



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA

SELECCIÓN SEXUAL ASOCIADA AL CUIDADO  
PATERNAL EN HEMÍPTEROS DE LA ESPECIE  
*Abedus ovatus*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:

CÉSAR EDUARDO APARICIO MORENO



DIRECTOR DE TESIS:  
DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA  
STEYER

LOS REYES IZTACALA,  
TLALNEPLANTLA, ESTADO DE  
MÉXICO, 2020



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

La realización de este proyecto de tesis fue posible gracias al apoyo del programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IN217017 “Modulación y consecuencias del esfuerzo parental dependiente de la condición y de los niveles de paternidad en los machos del género *Abedus* (Hemiptera: Belostomatidae)”, otorgado al Dr. Roberto Edmundo Munguía Steyer.

Al Dr. Roberto Edmundo Munguía Steyer por todos los conocimientos compartidos, apoyo, paciencia durante la realización de este trabajo y por ser parte fundamental de mi formación profesional en esta etapa tan crucial de mi carrera. Sobre todo, gracias por la confianza brindada en aspectos más allá de lo académico y por la valiosa amistad construida en estos últimos años.

A los miembros de mi comité tutorial por sus valiosos comentarios y correcciones:

Dra. Leticia Ríos Casanova

Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza

Dr. Oscar Salomón Sanabria Urbán

Dra. Juana Alba Luis Diaz

A los miembros del Laboratorio de Ecología Evolutiva de Artrópodos por sus comentarios, ayuda y sobre todo, por su invaluable amistad.

No hay forma de agradecer a mis padres por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida y por ser un ejemplo de perseverancia y superación. Todo lo que soy, lo que he logrado y lograré será por y para ustedes.

Y gracias...

a quien pintó margaritas de acuarela en los yermos del camino.



## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>19</b>
<b>PREDICCIONES .....</b>	<b>20</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
Sistema de estudio.....	21
Colecta de individuos adultos y área de estudio .....	23
Análisis estadísticos .....	28
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
Probabilidad de cópula entre tratamientos de parentales con puesta grande y puesta pequeña.....	31
Tamaño de la puesta y remociones experimentales .....	31
Preferencia femenina .....	35
Fecundidad de las hembras y número de huevos colocados en los machos de distintos tratamientos .....	39
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>43</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>54</b>

## RESUMEN

El cuidado parental se define como cualquier conducta realizada por los padres que aumente la adecuación de su descendencia. Tradicionalmente se ha asumido que el cuidado parental limita a los machos en su capacidad de conseguir cópulas adicionales. Sin embargo, en los últimos años ha sido puesto en evidencia que el cuidado parental puede indicar la condición del macho y por lo tanto ser un criterio de evaluación en la elección femenina. En este trabajo, evaluamos si las hembras de la especie *Abedus ovatus* eligen con mayor frecuencia a machos parentales comparado con los no parentales. Adicionalmente, evaluamos si la preferencia femenina es modulada por el tamaño de la puesta de huevos y el tiempo que los machos lleven realizando cuidado parental. Observamos que al considerar diferentes combinaciones del tamaño de puesta (pequeña-grande) y de tiempo de cuidado parental (reciente-prolongado) como variables, es más probable que una hembra elija a un macho parental de puesta pequeña y con un desarrollo temprano sobre un macho no parental. En cualquier otro caso, las hembras prefieren a los machos no parentales sobre los parentales. Los resultados que obtuvimos demuestran que el tamaño de la puesta y el grado de desarrollo de los huevos (que es indicativo del tiempo de cuidado parental en los machos), son factores de suma importancia en la elección femenina en esta especie de belostomátidos. Esto es relevante porque en condiciones naturales las hembras están sujetas a elegir entre machos parentales y no parentales, con diferentes tamaños de puestas de huevos y tiempo de cuidado parental. Nuestro trabajo muestra que la elección femenina asociada al cuidado parental es plástica y dependiente de factores ecológicos.

## INTRODUCCIÓN

La selección sexual es uno de los principales mecanismos evolutivos generadores de diversidad fenotípica y biológica (Andersson, 1994; Futuyma, 2005; Bonduriansky, 2011). La selección sexual se considera como un subconjunto de la selección natural (Endler, 1986). Su desarrollo teórico surgió de la necesidad de explicar los patrones de dimorfismo sexual, así como la evolución y permanencia de rasgos exagerados y costosos de producir que no se podrían explicar por selección natural (Darwin, 1871). Estos rasgos se encuentran asociados a la elección y/o competencia por parejas sexuales, que por lo general han evolucionado en sólo uno de los sexos de las especies (caracteres sexuales secundarios). Los caracteres sexuales secundarios no son esenciales para la supervivencia, incluso pueden ir en su detrimento, pero pueden incrementar el éxito reproductivo de quien los porta (Darwin, 1871). La selección sexual tiene su origen en la asimetría de los costos energéticos asociados a la producción de los gametos que son resultado de la anisogamia (Trivers, 1972). Usualmente las hembras invierten más recursos en la gametogénesis, así como en el cuidado de la progenie. En las especies en las que las hembras son responsables de todo el cuidado de las crías la tasa reproductiva potencial de los machos es mayor (Clutton-Brock y Vincent, 1991). Lo anterior es el principal argumento del por qué las presiones de selección sexual son más fuertes sobre el sexo masculino (Trivers 1972). Ya que el sexo con la mayor tasa reproductiva potencial tiende a competir más intensamente por parejas que el sexo con un menor potencial reproductivo (Clutton-Brock y Vincent, 1991).

Las asimetrías en los costos de la reproducción se traducen en que el éxito reproductivo de los machos esté limitado por la búsqueda de parejas potenciales y el de las hembras por su finito potencial reproductivo. Por lo cual los machos generalmente compiten con otros machos por acceso a hembras reproductivas, mientras que estas son selectivas. Así, la selección sexual se basa en el diferencial del éxito reproductivo de los individuos de una especie en la competencia o elección de parejas reproductivas (Andersson, 1994). Específicamente, debido a las variaciones en los ornamentos o despliegues de conductas que son exhibidas a parejas potenciales para su evaluación (selección intersexual), y en las armas desarrolladas por los machos que muestran conductas agresivas, como peleas entre ellos que facilitan el acceso a parejas reproductivas (selección intrasexual) (Darwin, 1871; Andersson, 1994; Shuker, 2014). Por ejemplo, en varios peces, las hembras seleccionan a sus parejas sexuales basándose en su coloración, eligiendo normalmente a aquellos con colores más brillantes (Endler, 1984; Godin y McDonouhg, 2003; Selz, *et al.*, 2016). En aves existe una gran variedad de estudios que muestran que la elección femenina puede estar ligada a los ornamentos como la coloración del plumaje o el canto de sus potenciales parejas (Møller y Pomiankowski, 1993; Kose y Møller, 1999; Kriesell *et al.*, 2018). A pesar de que frecuentemente la selección sexual es más intensa en el sexo masculino y los roles sexuales convencionales establecen que los machos compiten entre ellos y las hembras eligen parejas, diversos estudios han demostrado que los roles sexuales no son fijos. Así, en algunos sistemas animales se presenta la elección de pareja masculina, la competencia femenina por parejas reproductivas o bien la elección recíproca (Rosenqvist, 1990; Davies *et al.*, 2012; Courtiol *et al.*, 2016).

Sin embargo, la intensidad y dirección con la que opera la selección sexual puede estar ligada al sistema de apareamiento, a la proporción sexual operacional y a factores que limitan las tasas reproductivas potenciales de hembras y machos (Clutton-Brock y Vincent, 1991; Andersson, 1994).

Por ejemplo, Forsgren y colaboradores (2004) mostraron que la elección y la competencia por pareja es plástica en el pez góbido *Gobiusculus flavescens*. En esta especie ambos mecanismos de selección sexual dependen de la proporción sexual operacional, entendida como el cociente resultante del número de machos sexualmente activos y de hembras receptivas (Emlen y Oring, 1977). Así, una reducción en el número de machos sexualmente activos al final de la temporada reproductiva causaba una reversión en los roles sexuales convencionales, lo cual provocó que las hembras cortejaran a los machos y compitieran por copular con ellos. En contraste, los machos redujeron casi por completo el cortejo hacia las hembras en el mismo periodo en comparación con el inicio de la temporada reproductiva. Otros estudios han demostrado la influencia de la densidad y la proporción sexual operacional en la selección sexual en otros peces con reversión de roles sexuales (Aronsen, *et al.*, 2013).

Estos cambios en los roles sexuales provocados por factores ecológicos o ambientales se han observado en otros sistemas animales como en insectos. Tal es el caso de diversos ortópteros de la familia Tettigoniidae, en los cuales el macho proporciona un regalo nupcial conocido como espermatofílax, que contiene sustancias nutritivas y un espermátforo a la hembra. En diversas poblaciones de

una especie que no fue descrita en el estudio perteneciente a la subfamilia Zaprochilinae ocurre una reversión en los roles sexuales convencionales al inicio de la temporada de cortejo asociado a cambios en la disponibilidad de alimento (Gwynne y Simmons, 1990; Simmons y Bailey, 1990). Estudios posteriores pusieron a prueba esta hipótesis en el grillo mormón (*Anabrus simplex*) mediante la manipulación experimental de la cantidad de alimento proporcionado a los individuos adultos. El grupo con poco alimento mostró una reducción en el número de machos sexualmente activos, acompañada de una reversión en los roles de cortejo e incluso hubo una mayor incidencia de rechazo de pareja por los machos y un aumento en la intensidad de la selección sexual por el tamaño del cuerpo de las hembras (Gwynne, 1993).

La reversión de roles sexuales en varios sistemas animales ha sido asociada también al cuidado parental realizado exclusivamente por los machos (cuidado paterno exclusivo). Una de las principales explicaciones yace en que al cuidar a la progenie el macho podría encontrarse limitado en la cantidad de cópulas adicionales que pudiera obtener. Si el cuidado parental limita la reproducción de los machos, esto podría sesgar la proporción sexual operacional y originar la competencia femenina por el acceso a machos reproductivos (Trivers, 1972; Kokko y Jennions, 2008). Por ejemplo, en aves, los machos del cucal negro (*Centropus grillii*) realizan el cuidado parental al construir el nido, incubando los huevos y al proporcionar alimento a las crías después de la eclosión. Las hembras, tienen un mayor potencial reproductivo lo que les permite producir hasta nueve puestas en la temporada reproductiva, en contraste con los machos que pueden criar hasta cuatro en el

mismo periodo, también son más grandes que los machos y defienden agresivamente los territorios (Andersson, 1995). En algunas poblaciones de peces pipa y caballitos de mar que realizan cuidado paterno exclusivo se puede observar que las hembras se acercan a los machos por oportunidades de apareamiento y compiten entre ellas por acceso a cópulas (Vincent *et al.*, 1992). Asimismo, en ranas de la especie *Limnonectes palavanensis* que realizan cuidado paterno, las hembras tienen un mayor tamaño corporal que los machos y realizan con más frecuencia llamados de apareamiento (Vallejos *et al.*, 2017). Los machos solo cantan en respuesta a los llamados femeninos e incluso se ha observado que las hembras forman agregaciones alrededor de un sólo macho (Vallejos *et al.*, 2017).

El cuidado parental se define como cualquier conducta realizada por los padres que aumente la adecuación de su descendencia (Clutton-Brock, 1991; Smiseth *et al.*, 2014). Algunas de las conductas típicas del cuidado parental involucran la construcción de nidos o madrigueras (Moreno *et al.*, 2010), el cuidado de los huevos (Sargent *et al.*, 1987), y la provisión de alimento a las crías (Trumbo, 2017). Por ejemplo, los escarabajos carroñeros del género *Nicrophorus* procesan el alimento que consumirán sus larvas, lo cual incrementa su viabilidad y favorece a su desarrollo. Específicamente, los individuos parentales regurgitan el alimento y se lo proporcionan a las larvas pre-digerido (Eggert *et al.*, 1998). Adicionalmente, el cuidado parental también puede involucrar la protección contra depredadores, parásitos y parasitoides (Clutton-Brock, 1991; Santos *et al.*, 2017). Cabe mencionar que las conductas del cuidado parental no siempre están relacionadas con las variables bióticas. Existen conductas parentales que modifican las condiciones

fisicoquímicas en las que se desarrollan las crías. Por ejemplo, algunos peces (Pampoulie *et al*, 2004) e insectos acuáticos (Smith, 1997) aumentan la tasa de difusión de oxígeno en los huevos que cuidan, mediante movimientos de ventilación o modifican el pH del medio en el que crecen sus crías (Diesel y Schuh, 1993).

Diversos autores (Clutton-Brock, 1991; Requena *et al.*, 2014) han clasificado el cuidado parental en tres formas diferentes: (1) el cuidado materno, que es más común en mamíferos, pero es la regla general en otros grupos animales (Ridley, 1978), según Trivers (1972) debido a que las hembras invierten más recursos que los machos en gametos y por esto deberían ser quienes realizan cuidado parental lo que ayudaría a minimizar los fracasos reproductivos por falta de inversión adicional; (2) el cuidado biparental en el cual ambos padres realizan el cuidado de la progenie caracterizado por ocurrir en la etapa postcigótica, es común en gran variedad de aves, insectos y otros artrópodos (Ridley, 1978; Clutton-Brock, 1991; Costa, 2010); (3) el cuidado paterno realizado exclusivamente por el macho, el cual ocurre principalmente en peces (Clutton-Brock, 1991; Knapp *et al.*, 1999; Lehtonen *et al.*, 2015). Al considerar los diferentes taxa, el cuidado paterno exclusivo es la forma más rara de cuidado parental en la naturaleza (Ridley, 1978; Clutton-Brock, 1991).

Las conductas realizadas al proveer cuidado parental a la progenie (alimentación, protección, construcción de nidos, etc.) pueden verse reflejadas en costos para los padres (Clutton-Brock, 1991; Smiseth *et al.*, 2014), los cuales Clutton-Brock (1991) clasificó en tres categorías:

a) Aumento en la mortalidad: Los individuos parentales pueden ser más proclives a sufrir ataques por depredadores ya que proteger a las crías, a los huevos o un nido hace más conspicuos a los padres y si llevan cargando a la progenie podrían ser más lentos al intentar escapar. Asimismo, los individuos parentales pueden tornarse más susceptibles a parásitos o infecciones en el tiempo que dure el cuidado comparado con los individuos no parentales (Trivers, 1972; Gilbert *et al.*, 2010; Klug y Bonsall, 2014; Requena *et al.*, 2014).

b) Desgaste fisiológico: La condición fisiológica se define tradicionalmente como el conjunto de recursos metabólicos adquiridos y disponibles para un individuo que pueden incidir en su adecuación (Rowe y Houle, 1996; Bonduriansky y Chenoweth, 2009). Dedicar tiempo al cuidado de las crías puede reducir el tiempo disponible de los padres dedicado a la alimentación y también un aumento en la actividad física asociada a actividades del cuidado parental. Por tal motivo, el cuidado parental puede implicar costos energéticos a los padres y así deteriorar progresivamente su condición (Clutton-Brock, 1991). Por ejemplo, en la chinche acuática *Abedus dilatatus*, los machos que realizan cuidado parental de forma prolongada y con puestas de huevos más grandes tienen una menor cantidad de lípidos en comparación con machos que cargan puestas más pequeñas (Munguía-Steyer *et al.*, 2019).

c) Pérdida de cópulas adicionales: El cuidado parental puede reducir el tiempo dedicado a la búsqueda de nuevas parejas sexuales (Klug y Bonsall, 2014). La pérdida de oportunidades de apareamiento adicionales ha sido señalada como una

de las presiones selectivas más fuertes en contra del cuidado parental (Magrath y Komdeur, 2003). En aves, peces y algunos insectos se ha observado que un padre puede abandonar a su progenie actual antes de buscar nuevas parejas sexuales. Por ejemplo, en los machos del pez cíclido *Herotilapia multispinosa* es más probable que abandonen su puesta actual si la proporción sexual de las hembras en la población incrementa, así tendrían mayores oportunidades de cópulas subsecuentes (Keenleyside, 1983).

Sin embargo, no necesariamente existe una disyuntiva entre el cuidado parental y el esfuerzo asociado a la obtención de cópulas adicionales (Manica y Johnstone, 2004; Stiver y Alonzo, 2009), particularmente en especies con cuidado paterno exclusivo, (Magrath y Komdeur, 2003). En ellas los machos parentales podrían evidenciar su condición y por lo tanto ser preferidos por las hembras (Pampoulie *et al.*, 2004; Requena *et al.*, 2014). En algunas especies de peces e insectos con cuidado paterno un macho puede cuidar varias puestas de huevos incluso cuando las puestas están pegadas al cuerpo de los padres (Gross y Sargent, 1985; Stiver y Alonzo, 2009; Coleman y Jones, 2011). Esto sugiere que no todos los machos están restringidos a cuidar los huevos de una sola hembra a la vez, sino que pueden conseguir cópulas adicionales durante el periodo de cuidado y el costo relativo de estas puede ser menor (Requena *et al.*, 2014). En algunos peces se ha observado que las hembras prefieren a los machos que presentan cuidados de mayor calidad, reflejados en la construcción de nidos o en la frecuencia de los movimientos de ventilación que realizan los padres sobre la puesta de huevos (Östlund y Ahnesjö, 1998; Pampoulie *et al.*, 2004). En los opiliones del género *Pseudopucroliia* la hembra

usa cavidades naturales como nidos, las cuales son defendidas por los machos parentales de otros machos con conductas furtivas. Las hembras abandonan el sitio después de poner los huevos, así el macho queda a cargo de los cuidados postcigóticos de los huevos y las ninfas a quienes defienden de depredadores. El éxito reproductivo de los machos está directamente relacionado con el tiempo de cuidado que dedican a sus nidos, entre más tiempo un macho protegía un nido, mayores eran sus posibilidades de copular. Todos los machos que consiguen copular y que tienen a su cuidado una puesta de huevos eventualmente copulan con hembras adicionales, las cuales agregan sus huevos al nido protegido por el macho (Nazareth y Machado, 2010). Así, el cuidado paterno podría ser modulado por selección sexual en algunos linajes evolutivos (Tallamy, 2001; Warren *et al.*, 2013; Requena *et al.*, 2014; Ohba *et al.*, 2016; Ohba, 2019).

En el caso particular de los artrópodos, el cuidado paternal postcigótico es muy raro en la naturaleza, a pesar de esto ha evolucionado en más de 17 taxones independientes (Tallamy, 2000, 2001; Nazareth y Machado, 2009). Los primeros casos estudiados de cuidado paterno exclusivo en artrópodos fueron descritos en arañas de mar de la familia Picnogonidae. En estos organismos los machos cuentan con un par de apéndices especializados que les permiten cargar puestas de huevos de varias hembras de manera simultánea (Tallamy, 2001; Requena *et al.*, 2014). Asimismo, se han registrado casos de cuidado paterno en diversos grupos de opiliones (Mora, 1990; Machado *et al.*, 2004; Requena *et al.*, 2012), miriápodos (Kudo *et al.*, 2011), coleópteros (Bartlett, 1988; Luzar *et al.*, 2017), himenópteros

(Reeve, 1993), isópteros (Zeh y Smith, 1985) y hemípteros (Ralston, 1977; Smith, 1997; Tallamy, 2001; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007).

Las chinches acuáticas gigantes de la familia Belostomatidae, representan el 99% de todos los insectos que realizan cuidado paterno exclusivo (Smith, 1997). Las conductas parentales realizadas por los machos de esta familia de insectos involucran la modificación de factores abióticos mediante procesos que implican el transporte, hidratación, ventilación y la modulación de interacciones bióticas como protección contra depredadores y parásitos de las puestas de huevos (Smith, 1976, 1997; Ichikawa, 1988; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007). En estos insectos, el cuidado paterno es obligado, debido a que si se abandona la puesta bajo el agua o se deja expuesta al aire, todos los huevos mueren (Smith, 1997). En la subfamilia Lethocerinae, las hembras colocan sus huevos sobre la vegetación emergente de la superficie de los cuerpos de agua, lo que facilita la oxigenación por el aire atmosférico. Los machos, humectan la puesta de huevos periódicamente lo que evita la desecación y también la protegen de posibles depredadores (Ichikawa, 1988; Smith y Larsen, 1993; Smith, 1997). Las chinches de la subfamilia Belostomatinae, viven la mayor parte del tiempo bajo el agua. Las hembras colocan sus huevos en la parte dorsal de los machos, pegándolos con una substancia mucosa que ellas secretan. Los machos cargan los huevos hasta el momento de la eclosión y durante este periodo realizan conductas parentales como la limpieza de la puesta, que consiste en frotar la puesta de huevos con sus apéndices traseros (brood-stroking) lo que reduce las posibilidades de infecciones fúngicas. Asimismo, los machos parentales facilitan la ventilación de la puesta mediante flexiones repetidas con sus

apéndices traseros (brood-pumping) que generan pequeñas corrientes debajo del agua que pueden oxigenar los huevos de manera activa (Smith, 1976, 1997; Munguía-Steyer y Macias-Ordóñez, 2007; Munguía-Steyer *et al.*, 2008). Los movimientos de brood-pumping realizados por los machos, son muy parecidos a los que realizan durante el cortejo (Smith, 1997). Otra forma en la que los machos parentales ventilan la puesta de huevos es exponiéndola de forma horizontal a la interfaz aire-agua por periodos prolongados, no obstante, esto aumenta el riesgo de depredación del padre y las crías. Cabe mencionar que las hembras y los machos que no están cuidando huevos, nunca asumen esta posición (Smith, 1997).

El evento total de apareamiento en estas subfamilias puede durar horas, alternando cópulas con la colocación de huevos por parte de la hembra, repitiéndose este proceso en varias ocasiones. Por ejemplo, en la especie *Lethocerus deyrollei*, se observó que la hembra coloca de 3 a 10 huevos durante cada evento de cópula (Ichikawa, 1989).

Al ser las hembras poliándricas, los machos podrían estar cargando huevos fertilizados por otros machos. En la especie japonesa *Appasus major*, algunos machos parentales cargan huevos fecundados por otros machos (Inada *et al.*, 2011). Sin embargo, estudios experimentales en condiciones de laboratorio han demostrado que en la especie belostomatina *Abedus herberti* se presentan niveles de precedencia espermática mayores al 99 % (Smith, 1979). Lo anterior ha llevado a diversos autores a especular que las cópulas repetidas y alternadas con la colocación de huevos por la hembra son una estrategia de los machos que podría

reducir el riesgo de competencia espermática y asegurar la paternidad (Smith, 1997; Requena *et al.*, 2014). Acorde con esta idea, Ichikawa (1989) observó, que hembras de la especie *Diplonychus major* que intentaban colocar huevos sin antes copular eran rechazadas por los machos que únicamente aceptaban huevos de una hembra después de haber copulado con ella.

Los costos asociados a las conductas del cuidado paterno en las chinches acuáticas se pueden observar en términos reproductivos. Por ejemplo, en las especies que cargan los huevos en el dorso, el número de hembras con las que el macho puede copular se vería limitada por el espacio disponible en su dorso. Ya que con cada cópula obtenida el espacio en el dorso se reduciría gradualmente hasta quedar completamente lleno. Así, el número de huevos que los machos pueden cuidar simultáneamente es limitado. Por lo tanto, el dorso de los machos como sustrato de oviposición puede resultar un recurso limitante en condiciones ecológicas específicas (Kraus, 1989; Smith, 1997; Munguía-Steyer y Macías-Ordoñez, 2007). Incluso, en condiciones de laboratorio se ha observado que machos con el dorso completamente cubierto de huevos, no realizan conductas de cortejo y rechazan a hembras nuevas con intenciones de copular (Ohba *et al.*, 2016). La supervivencia también podría verse reducida, ya que ventilar la puesta de huevos en la interfaz aire-agua podría tornarlos más conspicuos a los depredadores, y el cargar la puesta los haría lentos y menos ágiles al intentar huir. Sin embargo, en el único trabajo que ha evaluado costos de supervivencia en condiciones naturales en la especie *Abedus breviceps*, no se encontraron diferencias en la supervivencia de machos parentales y no parentales (Munguía-Steyer y Macías-Ordoñez, 2007). Los costos fisiológicos

pueden estar relacionados a las conductas del cuidado paterno como el brood-pumping y el brood-stroking, debido a que estas actividades pueden agotar las reservas energéticas de los machos, además de que cargar una puesta de huevos podría hacerlos menos exitosos atrapando presas (Crowl y Alexander, 1989; Kight *et al.*, 1995).

Munguía-Steyer y colaboradores (2019) evaluaron la condición de machos con cuidado parental reciente y prolongado en chinchas acuáticas de la especie *Abedus dilatatus*, cuantificando su contenido de glucógeno, lípidos y carbohidratos. Los huevos del cuidado parental reciente son negros y ovoides, gradualmente comienzan a alargarse tomando una figura más cilíndrica y aumentan de tamaño durante las siguientes etapas de desarrollo, debido al aumento de tamaño del embrión y a mayor absorción de agua en el huevo. En el cuidado parental prolongado la coloración negra de los huevos se aclara, pasando de una coloración café a una blanquecina al inicio de la eclosión (Madhavan, 1974; Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008). Los machos con una puesta de huevos reciente más grande tenían una mayor cantidad de lípidos que aquellos con puestas más chicas. Sin embargo, cuando los huevos estaban próximos a eclosionar, los machos con una puesta más grande tuvieron una menor cantidad de lípidos que aquellos con puestas más chicas y tiempo de cuidado similar. Lo anterior, podría deberse a que machos que cargan una mayor cantidad de huevos realizan más esfuerzo parental (Olvera-Hernández *et al.*, en proceso). Es posible que los machos en una mejor condición fisiológica sean preferidos por las hembras y al colocarles huevos, esto sea un indicativo de su condición, por lo que cargar una puesta de huevos reciente,

los haría más atractivos para otras hembras que podrían copular con ellos y colocar más huevos en el dorso de estos machos (Munguía-Steyer *et al.*, 2019).

La hipótesis de si el cuidado paterno puede ser mantenido por selección sexual en chinches acuáticas, se ha probado en tres especies asiáticas: *Appasus major*, *Appasus japonicus* (Ohba *et al.*, 2016) y *Diplonychus rusticus* (Ohba *et al.*, 2018). En las tres especies se observó que las hembras prefieren a los machos con puestas de huevos, sobre aquellos que no llevaban huevos. No obstante, la preferencia femenina por machos con cuidado parental fue mayor en *A. japonicus*. Lo que sugiere que la importancia del cuidado paterno en la elección femenina varía entre distintas especies de la subfamilia Belostomatinae (Ohba *et al.*, 2016). Por ejemplo, en un estudio realizado con la especie *Belostoma flumineum* no observaron que hubiera preferencias por los machos parentales (Smith, 2019). Así, resulta de vital importancia evaluar la dirección e intensidad de la selección sexual en distintos taxones de la familia, con lo cual podremos estudiar la evolución de la preferencia femenina en este clado. No obstante, hay que tomar en cuenta, que en los estudios antes mencionados se realizaron remociones experimentales de los machos parentales, dejándolos con un número homogéneo de huevos en sus puestas (10 huevos) lo cual, no representa las condiciones naturales que las hembras enfrentan en campo, ya que el número de huevos que los machos parentales cargan es muy variable (Kraus, 1989; Ichikawa, 1989). Adicionalmente, existen reportes sobre especies como *Dyplonychus major*, en la cual la proporción sexual operacional se sesga hacia las hembras. En esta población, los machos parentales pueden cargar hasta 3 puestas de huevos de hembras diferentes de

forma simultánea y la mayoría de los machos en primavera presentan un 65% del dorso ocupado por una puesta de huevos. Sin embargo, a pesar de aún tener espacio disponible, no se observó que la puesta aumentara de tamaño por cópulas adicionales. Esto puede deberse a que, al no poder producir suficientes huevos que podrían llenar por completo el dorso de los machos, estos tendrían que esperar a que las hembras produzcan huevos nuevos para obtener cópulas adicionales lo que prolongaría el tiempo del cuidado parental (Ichikawa, 1989). Por lo tanto, el espacio en el dorso de los machos podría ser un recurso limitante para las hembras (Ichikawa, 1989; Smith, 1997). Así, algunas hembras serían incapaces de dejar descendencia bajo estas condiciones, lo que las llevaría a competir agresivamente por acceso a cópulas con machos disponibles (Ichikawa, 1989).

Tomando en cuenta lo anterior, es posible que la preferencia femenina en las chinches acuáticas esté modulada por diversos factores además del cuidado paterno, como el espacio disponible para ovipositar en el dorso del macho y el tiempo de cuidado parental que los machos han realizado reflejado en el desarrollo de los huevos de la puesta que cargan. Si un macho presenta una puesta de huevos muy desarrollada, podría indicar a las hembras que su condición fisiológica está deteriorada (Munguía-Steyer *et al.*, 2019). Por lo tanto, es necesario investigar la importancia de diferentes variables que pudiesen estar cambiando los patrones de elección femenina en las chinches acuáticas y en consecuencia la intensidad de la selección sexual asociada a conductas de cuidado paternal conforme a la fenología reproductiva de los individuos.

En este trabajo evaluamos si las hembras de la chinche acuática *Abedus ovatus* eligen copular con mayor frecuencia con machos que presentan cuidado parental (una puesta de huevos en el dorso), en comparación con los que no cargan una puesta. En este análisis también se incluyeron como variables predictoras el tamaño de la puesta y el estadio de desarrollo de los huevos que los machos parentales cargan. El estadio de desarrollo de los huevos podría ser un indicativo del esfuerzo parental realizado por los padres y el desgaste energético debido a esta conducta ya que el esfuerzo parental depende del tamaño de puesta que cargan los machos (Olvera-Hernández *et al.*, en proceso). Por lo tanto, los machos con puestas de mayor tamaño pudieran tener un mayor desgaste energético. Este es el primer estudio en el que además de la presencia de cuidado parental en los machos involucra otras variables relacionadas al estatus parental, que podrían modular los patrones de la elección femenina en chinches acuáticas.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar si el cuidado parental está sujeto a selección sexual en hemípteros de la especie *Abedus ovatus*.

### Objetivos particulares

- Determinar si existe elección femenina por los machos parentales.
- Determinar si el tamaño de la puesta de huevos que cargan los machos parentales influye en la elección femenina.
- Determinar si el tiempo de cuidado parental realizado por los machos influye en la elección femenina.

## **HIPÓTESIS**

- El estatus parental del macho está sujeto a elección femenina.
- El tamaño de la puesta de huevos que cargan los machos parentales estará sujeto a evaluación femenina.
- El tiempo de cuidado parental realizado por los machos parentales, estará sujeto elección femenina.

## **PREDICCIONES**

- Los machos parentales serán preferidos por las hembras.
- Los machos parentales que presentan una puesta de huevos pequeña serán preferidos por las hembras.
- Los machos que presenten cuidado parental reciente serán preferidos por las hembras.

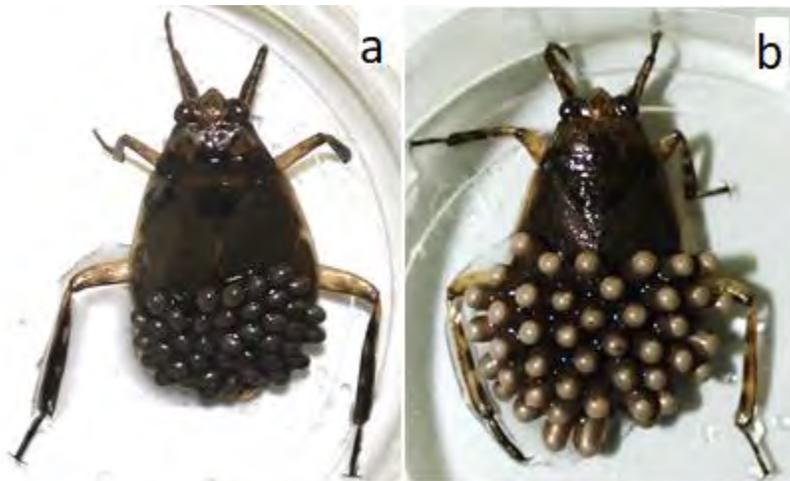
## MATERIALES Y MÉTODOS

### ***Sistema de estudio***

*Abedus ovatus* es un hemíptero de la subfamilia Belostomatinae que vive en ambientes subacuáticos caracterizados por ser poco profundos y con corrientes lentas. Tanto ninfas como adultos colectan aire atmosférico mediante apéndices retráctiles que presentan pelos hidrófobos que les permiten mantener una burbuja de aire debajo del agua. Los hemípteros de esta subfamilia son depredadores generalistas que capturan a sus presas con el primer par de apéndices. Las presas de las que se alimentan pueden ser otros insectos como grillos, abejas, larvas de libélulas y hasta peces pequeños (Smith, 1997; Ohba, 2019). Estas chinches se alimentan mediante una probóscide en forma de aguja que insertan a su presa, liberando enzimas proteolíticas las cuales le permiten digerir a su presa y después succionarla (Swart *et al.*, 2006; Ohba, 2019). La reproducción es mediante fecundación interna, presentando cópulas repetidas intercaladas con la colocación de huevos sobre el dorso de los machos, proceso que se repite varias veces durante todo el evento reproductivo que puede durar horas. En cada evento de oviposición la hembra puede poner de 2 a 3 huevos (Smith, 1976). A pesar de que hay reproducción todo el año, existen picos reproductivos asociados a los meses de lluvia (Munguía-Steyer *et al.* 2019).

En esta especie los machos realizan cuidado paterno exclusivo cargando la puesta de huevos en su dorso hasta el momento de la eclosión (Smith, 1974; 1976). Durante este periodo, realizan movimientos de ventilación y de limpieza de la puesta

de huevos. El tiempo que un macho ha realizado cuidado parental puede estimarse al considerar el grado de desarrollo de los huevos de la puesta que carga (Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008). El grado de desarrollo de los huevos puede determinarse a partir de la morfología y el color que presentan. Los huevos que han sido colocados recientemente son ovoides y negros (Figura 1a) y huevos próximos a la eclosión, son de coloración grisácea y cilíndricos (Figura 1b) (Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Macho parental con puesta de cuidado reciente (a) y con puesta de cuidado prolongado (b) de *A. ovatus*.

### ***Colecta de individuos adultos y área de estudio***

Realizamos seis colectas de chinches acuáticas de la especie *A. ovatus*, en una población localizada en el río Quetzalapan, ubicado en Chignahuapan, Puebla, México (19.859199° N, -97.993593° O) cerca de la carretera Zacatlán-Chignahuapan. Esta localidad se caracteriza por tener un clima semifrío subhúmedo con lluvias durante el verano, con una temperatura anual de 5 a 12 °C, mientras que en invierno puede descender hasta -3 °C y en verano puede aumentar a 18 °C. La vegetación está caracterizada por bosques de coníferas como asociaciones de pino y oyamel (INEGI, 2009).

Con el fin de realizar los estudios de preferencia femenina colectamos hembras y machos parentales adultos de la población de Chignahuapan, Puebla. La reproducción de los individuos de esta especie ocurre todo el año, aunque presenta un incremento en los meses de agosto a octubre acoplado a la temporada de lluvias en la región. Las colectas de organismos para este estudio las realizamos en el año 2019, en los meses de febrero, abril, mayo, julio, agosto y octubre (Tabla 1). Colectamos machos parentales que cargaran una puesta de huevos recientes y que ocupara al menos un 80% del espacio disponible de su dorso, debido a los costos asociados a cargar una puesta por un tiempo prolongado (Munguía-Steyer *et al.*, 2019) y a las diferencias en la intensidad relativa de las conductas parentales dadas por el tamaño de la puesta que cargan (Olvera-Hernández *et al.*, en proceso). Solo colectamos machos parentales con el fin de eliminar la posible variación en la condición que existiría a priori incluyendo a los machos que no han sido ovipositados

en campo. En el caso de las hembras, colectamos aquellas que estuvieran grávidas. La gravidez se define como el momento en el que los huevos que cargan alcanzan su punto de madurez máximo y están listos para ser fertilizados (Shine, 2003). Las hembras grávidas en la familia Belostomatidae se distinguen por presentar un abdomen abultado (Ohba, 2019).

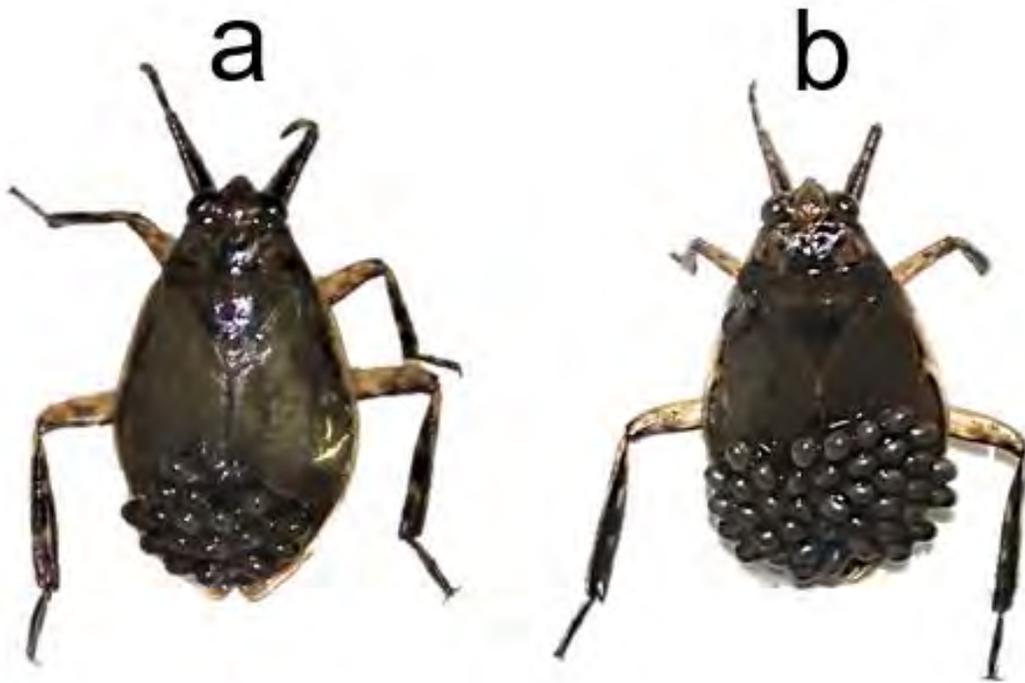
**Tabla 1.** Fechas de cada colecta realizada y cantidad de machos parentales y hembras grávidas colectadas.

<b>Fecha de colecta</b>	<b>Machos parentales colectados</b>	<b>Hembras grávidas colectadas</b>
24 febrero 2019	30	20
7 abril 2019	24	17
13 mayo 2019	18	15
24 julio 2019	20	15
23 agosto 2019	34	25
9 octubre 2019	40	25

Los individuos colectados fueron transportados en hieleras con agua al Laboratorio de Ecología Evolutiva de Artrópodos (LEEA) en la Facultad de Estudios Superiores, Iztacala. En el laboratorio, medimos la longitud total de cada individuo colectado, desde la punta de la cabeza, hasta el final del abdomen, utilizando un vernier digital (103Y5 HTS Inc.). Posteriormente, tomamos fotografías del área dorsal de los machos para contar la cantidad de huevos que cargaban.

Para determinar si existe una preferencia femenina sobre el estatus parental y el tamaño de puesta que cargan los machos parentales, realizamos remociones experimentales de huevos. Los individuos fueron asignados de forma aleatoria a los tratamientos de remociones experimentales. Al primer grupo de machos les removimos en su totalidad la puesta de huevos, dejando el dorso completamente

descubierto (machos no parentales). A los otros machos les removimos la puesta de forma parcial estableciendo dos grupos de machos parentales. El primero con una puesta de huevos pequeña, con aproximadamente 20 huevos (Figura 2a) y al segundo dejando una puesta de mayor tamaño, con aproximadamente 40 huevos (puesta grande Figura 2b). De esta manera, formamos parejas de machos al azar constituidas por un macho no parental y un macho parental que podía tener una puesta pequeña o una puesta grande. Así, cada hembra grávida fue colocada también de forma aleatoria en una pecera de 5 L con la presencia de un macho parental y un macho no parental. Las peceras de 5 L se llenaron de agua al 75% de su capacidad y contaban con una malla de tela y una piedra para que los organismos pudieran sostenerse y salir del agua. Todos los individuos fueron alimentados con grillos cada 4 días y registramos aquellos que no hubieran consumido a la presa, para volver a intentarlo más tarde o al día siguiente, con la finalidad de que su condición fisiológica asociada a la ingesta de alimento fuera homogénea.



**Figura 2.** Machos parentales con remociones experimentales. a) macho con puesta pequeña y b) machos con puesta grande.

Diariamente revisamos cada una de las peceras para comprobar si la hembra había colocado huevos en alguno de los machos. En caso de que la hembra haya copulado y ovipositado sobre algún macho, registramos con que macho (parental-no parental) había ocurrido la cópula, anotando si la puesta del macho parental era grande o pequeña y el estadio de desarrollo de los huevos del macho parental al momento de la cópula. Tomamos fotografías de los machos a los que las hembras les colocaban huevos para posteriormente determinar el número de huevos que colocó cada una de ellas. Así, determinamos el número de huevos que la hembra

puso relacionado al estatus parental del macho con el que copuló (macho no parental, o macho parental con puesta pequeña o grande).

### ***Análisis estadísticos***

#### ***a) Probabilidad de cópula entre tratamientos de parentales con puesta grande y puesta pequeña***

Con el fin de determinar si las hembras se mostraban más proclives a copular en las peceras que presentaban un macho parental de puesta pequeña comparado con las peceras con machos parentales de puesta grande realizamos un análisis lineal generalizado con distribución binomial en el cual en las peceras que hubo cópulas se consideró como éxito (1) y en las que no hubo como fracaso (0) presentando como variable predictora el tamaño de la puesta que presentaban los machos parentales.

#### ***b) Tamaño de la puesta y remociones experimentales***

Comparamos el tamaño de la puesta que presentaban los machos no parentales antes de las remociones experimentales con los machos parentales mediante una prueba de t pareada, ya que esta comparación se realizó por separado entre cada par de machos colocados en cada pecera, con la finalidad de cerciorarnos de que la condición fisiológica de los machos asociada al tamaño de la puesta fuese similar. Asimismo, se realizó una prueba de t para comparar el tamaño de la puesta

remanente en los machos parentales asignados a las categorías de puesta pequeña y puesta grande, para asegurarnos de que nuestros tratamientos fueran diferentes.

### ***c) Preferencia femenina sobre los machos parentales***

Evaluamos la probabilidad de que las hembras prefirieran a un macho parental (1) sobre un no parental (0) con un análisis lineal generalizado de distribución binomial. Consideramos al factor tamaño de la puesta (grande - chico) y al estadio de desarrollo de los huevos del macho parental (poco desarrollado - desarrollado) como variables predictoras, así como la interacción de estos dos factores en segundo grado. Empleamos inferencia bayesiana en los modelos de elección femenina (Gelman *et al.*, 2013) dado que hubo casos de separación completa en los datos de elección femenina lo que quiere decir que las hembras eligieron solo a los machos pertenecientes a una combinación de variables en específico y nunca al otro macho sujeto a elección dentro de un tratamiento. En nuestro caso no ocurrió ninguna cópula en machos parentales con puesta grande y en desarrollo avanzado. La inferencia fue realizada a través de tres cadenas de Markov Montecarlo, con 60000 iteraciones cada una, un burnin de 20000 iteraciones y una tasa de adelgazamiento de 1 de cada 3 iteraciones para disminuir la autocorrelación temporal de las cadenas y alcanzar una convergencia más rápida. La convergencia de las cadenas fue evaluada a partir del estadístico Gelman-Rubin y cada parámetro mostró valores menores a 1.01, indicativo de una correcta convergencia. Todos los coeficientes del modelo presentaron una distribución de probabilidad previa

uniforme con rangos de -15 a 15. A partir de los coeficientes del modelo, se estimaron las probabilidades de copular con un macho parental en cuatro condiciones posibles: a) macho parental con puesta pequeña-huevos poco desarrollados vs macho no parental, b) macho parental con puesta pequeña-huevos desarrollados vs macho no parental, c) macho parental con puesta grande-huevos poco desarrollados vs macho no parental y d) macho parental con puesta grande-huevos desarrollados vs macho no parental. Se obtuvo el valor estimado y los intervalos de credibilidad al 95 % que fueron contrastados con el resultado esperado en caso de no haber preferencia por ningún macho ( $p = 0.5$ ).

***d) Fecundidad de las hembras y número de huevos colocados en los machos de distintos tratamientos***

Con el fin de determinar el número de huevos y la distribución de la fecundidad de las hembras estimamos los estadísticos descriptivos, así como un histograma de frecuencias. Asimismo, comparamos si el número de huevos colocados en los machos parentales y no parentales con cuidado parental reciente. Adicionalmente, incluimos como variable predictora el número de huevos que originalmente presentaba cada macho antes de la oviposición como covariable. Así, realizamos un modelo lineal que consideró el número de huevos puestos como variable de respuesta y el estatus del macho (parental-no parental) y el número de huevos que portaba previo a la oviposición como variables predictoras.

## RESULTADOS

De un total de 95 unidades experimentales en los cuales una hembra podía elegir entre un macho parental y no parental, obtuvimos 52 cópulas, por lo que se registraron cópulas en el 54.7 % del total de las unidades experimentales. El número de cópulas obtenidas por cada mes de colecta fue: febrero 11, abril 3, mayo 6, junio 4, julio 4, agosto 12 y octubre 12.

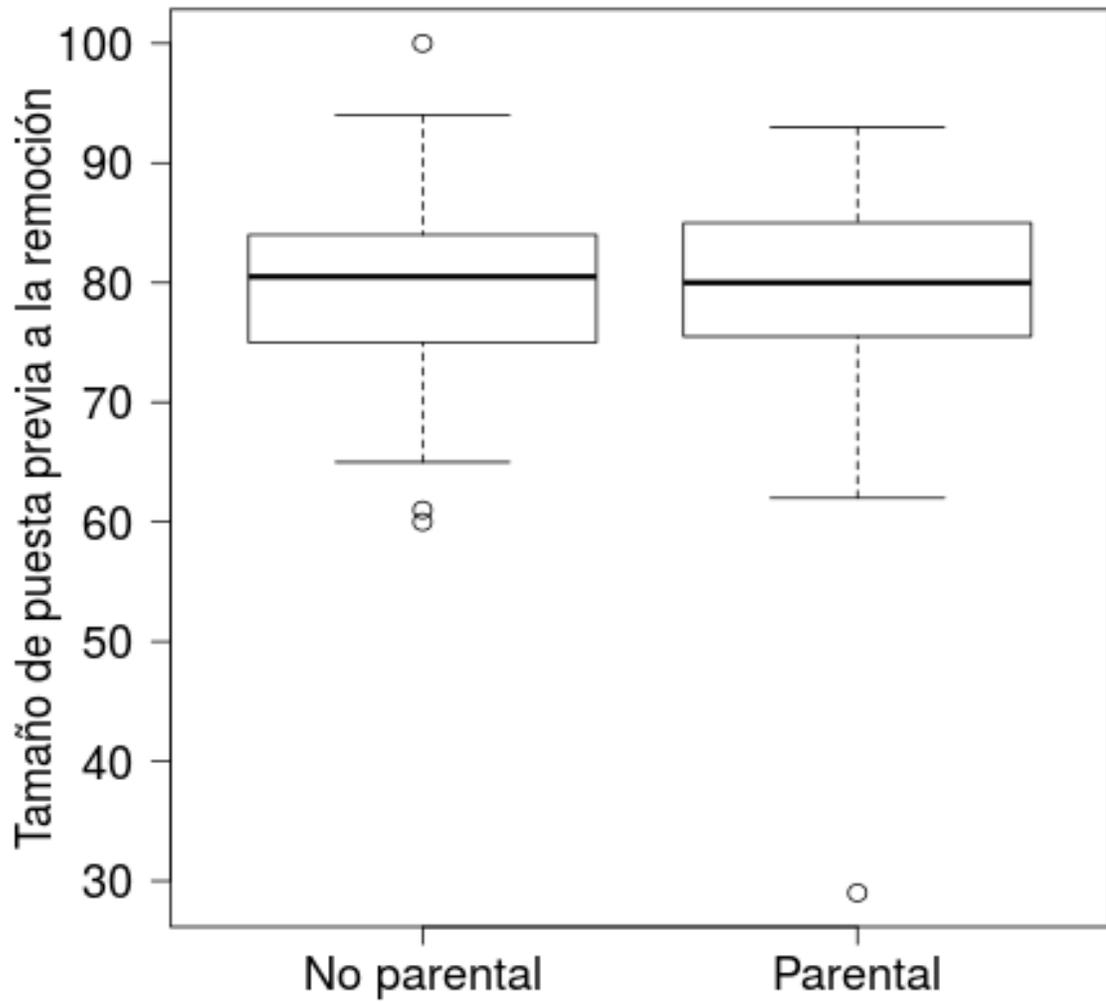
### ***a) Probabilidad de cópula entre tratamientos de parentales con puesta grande y puesta pequeña***

De las 48 unidades experimentales que contenían un macho con puesta pequeña únicamente ocurrieron cópulas en 28 de los casos y de las 47 que contenían un macho con puesta grande ocurrieron 24. No encontramos diferencias en la probabilidad de éxito de cópula entre los tratamientos que contenían a machos con puesta pequeña ( $p = 0.58$ , IC95 % = 0.44-0.72) y de puesta grande ( $p = 0.61$ , IC95 % = 0.37-0.65, Devianza = 0.507, GL = 1,  $p = 0.48$ ).

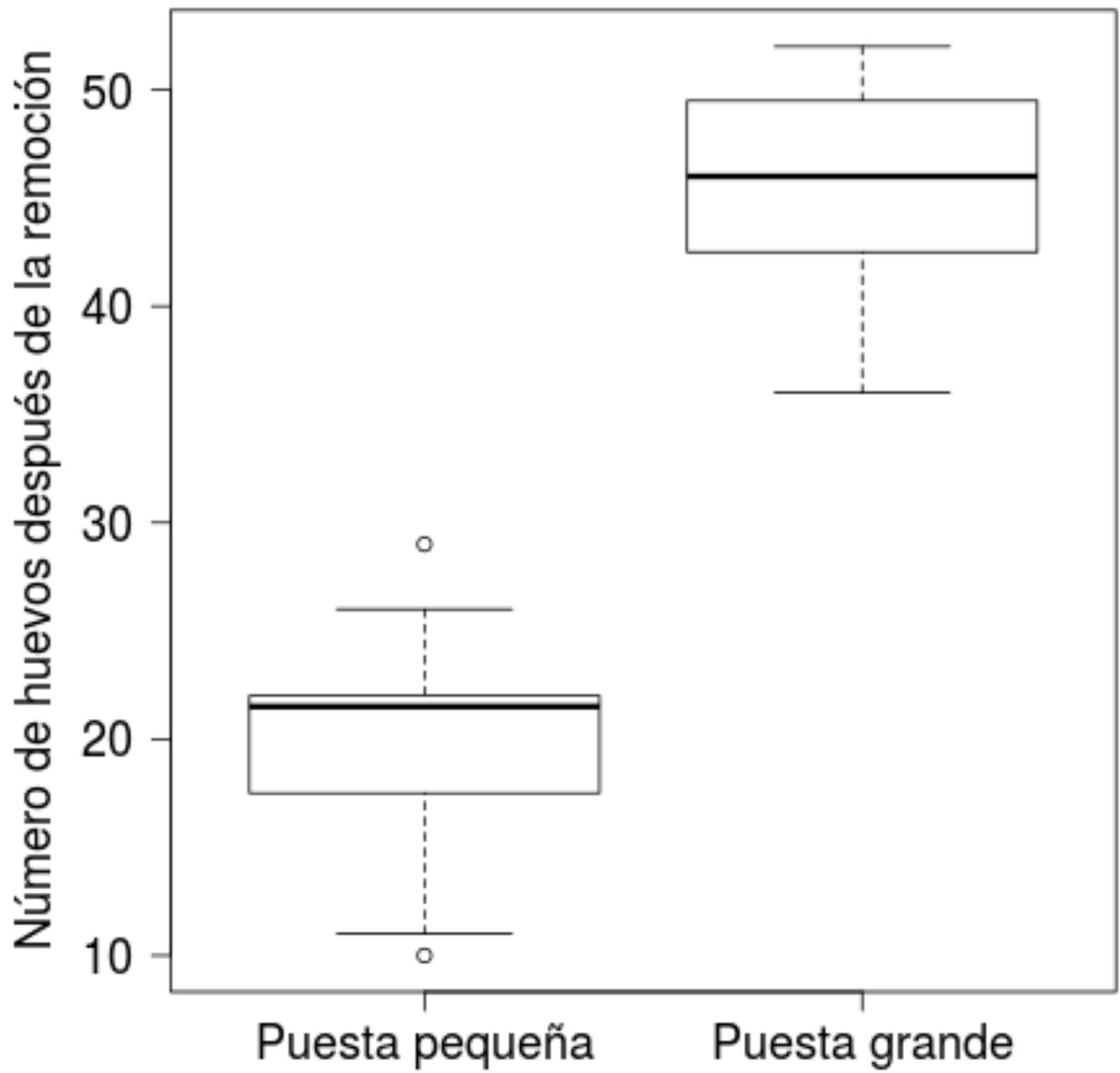
### ***b) Tamaño de la puesta y remociones experimentales***

No hubo diferencias en el tamaño de la puesta de huevos de los machos parentales traídos de campo antes de las remociones experimentales totales y parciales ( $t = 0.237$ , GL = 51,  $p = 0.81$ ) (Figura 3). Al comparar el número de huevos presentes en los tratamientos obtuvimos un tamaño de puesta promedio de 21.5 huevos en

las puestas de los machos de puesta pequeña (valor mínimo = 10 y valor máximo = 29) y 46 huevos en las puestas de los machos de puesta grande (valor mínimo = 36 y valor máximo = 52) ( $t = -18.9$ ,  $GL = 47.4$ ,  $p < 0.001$ ). Así comprobamos que hay diferencias significativas entre el tamaño de las puestas de los dos grupos de machos parentales establecidos (Figura 4).



**Figura 3.** Tamaño de las puestas de huevos que cargaban los machos antes de las remociones experimentales.



**Figura 4.** Tamaño de la puesta de huevos de los machos parentales después de la reducción experimental del tamaño de puesta en los machos parentales.

### ***c) Preferencia femenina***

De todas las cópulas obtenidas en laboratorio en los experimentos de preferencia femenina obtuvimos 33 cópulas en machos con cuidado reciente de las cuales 21 fueron en peceras que contenían machos de puesta pequeña y 12 en peceras con machos de puesta grande. Dentro de las cópulas en tratamientos con machos puesta pequeña con cuidado parental reciente 17 ocurrieron en el macho parental y 4 en el no parental. En 12 de los tratamientos con machos de puesta grande, todas las cópulas ocurrieron en el macho no parental. Por otra parte, obtuvimos 19 cópulas en peceras que contenían machos con cuidado parental prolongado de las que 7 ocurrieron en peceras con machos de puesta pequeña y 12 en tratamientos con machos de puesta grande. De las 19 cópulas en peceras con machos parentales con huevos muy desarrollados ninguna ocurrió en machos parentales, ocurriendo las 19 cópulas en machos no parentales (Tabla 2).

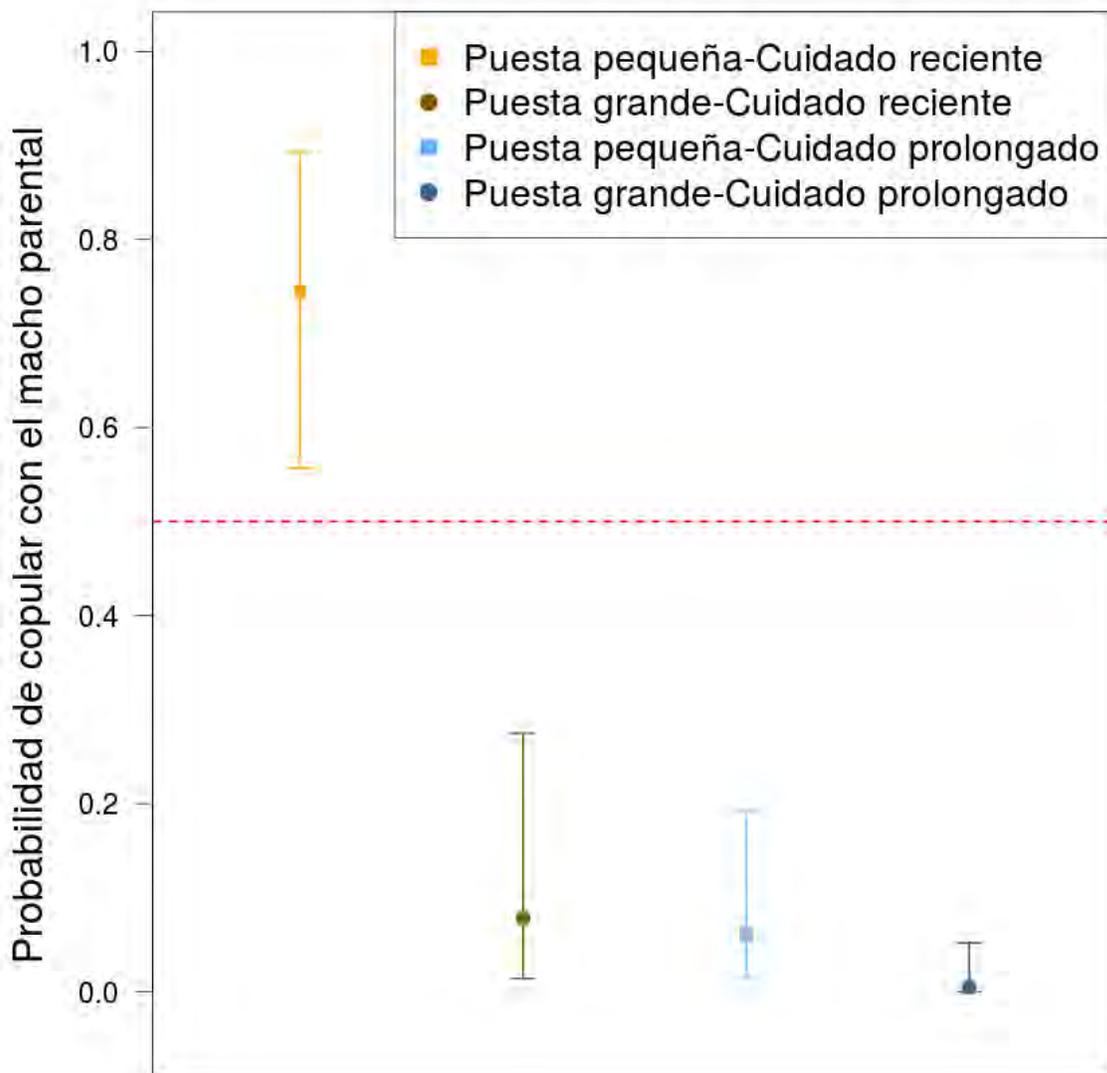
**Tabla 2.** Cópulas ocurridas en machos parentales (p) y no parentales (np) divididas por tiempo de cuidado parental (reciente y prolongado) y por el tamaño de la puesta de los machos parentales (puesta pequeña o puesta grande) que contenía la pecera en donde ocurrió la cópula.

<b>Estatus parental</b>	<b>Cuidado reciente</b>		<b>Cuidado prolongado</b>	
	Puesta pequeña	Puesta grande	Puesta pequeña	Puesta grande
No parental	4	12	7	12
Parental	17	0	0	0

A partir de los coeficientes del modelo (Tabla 3) observamos que, considerando las diferentes combinaciones de variables contempladas en el experimento, es más probable que una hembra elija a un macho parental de puesta pequeña y con un desarrollo temprano ( $p = 0.80$ ) sobre un macho no parental. Para los tres grupos restantes de machos parentales con las otras combinaciones de variables su probabilidad de ser elegidos por la hembra sobre los machos no parentales fue menor a 0.1 (machos con puesta grande-cuidado reciente  $p = 0.078$ , machos con puesta pequeña-cuidado prolongado  $p = 0.013$  y machos con puesta grande cuidado prolongado  $p < 0.001$ ) (Figura 5).

**Tabla 3.** Coeficientes del modelo de probabilidad de cópula con el macho parental y límites inferiores (ICI) y superiores (ICS) de los intervalos de credibilidad al 95%.

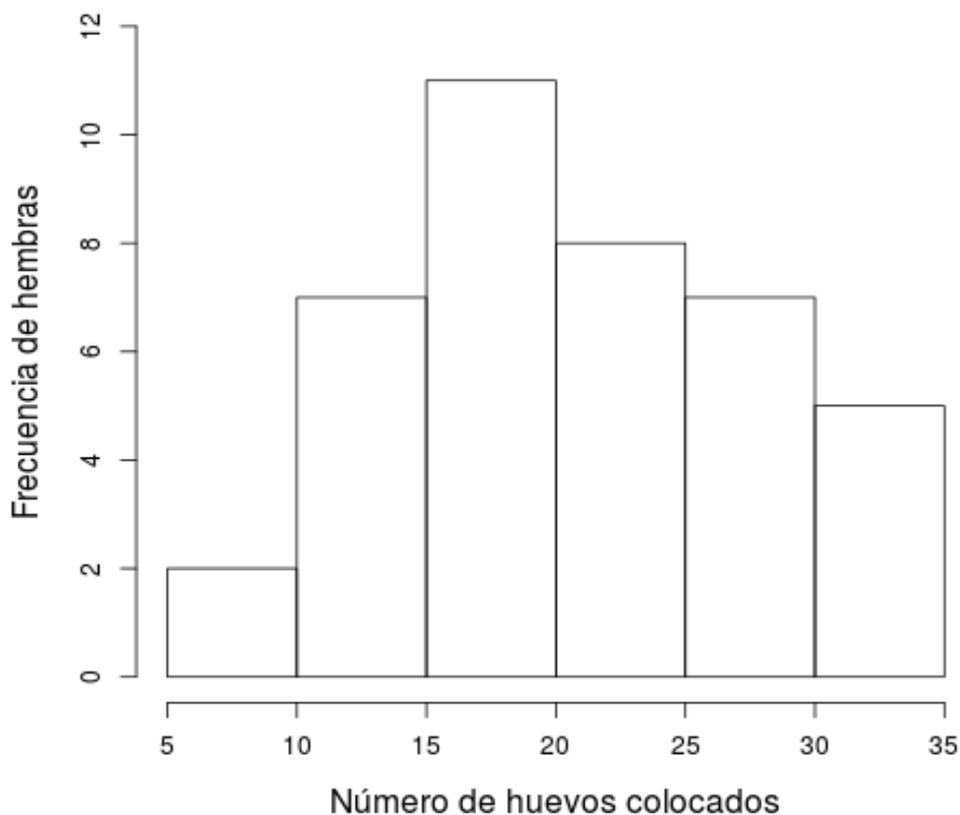
<b>Parámetros</b>	<b>Promedio</b>	<b>ICI 95%</b>	<b>ICS 95%</b>	<b>Rhat</b>
Intercepto	1.4813	0.4378	2.7010	1.001
$\beta_1$ Tamaño de puesta	-9.6609	-14.7421	-3.9202	1.001
$\beta_2$ Tiempo de cuidado	-9.3621	-14.7202	-3.2908	1.001
Parental reciente- puesta pequeña	0.8001	0.6077	0.9371	1.001
Parental prolongado- puesta pequeña	0.0131	<0.0001	0.1282	1.001
Parental reciente- puesta grande	0.0078	<0.0001	0.0726	1.001
Parental prolongado-puesta grande	<0.0001	<0.0001	0.0001	1.001



**Figura 5.** Probabilidad de que la hembra elija a un macho parental para copular vs. machos no parentales, considerando las 4 combinaciones posibles de las variables predictoras en el modelo (tamaño de la puesta y tiempo de cuidado parental)

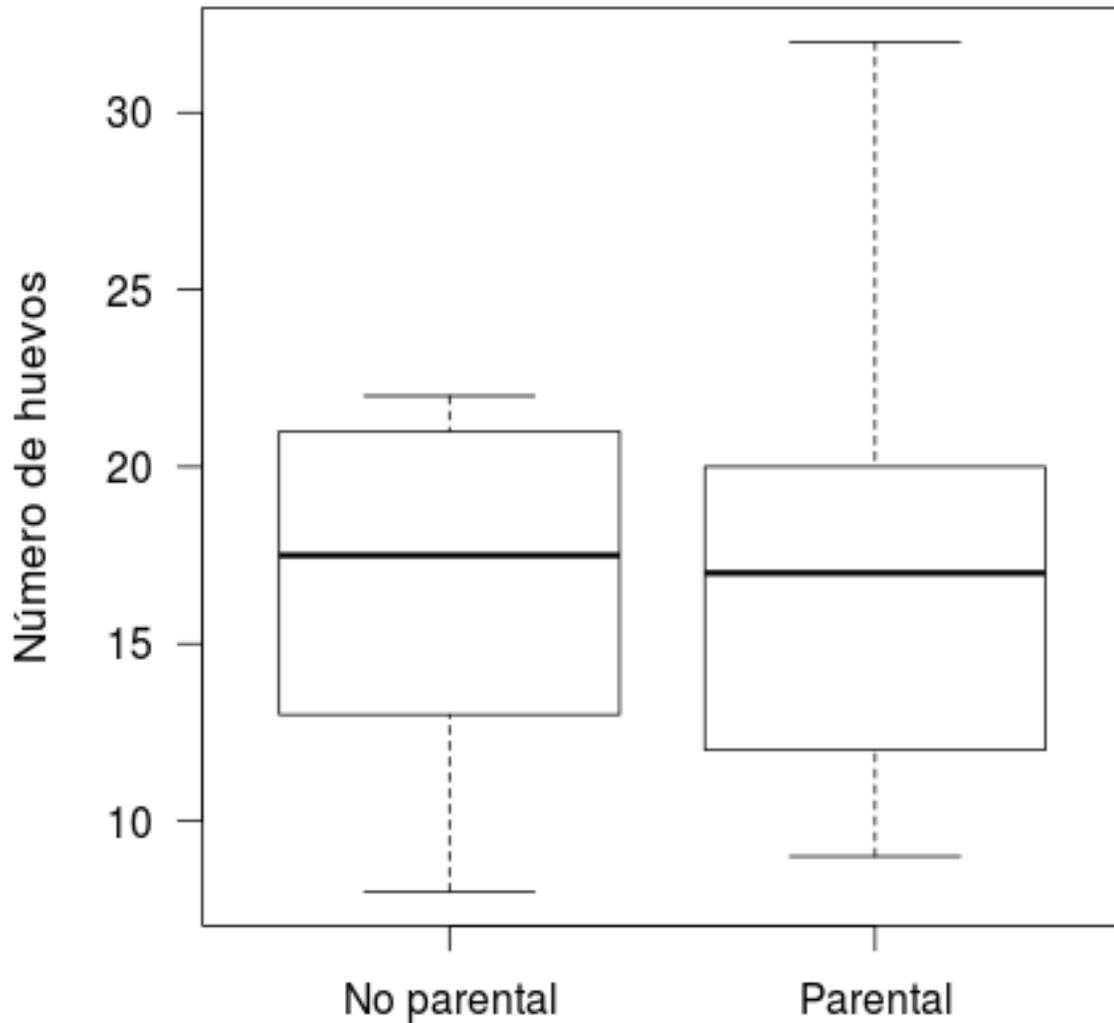
**d) Fecundidad de las hembras y número de huevos colocados en los machos de distintos tratamientos**

El promedio de huevos que puso cada hembra sobre el dorso de los machos es de 21 huevos, con un mínimo de 8 y máximo de 35 huevos (DE = 6.94). El histograma de frecuencias de las hembras muestra que el rango de oviposición más frecuente comprende a las hembras que pusieron de 15 a 20 huevos (Figura 6).



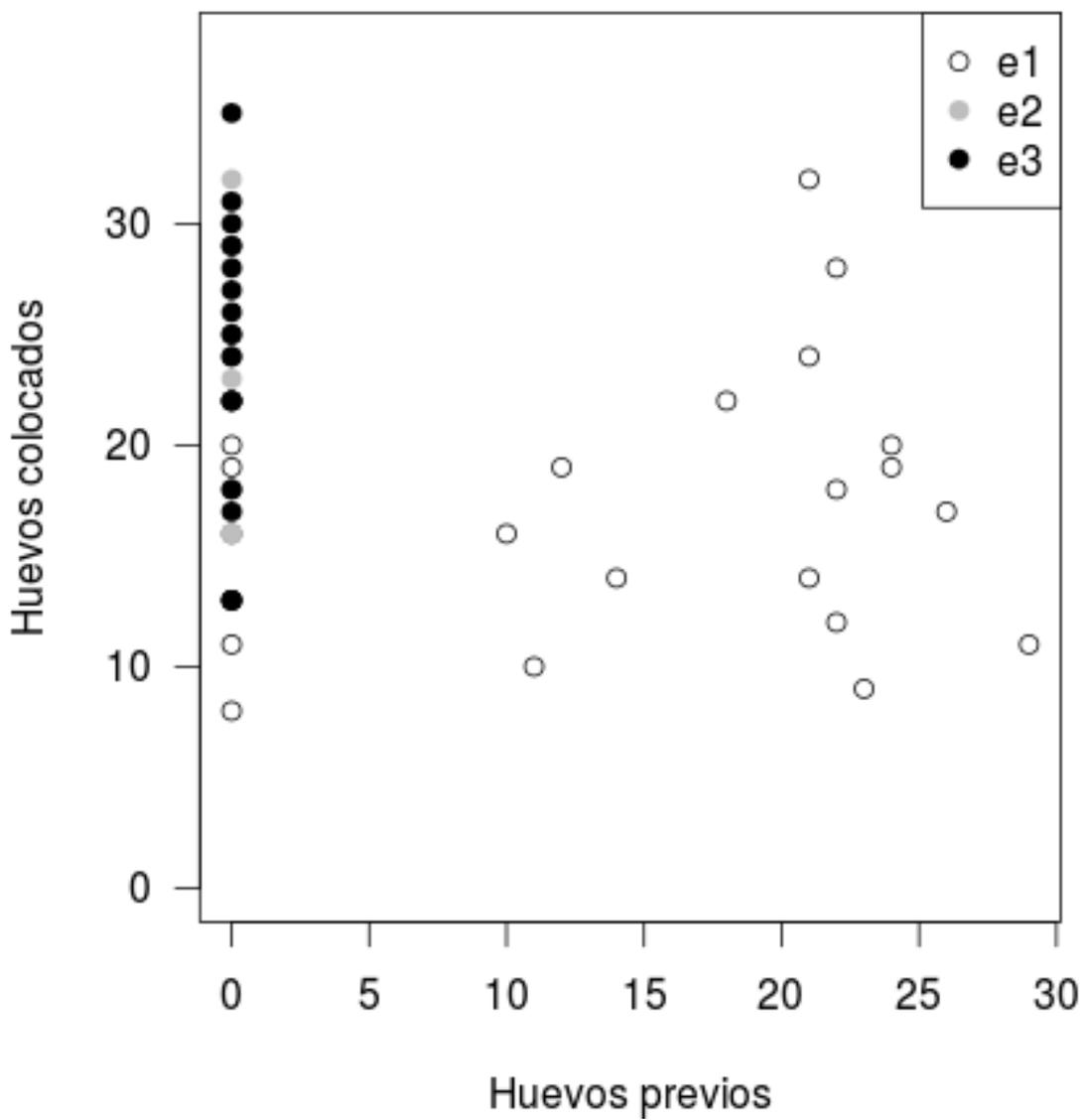
**Figura 6.** Cantidad de huevos más frecuente que las hembras colocaron en los eventos de cópula registrados en laboratorio.

No encontramos diferencias en la cantidad de huevos que las hembras colocaron en machos parentales (media = 17, mínimo = 9, máximo = 32, DE = 6.44) y no parentales (media = 17.5, mínimo = 8, máximo = 22, DE = 6.67) (Figura 7).



**Figura 7.** Cantidad de huevos colocados en machos parentales y machos no parentales.

En el modelo lineal que consideró como variables predictoras el estadio de desarrollo y el tamaño de la puesta del macho parental, mostró que el número de huevos que la hembra colocó sobre los machos era independiente a la cantidad previa de huevos que tenía el macho con el cual copuló. Asimismo, observamos que las hembras nunca colocaron huevos en machos parentales con puestas desarrolladas mientras que en la mayoría de los machos con cuidado parental reciente las hembras colocaron huevos, aunque el rango de valores de huevos colocados entre los parentales y no parentales tienen una gran sobreposición independientemente de la cantidad de huevos previos que los machos portaban (Figura 8).



**Figura 8.** Cantidad de huevos colocados por la hembra, considerando los huevos iniciales del macho y el estado de desarrollo (e1, e2 y e3 siendo e1 los huevos más recientes y e3 los más desarrollados) de la puesta del macho parental.

## DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que existe preferencia femenina en *Abedus ovatus* modulada por el cuidado paterno. A diferencia de trabajos previos con especies de la familia Belostomatidae, la preferencia parece ser modulada también por el tamaño de puesta y el grado de desarrollo que los machos parentales cargan. Las hembras claramente prefirieron machos que cargaban una puesta de huevos pequeña y con un desarrollo temprano, que fueron preferidos en un 80.96% de las ocasiones comparado con los machos no parentales. Estos resultados son congruentes con nuestras predicciones. Tanto hembras como machos se beneficiarían de que las hembras colocaran sus huevos sobre machos con huevos recientes. Si una hembra colocara sus huevos en un macho con una puesta desarrollada cuya condición está deteriorada por el tiempo de cuidado parental, podría realizar menos esfuerzo parental sobre una segunda puesta reciente. Y los costos asociados al cuidado de la puesta para los machos sería menor entre menos tiempo haya transcurrido entre la primera y la segunda puesta. Lo anterior contrasta con lo que tradicionalmente se pensaba con respecto a que el cuidado parental limita la capacidad de obtener cópulas adicionales (Magrath y Komdeur, 2003; Klug *et al.*, 2013). Relacionado con esto, Keenleyside (1983) realizó un estudio en el que observó que peces machos de la especie *Herotilapia multispinosa* abandonaban sus huevos, en la búsqueda de obtener nuevas cópulas si la proporción sexual de hembras aumentaba en su población. Sin embargo, trabajos pioneros han demostrado que no siempre ocurre esta disyuntiva entre el cuidado parental y la obtención de nuevas parejas sexuales (Manica y Johnstone, 2004; Magrath y

Komdeur, 2003). Pampoulie y colaboradores (2004) demostraron que en peces góbidos los machos de la especie *Pomatoschistus minutus* no existe una disyuntiva entre el cuidado paterno y el cortejo a nuevas parejas sexuales. En esta especie, la calidad del cuidado paternal puede ser un rasgo importante en la elección de pareja, ya que observaron que los machos aumentaban la intensidad de los movimientos de ventilación de las puestas de huevos que cuidaban, así como la construcción de sus nidos (dos componentes del cuidado parental en estos peces) en presencia de hembras. También observaron que machos con puestas de huevos más grandes cortejaban más a las hembras en comparación a aquellos con puestas más pequeñas. Finalmente, concluyeron que el cuidado paterno podría ser usado como una estrategia de cortejo en estos peces y que esto podría aumentar su éxito reproductivo. Posteriormente, Lindström y colaboradores (2006) pusieron a prueba esta hipótesis sobre el pez góbido *P. minutus*, mediante la manipulación de la conducta parental del macho al modificar el tamaño del nido y el oxígeno disuelto en el agua. En 82% de los casos la hembra prefirió al macho que cuidaba un nido más grande. Asimismo, el esfuerzo parental que realizaban los machos, reflejado en la intensidad de los movimientos de ventilación, era mayor en aquellos machos que tenían un nido con poco oxígeno disuelto. Los machos parentales fueron preferidos por las hembras sobre los machos del tratamiento control que se encontraban en condiciones normales de oxígeno. Lo anterior demuestra que el cuidado paterno es flexible y dependiente de las condiciones ecológicas particulares que experimentan los machos parentales. Por lo tanto, el cuidado parental puede haber evolucionado como resultado de la selección sexual y sobre todo el cuidado

paterno no necesariamente entra en conflicto con la atracción a nuevas parejas reproductivas como se pensó durante mucho tiempo (Lindström, et al., 2006).

De igual forma, estudios recientes realizados en chinches acuáticas que vinculan el cuidado paterno con la preferencia femenina, muestran que las hembras prefieren a machos que cargan una puesta de huevos (parentales) sobre los que no (no parentales). Ohba y colaboradores (2016) estudiaron dos especies de belostomátidos asiáticos (*Appasus major* y *Appasus japonicus*) en los cuales a las hembras se les dio la oportunidad de elegir entre dos machos. En una primera prueba un macho cargaba una puesta de huevos y el otro no, en la segunda prueba el estatus parental de los dos machos utilizados en la prueba anterior fue intercambiado, y el investigador determinó que las hembras de ambas especies preferían a los machos parentales sobre los no parentales. No obstante, este patrón de preferencia fue más intenso en *A. major*, lo que es indicativo de que la preferencia femenina asociada al cuidado paterno puede variar en intensidad y dirección en este linaje evolutivo. Posteriormente, Ohba y colaboradores (2018) evaluaron la preferencia femenina en la especie *Diplonychus rusticus* en condiciones de campo y de laboratorio y encontraron que las hembras colocan una mayor cantidad de huevos en el dorso de los machos parentales sobre los machos no parentales en ambas condiciones experimentales. Cabe aclarar que, los datos obtenidos en la prueba de campo no fueron concluyentes debido a que el tamaño de la muestra fue muy pequeño para analizarse estadísticamente. Estos resultados sugieren que la selección sexual juega un papel importante en la manutención y modulación del cuidado paterno en algunas especies de belostomátidos (Ohba *et al.*, 2018, 2019).

Los resultados que obtuvimos en nuestro estudio demuestran que existen variables asociadas al cuidado paterno de suma importancia en la elección femenina de los belostomátidos, tales como el tamaño de la puesta y el tiempo de cuidado parental de los machos. Ya que la probabilidad de que las hembras de *A. ovatus* eligieran a los machos parentales sobre los no parentales fue mayor sólo en machos parentales con puestas pequeñas y recientemente colocadas. En el resto de los casos, que incluían a machos parentales con puestas grandes y/o con desarrollo prolongado (cuidado prolongado-puesta pequeña, cuidado reciente-puesta grande, cuidado prolongado-puesta grande), la preferencia femenina cambio, de forma que prefirieron copular con los machos no parentales.

En los estudios realizados por Ohba y colaboradores (2016, 2018) en los cuales las hembras por lo general prefieren a los machos parentales, no contemplaban el tamaño de la puesta como variable, ya que en estos estudios todos los machos parentales tenían una puesta de huevos de tamaño homogéneo (10 huevos aproximadamente). Esto no es un escenario realista de las condiciones naturales en las que se encuentran estos organismos ya que en campo puede haber machos parentales con diferente tamaño de puesta y desarrollo. Jara y Perotti (2018) estudiaron el ciclo de vida de *Belostoma bifoveolatum*, estimando la abundancia relativa de ninfas y adultos y la estructura de edades de la población de estas chinches acuáticas. Dichos autores encontraron que en la población predominan las hembras, pero en primavera los machos parentales incrementan su presencia hasta dominar la población en términos de abundancia. El tamaño de las puestas de huevos de los machos parentales variaba desde 35 a 144 huevos. De igual forma,

Armúa de Reyes y Kehr (2005) investigaron algunos aspectos reproductivos de una población de belostomátidos de la especie *Belostoma elegans* y observaron que existían machos realizando cuidado parental durante todo el año, con picos poblacionales de machos parentales en diferentes meses e incluso durante el invierno. Lo anterior es indicativo de que en diferentes especies de chinches acuáticas las condiciones poblacionales no son homogéneas y sobre todo que los machos parentales dentro de la población pueden variar en sus características relacionadas a su estatus parental, tales como el número de huevos que componen sus puestas y el tiempo de cuidado parental que han realizado. Asimismo, en las poblaciones naturales, iteróparas y con picos reproductivos, (Ichikawa, 1989; Smith, 1997; Ohba *et al.*, 2010) encontramos a machos parentales en distintas fases de su cuidado parental, con un gradiente desde huevos recién colocados hasta algunos a punto de eclosionar. Por lo tanto, es plausible que las hembras puedan discriminar entre los machos parentales dependiendo del estadio de desarrollo de sus puestas.

Por otra parte, un estudio realizado con la especie *Belostoma flumineum* (Smith, 2019) se evaluó si un macho parcialmente cubierto de huevos resultaba más atractivo para las hembras que machos que no cargaban huevos, y se concluyó que las hembras no tenían preferencia asociada al estatus parental. El autor mostró que las hembras no presentaban predilección hacia los machos parentales ni les colocaban más huevos que a los no parentales. Sin embargo, existen algunos problemas metodológicos y de diseño en este trabajo. Por ejemplo, no es clara la cantidad de huevos que los machos parentales portaban antes y después de la remoción experimental. En el estudio se menciona que la remoción consistió en dejar

el 50% del espacio disponible en el dorso del macho, pero la cantidad promedio de huevos que las hembras pusieron en este estudio fue de 39 huevos, cantidad que no sería suficiente para llenar el dorso de los machos a la mitad, ya que un macho de esta especie completamente cubierto puede cargar hasta 170 huevos (Kruse, 1990). De cualquier forma, si todos los machos parentales usados en este estudio tuviesen una cantidad homogénea de huevos en el dorso, al igual que los estudios de Ohba y colaboradores (2016, 2018), no serían las condiciones reales a las que las hembras se enfrentan en la naturaleza ya que también encontramos machos con distintos tamaños de puesta y tiempos de desarrollo. Adicionalmente, este trabajo sufre del problema de la pseudorreplicación ya que los machos que han sido utilizados en una prueba de preferencia femenina y que la hembra ya ha colocado huevos en alguno de los dos, fueron regresados a la pecera de cópula de donde obtienen a los machos parentales que utilizan en sus pruebas de preferencia. Esto provoca que machos que ya han sido preferidos por alguna hembra, sean utilizados nuevamente en pruebas posteriores de preferencia femenina. Esta situación viola el supuesto del modelo lineal general de que las observaciones realizadas son independientes (Hurlbert, 1984). Por lo cual, sus resultados finales en donde no existen diferencias en la preferencia femenina podrían deberse a las cuestiones antes mencionadas.

Nuestros resultados demuestran que las hembras discriminan a los machos parentales de acuerdo con las propiedades de la puesta que cargan, evitando la cópula con machos con puestas grandes y/o con un desarrollo avanzado. Esto puede explicarse por el desgaste en las reservas energéticas que sufren los machos

parentales asociado al cuidado de una puesta de huevos hasta el momento de la eclosión. En chinches acuáticas Munguía-Steyer y colaboradores (2019) encontraron que la condición fisiológica de los machos parentales se desgasta conforme aumenta el tiempo de cuidado paternal y que podría existir una relación entre la cantidad de huevos que un macho parental carga en etapas tempranas de desarrollo y la condición fisiológica de estos. Debido a que machos con un mayor número de huevos en sus puestas tenían mayor cantidad de lípidos. Las hembras podrían elegir a machos con mejor condición fisiológica y colocarles huevos, lo cual puede ser indicativo de su condición y el cargar una puesta de huevos reciente, podría hacerlos más atractivos para otras hembras consiguiendo cópulas adicionales (Munguía-Steyer *et al.*, 2019).

El posterior deterioro de la condición fisiológica de los machos parentales podría deberse a un aumento en la tasa de los movimientos de ventilación realizados conforme avanza el cuidado parental y los huevos se encuentran más próximos a la eclosión (Olvera-Hernández, en proceso). El grado de desarrollo de la puesta de huevos que los machos cargan podría ser una señal de la condición de los machos sujeto a elección femenina. Dado que los movimientos de ventilación son costosos fisiológicamente, el cuidado parental podría ser una señal honesta empleada por las hembras en la elección de pareja (Zahavi & Zahavi, 1997).

Por otra parte, podría presentarse conflicto sexual entre los machos y hembras de belostomátidos. En esta subfamilia, las hembras son poliándricas y los machos parentales podrían terminar cargando huevos fertilizados por otros machos (Inada,

2011; Smith, 1979). En varias especies de belostomátidos, existe el registro conductual de que los machos rechazan a las hembras que quieren colocar sus huevos en sus dorsos cuando no han copulado previamente con ellos (Ichikawa, 1989, Smith 1997). Más aún, se sugiere que las cópulas repetidas alternadas con la colocación de huevos por las hembras en *A. ovatus* son una estrategia de los machos de esta especie que permite asegurar la paternidad y reducir el riesgo de competencia espermática (Smith, 1997; Requena *et al.*, 2014). Por lo cual, a las hembras les convendría en términos reproductivos colocar sus huevos en un sólo evento de oviposición, ya que las cópulas prolongadas podrían incrementar el riesgo a serlos depredadas (Magnhagen, 1991; Chapman *et al.*, 1993). De igual forma el tiempo invertido en la reproducción restaría tiempo disponible en la búsqueda de alimento. Los machos impiden que la hembra coloque todos sus huevos en un evento de oviposición al intercalar las cópulas repetidas con sucesivos eventos de oviposición por lo que la hembra puede demorarse horas en colocar su carga de huevos sobre el macho.

Existen factores ecológicos que pudieran incidir en la dirección e intensidad de la selección sexual en los belostomátidos. Ya desde el clásico trabajo de Williams (1966) se ha sugerido que puede existir reversión de roles sexuales en donde las hembras compiten por acceso reproductivo con los machos. El aumento de la frecuencia relativa de los machos parentales en la población hasta la eventual saturación del espacio disponible en el dorso de los machos donde las hembras colocan sus huevos podría modificar la intensidad y dirección de la elección de pareja (Ichikawa, 1989; Kraus, 1989; Smith, 1997). En la medida que los machos

parentales fueran más frecuentes y la cantidad de huevos colocada en cada macho aumentara, podría resultarles más costoso a las hembras buscar cópulas solo con los machos no parentales debido al tiempo que tardarían en encontrar uno entre los machos parentales que predominan en la población. Los costos asociados al tiempo de búsqueda de pareja y de ser muy selectivo son el incremento de la probabilidad de depredación (Crowley *et al.*, 1991) y en el riesgo de ser herido o comido por potenciales parejas (Barry y Kokko, 2010) así como un aumento en la probabilidad de tener peleas con conespecíficos por acceso a parejas reproductivas (Fawcett y Johnstone, 2003; Venner *et al.*, 2010). De esta forma puede existir un gradiente en la intensidad de la selectividad y en el tiempo de búsqueda de pareja modulado por diversos factores ecológicos, como la proporción sexual operacional (Etienne *et al.*, 2014). Por otra parte, el que los machos puedan cargar puestas de huevos de diferentes hembras y que el tamaño de sus puestas varía en la población, podría provocar un cambio en la preferencia de una segunda hembra con respecto a la primera hembra que coloque sus huevos sobre un macho específico. Este cambio en la preferencia de la segunda hembra puede ser causado por la reducción del espacio en el dorso del macho debido a los huevos colocados por la primera hembra. Así, la elección de la hembra hacia un macho no parental resultaría dependiente de la frecuencia y de la densidad de los machos parentales en la población (Andersson, 1994; Ichikawa, 1989). Sin embargo, la preferencia femenina en las chinches acuáticas puede ser plástica dependiendo de las condiciones poblacionales, tales como la densidad y la proporción sexual operacional, así como de la cantidad de machos parentales y su espacio disponible en el dorso para colocar sus huevos que

podría depender de las condiciones fenológicas de entorno en el que viven ya que por lo general la saturación del espacio disponible de oviposición ocurre en breves periodos en los meses de mayor temperatura y con mayor precipitación pluvial (Ichikawa, 1989; Kraus, 1989; Jara y Perotti 2018). Con relación al sistema de apareamiento y los niveles de poliandria de esta especie, actualmente Martín Olvera Hernández, estudiante de maestría del laboratorio, realiza un estudio que evalúa el porcentaje de paternidad y competencia espermática a través de microsatélites. Mediante esta técnica se podría estimar el número de puestas de huevos provenientes de diferentes hembras que un macho puede cargar y los niveles de paternidad sobre la puesta de huevos que cargan los machos. Con esto habría mayor certeza sobre la cantidad de huevos que coloca una hembra y que tan frecuentes son las puestas adicionales crípticas e indistinguibles por la morfología manifiesta que presentan los escasos ejemplos de machos parentales con puestas parciales de huevos con distinto grado de desarrollo. Lo cual resulta importante para saber la frecuencia con la que las hembras se encuentran y copulan con machos parentales con puestas de distinto tamaño en lapsos de tiempo muy cortos, ya que puestas adicionales colocadas en muy poco tiempo son indistinguibles morfológicamente.

A pesar de que la hipótesis de que existe la reversión de roles sexuales en chinches acuáticas ha sido largamente discutida, esta no ha sido puesta a prueba experimentalmente de manera fehaciente. Algunas observaciones empíricas en condiciones de laboratorio realizadas en la especie asiática *Diplonychus major* indican que las hembras compiten agresivamente por copular y colocar sus huevos

en machos, cuando la proporción sexual está sesgada hacia las hembras (Ichikawa, 1989). No obstante, este estudio carecía de un análisis cuantitativo formal y no se han realizado estudios etológicos en condiciones naturales que demuestren esta reversión. Por lo tanto, resulta de vital importancia desarrollar estudios que pongan a prueba estas hipótesis mediante la manipulación experimental de la proporción sexual operacional y vincularla a la preferencia femenina y aspectos etológicos tales como el cortejo y patrones de oviposición. Al disminuir el área de oviposición disponible y presentarse un mayor sesgo en la proporción sexual hacia las hembras, se esperaría que las hembras mostraran una mayor frecuencia de interacciones agonísticas, así como una mayor selectividad de los machos por hembras fecundas. Asimismo, en esta situación se esperaría que los tiempos de cópulas fueran más prolongados y que en los eventos de oviposición las hembras colocaran menos huevos sobre el dorso de los machos. Manipulando la proporción sexual y la disponibilidad del área de oviposición será posible evaluar la competencia intersexual e intrasexual por acceso a parejas reproductivas en chinches acuáticas, así como las implicaciones que pudiesen tener estos factores en la modulación de la elección femenina y de los roles sexuales asociados a factores ecológicos y demográficos.

## LITERATURA CITADA

Andersson, MB. (1995). Evolution of reversed sex roles, sexual size dimorphism, and mating system in coucals (Centropodidae: Aves). *Biological Journal of the Linnean Society*, 54, 173-181.

Andersson, MB. (1994). *Sexual selection*. Princeton University Press. New Jersey.

Armúa de Reyes, AC. & Kehr, AI. (2005). Ciclo de vida y aspectos reproductivos de una población de *Belostoma elegans* (Heteroptera: Belostomatidae) en una laguna de Corrientes, Argentina. *Boletín de la Asociación Española de Entomología*, 29, 111–124.

Aronsen, T., Berglund, A., Mobley, KB., Ratikainen, II., & Rosenqvist, G. (2013). Sex ratio and density affect sexual selection in a sex-role reversed fish. *Evolution*, 67, 3243-3257.

Barry, K. L., & Kokko, H. (2010). Male mate choice: why sequential choice can make its evolution difficult. *Animal Behaviour*, 80, 163-169.

Bartlett, J. (1988). Male mating success and paternal care in *Nicrophorus vespilloides* (Coleoptera: Silphidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 23, 297-303.

Bonduriansky, R. (2011). Sexual selection and conflict as engines of ecological diversification. *The American Naturalist*, 178, 729-745.

Bonduriansky, R., & Chenoweth, SF. (2009). Intralocus sexual conflict. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 280-288.

Chapman, T., Hutchings, J., & Partridge, L. (1993). No reduction in the cost of mating for *Drosophila melanogaster* females mating with spermless males. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 253, 211-217.

Clutton-Brock, TH. (1991). *The evolution of parental care*. Princeton University Press. New Jersey.

Clutton-Brock, TH., & Vincent, AC. (1991). Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. *Nature*, 351, 58-60.

Coleman, SW., & Jones, AG. (2011). Patterns of multiple paternity and maternity in fishes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103, 735-760.

Costa, JT. (2010) Social evolution in “other” insects and arachnids. In: Breed, MD., Moore, J. (eds.). *Encyclopedia of Animal Behavior*. Academic Press, Oxford, UK. pp.231-241

Courtiol, A., Etienne, L., Feron, R., Godelle, B., & Rousset, F. (2016). The evolution of mutual mate choice under direct benefits. *The American Naturalist*, 188, 521-538.

Crowl, TA., & Alexander Jr, JE. (1989). Parental care and foraging ability in male water bugs (*Belostoma flumineum*). *Canadian Journal of Zoology*, 67, 513-515.

Crowley, P. H., Travers, S. E., Linton, M. C., Cohn, S. L., Sih, A., & Sargent, R. C. (1991). Mate density, predation risk, and the seasonal sequence of mate choices: a dynamic game. *The American Naturalist*, 137, 567-596.

Darwin, C. (1871). *The descent of man and selection in relation to sex*. John Murray. London, UK.

Davies, NB., Krebs, JR., & West, SA. (2012). *An introduction to behavioural ecology*. Oxford, UK.

Diesel, R., & Schuh, M. (1993). Maternal care in the bromeliad crab *Metopaulias depressus* (Decapoda): maintaining oxygen, pH and calcium levels optimal for the larvae. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32, 11-15.

Eggert, AK., Reinking, M., & Müller, JK. (1998). Parental care improves offspring survival and growth in burying beetles. *Animal Behaviour*, 55, 97-107.

Emlen, ST., & Oring, LW. (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, 197, 215-223.

Endler, JA. (1984). Natural and sexual selection on color patterns in poeciliid fishes. In: Zaret, TM (ed). *Evolutionary Ecology of Neotropical Freshwater Fishes*. Springer, Dordrecht, Germany. pp. 95-111.

Endler, JA. (1986). *Natural selection in the wild*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.

Etienne, L., Rousset, F., Godelle, B., & Courtiol, A. (2014). How choosy should I be? The relative searching time predicts evolution of choosiness under direct sexual selection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281, 20140190.

Fawcett, T. W., & Johnstone, R. A. (2003). Mate choice in the face of costly competition. *Behavioral Ecology*, *14*, 771-779.

Forsgren, E., Amundsen, T., Borg, AA., & Bjelvenmark, J. (2004). Unusually dynamic sex roles in a fish. *Nature*, *429*, 551-554.

Futuyma DJ. (2005) Natural selection and adaptation. In: Futuyma DJ, (ed). *Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland. Massachusetts. 279-301.

Gelman, A., Carlin, J., Stern, H., Dunson, D., Vehtari, A., Rubin, D. (2013). Bayesian Data Analysis. Chapman and Hall/CRC, New York.

Gilbert, JD., Thomas, LK. & Manica, A. (2010) Quantifying the benefits and costs of parental care in assassin bugs. *Ecological Entomology*, *35*, 639–651.

Godin, JGJ., & McDonough, HE. (2003). Predator preference for brightly colored males in the guppy: a viability cost for a sexually selected trait. *Behavioral Ecology*, *14*, 194-200.

Gross, MR., & Sargent, RC. (1985). The evolution of male and female parental care in fishes. *American Zoologist*, *25*, 807-822.

Gwynne, DT. (1993). Food quality controls sexual selection in Mormon crickets by altering male mating investment. *Ecology*, *74*, 1406-1413.

Gwynne, DT., & Simmons, LW. (1990). Experimental reversal of courtship roles in an insect. *Nature*, *346*, 172-174.

Hurlbert, SH. (1984). Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, *54*, 187-211.

Ichikawa, N. (1988). Male brooding behaviour of the giant water bug *Lethocerus deyrollei* Vuillefroy (Hemiptera: Belostomatidae). *Journal of Ethology*, *6*, 121-127.

Ichikawa, N. (1989). Breeding strategy of the male brooding water bug, *Diplonychus major* esaki (Heteroptera: Belostomatidae): is male back space limiting? *Journal of Ethology*, *7*, 133-140.

Inada, K., Kitade, O., & Morino, H. (2011). Paternity analysis in an egg-carrying aquatic insect *Appasus major* (Hemiptera: Belostomatidae) using microsatellite DNA markers. *Entomological Science*, 14, 43-48.

Jara, FG., & Perotti, MG. (2018). The life cycle of the giant water bug of northwestern Patagonian wetlands: the effect of hydroperiod and temperature regime. *Invertebrate Biology*, 137, 105-115.

Keenleyside, MH. (1983). Mate desertion in relation to adult sex ratio in the biparental cichlid fish *Herotilapia multispinosa*. *Animal Behaviour*, 31, 683-688.

Kight, SL., Sprague, J., Kruse, KC., & Johnson, L. (1995). Are egg-bearing male water bugs, *Belostoma flumineum* Say (Hemiptera: Belostomatidae), impaired swimmers? *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68, 468-470.

Klug, H., & Bonsall, MB. (2014). What are the benefits of parental care? The importance of parental effects on developmental rate. *Ecology and Evolution*, 4, 2330-2351.

Klug, H., Bonsall, MB., & Alonzo, SH. (2013). The origin of parental care in relation to male and female life history. *Ecology and Evolution*, 3, 779-791.

Knapp, R., Wingfield, JC., & Bass, AH. (1999). Steroid hormones and paternal care in the plainfin midshipman fish (*Porichthys notatus*). *Hormones and Behavior*, 35, 81-89.

Kokko, H., & Jennions, MD. (2008). Parental investment, sexual selection and sex ratios. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 919-948.

Kokko, H., & Jennions, MD. (2012). Sex differences in parental care. In: Royle, N., Smiseth, PT & Kolliker, M (ed) *The Evolution of Parental Care*. Oxford University Press. Oxford, UK. 101-116.

Kose, M., & Møller, AP. (1999). Sexual selection, feather breakage and parasites: the importance of white spots in the tail of the barn swallow (*Hirundo rustica*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45, 430-436.

Kraus, WF. (1989). Is male back space limiting? An investigation into the reproductive demography of the giant water bug, *Abedus indentatus* (Heteroptera: Belostomatidae). *Journal of Insect Behavior*, 2, 623-648.

Kriesell, HJ., Aubin, T., Planas-Bielsa, V., Benoiste, M., Bonadonna, F., Gachot-Neveu, H., & Le Bohec, C. (2018). Sex identification in King Penguins *Aptenodytes patagonicus* through morphological and acoustic cues. *Ibis*, *160*, 755-768.

Kruse, KC. (1990). Male backspace availability in the giant waterbug (*Belostoma flumineum* Say). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *26*, 281-289.

Kudo, SI., Akagi, Y., Hiraoka, S., Tanabe, T., & Morimoto, G. (2011). Exclusive male egg care and determinants of brooding success in a millipede. *Ethology*, *117*, 19-27.

Lehtonen, TK., Lindström, K., & Wong, BB. (2015). Body size mediates social and environmental effects on nest building behaviour in a fish with paternal care. *Oecologia*, *178*, 699-706.

Lindström, K., Mary, C. MS., & Pampoulie, C. (2006). Sexual selection for male parental care in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *60*, 46-51.

Luzar, AB., Schweizer, R., Sakaluk, SK., & Steiger, S. (2017). Access to a carcass, but not mating opportunities, influences paternal care in burying beetles. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *71*, 7.

Machado, G., Requena, GS., Buzatto, BA., Osses, F., & Rossetto, LM. (2004). Five new cases of paternal care in harvestmen (Arachnida: Opiliones): implications for the evolution of male guarding in the Neotropical family Gonyleptidae. *Sociobiology*, *44*, 1-22.

Madhavan, MM. (1974). Structure and function of the hydropyle of the egg of the bug, *Sphaerodema molestum*. *Journal of Insect Physiology*, *20*, 1341-1349.

Magrath, MJ., & Komdeur, J. (2003). Is male care compromised by additional mating opportunity? *Trends in Ecology & Evolution*, *18*, 424-430.

Magnhagen, C. (1991). Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, *6*, 183-186.

Manica, A., & Johnstone, RA. (2004). The evolution of paternal care with overlapping broods. *The American Naturalist*, *164*, 517-530.

Møller, AP., & Pomiankowski, A. (1993). Why have birds got multiple sexual ornaments? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *32*, 167-176.

Mora, G. (1990). Paternal care in a neotropical harvestman, *Zygopachylus albomarginis* (Arachnida, Opiliones: Gonyleptidae). *Animal Behaviour*, *39*, 582-593.

Moreno, J., Lobato, E., González-Braojos, S., & Castañeda, RRD. (2010). Nest construction costs affect nestling growth: a field experiment in a cavity-nesting passerine. *Acta Ornithologica*, *45*, 139-145.

Munguía-Steyer, R., & Macías-Ordoñez, R. (2007). Is it risky to be a father? Survival assessment depending on sex and parental status in the water bug *Abedus breviceps* using multistate modelling. *Canadian Journal of Zoology*, *85*, 49-55.

Munguía-Steyer, R., Favila, ME., & Macías-Ordóñez, R. (2008). Brood pumping modulation and the benefits of paternal care in *Abedus breviceps* (Hemiptera: Belostomatidae). *Ethology*, *114*, 693-700.

Munguía-Steyer, R., González-García, E., Castaños, CE., & Córdoba-Aguilar, A. (2019). Costly parenting: physiological condition over time and season in males of the giant waterbug *Abedus dilatatus*. *Physiological Entomology*, *44*, 236-244.

Nazareth, TM., & Machado, G. (2009). Reproductive behavior of *Chavesincola inexpectabilis* (Opiliones: Gonyleptidae) with description of a new and independently evolved case of paternal care in harvestmen. *The Journal of Arachnology*, *37*, 127-135.

Nazareth, TM., & Machado, G. (2010). Mating system and exclusive postzygotic paternal care in a Neotropical harvestman (Arachnida: Opiliones). *Animal Behaviour*, *79*, 547-554.

Ohba, SY. (2019). Ecology of giant water bugs (Hemiptera: Heteroptera: Belostomatidae). *Entomological Science*, *22*, 6-20.

Ohba, SY., Kato, K., & Miyatake, T. (2010). Breeding ecology and seasonal abundance of the giant water bug *Appasus japonicus* (Heteroptera: Belostomatidae). *Entomological Science*, *13*, 35-41.

Ohba, SY., Matsuo, S., Huynh, TTT., & Kudo, SI. (2018). Female mate preference for egg-caring males in the giant water bug *Diplonychus rusticus* (Heteroptera: Belostomatidae). *Ethology Ecology & Evolution*, *30*, 477-484.

Ohba, SY., Okuda, N., & Kudo, SI. (2016). Sexual selection of male parental care in giant water bugs. *Royal Society Open Science*, 3, 150720.

Ohba S., Ribeiro JRI., Santer M. (2019) Paternal Care in Giant Water Bugs. In: Del-Claro K., Guillermo R. (ed) *Aquatic Insects*. Springer. Cham, Swiss. 321-340.

Olvera-Hernández, M., González-García, E., & Munguía-Steyer, R. (En proceso) Causes and consequences of parental effort modulation in the waterbug *Abedus ovatus* (Hemiptera: Belostomatidae).

Östlund, S., & Ahnesjö, I. (1998). Female fifteen-spined sticklebacks prefer better fathers. *Animal Behaviour*, 56, 1177-1183.

Pampoulie, CK., Lindström & CM. St. Mary. (2004). Have your cake and eat it too: male sand gobies show more parental care in the presence of female partners. *Behavioral Ecology* 15: 199-204.

Queller, DC. (1997). Why do females care more than males? *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264, 1555-1557.

Ralston, JS. (1977). Egg guarding by male assassin bugs of the genus *Zelus* (Hemiptera: Reduviidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 84, 103-107.

Reeve, HK. (1993). Haplodiploidy, eusociality and absence of male parental and alloparental care in Hymenoptera: a unifying genetic hypothesis distinct from kin selection theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 342, 335-352.

Requena, GS., Buzatto, BA., Martins, EG., & Machado, G. (2012). Paternal care decreases foraging activity and body condition but does not impose survival costs to caring males in a Neotropical arachnid. *PloS One*, 7, 1-11.

Requena, GS., Munguía-Steyer, R., & Machado, G. (2014). Paternal care and sexual selection in arthropods. In: Macedo, RH & Machado, G. (ed). *Sexual Selection: Perspectives and Models From the Neotropics*. Elsevier Academic Press. New York. 201-233.

Ridley, M. (1978). Paternal care. *Animal Behaviour*, 26, 904-932.

Rosenqvist, G. (1990). Male mate choice and female-female competition for mates in the pipefish *Nerophis ophidion*. *Animal Behaviour*, 39, 1110-1115.

Rowe, L., & Houle, D. (1996). The lek paradox and the capture of genetic variance by condition dependent traits. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263, 1415-1421

Santos, ES., Bueno, PP., Gilbert, JD., Machado, G. (2017). Macroecology of parental care in arthropods: higher mortality risk leads to higher benefits of offspring protection in tropical climates. *Biological Reviews*, 92, 1688-1701.

Sargent, RC., Taylor, PD., Gross, MR. (1987). Parental care and the evolution of egg size in fishes. *The American Naturalist*, 129, 32-46.

Selz, OM., Thommen, R., Pierotti, MER., Anaya-Rojas, JM., & Seehausen, O. (2016). Differences in male coloration are predicted by divergent sexual selection between populations of a cichlid fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283, 20160172.

Shine, R. (2003). Locomotor speeds of gravid lizards: placing costs of reproduction within an ecological context. *Functional Ecology*, 17, 526-533.

Shuker, DM. (2014) Sexual selection theory. In: Shuker, DM, Simmons, LW. (ed) *The Evolution of Insect Mating Systems*. Oxford University Press, New York. 20-25.

Simmons, LW., & Bailey, WJ. (1990). Resource influenced sex roles of *Zaprochiline tettigoniids* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Evolution*, 44, 1853-1868.

Smiseth, PT., Kölliker, M., & Royle, NJ. (2014). Parental care. In: Smiseth, PT., Kölliker, M., & Royle, NJ (ed). *The Evolution of Insect Mating Systems*. Oxford University Press. Oxford, UK. 221-241.

Smith, CD. (2019). Mate selection for the female giant waterbug (*Belostoma flumineum* Say, 1832); for her, it's a coin toss or polyandry. *Aquatic Insects*, 40, 355-361.

Smith, RL. (1974). Life history of *Abedus herberti* in central Arizona (Hemiptera: Belostomatidae). *Psyche: a Journal of Entomology*, 81, 272-283.

Smith, RL. (1976). Male brooding behavior of the water bug *Abedus herberti* (Hemiptera: Belostomatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 69, 740-747.

Smith, RL. (1979). Repeated copulation and sperm precedence: paternity assurance for a male brooding water bug. *Science*, 205, 1029-1031.

Smith, RL. (1997). Evolution of paternal care in the giant water bugs (Heteroptera: Belostomatidae). In: Crespi, BJ & Choe, JC. (ed). *The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press. UK. 116-149.

Smith, RL., & Larsen, E. (1993). Egg attendance and brooding by males of the giant water bug *Lethocerus medius* (Guerin) in the field (Heteroptera: Belostomatidae). *Journal of Insect Behavior*, 6, 93-106.

Stiver, KA., & Alonzo, SH. (2009). Parental and mating effort: is there necessarily a trade-off? *Ethology*, 115, 1101-1126.

Swart, CC., Deaton, LE., & Felgenhauer, BE. (2006). The salivary gland and salivary enzymes of the giant waterbugs (Heteroptera; Belostomatidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part a: Molecular & Integrative Physiology*, 145, 114-122.

Tallamy, DW. (2000). Sexual selection and the evolution of exclusive paternal care in arthropods. *Animal Behaviour*, 60, 559-567.

Tallamy, DW. (2001). Evolution of exclusive paternal care in arthropods. *Annual Review of Entomology*, 46, 139-165.

Trivers, RL. (1972) Parental investment and sexual selection. In: Campbell, B. (ed) *Sexual Selection and the Descent of Man*. Aldine. New York. 136-179

Trumbo, ST. (2017). Feeding upon and preserving a carcass: the function of pre-hatch parental care in a burying beetle. *Animal Behaviour*, 130, 241-249.

Vallejos, JG., Grafe, TU., Sah, HHA., & Wells, KD. (2017). Calling behavior of males and females of a bornean frog with male parental care and possible sex-role reversal. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 71, 95.

Venner, S., Bernstein, C., Dray, S., & Bel-Venner, M. C. (2010). Make love not war: when should less competitive males choose low-quality but defensible females? *The American Naturalist*, 175, 650-661.

Vincent, A., Ahnesjö, I., Berglund, A., & Rosenqvist, G. (1992). Pipefishes and seahorses: are they all sex role reversed? *Trends in Ecology & Evolution*, 7, 237-241.

Warren, IA., Gotoh, H., Dworkin, IM., Emlen, DJ., & Lavine, LC. (2013). A general mechanism for conditional expression of exaggerated sexually-selected traits. *Bioessays*, 35, 889-899.

Williams, GC. (1966). Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist*, 100, 687-690.

Zahavi, A., & Zahavi, A. (1997). The handicap principle: A missing piece of Darwin's puzzle. Oxford University Press, New York.

Zeh, DW., & Smith, RL. (1985). Paternal investment by terrestrial arthropods. *American Zoologist*, 25, 785-805.