



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Biología evolutiva

**Producción de espermátóforos y  
reapareamiento de machos de  
*Conocephalus ictus* (Orthoptera:  
Tettigoniidae).**

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Andrés Reséndiz Flores**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

**COMITÉ TUTOR: Dra. María Marcela Osorio Beristain**  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos  
**Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo**  
Instituto de Ecología, UNAM

**Cd. Mx., Septiembre 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**Biología evolutiva**

**Producción de espermátóforos y  
reapareamiento de machos de  
*Conocephalus ictus* (Orthoptera:  
Tettigoniidae).**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**PRESENTA:**

**Andrés Reséndiz Flores**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: Dra. María Marcela Osorio Beristain  
Universidad Autónoma del Estado de Morelos  
Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo  
Instituto de Ecología, UNAM**

**México, Cd. Mx., Septiembre 2017**



OFICIO CPCB/763/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.


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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 21 de mayo de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **RESENDIZ FLORES ANDRES** con número de cuenta 300304998, con la tesis titulada "**Producción de espermátóforos y reapareamiento de machos de *Conocephalus ictus* (Orthoptera: Tettigoniidae)**", realizada bajo la dirección del **DR. RAUL CUEVA DEL CASTILLO MENDOZA**:

Presidente: DR. ATILANO CONTRERAS RAMOS  
Vocal: DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA STEYER  
Secretario: DRA. MARIA MARCELA OSORIO BERISTAIN  
Suplente: DRA. LETICIA RIOS CASANOVA  
Suplente: DR. ALEJANDRO CÓRDOBA AGUILAR

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 31 de agosto de 2018.

  
**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



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

## **Agradecimientos**

Al Posgrado de Ciencias Biológicas, UNAM por darme la oportunidad de prepararme e iniciar la vocación científica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca proporcionada, CVU: 630532. Sin este apoyo no hubiera sido posible finalizar mis estudios de maestría.

A mi tutor el Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza por su convicción para formar de la mejor manera a los estudiantes, razón que ha sido de vital importancia para mi formación profesional y personal.

A mi comité Tutorial: Dra. María Marcela Osorio Beristain y Dr. Carlos Rafael Cordero Macedo por todos los comentarios que mejoraron la calidad del trabajo final.

## **Agradecimientos a título personal**

A la prestigiada Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que me ha brindado desde que tenía 15 años.

A todos los contribuyentes que de forma indirecta pagaron en su totalidad (a través de CONACyT) mis estudios de maestría.

A mi jurado de graduación: Dr. Atilano Contreras Ramos, Dr. Roberto Edmundo Munguía Steyer, Dra. María Marcela Osorio Beristain, Dra. Leticia Ríos Casanova, y Dr. Alejandro Córdoba Aguilar por su tiempo y aportaciones.

Al Sr. L. Díaz y la Sra. M. de J. Alvarez por considerarme como de su familia por tantos años.

A mi familia por apoyarme.

A mi amiga Ana Cecilia Rodríguez, por estar ahí cuando más la he necesitado.

Por último a mi novia Lucía Mendoza por incentivar me y ayudarme a dar ese “empujón” que a veces requiero para dar pasos importantes en mi existencia.

*“Si es bueno vivir, todavía es mejor soñar, y lo mejor de todo, despertar”*

*A. Machado*

Para la persona más importante en mi vida

Mi madre, María de la Luz Flores Vázquez



## Índice

|                         |    |
|-------------------------|----|
| Resumen.....            | 1  |
| Abstract.....           | 3  |
| Introducción.....       | 5  |
| Objetivos.....          | 10 |
| Antecedentes.....       | 11 |
| Material y métodos..... | 11 |
| Resultados.....         | 14 |
| Discusión.....          | 22 |
| Conclusión.....         | 25 |
| Literatura citada.....  | 26 |

## Lista de figuras y cuadros

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 1. Dos maneras de clasificar los regalos nupciales... ..   | 7  |
| Figura 1. Número de machos que efectuaron dos cópulas y el intervalo de tiempo ambas cópulas en días (Se consideran machos de ambos morfos). .....  | 15 |
| Figura 2. Relación entre el fémur III de machos de <i>C. ictus</i> y el peso de los espermátóforo del primer (A) y segundo (B) apareamientos (se incluyen los datos ambos morfos alares). .....                                       | 16 |
| Figura 3. Regresiones entre la longitud del fémur III de machos braquípteros y los pesos de los espermátóforos para el primer (A) y segundo (B) apareamientos.....  | 17 |
| Figura 4. Regresiones entre la longitud del fémur III de machos macróptero y los pesos de los espermátóforos para el primer (A) y segundo (B) apareamientos.....  | 18 |
| Figura 5. Relación entre la diferencia de peso del primero y el segundo espermátóforo producidos por los machos contra el $\log_{10}$ considerando (A) ambos morfos de machos, (B) morfos braquípteros y (C) morfos macrópteros. .... | 20 |
| Figura 6. Relación entre la longitud del Fémur III y la diferencia de peso entre los espermátóforos de la primera y segunda cópula realizadas por machos macrópteros (A) y braquípteros (B).....                                      | 21 |

## Resumen

Los regalos nupciales se definen como cualquier sustancia donada a un receptor durante el cortejo o el apareamiento con la finalidad de incrementar la adecuación del donador. El tamaño que pueden alcanzar estas estructuras puede ser significativo y su elaboración es energéticamente costosa. En este proyecto se investigó la relación entre el número de cópulas de machos de *Conocephalus ictus* y la calidad de los espermátófilax producidos asociados a estas cópulas tomando en cuenta los morfos alares. El total de machos que realizaron dos apareamientos fue de 22. La relación entre la longitud del fémur III de los machos para ambos morfos contra el peso del espermátóforo de la primera y de la segunda cópula no fueron significativas, al contrario en el morfo macróptero, cuya relación entre el peso del segundo espermátóforo y el tamaño del macho fue significativa y positiva. No obstante, la relación entre la diferencia de peso de los espermátóforos de la primera y segunda cópula de ambos morfos contra el tiempo transcurrido entre apareamientos resultó negativa y significativa. El intervalo entre apareamientos afectó la cantidad de recursos canalizados al segundo apareamiento. Según los datos obtenidos, los machos braquípteros aparentemente tienen una mayor capacidad de canalizar recursos a la producción de espermátóforos subsecuentes, mientras que los machos macrópteros esta capacidad se incrementa conforme aumenta el intervalo entre cópulas. Los machos macrópteros podrían desviar una gran cantidad de recursos a la producción y mantenimiento de sus alas y esto podría generarles una disyuntiva (*trade off*) que los machos braquípteros no tienen. No haber encontrado una relación entre el peso de los espermátóforos y el

tamaño de los machos puede ser por tres factores. En primer término, es posible que los machos mantenidos en el laboratorio pudieran canalizar más recursos a la producción de espermatozoides debido a que no tenían limitantes alimenticias. En segunda instancia, los tamaños de muestra fueron relativamente pequeños. En tercer lugar, el combinar en todo el estudio los morfos alares posiblemente interfiere en las pruebas estadísticas. No se logró encontrar diferencias entre el peso del primer y segundo espermatozoides debido a que posiblemente los machos pueden mantener constante el peso de la estructura con agua.

## Abstract

Nuptial gifts are defined as any substance donated to a recipient during courtship or pairing in order to increase the fitness of the donor. The size that these structures can be significant and their elaboration is energetically expensive. In this project we investigated the relation between the number of male copulations of *Conocephalus ictus* and the quality of the spermatophylax produced associated with these pairings considering both morphs. The total of males that performed two matings was 22. The relation between the length of the femur III of the males for both morphs against the spermatophore weight of the first and second copulations was not significant, on the contrary in the macropterous morph, whose relationship between the weight of the second spermatophore and the size of the male was significant and positive. However, the relationship between the weight difference of the spermatophores of the first and second copulations of both morphs against the time elapsed between matings was negative and significant. The interval between matings affected the amount of resources channeled to the second mating. According to the data obtained, the brachypterous males apparently have a greater ability to channel resources to the production of subsequent spermatophores, while the male macropterous increase their capacity as the interval between matings increases. Macropterous males could deviate a large amount of resources to the production and maintenance of their wings and this could generate a trade off that the brachypterous males do not have. Not having found a relationship between the weight of the spermatophores and the size of the males can be by three factors. In the first place, it is possible that the males kept in the laboratory could channel more resources to the production of spermatophores because they had no food

limitation. Second, the sample sizes were relatively small. Third, the combination of the morphs in the whole study possibly interferes with statistical tests. It was not possible to find differences between the weight of the first and second spermatophores because males could possibly maintain the weight of the structure constant with water.

## Introducción

La teoría de la selección sexual surgió de la necesidad de explicar la evolución de ciertos atributos que la selección natural no explicaba. Darwin (1859) propuso el término selección sexual en su libro "Sobre el origen de las especies" y la define como la lucha de individuos del mismo sexo (generalmente los machos) por la posesión del otro sexo (generalmente las hembras). La selección sexual puede actuar inter e intrasexualmente (Darwin 1859; Dugatkin 2009). La primera, reconocida también como elección de pareja permite explicar la evolución de ornamentos como los colores llamativos y el plumaje de las aves, que incrementan el atractivo de los organismos de un sexo hacia el otro, mientras que la selección intrasexual explica la evolución de los atributos como armas u espolones que pueden aumentar las habilidades competitivas para tener acceso al sexo opuesto (Krebs 1993, Andersson 1994, Emlen 2008). La selección sexual tiene su origen en la anisogamia (Bateman 1948). Las hembras producen óvulos de un gran tamaño, en números reducidos y generalmente inmóviles, mientras que los machos producen un gran número de espermatozoides pequeños y capaces de desplazarse (Clutton-Brock 2009, Scharer *et al.* 2012). Debido a que para producir un nuevo organismo sólo se requiere un óvulo y un espermatozoide, un gran número de gametos masculinos no fertilizarán óvulos. Así los gametos femeninos son un recurso que limita el éxito reproductivo de los machos (Scharer *et al.* 2012).

Debido a los costos que representa la producción de los óvulos, el desarrollo del cigoto y el cuidado de la progenie, la selección sexual ha favorecido en las hembras la evolución de mecanismos selectivos que les permitan discriminar entre sus parejas potenciales (Andersson 1994). Como resultado de

sus preferencias las hembras pueden obtener beneficios directos e indirectos al elegir a sus parejas para el apareamiento. Los beneficios directos son aquellos que la hembra recibe inmediatamente como resultado de su elección. Estos pueden ser protección, alimento u acceso a otros recursos que requiera ella y/o su progenie, mientras que los beneficios indirectos son de índole genética, e implican que como resultado de su elección la progenie puede ser más atractiva o tener genes que le permitan incrementar sus posibilidades de supervivencia (Alcock 2001).

Los regalos nupciales representan uno de los beneficios directos que pueden obtener las hembras. Los regalos nupciales se definen como cualquier sustancia donada a un receptor durante el cortejo o el apareamiento la cual puede incrementar la adecuación del donador (Lewis *et al.* 2014). Los regalos nupciales pueden ser objetos colectados, partes corporales, secreciones glandulares, presas, entre otros. Se pueden clasificar según el origen del regalo (endógeno y exógeno) o también de acuerdo con la manera en que lo asimila el receptor (oral, genital y transdérmico; Cuadro 1).



Cuadro 1. Dos maneras de clasificar los regalos nupciales (Lewis *et al.* 2014)

| Por su origen |                                     | Absorción del receptor |   |
|---------------|-------------------------------------|------------------------|---|
| Endógenos     | Secretados por el donador           | Orales                 | Son asimilados a través del sistema digestivo |
| Exógenos      | Objetos colectados o presas cazadas | Genitales              | Se absorben por medio del tracto reproductivo |
|               |                                     | Transdérmicos          | Se inoculan en la cavidad corporal            |

Los machos de diferentes especies de insectos le transfieren a la hembra, durante el apareamiento sustancias que pueden incrementar la adecuación masculina y femenina (Gwynne 2008). Se han planteado varias hipótesis a cerca de la importancia adaptativa de los regalos nupciales, la más aceptada es que funcionan como un atributo que disminuye la competencia espermática, al impedir que la hembra desprenda la estructura donde se encuentran los gametos, lo que permite maximizar la transferencia completa de los mismos (Alcock 2001). Este regalo nupcial debe tener un tamaño óptimo para asegurar la transferencia completa del fluido seminal, el cual contiene los espermatozoides y distintas sustancias como proteínas, sales, carbohidratos y otros compuestos (Vahed 1998, Gwynne 2001, Poiani 2006). Otra función de los regalos nupciales se relaciona con la inversión paterna, que incrementa las probabilidades de supervivencia de la progenie al canalizar una fuente importante de nutrientes en el espermatófilax (Gwynne 1986, Simmons 1993).

En grillos y tetigónidos (Orthoptera, Ensífera) el regalo nupcial consiste en un saco gelatinoso llamado espermatófilax. En los tetigónidos el regalo nupcial se encuentra adherido a la ámpula, que es la estructura que contiene a los gametos, ambos constituyen el espermatóforo (Lehmann 2012). Los machos de diversas

especies de ortópteros invierten una significativa cantidad de energía y recursos en la síntesis del este regalo nupcial. El tamaño que puede alcanzar esta puede representar hasta 1/3 del peso corporal del individuo (Weddell 1993, McCartney *et al.* 2008, Lehmann 2012) y su elaboración es energéticamente costosa ya que el espermatófilax puede estar compuesto por proteínas, hormonas, carbohidratos y agua (Lehmann 2012). Esta inversión puede mermar la canalización de recursos a otros aspectos vitales del organismo (Cueva del Castillo y Gwynne 2007, Barbosa *et al.* 2017). Así, en algunas especies de tetigónidos se encontró que organismos con estridulación, menos costosa en términos energéticos, sintetizan espermatóforos más pesados, lo que sugiere que entre más canalicen recursos a la emisión de sonido menos invertirán en el espermatóforo (Cueva del Castillo y Gwynne 2007). Asimismo, la elaboración del espermatófilax puede verse afectada por el acceso a los recursos para sintetizarlo y el número de apareamientos que alcancen los machos (Simmons 1993; McCartney *et al.* 2010).

El tiempo necesario para la elaboración de un espermatóforo se puede incrementar debido a la escasez de alimento ó cuando los machos efectúan varias cópulas, las cuales reducen la cantidad de recursos para seguir produciéndolos (Gwynne 1990, Weddell 1993). Debido a que los recursos disponibles para los organismos en general son limitados, se esperaría que los individuos tendieran a realizar una asignación estratégica de los mismos ya sea a funciones fisiológicas o reproductivas. En *Requena verticalis*, se encontró que los machos pueden incrementar el número de espermatozoides y al mismo tiempo reducir los nutrientes en el espermatófilax al aparearse con hembras donde no tienen la

certeza de paternidad, lo cual es consistente con la teoría de la competencia espermática e inversión paterna (Simmons 1993).

Existe una disyuntiva (*trade-off*) entre los recursos canalizados al esfuerzo reproductivo actual y al esfuerzo reproductivo futuro (Lehmann 2012), de tal forma que se esperaría una asignación estratégica del contenido del eyaculado dependiendo de la condición del macho en el momento del apareamiento (Parker 2005). Debido a que la inversión en el espermátforo tiende a ser costosa y limitada, en varias especies de tetigónidos los machos sometidos previamente a cópulas, transfieren regalos nupciales más pequeños que los machos que no se han apareado (Gwynne 1988). El tiempo también puede ser una limitante para los machos, por ejemplo, Wedell y Richie (2004) apuntan que la elaboración del regalo nupcial es una inversión costosa en términos energéticos por lo que después de la cópula le toma varios días al macho canalizar los recursos para la síntesis de nuevos espermátforos que se emplearán en cópulas posteriores. Por otra parte, Parker (2006) planteó un posible conflicto de intereses entre los sexos relacionado con el tamaño y composición del espermátforo como resultado de un antagonismo coevolutivo entre machos y hembras.

En diversas especies de insectos en las que las hembras reciben regalos nupciales, un mayor número apareamientos pueden aumentar su adecuación (Arnqvist y Nilsson 2000, Arnqvist y Rowe 2005, Vahed 2007). Como resultado de la diferencia de intereses entre los sexos, se puede favorecer que la tasa de apareamiento de las hembras esté por debajo de su óptimo debido a mecanismos que han favorecido que se minimice la competencia espermática. Para compensar éstos costos para la hembra, el macho tendría que canalizar mayor cantidad de

sustancias nutritivas para inducir una mayor producción de huevos y/o incrementar las probabilidades de supervivencia de su progenie (Vahed 1998, Gwynne 2001). Así, en *Conocephalus ictus* se observó que las hembras tendían a la monandria con el consumo del regalo nupcial. Sin embargo, incrementan su longevidad y fecundidad. No obstante si decrece la cantidad y/o calidad del regalo nupcial relacionado a la condición o tasa de apareamiento del macho, esto podría afectar negativamente la longevidad y fecundidad de la hembra (Ortíz-Jiménez y Cueva del Castillo 2014).

El objetivo del proyecto fue investigar si existía una la relación entre el número de cópulas de los machos de *Conocephalus ictus* y la calidad (peso) de los espermatófilax producidos durante estas cópulas. En la especie de estudio machos y hembras tienen dos morfos, uno de ellos es braquíptero y otro macróptero. El dimorfismo alar está presente en varias especies de insectos y existen numerosos estudios donde revelan la presencia de una relación entre la capacidad de dispersión de los organismos y la reproducción (Roff 1986, Zeng y Zhu 2012), por lo que en el estudio también se consideraron las potenciales implicaciones del morfo alar en la producción de los espermátóforos. Dado que la producción de alas es costosa, se esperaba que impactará negativamente la producción del espermátóforo en los morfos macrópteros. Asimismo, se predijo un decremento en la calidad (peso) de los espermatófilax asociados a apareamientos sucesivos, ya que suponemos que la producción de los regalos es costosa para los machos.

*Conocephalus ictus* es un ortóptero de la familia Tettigoniidae que se encuentra distribuido desde Panamá hasta las zonas tropicales del Pacífico y

Golfo de México de nuestro país (Rehn 1903, Naskrecki, 2000). Las hembras y machos de la especie tienen dos morfos alares, uno braquíptero y otro macróptero. El tiempo estimado de desarrollo de esta especie es de aproximadamente 70 a 75 días en la naturaleza, desde el momento de eclosión de los huevos hasta el imago (Cueva del Castillo, com. pers.). El apareamiento puede ocurrir durante el día o la noche. Los machos cantan para atraer a las hembras. En el momento que la hembra se acerca al macho, se colocan de frente y ocurre un rozamiento de antenas. Si la hembra se encuentra receptiva se puede llevar a cabo el apareamiento y eventualmente el macho transfiere el espermatóforo. El promedio de duración de la cópula es de 15.6 minutos (Ortíz-Jiménez & Cueva del Castillo 2014). Después de este periodo, se separan. La hembra encorva el cuerpo hacia su genitalia e ingiere el espermatófilax (regalo nupcial), el cual está asociado a la cápsula de espermatóforo. El consumo del espermatófilax puede tardar hasta 12 horas. Posteriormente, la receptividad de la hembra se abate y éste estado puede prolongarse hasta 17 días. La longevidad, número de huevos totales y tasa de oviposición se incrementó al consumir el espermatófilax, además las hembras tienden a la monandria. (Ortíz-Jiménez & Cueva del Castillo 2014). En condiciones controladas, las hembras comienzan a ovipositar después de la ingesta completa del espermatófilax y continúan haciéndolo por dos semanas.

## **Material y métodos**

### ***Sitio de colecta y mantenimiento del criadero.***

Los organismos empleados en este estudio fueron recolectados en cuatro salidas al campo en agosto del 2014, marzo y septiembre del 2015, y mayo del 2016. Se

recolectaron tanto adultos como ninfas. La captura se hizo manualmente y también se emplearon redes de barrido. La recolección de los organismos se realizó tanto en el día como de noche en los alrededores de la Estación de Biología Tropical de “Los Tuxtlas”, en el estado de Veracruz, México, cuyas coordenadas geográficas son 95° 04' - 95° 09' W y 18° 34' - 18° 36' N, con una altitud de 150 msnm (CONAP-SEMARNAT). Los ejemplares adultos y las ninfas fueron separados en el laboratorio y mantenidos en un fotoperíodo de 12:12 a 27 ± 2°C. (Ortíz-Jiménez & Cueva del Castillo 2014) en recipientes de plástico con su respectiva ventilación de aproximadamente 7lt, con 2 cm de sustrato de oviposición y cubiertos por malla plástica (tul) en la parte superior del contenedor para facilitar el proceso de muda. A los organismos se les suministro agua y alimento *ad libitum* cada tercer día. Tanto ninfas como adultos fueron alimentados con trozos pequeños de manzana y hojuelas para peces (Tetramin tropical flakes ®) como fuente de proteínas. Los recipientes de plástico con ventilación en los que se encontraban los adultos eran inspeccionados cada tercer día en busca de ninfas de primer estadio. Estas eran removidas y colocadas en los contenedores plásticos de ninfas. Éstos también eran inspeccionados cada tercer día para buscar organismos en el último estadio ninfal. Estas ninfas se separaban por su sexo y se colocaron en recipientes de plástico de 500ml hasta que alcanzaran la etapa adulta, para posteriormente emplearlos en las cruza correspondientes.

### ***Obtención de espermátóforos***

Para obtener los espermátóforos se establecieron parejas vírgenes del mismo morfo, edad y tamaño similar. Estas parejas se colocaron en recipientes de plástico transparentes de 500 ml cubiertos con tul. El fémur III izquierdo se empleó

como un indicador del tamaño de los organismos. Para medirlo se empleó un vernier digital (Mitutoyo Corp<sup>®</sup> Tokio, Japón). Las parejas se mantuvieron en los recipientes plásticos, los cuales eran revisados cada 15 minutos para detectar apareamientos. Las observaciones se mantenían por un período de 8 horas. En caso de no ocurrir la cópula, la pareja era separada y reunida nuevamente el siguiente día. Este procedimiento se mantuvo hasta que se efectuó la cópula o hasta la muerte de alguno de los dos individuos. Una vez que se realizó el primer apareamiento de cada macho, se retiró con precaución el regalo nupcial de la genitalia de la hembra con unas pinzas, e inmediatamente después se expuso al macho a otra hembra virgen con lo cual se realizó el mismo procedimiento anterior. Después de la cópula los espermatozoides se pesaron empleando una balanza analítica (Velab<sup>®</sup> VE 303) y se almacenaron en un congelador a -20°C.

### ***Análisis estadísticos***

Para establecer si existía una relación entre el peso de los espermatozoides y el fémur de los machos se realizaron regresiones lineales simples entre el peso de los espermatozoides y el fémur III de los machos para los datos de la primera y segunda cópula. Estos análisis se realizaron considerando en su conjunto a los machos braquípteros y macrópteros y por separado para cada morfo alar, esto para descartar posibles sesgos relacionados a disyuntivas entre la reproducción y otras funciones del organismo que se han descrito en otras especies de insectos para los diferentes morfos alares.

Para determinar si el tiempo transcurrido entre el primero y segundo apareamiento de los machos afectaba la capacidad para producir los

espermatozoides, se estimó la diferencia de peso del primero y segundo espermatozoides transferidos por los machos durante la cópula y se realizó para ambos morfos alares una regresión lineal entre este valor y el tiempo transcurrido entre los dos apareamientos. Al igual que en el caso anterior estos análisis se realizaron considerando en su conjunto a los machos braquiópteros y macrópteros y por separado para cada morfo alar. Los valores de tiempo fueron transformados a logaritmos base 10 previo a la realización de los análisis debido a la gran variación en la magnitud de los intervalos temporales. También se realizó una regresión para cada morfo alar entre la diferencia de pesos de los espermatozoides y el tamaño del fémur III para determinar si el tamaño corporal de los machos asociados a cada morfo alar afectaba la capacidad de canalizar recursos a los espermatozoides. Adicionalmente, se efectuó una prueba *t* pareada para determinar si los pesos del primer y segundo espermatozoides diferían. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico JMP®.

## **Resultados**

En total se intentó aparear a 66 machos vírgenes, de los cuales sólo se aparearon 42 (63%). De los 42 machos apareados, 20 (48%) sólo se aparearon una vez y 22 (52%) realizaron dos apareamientos sucesivos. De los machos que realizaron dos apareamientos (fig. 1), 12 correspondieron a individuos macrópteros y 10 a braquiópteros. Los machos que realizaron sólo una cópula fueron excluidos de estos análisis.



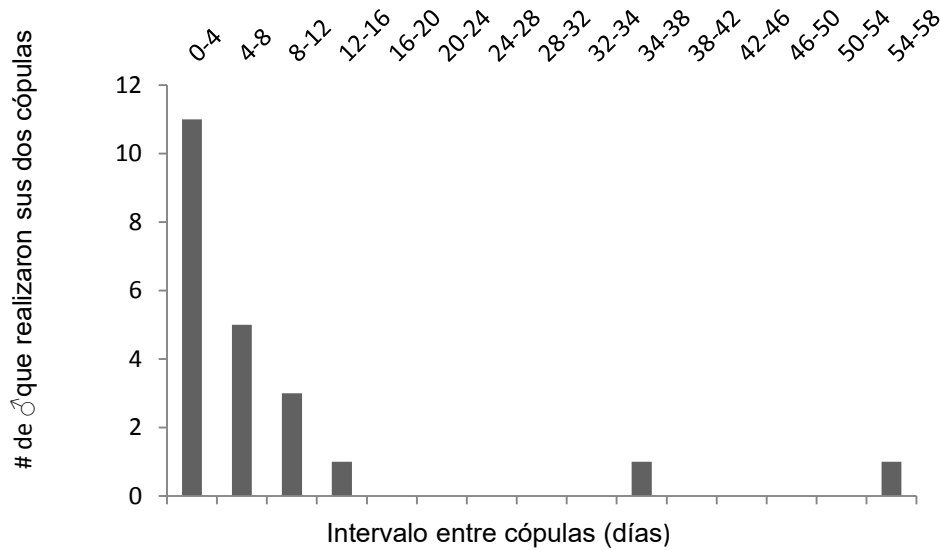


Figura 1. Número de machos que efectuaron dos cópulas y el intervalo de tiempo ambas cópulas en días (Se consideran machos de ambos morfos).

La longitud promedio del fémur III de la población de los machos de ambos morfos fue de 11.54 mm (Error Estándar; E.E.= 0.09 mm), mientras la longitud promedio del fémur III de los machos que realizaron dos apareamientos fue 11.81mm (E.E. = 0.15 mm). El peso promedio del primer espermátforo fue de 2.7 mg (E.E.= 0.3 mg) y el peso promedio del segundo espermátforo fue de 2.8 mg (E.E. = 0.5 mg).

Si se consideran los machos de ambos morfos en un solo análisis, las regresiones entre la longitud del fémur III de los machos y el peso del espermátforo de la primera ( $r^2=0.03$ ,  $F_{(1,21)}=0.78$  y  $p=0.38$ ) y de la segunda cópula ( $r^2=0.10$ ,  $F_{(1,21)}=2.37$  y  $p=0.13$ ; Fig. 2A y B) no fueron significativas. Sin embargo, cuando se analizan separadamente los resultados de machos de ambos morfos, en el morfo braquíptero la relación entre el fémur III y el peso del espermátforo resulta no significativo para el primero ( $r^2=0.29$   $F_{(1,9)}= 3.31$  y  $p=0.10$ ) y segundo espermátforo ( $r^2=0.001$ ,  $F_{(1,9)}=0.01$  y  $p=0.91$ : Figura 3 A y B).

No obstante, en macrópteros la relación entre el peso del primer espermátforo y el fémur III no fue significativa ( $r^2=0.05$ ,  $F_{(1,11)}=0.53$ ,  $P=0.48$ ), mientras que para el segundo espermátforo la relación fue significativa y positiva ( $r^2=0.40$ ,  $F_{(1,11)}=6.74$  y  $P=0.02$ : figura 4 A y B).

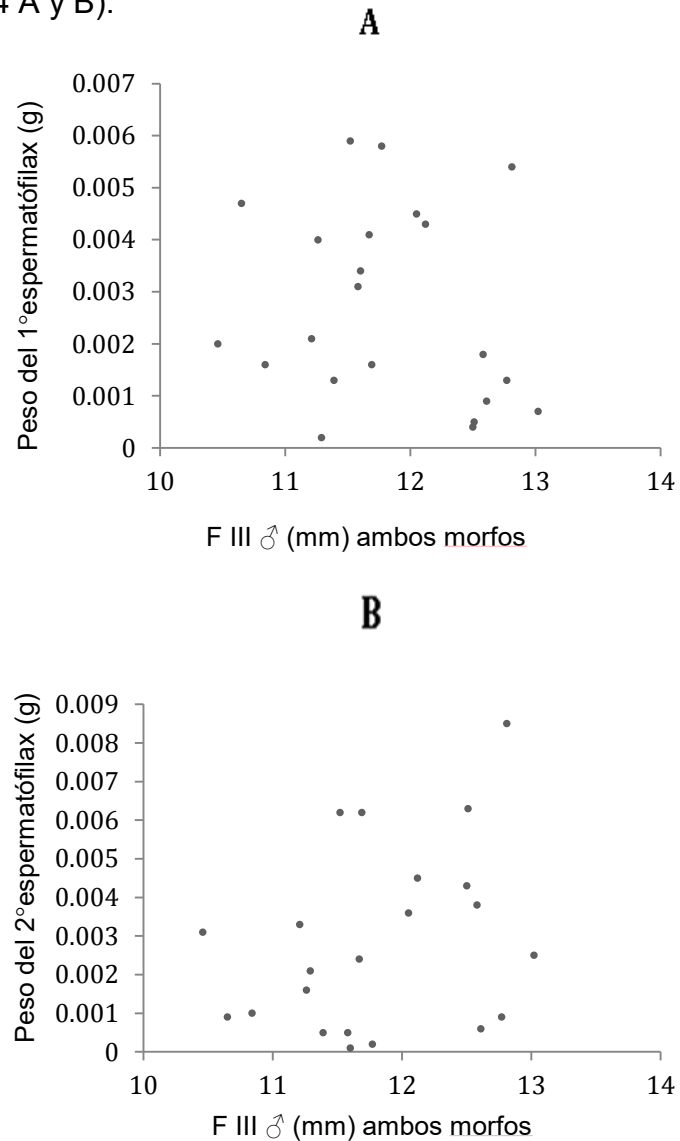


Figura 2. Relación entre el fémur III de machos de *C. ictus* y el peso de los espermátforo del primer (A) y segundo (B) apareamientos ( se incluyen los datos ambos morfos alares).

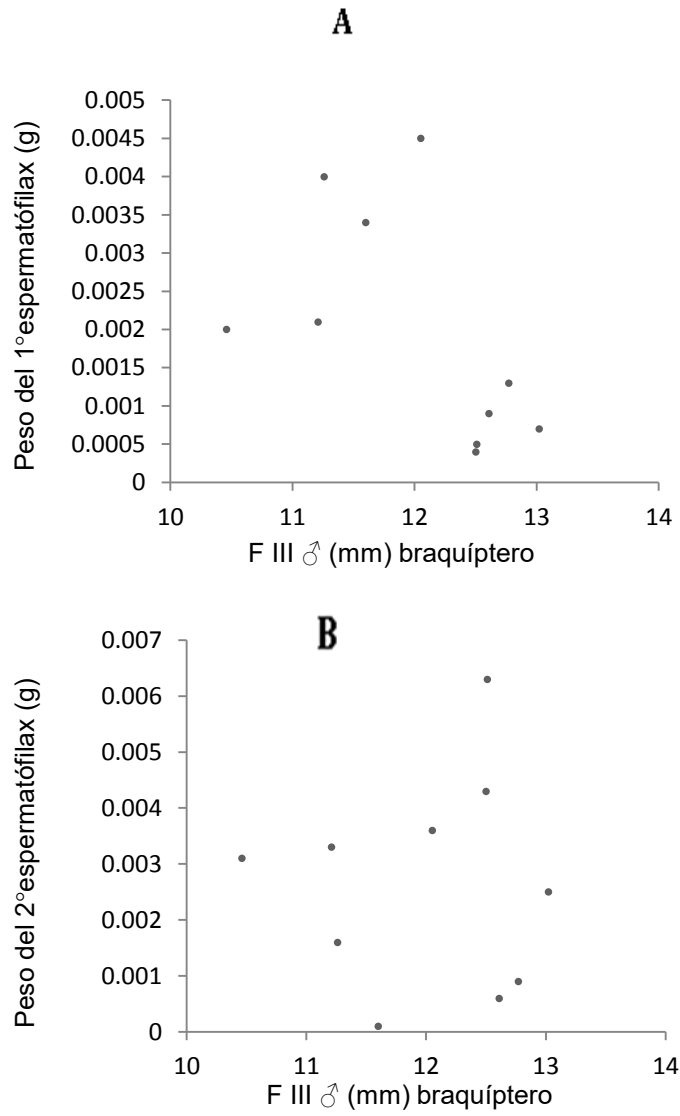


Figura 3. Regresiones entre la longitud del fémur III de machos braquípteros y los pesos de los espermátóforos para el primer (A) y segundo (B) apareamientos.

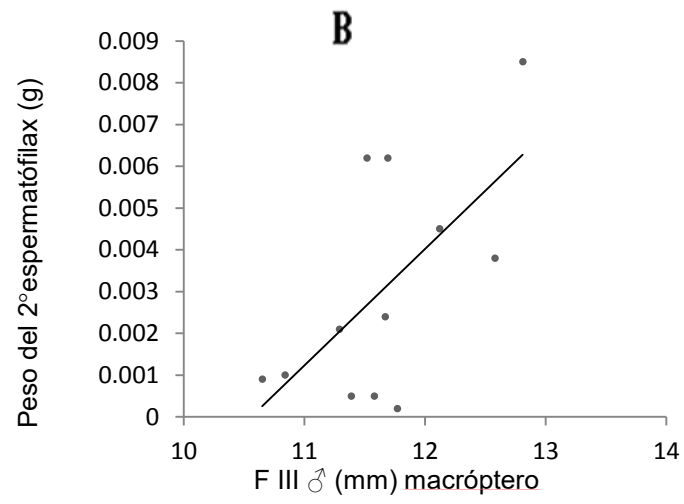
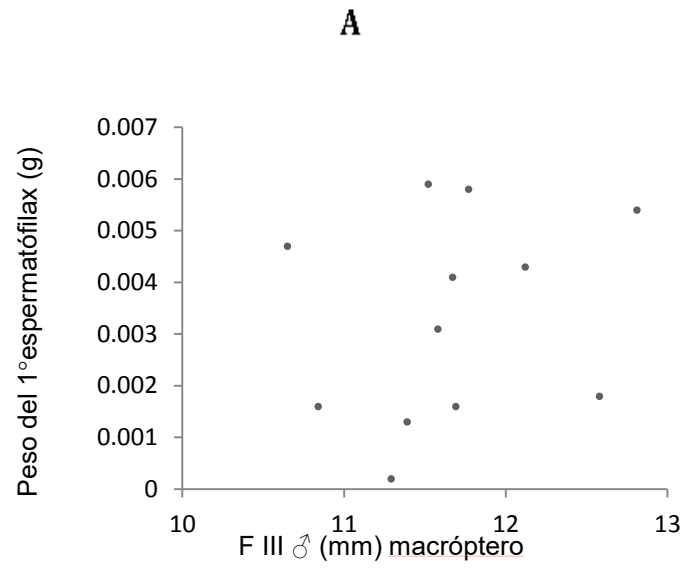


Figura 4. Regresiones entre la longitud del fémur III de machos macróptero y los pesos de los espermatóforos para el primer (A) y segundo (B) apareamientos.

No obstante, la relación para ambos morfos entre la diferencia de peso de los espermátóforos de la primera y segunda cópula y el logaritmo del tiempo transcurrido entre apareamientos resultó negativa y significativa ( $r^2 = 0.26$ ,  $F_{(1,21)} = 7.08$ ,  $p = 0.01$ ; Fig.5a). Sin embargo, cuando los datos se analizaron por separado en braquípteros el logaritmo del intervalo entre apareamientos no fue significativa ( $r^2=0.10$ ,  $F_{(1,9)}=0.91$  y  $p=0.36$ ; Fig. 5b), mientras que en macrópteros, se efectuó la relación resultó negativa y significativa ( $r^2=0.38$ ,  $F_{(1,11)}=6.24$  y  $p=0.03$ : Fig. 5 C). Cuando se consideró la relación entre la longitud del Fémur III contra la diferencia de peso del primer y segundo apareamiento para los machos braquípteros y macrópteros, en ambos casos las regresiones resultaron no significativas (Braquípteros:  $r^2=0.0001$ ,  $F_{(1,9)}=0.0009$  y  $p=0.97$ ; Fig. 6a. Macrópteros:  $r^2=0.19$ ,  $F_{(1,11)}=2.48$  y  $p=0.14$ ; Fig. 6B). Asimismo, la  $t$  pareada no detectó diferencias significativas entre los pesos de los espermátóforos para ambos morfos ( $t = 0.26$  g.l.=21 y  $p = 0.79$ ).

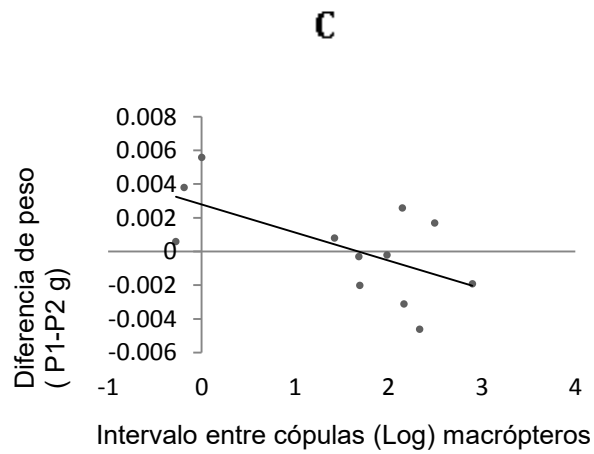
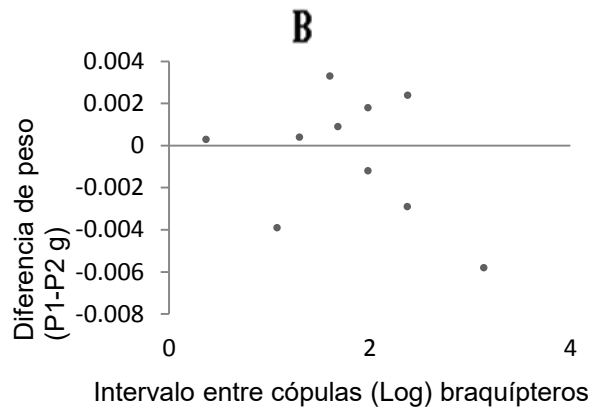
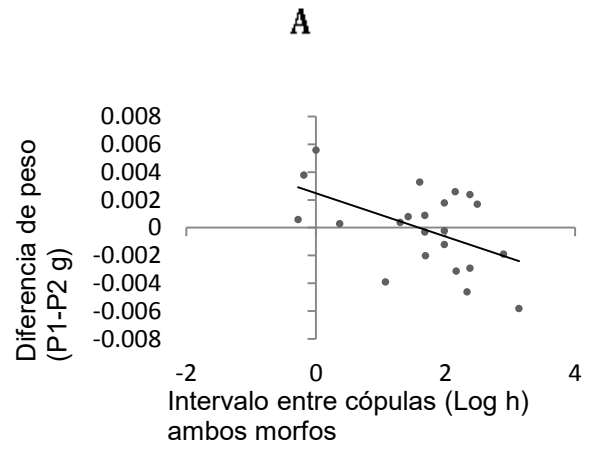


Figura 5. Relación entre la diferencia de peso del primero y el segundo espermatozoo producidos por los machos contra el  $\log_{10}$  considerando (A) ambos morfos de machos, (B) morfos braquípteros y (C) morfos macrópteros.

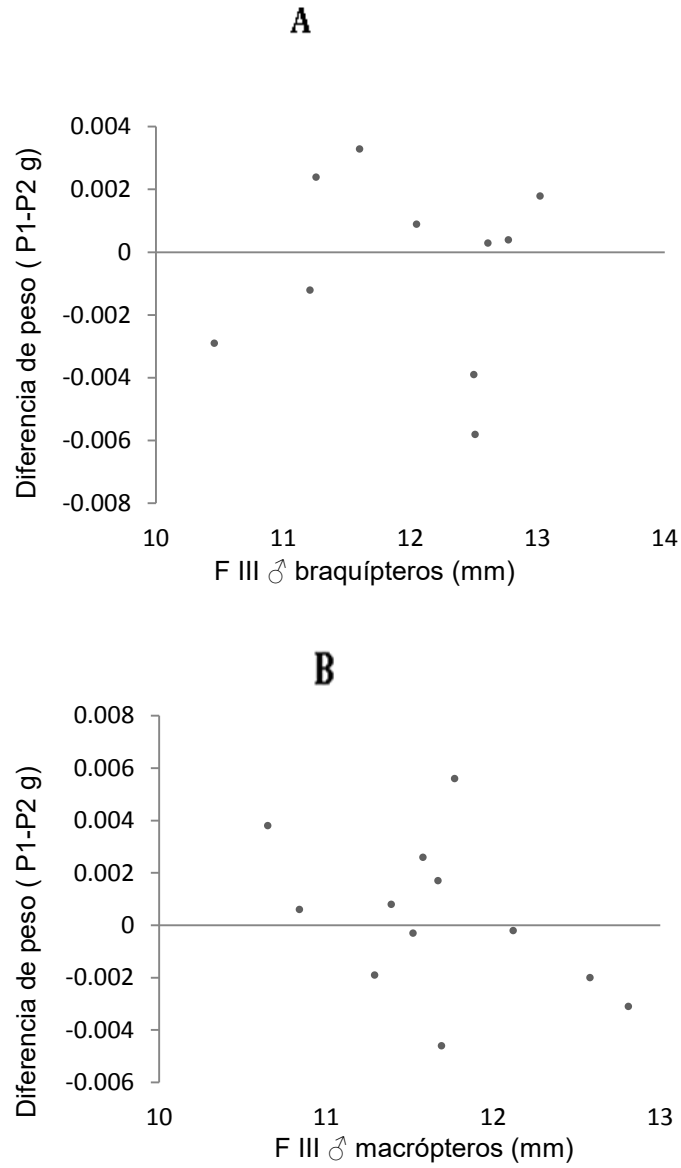


Figura 6. Relación entre la longitud del Fémur III y la diferencia de peso entre los espermátóforos de la primera y segunda cópula realizadas por machos macrópteros (A) y braquípteros (B).

## Discusión

En diversos estudios se ha encontrado una relación positiva entre el tamaño de los ortópteros machos y el tamaño de sus espermatozoides (Cueva del Castillo y Gwynne 2007, Sturm 2014). Sin embargo, en este estudio no se encontró una relación entre el peso del espermatozoides y la longitud de fémur III de los machos de ambos morfos. Asimismo, aunque los pesos de los dos espermatozoides donados por los machos de ambos morfos en el primer y segundo apareamientos no difirieron, en el caso de los machos macrópteros la relación resultó positiva y significativa para los espermatozoides transferidos durante la segunda cópula, lo cual sugiere que puede haber diferencias en la capacidad de canalizar recursos a la reproducción en función del tamaño de los machos braquípteros y macrópteros.

Los costos energéticos asociados a la canalización de recursos a la producción de los espermatozoides pueden ser evidenciados por el tiempo implicado en la canalización de recursos a un segundo espermatozoides, ya que entre más tiempo pase entre dos apareamientos, los machos son capaces de producir espermatozoides más grandes. Sin embargo esta capacidad es diferente entre morfos, ya que cuando se analizó esta relación por separado, los machos braquípteros aparentemente tienen una mayor capacidad de canalizar recursos a la producción de espermatozoides subsecuentes, mientras que los machos macrópteros esta capacidad se incrementa conforme se aumenta el intervalo entre cópulas. Asimismo, esta capacidad podría estar mediada por el tamaño de los machos asociados a cada morfo, ya que, aunque en ambos casos la relación entre la longitud del fémur del macho y la diferencia de peso entre los espermatozoides producidos en la primera y segunda cópula no son significativos, en el caso de los



machos macrópteros, esta relación está mucho más cercana a ser significativa que en los machos braquípteros (braquípteros  $p = 0.97$ ; Fig. 6a. macrópteros:  $p=0.14$ ; Fig. 6B).

A pesar de que no se encontraron diferencias entre los pesos de los espermátóforos para ambos morfos, este regalo nupcial podría ser costoso, porque el intervalo entre apareamientos afectó la cantidad de recursos canalizados al segundo apareamiento. No obstante, la canalización de recursos en los machos de *C. ictus* podría estar restringida por la capacidad de canalizar recursos a otras funciones. Los machos macrópteros podrían desviar una gran cantidad de recursos a la producción y mantenimiento de sus alas (Roff 1986) y esto podría generarles una disyuntiva (*trade off*) que los machos braquípteros no tienen. Quizá, los costos de producir alas y espermátóforos grandes sólo podrían ser cubiertos por machos macrópteros grandes, capaces de canalizar grandes cantidades de recursos a ambas funciones.

Cabe señalar que el peso como variable indicadora de la calidad del regalo nupcial tiene relevancia porque mide de manera indirecta las sustancias contenidas en el espermátóforo. Existe otro método que también pueden ayudar a medir la calidad de esta estructura, el cual se encuentran ampliamente distribuido en la literatura (por ejemplo, la cuantificación de proteínas). La diferencia entre ambas es que esta última permite saber con más precisión las cantidades y concentraciones de nutrientes. No obstante, estas dos aproximaciones son relevantes para determinar la calidad del regalo nupcial en términos energéticos

En otras especies de tetigónidos el tamaño de los espermátóforos producidos puede aumentar con la edad del macho, si el tiempo se extiende entre

apareamientos, el macho canalizará más recursos para la síntesis de nuevos espermátóforos (Wedell y Richie 2004). En este orden de ideas, no haber encontrado una relación entre el peso del espermátóforo y el tamaño de los machos de ambos morfos se podría explicar por tres factores. En primer término, es posible que los machos mantenidos en el laboratorio pudieran canalizar más recursos a la producción de espermátóforos debido a que no tenían limitantes alimenticias, de tal forma que las diferencias inter individuales asociadas a la capacidad de producir los regalos nupciales se redujeran. En segunda instancia y asociado a esto, los tamaños de muestra fueron relativamente pequeños, por lo que el poder de las pruebas estadísticas impidió detectar alguna tendencia. En tercer lugar, el combinar en todo el estudio los morfos alares posiblemente interfiere en las pruebas estadísticas e impide encontrar un patrón claro, ya que existe una relación entre el tamaño del macho y el segundo espermátóforo en los organismos macrópteros, pero esta relación se convierte en no significativa al mezclar los morfos alares. Cabe mencionar que no se logró encontrar diferencias entre el peso del primer y segundo espermátóforos debido a que posiblemente los machos pueden mantener constante el peso de la estructura con agua (Wedell y Richie 2004).

Queda pendiente determinar si los potenciales inhibidores de la receptividad sexual y los compuestos que incrementan la fecundidad y longevidad de las hembras de *C. ictus* (ver Ortíz-Jiménez & Cueva del Castillo 2014) también disminuyen en cópulas sucesivas. Si fuera así, las hembras podrían tener una reducción en sus expectativas reproductivas al no aparearse con machos vírgenes, pero también podrían incrementar sus expectativas de aumentar su éxito

reproductivo al mantenerse receptivas y volver a aparearse con otros machos, lo cual podría generar beneficios asociados a la poliandria. Estos podrían implicar un incremento en la cantidad de recursos obtenidos por un mayor número de regalos nupciales que podrían ser canalizados a ellas o a la producción de la progenie, incrementar la diversidad genética de la progenie, o favorecer que el esperma de mejor calidad fertilizará sus huevos (Fedorka y Mousseau 2002, Torres-Vila *et al.* 2004).

## **Conclusión**

Este estudio intentó aportar más información acerca de los costos en la elaboración del regalo nupcial y la asociación que puede presentar con el número de cópulas de *C. ictus*, también incluyendo pruebas preliminares de lo que ocurre dentro de los morfotipos alares y su relación con la producción de éstas estructuras reproductivas, ya que la mayoría de las investigaciones se centran en los costos y beneficios que obtiene la hembra por la ingesta del espermatóforo. Adicionalmente, habría que analizar si dentro de los morfos alares poseen diferencias en la canalización de recursos al espermatóforo a nivel de la cantidad de sustancias presentes, si es así, es relevante esclarecer cuál de los dos morfos existen mayores costos en la síntesis de estas sustancias y porqué sucede lo anterior. Es claro que más investigaciones deben continuar en esta especie.

## Literatura Citada

- Alcock J. 2001. *Animal Behavior: An Evolutionary Approach*. Sinauer Associates Inc. E.U.A.
- Andersson M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press. New Jersey, E.U.A.
- Arnqvist G. y T. Nilsson. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in Insects. *Animal Behavior*. 60. 145–164.
- Arnqvist G. y L. Rowe. 2005. *Sexual conflict*. Princeton University Press. E.U.A.
- Bateman A. J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*. 2. 349–368.
- Clutton-Brock T. 2009. Sexual selection in females. *Animal behavior*. 77. 3–11.
- Cueva del Castillo R. & D. T. Gwynne 2007. Increases in song frequency decreases spermatophore size: A correlative evidence of a macroevolutionary trade-off in katydids. *Journal of Evolutionary Biology*. 20. 1028–1036.
- Darwin, C. 1859. *On the origin of the species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. J. Murray. London. U.K.
- Dugatkin L. A. 2009. *Principles of animal behavior*. Segunda edición. E.U.A.
- Emlen D.J. 2008. Animal Weapons. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 39:387–413.
- Fedorka K. M. y T. A. Mousseau. 2002. Material and genetic benefits of female multiple mating and polyandry. *Animal Behavior*. 64. 361–367.

- Gwynne D. T. 1986. Courtship feeding in katydids (Orthoptera: Tettigoniidae): investment in offspring or in obtaining fertilizations? *The American Naturalist*. Vol. 128. No. 3. 342–352.
- Gwynne D. T. 1990. The katydid spermatophore: evolution of a parental investment. En: *The tettigoniidae: biology, systematics and evolution*. (W. J. Bailey & D. C. Rentz, eds). Crawford house press.
- Gwynne D. T. 2001. *Katydid and Bush-crickets: Reproductive Behavior and the Evolution of the Tettigoniidae*. Cornell University Press.
- Gwynne D. T. 2008. Sexual conflicts over nuptial gifts in insects. *Annual Review of Entomology*. 53:83–101.
- Kokko H., M. D. Jennions y R. Brooks. 2006. Unifying and Testing Models of Sexual Selection. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. Vol. 37. pp. 43–66.
- Krebs J. R. y N. B. Davies. 1993. *An Introduction to Behavioural Ecology*. Tercera edición. E.U.A.
- Lehmann G. C. 2012. Weighing costs and benefits of mating in bushcrickets (Insecta: Orthoptera: Tettigoniidae), with an emphasis on nuptial gifts, protandry and mate density. *Frontiers in Zoology*. 9:19.
- Lewis S., K. Vahed, J. M. Koene, L. Engqvist, L. F. Bussière. J. C. Perry, D. Gwynne y G. C. Lehmann. 2014. Emerging issues in the evolution of animal nuptial gifts. *Biology Letters*. 10.

- Ortíz-Jiménez I. & R. Cueva del Castillo. 2014. Nuptial gifts and female fitness in the neotropical katydid *Conocephalus ictus* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Insect Science*. 00. 1–5.
- Parker G. A. y M. A. Ball. 2005. Sperm competition, mating rate and the evolution of testis and ejaculate sizes: a population model. *Biology Letters*. 1. 235–238.
- Parker G. A. 2006. Sexual conflict over mating and fertilization: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 361. 235–260.
- Rehn J. A. G. 1903. A contribution to the knowledge of the Orthoptera of Mexico and Central America. *Transactions of the American Entomology Society*. 29. 1–34.
- Scharer L., L. Rowe y G. Arnqvist. 2012. Anisogamy, chance and the evolution of sex roles. *Trends in ecology and evolution*. Vol. 27(5). 260–264.
- McCartney J., K. G. Heller, M. A. Potter, A. W. Robertson, K. Telscher, G. U. C. Lehmann, A. W. Lehmann, D. von Helversen, K. Reinhold, R. Achmann. 2008. Understanding the size of nuptial gifts in bush-crickets: an analysis of the genus *Poecilimon* (Tettigoniidae: Orthoptera). *Journal of Orthoptera Research*. 17. 231–242.
- Naskrecki P. 2000. Katydid of Costa Rica. I. Systematics and Bioacoustics of the cone-head katydids. CD ROM. The Orthopterist Society and the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. E.U.A.
- Poiani, A. (2006) Complexity of seminal fluid: a review. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 60, 289–310.

- Roff, D. A. 1986. The evolution of wing dimorphism in insects. *Evolution*. 40. 1009–1020.
- Simmons L. W. 1993. Some constraints on reproduction for male bushcrickets, *Requena verticalis* (Orthoptera, Tettigoniidae) diet, size and parasite load. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 32.135–139.
- Sturm R. 2014. Comparison of sperm number, spermatophore size, and body size in four cricket species. *Journal of Orthoptera Research*. 23 Vol 1. 39–47.
- Torres-Vila L. M., M. C. Rodríguez-Molina & M. D. Jennions. 2004. Polyandry and fecundity in the Lepidoptera: can methodological and conceptual approaches bias outcomes? *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 55. 315–324.
- Vahed K. 1998. The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. *Biology Reviews*. 73. 43–78.
- Vahed K. 2007. All that glitters is not gold: sensory bias, sexual conflict and nuptial feeding in insects and spiders. *Ethology*. 113. 105–127.
- Wedell N. 1993. Spermatophore size in bushcrickets: comparative evidence for nuptial gifts as a sperm protection device. *Evolution*. 47. 1203–1212.
- Wedell N. y M. G. Richie. 2004. Male age, mating status and nuptial gift quality in a bushcricket. *Animal Behaviour*. 67. 1059–1065.
- Zeng, Y. y D.H. Zhu. 2012. Trade-off between flight capability and reproduction in male *Velarifictorus asperses* crickets. *Ecological Entomology*. 37. 244–251.