrotica undecimpunctata howardi* rozan con sus antenas las antenas, ojos y patas de las hembras para relajar los músculos de la *bursa copulatrix* y poder insertar el espermatóforo. Además de tratarse de una conducta necesaria, se ha observado que los machos que rozan con mayor intensidad tienen una mayor probabilidad de ser aceptados (Tallamy 2002; Tallamy et al. 2003).

Los rasgos anteriormente señalados pueden estar ligados con el modelo de explotación sensorial. Esto se debe a que durante la cópula, la estimulación

provista por los machos puede tratarse de una señal por la cual las hembras responden de una manera favorable para el macho. Este proceso se facilitaría evolutivamente si el rasgo imita o se parece a una señal que le brinda una ventaja a la hembra, como en el caso de las trampas sensoriales (Eberhard 1996).

### 3.2. Antecedentes

El cortejo copulatorio ha sido pobremente estudiado en los triatóminos. Rojas *et al* (1990) han sugerido que el giro que el macho lleva a cabo sobre la hembra antes de adoptar la posición dorsolateral puede ser un mecanismo a través del cual el macho estimula a la hembra para lograr un umbral de receptividad en *M. mazzottii*, sin embargo esta hipótesis tampoco ha sido probada como tal. Asimismo se ha observado que los machos de *P. geniculatus*, *P. megistus* y *M. mazzottii* mueven las antenas y llevan a cabo una serie de toques con las patas en el conxivo, pronoto y abdomen de las hembras durante la cópula (Hase, 1932 en Rojas et al. 1990; Lima, Jurberg, y de Almeida 1986a; Rojas et al. 1990). Aunque se ha propuesto que esta conducta puede estar asociada con la transferencia del espermatóforo, es posible que se trate de cortejo copulatorio debido a su semejanza con lo propuesto por Eberhard (1994). Esta conducta no ha sido reportada en las descripciones de conducta copulatoria de especies como *T. infestans* (Manrique y Lazzari 1994), *T. brasiliensis* (Vitta y Lorenzo 2009), *M. phyllosomus* ni *M. pallidipennis* (Rojas y Cruz-Lopez 1992).

En observaciones preliminares de este trabajo, se observó que durante la cópula los machos de *M. pallidipennis* tocan y rozan el cuerpo de las hembras utilizando sus patas en repetidas ocasiones. Una manera relativamente fácil de saber si se trata de cortejo es midiendo el éxito en la transferencia de espermatozoides asociado a la cantidad y frecuencia con la que el macho lleva a cabo esta conducta. Como se mencionó anteriormente, este éxito es una de las variables de

respuesta asociadas con el cortejo masculino en varias especies de insectos (Briceño y Eberhard 2009; Edvardsson y Arnqvist 2000).

### 3.3. Objetivo

El objetivo de este capítulo es determinar si los toques y roces efectuados por el macho durante la cópula son una forma de cortejo copulatorio.

### 3.4. Hipótesis

Los toques y roces efectuados por el macho durante la cópula son una forma de cortejo copulatorio.

### 3.5. Predicciones

Los machos que efectúen una mayor cantidad de toques y roces sobre la hembra o lo hagan con mayor frecuencia tendrán una mayor transferencia de espermatozoides.

### 3.6. Materiales y métodos

#### 3.6.1. Registro de los toques y roces

Para determinar la existencia de cortejo copulatorio se utilizaron los mismos individuos y experimentos del capítulo anterior. Durante la cópula se filmaron las parejas con una cámara Canon Power Shot G9 dentro del escenario. Una vez filmadas las parejas, los videos fueron analizados utilizando el programa iMovie (Apple Inc.) al 50% de su velocidad normal, modificando solamente la velocidad y el contraste de la imagen. Además de medir la duración de la cópula (como ya se ha mencionado), se midió la estimulación ejercida por el macho como el número de veces que el macho tocó o rozó a la hembra con las patas durante la misma.

Solamente se tomaron en cuenta los toques y roces (toques, de aquí en adelante) llevados a cabo sobre la cabeza, tórax, primer y segundo par de patas, y sobre la porción clara de las alas de la hembra, ya que la coloración oscura del abdomen de la hembra impidió observar con claridad el resto de los contactos en video. Sin embargo, durante los experimentos se observó que la mayor parte de la estimulación se dio en las partes primeramente enlistadas y que en muy pocas ocasiones se dio estimulación en el abdomen (Fig. 3.1). Las densidades de espermatozoides utilizadas para los análisis son las mismas que fueron utilizadas para el capítulo anterior.

### 3.6.2. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se llevaron a cabo pruebas paramétricas cuando se cumplieron los supuestos estadísticos. Sin embargo, dada la limitada cantidad de datos obtenidos en el grupo experimental, se llevaron a cabo también pruebas no paramétricas para confirmar los resultados. Los datos fueron analizados con el programa R 3.2.1 (R Core Team 2015).

Para evaluar la existencia de una diferencia en la cantidad de toques durante la cópula (variable dependiente) entre tratamientos (variable independiente) se generó un modelo lineal general ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). Se aplicó una transformación logarítmica a los datos de toques para normalizar la distribución de los residuales del modelo. Luego de la transformación se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.98$ ,  $p = 0.700$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene ( $W = 0.88$ ,  $p = 0.353$ ).

Para evaluar la relación entre la duración de la cópula y la cantidad de toques ejercidos por los machos de cada tratamiento, se calculó una regresión lineal simple para predecir la duración con base en la cantidad de toques ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). A los datos de ambas variables se les aplicó una transformación logarítmica para ajustar la linealidad y la distribución de los residuales de la

regresión. Se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk tanto para el grupo control ( $W = 0.97$ ,  $p = 0.542$ ) como para el grupo experimental ( $W = 0.90$ ,  $p = 0.239$ ).

Mediante un modelo lineal general se evaluó la existencia de un efecto en la duración de la cópula incluyendo como variables predictivas la cantidad de toques, el tratamiento y su interacción. Se utilizaron las mismas transformaciones de los datos llevadas a cabo en las regresiones lineales simples. No se detectó un efecto colectivo de la cantidad de toques y del tratamiento ( $F(3,31) = 2.34$ ,  $p = 0.092$ ) ni una interacción entre las variables predictivas ( $t = -0.20$ ,  $p = 0.844$ ). Por esta razón se generó un modelo más simple en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas. Se verificó la normalidad de los residuales del modelo mediante una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.93$ ,  $p = 0.29$ ) y a homogeneidad de las varianzas mediante una prueba de Levene ( $W = 0.48$ ,  $p = 0.492$ ).

Para evaluar la relación entre la densidad de espermatozoides y la cantidad de toques ejercidos por los machos de cada tratamiento, se calculó una regresión lineal simple para predecir la densidad de espermatozoides con base en la cantidad de toques ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). A los datos de la cantidad de toques se les aplicó una transformación de raíz cuadrada ( $X_i + 0.5$ ) para incrementar la linealidad. Se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk tanto al grupo control ( $W = 0.93$ ,  $p = 0.100$ ) como para el grupo experimental ( $W = 0.97$ ,  $p = 0.910$ ).

Mediante un modelo lineal general se evaluó la existencia de un efecto en la densidad de espermatozoides incluyendo como variables predictivas la cantidad de toques, el tratamiento y su interacción. Se utilizaron las mismas transformaciones de los datos llevadas a cabo en las regresiones lineales simples. No se detectó un efecto colectivo de la cantidad de toques y del tratamiento ( $F(3,31) = 0.06$ ,  $p = 0.980$ ) ni una interacción entre las variables predictivas ( $t = 0.22$ ,  $p = 0.830$ ). Por esta razón se generó un modelo más simple en donde no se

incluyó la interacción de las variables predictivas. Se verificó la normalidad de los residuales del modelo mediante una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.94$ ,  $p = 0.076$ ) y la homogeneidad de las varianzas con una prueba de Levene ( $W = 2.00$ ,  $p = 0.166$ ).

Para calcular la frecuencia de los toques se dividió la cantidad de toques que ejerció cada macho entre la duración de la cópula y se evaluó la existencia de una diferencia entre tratamientos por medio de un modelo lineal general ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). Se aplicó una transformación logarítmica a los datos de la frecuencia para normalizar la distribución de los datos del modelo. Luego de la transformación se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.99$ ,  $p = 0.942$ ) y la homogeneidad de las varianzas con una prueba de Levene ( $W = 0.60$ ,  $p = 0.442$ ).

Para evaluar la relación entre la densidad de espermatozoides y la frecuencia de los toques ejercidos por los machos de cada tratamiento, se calculó una regresión lineal simple para predecir la densidad de espermatozoides con base en la frecuencia de los toques ( $N_{\text{control}} = 25$ ,  $N_{\text{experimental}} = 10$ ). A los datos de la frecuencia se les aplicó una transformación de raíz cuadrada para incrementar la linealidad. Se verificó la normalidad de los residuales con una prueba de Shapiro-Wilk tanto en el grupo control ( $W = 0.95$ ,  $p = 0.248$ ) como para el grupo experimental ( $W = 0.97$ ,  $p = 0.924$ ).

Mediante un modelo lineal general se evaluó la existencia de un efecto en la densidad de espermatozoides incluyendo como variables predictivas la frecuencia de los toques, el tratamiento y su interacción. Se utilizaron las mismas transformaciones de los datos llevadas a cabo en las regresiones lineales simples. No se detectó un efecto colectivo de la frecuencia de los toques y del tratamiento ( $F(3,31) = 2.77$ ,  $p = 0.845$ ) ni una interacción entre las variables predictivas ( $t = 0.45$ ,  $p = 0.655$ ). Por esta razón se generó un modelo más simple en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas. Se verificó la normalidad de los

residuales del modelo mediante una prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.95$ ,  $p = 0.137$ ) y la homogeneidad de varianzas con una prueba de Levene ( $W = 2.00$ ,  $p = 0.166$ ).

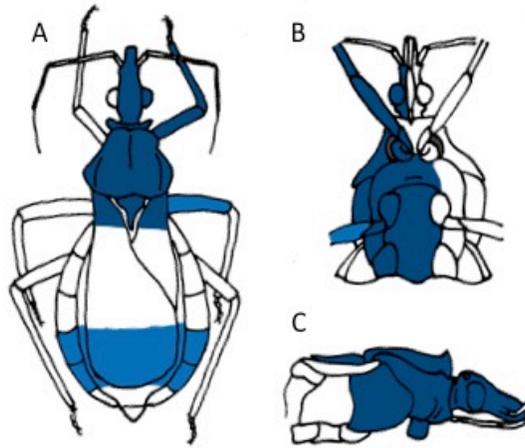


Figura 3.1. Ilustración de las regiones corporales de las hembras donde se observaron toques ejercidos por el macho durante la cópula asumiendo que el macho adoptó una posición dorsolateral derecha. La intensidad del color refleja la intensidad de los toques. A, vista dorsal; B, vista ventral; C, vista lateral.

### 3.7. Resultados

#### 3.7.1. Toques

Se observó que los machos de *M. pallidipennis* del grupo control tocan a la hembra con las patas  $141.16 \pm 128.99$  (datos presentados como media  $\pm$  desviación estándar) veces durante la cópula y los del grupo experimental lo hacen  $88.40 \pm 69.26$  veces. Con el modelo lineal general no se detectó una diferencia estadísticamente significativa en la cantidad de toques entre tratamientos ( $F(1,33) = 2.48$ ,  $p = 0.125$ ; Fig. 3.2).

Mediante una prueba de suma de rangos de Wilcoxon se confirmó la ausencia de una diferencia en la cantidad de toques ( $W = 151$ ,  $p = 0.351$ ).

### 3.7.2. Relación entre la cantidad de toques y la duración de la cópula

Se determinaron ecuaciones no significativas de la regresión para el grupo control ( $F(1,23) = 0.95$ ,  $p = 0.339$ ,  $r^2 = 0.04$ ) y para el grupo experimental ( $F(1,8) = 0.66$ ,  $p = 0.438$ ,  $r^2 = 0.08$ ; Fig. 3.3).

Para confirmar las regresiones calculadas, se evaluó la relación entre las variables con un análisis de correlación de Spearman. Se determinó una correlación no significativa para el grupo control ( $\rho = 0.11$ ,  $p = 0.596$ ) y una correlación no significativa para el grupo experimental ( $\rho = 0.25$ ,  $p = 0.491$ ).

Mediante el modelo en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas se detectó un efecto colectivo de las variables ( $F(2,32) = 3.60$ ,  $p = 0.038$ ). En este modelo se detectó que el tratamiento tuvo un efecto cercano al valor de significancia controlado por la cantidad de toques ( $t = -1.99$ ,  $p = 0.055$ ) y que la cantidad de toques no tuvieron un efecto en la duración de la cópula controlados por el tratamiento ( $t = 1.21$ ,  $p = 0.234$ ).

### 3.7.3. Relación entre la cantidad de toques y la densidad de espermatozoides

Se determinaron ecuaciones no significativas de la regresión para el grupo control ( $F(1,23) = 0.11$ ,  $p = 0.747$ ,  $r^2 = 0.004$ ) y para el grupo experimental ( $F(1,8) = 0.007$ ,  $p = 0.931$ ,  $r^2 < 0.001$ ; Fig. 3.4).

Para confirmar las regresiones calculadas, se evaluó la relación entre las variables con un análisis de correlación de Spearman. Se determinó una correlación no significativa para el grupo control ( $\rho = -0.05$ ,  $p = 0.807$ ) y una correlación no significativa para el grupo experimental ( $\rho = 0.03$ ,  $p = 0.945$ ).

Mediante el modelo en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas no se detectó un efecto colectivo de las variables ( $F(2,32) = 0.07$ ,  $p =$

0.934) ni un efecto del tratamiento controlado por la cantidad de toques ( $t = 0.16$ ,  $p = 0.871$ ), ni de la cantidad de toques controlada por el tratamiento ( $t = -0.29$ ,  $p = 0.776$ ).

#### 3.7.4. Frecuencia de los toques

Con el modelo lineal no se detectó una diferencia estadísticamente significativa en a frecuencia de los toques entre los tratamientos ( $F(1,33) = 0.96$ ,  $p = 0.942$ ; Fig. 3.5).

Mediante una prueba de suma de rangos de Wilcoxon se confirmó la ausencia de una diferencia en la frecuencia de los toques ( $W = 151$ ,  $p = 0.351$ ).

#### 3.7.5. Relación entre la frecuencia de los toques y la densidad de espermatozoides

Se determinaron ecuaciones no significativas de la regresión para el grupo control ( $F(1,23) = 0.67$ ,  $p = 0.422$ ,  $r^2 < 0.001$ ) y para el grupo experimental ( $F(1,8) = 0.001$ ,  $p = 0.968$ ,  $r^2 < 0.001$ ; Fig. 3.6).

Para confirmar las regresiones calculadas, se evaluó la relación entre las variables con una análisis de correlación de Spearman. Se determinó una correlación no significativa para el grupo control ( $\rho = -0.15$ ,  $p = 0.469$ ) y una correlación no significativa para el grupo experimental ( $\rho = -0.03$ ,  $p = 0.945$ ).

Mediante el modelo en donde no se incluyó la interacción de las variables predictivas no se detectó un efecto colectivo de las variables ( $F(2,32) = 0.31$ ,  $p = 0.732$ ) ni un efecto del tratamiento controlado por la frecuencia de los toques ( $t = 0.13$ ,  $p = 0.89$ ), ni un efecto de la frecuencia de los toques controlada por el tratamiento ( $t = -0.76$ ,  $p = 0.454$ ).

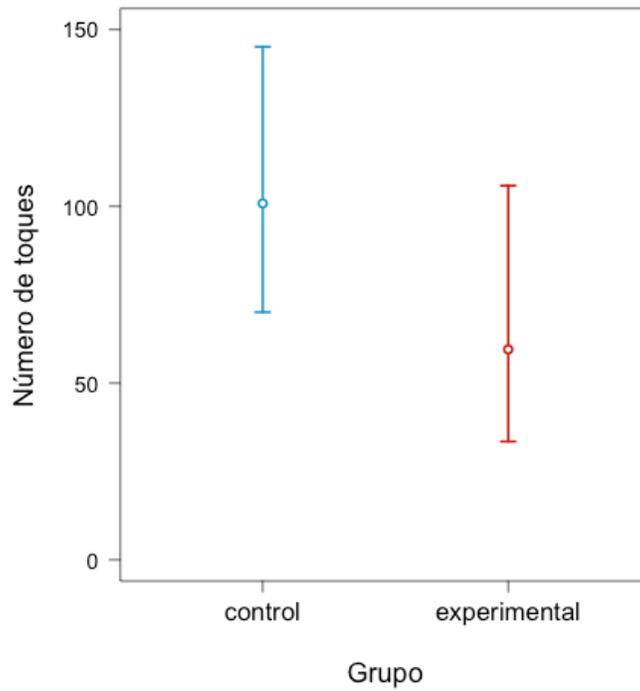


Figura 3.2. Valores predichos para el número de toques ejercidos por el macho) e intervalos de confianza del 95% (barras de error) para los grupos control y experimental.

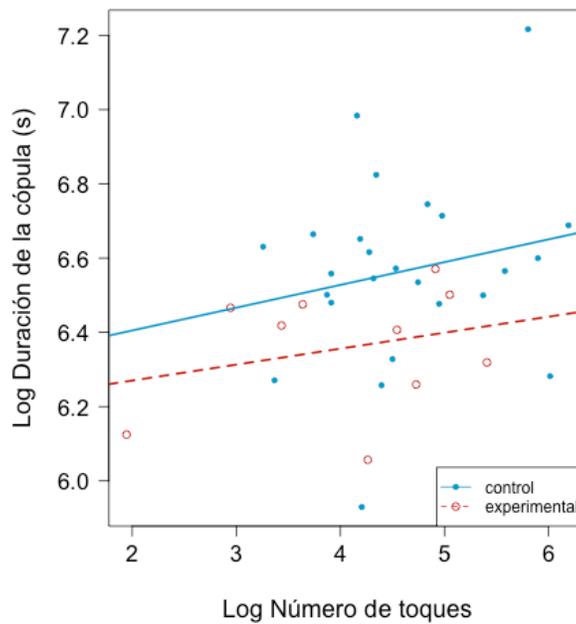


Figura 3.3. Regresiones del número de toques durante la cópula con transformación logarítmica y la duración de la misma con transformación logarítmica del grupo control ( $y = 6.28 + 0.06x$ ) y del grupo experimental ( $y = 6.18 + 0.04x$ ).

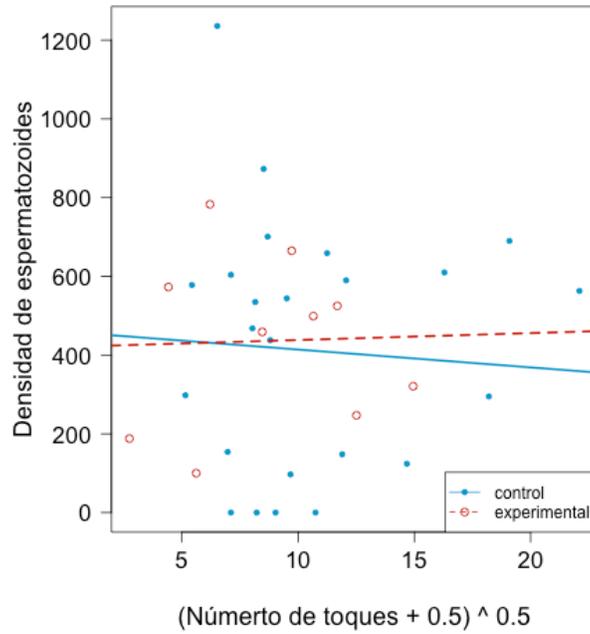


Figura 3.4. Regresiones de la densidad de espermatozoides y el número de toques ejercidos por el macho con transformación de raíz cuadrada del grupo control ( $y = 459.47 - 4.54x$ ) y del grupo experimental ( $y = 420.71 + 1.76x$ ).

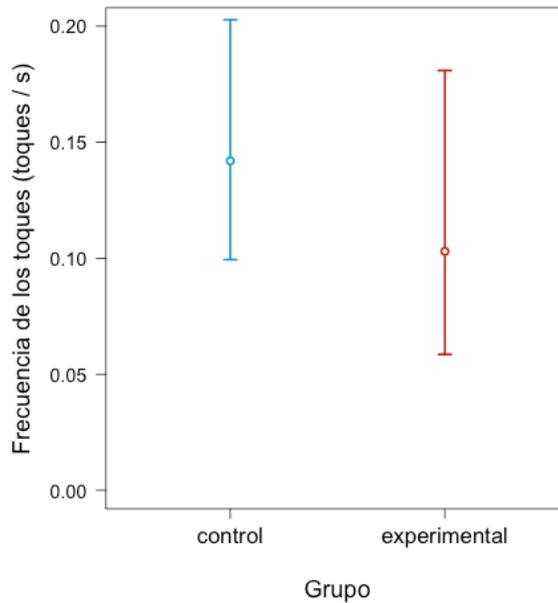


Figura 3.5. Valores predichos para la frecuencia de los toques (toques / segundo) y sus intervalos de confianza del 95% (barras de error) ejercida por los machos del grupo control y experimental.

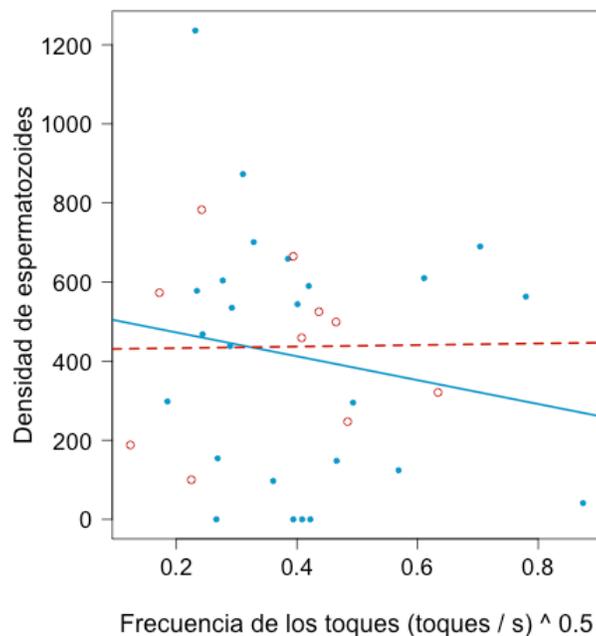


Figura 3.6. Regresión de la densidad de espermatozoides y la frecuencia de los toques (toques / segundo) con transformación de raíz cuadrada para el grupo control ( $y = 533.2 - 302.0x$ ) y el grupo experimental ( $y = 428.97 + 19.62x$ ).

### 3.8. Discusión

No obstante la similitud entre los toques ejercidos por los machos de *M. pallidipennis* durante la cópula y el cortejo copulatorio de otros artrópodos (Eberhard 1994), los resultados presentados en este capítulo sugieren que estos toques o la frecuencia con que se llevan a cabo no son una forma de cortejo copulatorio que tenga un efecto al nivel de la duración de la cópula o de la densidad de espermatozoides transferidos. Cabe la posibilidad de que esta conducta sea un cortejo copulatorio que tenga efectos en procesos de ECH a otros niveles; por ejemplo en la precedencia espermática (Edvarsson y Arnqvist 2000) o en el periodo refractario de la hembra posterior a la cópula (Alcock y Buchmann 1985); sin embargo estas hipótesis aún necesitan ser probadas.

Otra posibilidad es que los toques y roces sean un mecanismo a través del cual los machos pueden ejercer elección críptica masculina. Los triatóminos, como muchos otros insectos, poseen una amplia gama de hidrocarburos cuticulares y otros compuestos de naturaleza lipídica (Juárez y Brenner 1987; Juárez y Blomquist 1993), que se han asociado con procesos de comunicación intraespecífica, reconocimiento interespecífico y selección sexual en diferentes especies de insectos (Ingleby 2015). Estos compuestos presentan variabilidad fenotípica causada por factores genéticos y ambientales, y además son costosos en cuanto a su producción, lo cual los convierte en señales sexuales dependientes de la condición que pueden ser evaluados a distancia o por medio del contacto directo entre individuos (Ingleby 2015). Se ha observado que estos hidrocarburos cuticulares están sometidos a selección sexual en especies como *Drosophila simulans* (Ingleby et al. 2014), *D. serrata* (Blows 2002) y *D. melanogaster* (Lüpold et al. 2011). Por otro lado, se ha sugerido que los machos de los tefrítidos son capaces de evaluar el fenotipo y la condición de las hembras a través de los toques y roces que efectúan durante la cópula con diferentes partes del cuerpo (Briceño et al. 2011; Pérez-Staples et al. 2014). En conjunto, estas observaciones sustentan la posibilidad de que a través de los toques efectuados durante la cópula, los machos de *M. pallidipennis* puedan evaluar la condición de las hembras por medio de los hidrocarburos cuticulares que éstas poseen y, en consecuencia, transferir una mayor o menor cantidad de espermatozoides. De este modo, la cantidad de toques observados en cada cópula no debería estar necesariamente relacionada con la cantidad de espermatozoides presentes en las espermatecas, ya que la cantidad de toques se daría en función de la habilidad del macho para detectar los compuestos cuticulares, mientras que la cantidad de espermatozoides se daría en función de la cantidad y calidad de los compuestos cuticulares que cada hembra poseyera.

Chiang et al. (1992) observaron que al estimular por medio de roces el abdomen ventral de individuos de *R. prolixus* inmovilizados, tanto el corazón como la aorta de éstos dejaron de experimentar las contracciones rítmicas que normalmente

ocurren. Una tercera posibilidad para explicar la función de los toques y roces es que éstos disminuyen la actividad visceral al inducir la relajación de los músculos que controlan sus contracciones. De extenderse esta relajación hasta los músculos de la vagina, es posible que los toques y roces efectuados durante la cópula faciliten la intromisión del edeago y la formación del espermatóforo. Sin embargo, de ser cierta esta hipótesis, se esperaría que los machos que tocaran más a las hembras tuvieran también una mayor duración de la cópula, lo cual no corresponde con los resultados aquí presentados.

#### 4. Conclusiones

- Las setas genitales de los machos de *M. pallidipennis* son necesarias para llevar a cabo el ensamble de los genitales y la intromisión de edeago.
- Las hembras no ejercen elección críptica sobre la presencia o ausencia de setas genitales masculinas.
- Existe una relación positiva entre la duración de la cópula y la densidad de espermatozoides transferidos.
- Los machos son capaces de modular la rapidez a la cual transfieren los espermatozoides.
- Los toques y roces que el macho efectúa sobre la hembra durante la cópula no son una forma de cortejo copulatorio.

## 5. Referencias

- Ah-King, Malin, Andrew B. Barron, y Marie E. Herberstein. 2014. «Genital evolution: why are females still understudied?» *PLoS Biology* 12(5):e1001851.
- Alcock, John y Stephen L. Buchmann. 1985 «The Significance of Post-insemination Display by Male *Centris pallida* (Hymenoptera: Anthophoridae)». *Ethology* 68(3):231-43.
- Andrés, José A. y Adolfo Cordero-Rivera. 2000. «Copulation duration and fertilization success in a damselfly: an example of cryptic female choice?» *Animal behaviour* 59(4):695-703.
- Arnold, E. N. 1973. «Relationships of the palearctic lizards assigned to the genera *Lacerta*, *Algyroides* y *Psammomordomus* (Reptilia: Lacertidae)». *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)* 25(8):291-366.
- Arnqvist, Göran. 2006. «Sensory exploitation and sexual conflict.» *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 361(1466):375-86.
- Arnqvist, Göran. 2014. «Cryptic female choice». Pp. 204-20 en *The Evolution of Insect Mating Systems*, editado por D. M. Shuker y L. W. Simmons. Oxford: Oxford University Press.
- Arnqvist, Göran, R. Thornhill, y Locke Rowe. 1997. «Evolution of animal genitalia: morphological correlates of fitness components in a water strider». *Journal of Evolutionary Biology* 10(4):613-40.
- Barbosa, Flavia. 2011. «Copulation duration in the soldier fly: the roles of cryptic male choice and sperm competition risk». *Behavioral Ecology* 22(6):1332-6.
- Bateman, A. J. 1948. «Intra-sexual selection in *Drosophila*». *Heredity* 2:349-68.
- Bautista, Norma, Gloria Rojas, Irene de Haro, Martha Bucio, y Paz María Salazar Schettino. 2001. Comportamiento biológico de *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) en el estado de Morelos, México. *Boletín chileno de parasitología* 56(3-4):1-6.

- Blows, Mark W. 2002. «Interaction between natural and sexual selection during the evolution of mate recognition». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269(1496):1113-8.
- Bonduriansky, Russell. 2001. «The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence». *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 76(3):305-39.
- Bretman, Amanda, Claudia Fricke, Tracey Chapman. 2009. «Plastic responses of male *Drosophila melanogaster* to the level of sperm competition increase male reproductive fitness». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276:1705-11.
- Bretman, Amanda, James D. Westmancoat, y Tracey Chapman. 2013. «Male control of mating duration following exposure to rivals in fruitflies». *Journal of Insect Physiology* 59(8):824-7.
- Briceño, R. D., Diana Orozco, J. Luis Quintero, Paul Hanson, y Ma. del Refugio Hernández. 2011. «Copulatory behaviour and the process of intromission in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae)». *Revista de Biología Tropical* 59(1):291-7.
- Briceño, R. D. y William G. Eberhard. 2009. «Experimental modifications imply a stimulatory function for male tsetse fly genitalia, supporting cryptic female choice theory.» *Journal of evolutionary biology* 22(7):1516-25.
- Calbacho-Rosa, Lucía y Alfredo V Peretti. 2015. «Copulatory and post-copulatory sexual selection in haplogyne spiders, with emphasis on Pholcidae and Oonopidae.» Pp. 109-44 en *Cryptic Female Choice in Arthropods*, editado por A. V. Peretti y A. Aisenberg. Cham: Springer International Publishing.
- Carcavallo, Rodolfo Ubaldo, Itamar Galíndez-Girón, José Jurberg, y Herman Lent, eds. 1998. *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

- Carcavallo, Rodolfo Ubaldo, José Jurberg, Herman Lent, F. Noireau, y C. Galvão. 2000. «Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements.» *Entomología y Vectores* 7(1):1-99.
- Chapman, Tracey, Göran Arnqvist, Jenny Bangham, y Locke Rowe. 2003. «Sexual conflict». *Trends in Ecology & Evolution* 18(1):41-47.
- Chapman, Tracey, Lindsay F. Liddle, John M. Kalb, Mariana F. Wolfner, y Linda Partridge. 1995. «Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory gland products.» *Nature* 373(6511):241-44.
- Chiang, R. G., Jennifer Ann Chiang, y K. G. Davey. 1992. «A sensory input inhibiting heart rate in an insect, *Rhodnius prolixus*». *Experientia* 48(11-12):1122-5.
- Chiang, R. G. y M. J. O'Donnell. 2009. «Functional anatomy of vaginal muscles in the blood-feeding insect, *Rhodnius prolixus*». *Arthropod Structure & Development* 38(6):499-507.
- Cordero, Carlos y William G. Eberhard. 2003. «Female choice of sexually antagonistic male adaptations: a critical review of some current research». *Journal of Evolutionary Biology* 16(1):1-6.
- Córdoba-Aguilar, Alex y Jorge Contreras-Garduño. 2003. «Sexual conflict». *Trends in Ecology & Evolution* 18(9):439-40.
- Córdoba-Aguilar, Alex, M. A. Serrano-Meneses, y A. Cordero-Rivera. 2009. «Copulation Duration in Nonterritorial Odonate Species Lasts Longer Than in Territorial Species». *Entomological Society of America* 102(4):694-701.
- Darwin, Charles. 1871. *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. New Jersey: Princeton University Press.
- Davey, K. G. 1958. «The migration of spermatozoa in the female of *Rhodnius prolixus* Stal». *Journal of Experimental Biology* 35(3):694-701.

- Davis, Norman T. 1966. «Contributions to the morphology and phylogeny of the Reduvidae (Hemiptera: Heteroptera). Part III. The male and female genitalia». *Annals of the Entomological Society of America* 59(5):911-24.
- Dickinson, Janis L. 1986. «Prolonged mating in the milkweed leaf beetle *Labidomera clivicollis clivicollis* (Coleoptera: Chrysomelidae): a test of the "sperm-loading" hipótesis». *Behavioral Ecology Sociobiology* 18(5):331-8.
- Eberhard, William G. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Cambridge: Harvard University Press.
- Eberhard, William G. 1994. «Evidence for widespread courtship during copulation in 131 species of insects and spiders, and implication for cryptic female choice». *Evolution* 48(3):711-33.
- Eberhard, William G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. New Jersey: Princeton University Press.
- Eberhard, William G. 2010a. «Evolution of genitalia: theories, evidence, and new directions.» *Genetica* 138(1):5-18.
- Eberhard, William G. 2010b. «Rapid divergent evolution of genitalia: theory and data update». Pp. 40-78 en *The Evolution of Primary Sexual Characters in Animals*, editado por A. Córdoba-Aguilar y J. Leonard. Oxford: Oxford University Press.
- Eberhard, William G. 2015. «Cryptic female choice and other types of post-copulatory sexual selection». Pp. 1-26 en *Cryptic Female Choice in Arthropods*, editado por A. V Peretti y A. Aisenberg. Cham: Springer International Publishing.
- Eberhard, William G. y Carlos Cordero. 2003. «Sexual conflict and female choice». *Trends in Ecology & Evolution* 18(9):438-39.
- Edvardsson, Martin y Göran Arnqvist. 2000. «Copulatory courtship and cryptic female choice in red flour beetles *Tribolium castaneum*.» *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267(1443):559-63.

- Edvardsson, Martin y David Canal. 2006. «The effects of copulation duration in the bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*». *Behavioral Ecology* 17(3):430-4.
- Endler, John A. y Alexandra L. Basolo. 1998. «Sensory ecology, receiver biases and sexual selection». *Trends in Ecology & Evolution* 13(10):415-20.
- Ferretti, Nelson, Gabriela Pompozzi, Sofía Copperi, Fernando Pérez-Miles, y Alda González. 2012. «Copulatory behavior of Microstigmatidae (Araneae: Mygalomorphae): a study with *Xenonemesia platensis* from Argentina». *The Journal of Arachnology* 40(2):252-55.
- Field, Scott A., Phillip W. Taylor, y Boaz Yuval. 1999. «Sources of variability in copula duration of Mediterranean Fruit Flies». *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92:271-6.
- Fisher, Ronald Aymer. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford: Clarendon Press.
- Fritz, Ann H. 2004. «Sperm Storage Patterns in Singly Mated Females of the Caribbean Fruit Fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) ». *Annals of the Entomological Society of America* 97(6):1328-35.
- Gage, A. R. y C. J. Barnard. 1996. «Male crickets increase sperm number in relation to competition and female size». *Behavioral Ecology and Sociobiology* 38(5):349-53.
- Ghilsen, M. T. 2010. «The distinction between primary and secondary sexual characters». Pp. 9-14 en *The Evolution of Primary Sexual Characters in Animals*, editado por A. Córdoba-Aguilar y J. Leonard. Oxford: Oxford University Press.
- Hamilton, William Donald y Marlene Zuk. 1982. «Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites?» *Science* 218(4570):384-87.
- Hellriegel, Barbara y Giorgina Bernasconi. 2000. «Female-mediate differential sperm storage in a fly with complex spermathecae, *Scatophaga setercoraria*». *Animal Behaviour* 59(2):311-7.

- Hellriegel, Barbara y Paul I. Ward. 1998. «Complex Female Reproductive Tract Morphology: Its Possible Use in Postcopulatory Female Choice». *Journal of Theoretical Biology* 190(2):179-86.
- Herberstein, Marie E., Jutta M. Schneider, Aaron M. T. Harmer, Anne C. Gaskett, Katherine Robinson, Kim Shaddick, Daniel Soetkamp, Peter D. Wilson, Stano Pekár, y Mark A. Elgar 2011. «Sperm storage and copulation duration in a sexually cannibalistic spider». *Journal of Ethology* 29(1):9-15.
- Holland, Brett y William R. Rice. 1998. «Chase-away sexual selection: antagonistic seduction versus resistance». *Evolution* 52(1):1-7.
- Hotzy, Cosima, Michal Polak, Johanna L. Rönn, y Göran Arnqvist. 2012. «Phenotypic engineering unveils the function of genital morphology.» *Current biology* 22(23):2258-61.
- House, Clarissa M. y Leigh W. Simmons. 2005. «The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*». *Journal of evolutionary biology* 18:1281-92.
- House, Clarissa M. y Leigh W. Simmons. 2003. «Genital morphology and fertilization success in the dung beetle *Onthophagus taurus*: an example of sexually selected male genitalia.» *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270(1514):447-55.
- Huber, Bernhard A. 1994. «Genital morphology, copulatory mechanism and reproductive biology in *Psilochorus simoni* (Berland, 1911) (Pholcidae; Araneae)». *Netherlands Journal of Zoology* 44(1):85-99.
- Huebner, Erwin. 1980. «Spermathecal ultrastructure of the insecto *Rhodnius prolixus* Stal». *Journal of Morphology* 166(1):1-25.
- Humphries, D. A. 1967. «The mating behaviour of the hen flea *Ceratophyllus gallinae* (Schrank) (Siphonaptera: Insecta)». *Animal Behaviour* 15(1):82-90.
- Hunt, John, Luc F. Bussière, Michael D. Jennions, y Robert Brooks. 2004. «What is genetic quality?» *Trends in ecology & evolution* 19(6):329-33.

- Hunt, John y Scott K. Sakaluk. 2014. «Mate choice». Pp. 129-58 en *The Evolution of Insect Mating Systems*, editado por D. Shuker y L. W. Simmons. Oxford: Oxford University Press.
- Ingleby, Fiona C. 2015. «Insect Cuticular Hydrocarbons as Dynamic Traits in Sexual Communication». *Insects* 6:732-42.
- Ingleby, Fiona C., D. J. Hosken, K. Flowers, M. F. Hawkes, S. M. Lane, J. Rapkin, C. M. House, M. D. Sharma, y J. Hunt. 2014. «Environmental heterogeneity, multivariate sexual selection and genetic constraints on cuticular hydrocarbons in *Drosophila simulans*». *Journal of Evolutionary Biology* 27(4):700-13.
- Janicke Tim, Ines K. Häderer, Marc J. Lajeunesse, Nils Anthes. 2016. «Darwinian sex roles confirmed across the animal kingdom». *Science Advances* 2: e1500983.
- Jones, Adam G. y Nicholas L. Ratterman. 2009. «Mate choice and sexual selection: what have we learned since Darwin?» *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(Supplement\_1):10001-8.
- Juárez, Patricia y Gary J. Blomquist. 1993. «Cuticular hydrocarbons of *Triatoma infestans* and *Triatoma mazzotti*». *Comparative Biochemistry and Physiology* 106B(3):667-74.
- Juárez, Patricia y Rodolfo R. Brenner. 1987. «Hydrocarbons of *Triatoma pallidipennis*». *Comparative Biochemistry and Physiology* 87B(2):233-9.
- Kirkpatrick, Mark. 1985. «Evolution of female choice and male parental investment in polygynous species: the demise of the “sexy son”». *The American Naturalist* 125(6):788-810.
- Kirkpatrick, Mark y Michael Joseph Ryan. 1991. «The evolution of mating preferences and the paradox of the lek». *Nature* 350(6313):33-38.
- Kokko, Hanna, Robert Brooks, John M. McNamara, y Alasdair I. Houston. 2002. «The sexual selection continuum.» *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269(1498):1331-40.

- Kuijper, Bram, Ido Pen, y Franz J. Weissing. 2012. «A guide to sexual selection theory». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43(1):287-311.
- Lande, Russell. 1981. «Models of speciation by sexual selection on polygenic traits». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 78(6):3721-25.
- Lane, Sarah M. et al. 2015. «Rival male chemical cues evoke changes in male pre- and post-copulatory investment in a flour beetle.» *Behavioral ecology* 26(4):1021-29.
- Lent, Herman y Pedro W. Wygodzinsky. 1979. «Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease». *Bulletin of the American Museum of Natural History* 163(3).
- Lima, M. M., P. Jurberg, y J. R. de Almeida. 1986a. «Behavior of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas' disease. I. Courtship and copulation of *Panstrongylus megistus* (Burm., 1835) in the laboratory.» *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81(1):1-5.
- Lima, M. M., P. Jurberg, y J. R. de Almeida. 1986b. «Behavior of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) vectors of Chagas' disease. II. Influence of feeding, lighting and time of day on the number of matings, mating speed and duration of copulation of *Panstrongylus megistus* (Burm, 1835) under laboratory conditions». *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 81(4):381-88.
- López-Cárdenas, Jorge et al. 2005. «Fine-scale predictions of distributions of Chagas disease vectors in the state of Guanajuato, Mexico.» *Journal of Medical Entomology* 42(6):1068-81.
- Lüpold, Stefan, Mollie K. Manier, Outi Ala-Honkola, John M. Belote, y Scott Pitnick. 2011. «Male *Drosophila melanogaster* adjust ejaculate size based on female mating status, fecundity and age». *Behavioral Ecology* 22(1):184-91.
- Magallón-Gastelum, E. et al. 1998. «Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), en el estado de Jalisco, México». *Revista Biomédica* 9:151-57.

- Manrique, Gabriel y C. R. Lazzari. 1994. «Sexual behaviour and stridulation during mating in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae).» *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 89(4):629-33.
- Manrique, Gabriel y Marcelo G. Lorenzo. 2012. «The sexual behaviour of Chagas' disease vectors: chemical signals mediating communication between male and female triatomine bugs». *Psyche* 2012:1-8.
- Manrique, Gabriel y P. E. Schilman. 2000. «Two different vibratory signals in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: reduviidae).» *Acta tropica* 77(3):271-78.
- Martínez-Ibarra, J. A. y G. Katthain-Duchateau. 1999. «Biology of *Triatoma pallidipennis* Stal 1945 (Hemiptera: Reduviidae:Triatominae) under laboratory conditions.» *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94(6):837-39.
- Maynard Smith, J. 1991. «Theories of sexual selection.» *Trends in ecology & evolution* 6(5):146-51.
- Mayr, Ernst. 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge: Harvard University Press.
- Méndez, Vivian y Alex Córdoba-Aguilar. 2004. «Sexual selection and animal genitalia.» *Trends in ecology & evolution* 19(5):224-25.
- Morrow, Edward H., Göran Arnqvist, y Scott Pitnick. 2003. «Adaptation versus pleiotropy: why do males harm their mates?» *Behavioral Ecology* 14(6):802-6.
- Nattero, Julieta, Gustavo Leonhard, Claudia S. Rodríguez, y Liliana Crocco. 2011. «Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug).» *Acta tropica* 119(2-3):183-87.
- Neff, Bryan D. y Trevor E. Pitcher. 2005. «Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes.» *Molecular ecology* 14(1):19-38.
- Parker, Geoffrey Alan. 1970. «Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects». *Biological Reviews* 45(4):525-67.

- Parker, G. A. y M. A. Ball. 2005. «Sperm competition, mating rate and the evolution of testis and ejaculate size: a population model». *Biology Letters* 1(2):235-8.
- Pérez-Staples, D., G. Córdova-García, y M. Aluja. 2014. «Sperm dynamics and cryptic male choice in tephritid flies». *Animal Behaviour* 89:131-9.
- Polak, Michal y Arash Rashed. 2010. «Microscale laser surgery reveals adaptive function of male intromittent genitalia». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277(1686):1371-6.
- Pomiankowski, Andrew, Yoh Iwasa, y Sean Nee. 1991. «The evolution of costly mate preferences I. Fisher and biased mutation». *Evolution* 45(6):1422-30.
- Price, Tom A. R., Anne Lizé, Marco Marcello, y Amanda Bretman. 2012. «Experience of mating rivals causes males to modulate sperm transfer in the fly *Drosophila pseudoobscura*». *Journal of Insect Physiology* 58(12):1669-75.
- Puurtinen, Mikael, Tarmo Ketola, y J. S. Kotiaho. 2009. «The good-genes and compatible-genes benefits of mate choice.» *The American naturalist* 174(5):741-52.
- Reinhardt, Klaus. 2010. «Natural selection and genital variation: a role for the environment, parasites and sperm aging?» *Genetica* 138:119-27.
- R Core Team. 2015. «R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing». Viena, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Roces, F. y Gabriel Manrique. 1996. «Different stridulatory vibrations during sexual behaviour and disturbance in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae)». *Journal of Insect Physiology* 42(3):231-38.
- Rodríguez, Viterbo, Donald M. Windsor y William G. Eberhard. 2004. «Tortoise beetle genitalia and demonstrations of a sexually selected advantage for flagellum length in *Chelymorpha alternans* (Chrysomelidae, Cassidini, Stolinae)». Pp. 739-48 en *New developments in the biology of Chrysomelidae*, editado por P. Jolivet, J. A. Santiago-Blay y M. Scmitt. The Hague, The Netherlands: SPB Academic Publishing.

- Rojas, Julio C. y Leopoldo Cruz-Lopez. 1992. «Sexual behavior in two species of *Triatoma phyllosoma* complex (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions». *Journal of Medical Entomology* 29(1):13-18.
- Rojas, Julio C., E. A. Malo, A. Gutierrez-Martinez, y R. N. Ondarza. 1990. «Mating behavior of *Triatoma mazzottii* Usinger (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions». *Annals of the Entomological Society of America* 83(3):598-602.
- da Rosa, João Aristeu et al. 2014. «Study of the external female genitalia of 14 *Rhodnius* species (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) using scanning electron microscopy.» *Parasites & vectors* 7(17).
- da Rosa, João Aristeu, Vagner José Mendonça, Cláudia Solano Rocha, Sueli Gardim, y Mario Cilense. 2010. «Characterization of the external female genitalia of six species of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) by scanning electron microscopy». *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 105(3):286-92.
- Ryan, Michael Joseph. 1990. «Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation». *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 7:157-95.
- Ryan, Michael Joseph y Anne Keddy-Hector. 1992. «Directional patterns of female mate choice and the role of sensory biases». *The American Naturalist* 139:s4-35.
- Salazar Schettino, Paz Maria et al. 2010. «Revisión de 13 especies de la familia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas en México». *Journal of the Selva Andina Research Society* 1(1):57-81.
- Schofield, C. J. y Cleber Galvão. 2009. «Classification, evolution, and species groups within the Triatominae». *Acta Tropica* 110(2-3):88-100.
- Schuh, Randall T. y James Alexander Slater. 1995. *True Bugs of the World (Hemiptera:Heteroptera): Classification and Natural History*. New York: Cornell University Press.
- Shuker, David M. 2010. «Sexual selection: endless forms or tangled bank?». *Animal Behaviour* 79(3):e11-17.

- Shuker, David M. 2014. «Sexual selection theory». Pp. 20-41 en *The Evolution of Insect Mating Systems*, editado por D. M. Shuker y L. W. Simmons. Oxford: Oxford University Press.
- Simmons, Leigh W. 2001. *Sperm Competition and its Evolutionary Consequences in the Insects*. New Jersey: Princeton University Press.
- Simmons, Leigh W. 2014. «Sperm competition». Pp. 181-203 en *The Evolution of Insect Mating Systems*, editado por D. M. Shuker y L. W. Simmons. Oxford: Oxford University Press.
- Takami, Yasuoki. 2003. «Experimental analysis of the effect of genital morphology on insemination success in the ground beetle *Carabus insulicola* (Coleoptera Carabidae)». *Ethology, Ecology & Evolution* 15:51-61.
- Tallamy, Douglas W. 2002. «Male traits under cryptic female choice in the spotted cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae)». *Behavioral Ecology* 13(4):511-18.
- Tallamy, Douglas W., Mark Burton Darlington, John D. Pesek, y Bradford E. Powell. 2003. «Copulatory courtship signals male genetic quality in cucumber beetles.» *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270(1510):77-82.
- Thornhill, Randy. 1983. «Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly *Harpobittacus nigriceps*». *The American Naturalist* 122(6):765-88.
- Trivers, Robert L. 1972. «Parental investment and sexual selection». Pp. 136-79 en *Sexual Selection and the Descent of Man*, editado por B. Campbell. Chicago: Aldine Publishing Company.
- van Lieshout, Emile, Kathryn B. McNamara, y Leigh W. Simmons. 2014. «Why Do Female *Callosobruchus maculatus* Kick Their Mates? » *PLoS ONE* 9(4):e95747
- Vidal-Acosta, Vianey, Sergio Ibáñez-Bernal, y Carmen Martínez-Campos. 2000. «Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México». *Salud Pública de México* 42(6):496-503.

- Vitta, Ana C. R. y Marcelo G. Lorenzo. 2009. «Copulation and mate guarding behavior in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae).» *Journal of medical entomology* 46(4):789-95.
- Ward, Paul I. 1993. «Females influence sperm storage and use in the yellow dung fly *Scatophaga stercoraria*(L.) ». *Behavioral Ecology and Sociobiology* 32(5):313-9.
- Wenninger, Erik J. y Anne L. Averill. 2006. «Influence of body and genital morphology on relative male fertilization success in oriental beetle». *Behavioral Ecology* 17(4):656-63.
- Wigby, Stuart, Laura K. Sirot, Jon R. Linklater, Norene Buehner, Federico C. F. Calboli, Amanda Bretman, Mariana F. Wolfner, y Tracey Chapman. 2009. «Seminal fluid protein allocation and male reproductive success». *Current Biology* 19:751-7.
- Yassin, Amir y Virginie Orgogozo. 2013. «Coevolution between male and female genitalia in the *Drosophila melanogaster* species subgroup.» *PloS one* 8(2):e57158.
- Zahavi, Amotz. 1975. «Mate selection—A selection for a handicap». *Journal of Theoretical Biology* 53(1):205-14.
- Zahavi, Amotz. 1977. «The cost of honesty (further remarks on the handicap principle).» *Journal of theoretical biology* 67(3):603-5.
- Zeh, J. A. y D. W. Zeh. 1996. «The evolution of polyandry I: intragenomic conflict and genetic incompatibility». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 263(1377):1711-17.
- Zeh, J. A. y D. W. Zeh. 1997. «The evolution of polyandry II: post-copulatory defenses against genetic incompatibility». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 264(1378):69-75.