



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

MÚLTIPLES CÓPULAS Y ADECUACIÓN FEMENINA EN SPHENARIUM PURPURASCENS (ORTHOPTERA: PYRGOMORPHIDAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

P R E S E N T A

SANDRA DENICE LUGO OLGUÍN



ACULTAD DE CIENCIAS UNAM

DIRECTOR DE TESIS : DR. RAÚL CUEVA DEL CASTILLO MENDOZA

2005



m. 342783

FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR



**ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ**  
**Jefe de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

*“Múltiples cópulas y adecuación femenina en Sphenarium purpurascens (Orthoptera: Pyrgomorphidae)”.*

realizado por LUGO OLGUÍN SANDRA DENICE con número de cuenta 09955197-3  
 quién cubrió los créditos de la carrera de **BIOLOGÍA**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
 Propietario  
 Propietario  
 Propietario  
 Suplente  
 Suplente

Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza

Dr. Alejandro Córdoba Aguilar

Dra. Robyn Elizabeth Hudson

Dra. Laura Roxana Torres Avilés

Dra. Margarita Martínez Gómez

**Consejo Departamental de Biología**

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
 DE BIOLOGÍA

**MÚLTIPLES CÓPULAS Y ADECUACIÓN FEMENINA EN *Sphenarium*  
*purpurascens* (ORTHOPTERA: PYRGOMORPHIDAE)**

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme en muchos aspectos de mi existir.

Al Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza por su apoyo para la realización de esta tesis.

Al Dr. Alejandro Córdoba, Dra. Robyn Hudson, Dra. Roxana Torres y Dra. Margarita Martínez Gómez por las sugerencias y correcciones de la tesis, muchísimas gracias.

Al Dr. Pedro Nicolás Velázquez, cuyo respaldo incondicional hizo posible la elaboración y término de este trabajo.

Al Biól. Oscar Tonatiuh Velázquez Cervantes por su amor, confianza, ayuda y aliento en todo momento de la tesis y de mi existir.

Al Biól. Francisco Pasos, Biól. Tomás Cruz y Biól. Armando Zepeda por su apreciable colaboración.

A mi familia por el apoyo, la confianza, el cariño y, especialmente, por soportar con una sonrisa las incomodidades aparejadas a la ejecución de este trabajo.

A mis verdaderos amigos (que cuento con una mano) por las lecciones de vida...

## ÍNDICE

1. RESUMEN .....	1
2. INTRODUCCIÓN .....	2
OBJETIVOS .....	4
3. HIPÓTESIS .....	5
4. ESPECIE DE ESTUDIO .....	5
5. MATERIAL Y MÉTODOS .....	7
5.1 Múltiples cópulas con una pareja .....	7
5.2 Múltiples cópulas con dos parejas .....	9
5.3 Riesgo de competencia espermática .....	9
6. RESULTADOS .....	10
6.1 Múltiples cópulas con una pareja .....	10
6.2 Múltiples cópulas con dos parejas .....	11
6.3 Riesgo de competencia espermática .....	11
7. DISCUSIÓN .....	19
7.1 Beneficios de las múltiples cópulas sobre la fecundidad .....	19
7.2 Riesgo de competencia espermática .....	21
7.3 Futuras líneas de investigación .....	23
8. BIBLIOGRAFÍA .....	24

## I. RESUMEN.

En muchas especies de insectos, las hembras copulan de forma múltiple durante su vida. La teoría sugiere que lo hacen para incrementar su adecuación por medio de las sustancias accesorias (nutrientes, sustancias estimuladoras de la oviposición, etc.) que el macho transfiere junto con el esperma durante la cópula.

La hembra del chapulín *Sphenarium purpurascens* copula frecuentemente durante su vida; sin embargo, se conoce poco sobre los beneficios potenciales que ésta les representa. En este estudio se evaluó si las múltiples cópulas en *S. purpurascens* aumentan la fecundidad de las hembras y, como el riesgo de competencia espermática es alto, se valoró si los machos tienen la capacidad de detectar cuando una hembra ha tenido cópulas previas y, de acuerdo a ello, modificar su conducta.

Para determinar si las hembras se benefician por copular repetidamente y separar los beneficios potenciales por tener múltiples cópulas con uno y varios machos, se realizaron dos experimentos. En el primero, se analizaron los beneficios de copular en 6 y en 14 ocasiones con un solo macho. En el segundo, se exploraron los beneficios de copular con uno y dos machos diferentes bajo un número constante de cópulas. En este último caso, se evaluó además la capacidad de los machos para detectar el riesgo de competencia espermática, basándose en las diferencias temporales de cópula y resguardo entre el primer y segundo macho en copular con una misma hembra.

Las hembras de *S. purpurascens* no incrementan su fecundidad (número y peso de los huevos) en función del número de cópulas ni del número de machos con los que se aparean. El incremento en la fecundidad se da únicamente cuando las hembras copulan durante más tiempo con un mismo macho. Las múltiples cópulas podrían ser necesarias para asegurar la total fertilización de los huevos de la hembra de este chapulín y no para la transferencia de nutrientes destinados a la producción de huevos como ocurre en otros ortópteros.

Bajo un escenario de riesgo de competencia espermática, el segundo macho de *S. purpurascens* en copular con una hembra previamente apareada invierte más tiempo copulando y resguardando que cuando la hembra es virgen; por lo que es posible que los machos sean capaces de detectar el estatus de apareamiento de una hembra y que estas conductas sean una adaptación para disminuir el riesgo de competencia espermática.

## 2. INTRODUCCIÓN.

La teoría de la selección sexual (Darwin, 1859) explica la evolución de caracteres fisiológicos, morfológicos y conductuales que incrementan el éxito reproductivo de los machos, por selección intrasexual (competencia entre machos) y/o intersexual (elección femenina) (Andersson, 1994), al promover un aumento en la frecuencia de apareamiento y en el número de descendientes. Sin embargo, el éxito reproductivo de las hembras no está gobernado por el número de apareamientos, sino por su capacidad de almacenar espermia, por el número de gametos viables producidos y por la cantidad de recursos destinados a la producción de huevos (Bateman, 1948; Fedorka & Mousseau, 2002). No obstante, las hembras de muchas especies de insectos suelen copular frecuentemente con diferentes machos, almacenando el espermia y separando los procesos de inseminación y fertilización en espacio y tiempo; este proceso origina una competencia espermática entre el eyaculado de machos diferentes por la fertilización de los huevos de una hembra en particular (Parker, 1970). Entre los posibles beneficios que las hembras obtienen de copular frecuentemente están:

- a) recibir y reabastecer las reservas de espermia viable para fecundar sus óvulos. Generalmente, las hembras de los insectos necesitan la presencia de espermia viable en el tracto reproductivo para estimular la producción de huevos (Arnquist & Nilsson, 2000);
- b) recibir junto con el eyaculado sustancias accesorias (proteínas y sustancias gonadotrópicas) que prolongan el tiempo de almacenamiento y viabilidad del espermia; aumentan la fecundidad (producción de huevos) y la fertilidad (número de huevos viables); reducen el tiempo de maduración de los huevos; y estimulan la oviposición (ver Arnquist & Nilsson, 2000);
- c) asegurar la fertilización, reduciendo las probabilidades de tener apareamientos con machos estériles o de baja fertilidad (Danielsson, 1998; Fedorka & Mousseau, 2002);
- d) aumentar la diversidad genética de la progenie, adquirir una base genética heredable que incremente la adecuación de la progenie, o bien, reducir las probabilidades de incompatibilidad genética (Danielsson, 1998; Yasui, 1998); y
- e) obtener protección contra la cópula forzada por parte de otros machos (Hunter *et al.*, 1993).

Ridley (1988), tras revisar un total de 70 documentos, evidencia una tendencia de las múltiples cópulas a incrementar la fecundidad (32), la fertilidad (5) o ambas (17) en diversos órdenes de insectos; aunque 10 artículos no reportan ninguna modificación en la fecundidad (4), la fertilidad (3) o ambas (3) y 3 manuscritos más informan que la frecuencia de cópula disminuye la fecundidad.

Algunos ortópteros que incrementan su fecundidad como resultado de las múltiples cópulas son *Acheta domesticus*, *Allonemobius socius*, *Grylloides sigillatus*, *Gryllus bimaculatus*, *G. integer*, *G. veletis*, *Trujalia hibinonis*, *Conocephalus nigropleurum*, *Requena verticalis*, *Chorthippus brunneus*, *Eyprepocnemis plorans*, *Melanoplus sanguinipes* y *Zonocerus variegatus* (Arnquist & Nilsson, 2000). Se ha considerado que este incremento en la fecundidad puede deberse a las sustancias nutritivas provenientes del eyaculado, que las hembras utilizan para mejorar su condición somática o para producir huevos (Castro *et al.*, 1997). Sin embargo, aún está por definirse si se debe realmente al efecto nutritivo o bien a las sustancias que estimulan la oviposición, ambas transferidas junto con el esperma durante la cópula (Vahed, 1998).

Cuando las hembras copulan con más de un macho puede ocurrir una competencia entre el esperma de éstos por la fertilización de los huevos de una hembra en particular, lo que se conoce como competencia espermática (Parker, 1970). Esta competencia ha sido una fuerza selectiva que ha moldeado diversos aspectos de la reproducción sexual, incluyendo la morfología de los genitales, el tamaño de los testículos, el número y tamaño de los espermatozoides, la calidad del eyaculado, el resguardo, así como la frecuencia y duración de la cópula (García-González & Gomendio, 2004).

Cuando los niveles de competencia espermática son altos, la duración de la cópula suele prolongarse aún y cuando la transferencia del eyaculado se alcanza en algunos segundos o minutos (García-González & Gomendio, 2004); ejemplo de ello son *Phyllomorpha laciniata* y *Eyprepocnemis plorans*, cuyas cópulas pueden durar un promedio de 20-30 horas y >1 día respectivamente (Pardo *et al.*, 1995). Para explicar el significado adaptativo de la cópula prolongada se ha propuesto que: a) la duración de la cópula puede aminorar la competencia con eyaculados previos si los machos invierten más tiempo removiendo el esperma de sus rivales (hipótesis de la remoción del esperma; García-González & Gomendio, 2004); b) la duración de la cópula está bajo el control de las hembras, mediante lo cual pueden facilitar los mecanismos de elección críptica (Eberhard, 1996); c) la cópula puede funcionar como una forma extrema de resguardo si previene que la hembra se aparee con otros machos antes de la oviposición (hipótesis del resguardo durante la cópula; García-González & Gomendio, 2004); d) la duración de la cópula puede determinar la cantidad de esperma transferido por el macho y, por tanto, una cópula prolongada puede asegurar la habilidad competitiva del eyaculado al incrementar el número de espermatozoides transferidos (hipótesis de la carga de esperma; García-González & Gomendio, 2004).

Dentro de este mismo contexto, el resguardo puede reducir las probabilidades de que una hembra acepte esperma de otros machos e incluso disminuir la receptividad sexual después de la cópula para retardar subsecuentes apareamientos (Frankino & Sakaluk, 1994). El resguardo ocurre en gran diversidad de chapulines (*Anacridium aegyptium*, *Locusta migratoria*, *Schistocerca gregaria*; Wickler & Seibt, 1985) y en algunos de ellos su duración puede prolongarse incluso por días; los machos de *Zonocerus elegans*, por ejemplo, pueden permanecer montados sobre las hembras por más de 15 días (Cueva del Castillo, 2003). Generalmente, un resguardo prolongado ocurre cuando en la población existe un sesgo en la proporción sexual hacia los machos (Muse & Ono, 1996). Alcock (1994) agrega que la duración de esta conducta dependerá de variables socioecológicas como: la receptividad de la hembra después de la cópula; la capacidad del macho para resistir intentos de asalto por parte de otro macho; el grado de precedencia espermática; la densidad de machos; la facilidad para detectar hembras apareadas; la energía invertida en el resguardo; el riesgo de resguardar; el riesgo de perder dominio sobre el territorio; y el intervalo de tiempo entre la cópula y la oviposición.

Debido a que la mayoría de los estudios sobre patrones de apareamiento animal se han concentrado principalmente en los intereses del macho (p.e. Alcock, 1994; García-González & Gomendio, 2004; Stoks *et al.*, 1997) y han excluido la perspectiva femenina, este estudio evaluó si las hembras de *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) obtienen beneficios por copular repetidamente durante su vida. Los beneficios se podrían cuantificar en términos de la cantidad y peso de los huevos producidos, pudiendo aumentar si las cópulas se realizaban con diferentes machos. Al haber múltiples cópulas con diferentes machos la posibilidad de competencia espermática se intensifica, por lo cual también se examinó la capacidad de los machos para evaluar el riesgo de competencia espermática.

Los objetivos planteados en el presente trabajo fueron los siguientes:

- i) Determinar si las hembras de *Sphenarium purpurascens* obtienen beneficios en su fecundidad de copular repetidamente con el mismo macho.
- ii) Determinar si la fecundidad aumenta cuando las hembras copulan con dos machos diferentes.
- iii) Examinar la capacidad de los machos para evaluar el riesgo de competencia espermática cuando copulan con una hembra previamente apareada.

### 3. HIPÓTESIS.

De los objetivos planteados se desprenden las siguientes hipótesis:

- a) Entre más cópulas tengan las hembras de *S. purpurascens* con el mismo macho, su fecundidad se incrementará.
- b) Cuando la hembra copule con dos machos diferentes, su fecundidad se incrementará con respecto a cuando copule con el mismo macho.
- c) El tiempo de oviposición se reducirá conforme más cópulas tenga una hembra.
- d) Cuando los machos de *S. purpurascens* detecten un riesgo de competencia espermática, aumentarán la duración de la cópula y del resguardo con respecto a cuando la hembra es virgen.

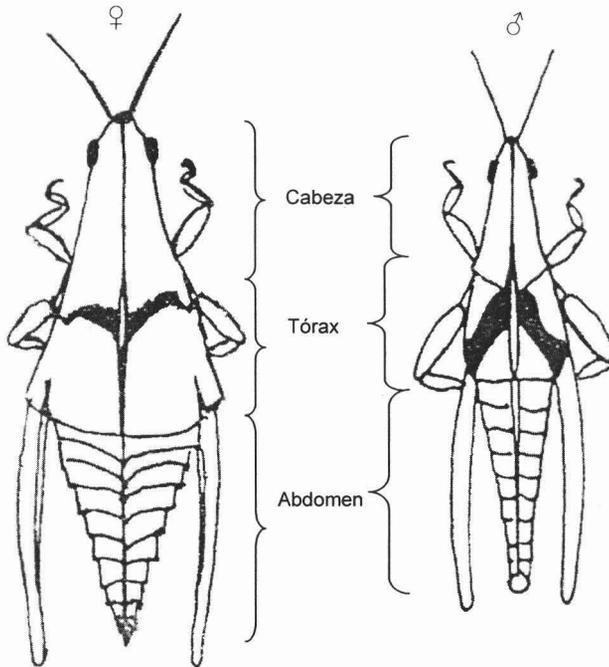
### 4. ESPECIE DE ESTUDIO.

*Sphenarium purpurascens* Charpentier (Orthoptera: Pyrgomorphidae) es un chapulín univoltino, paurometábolo, polífago, protándrico y con dimorfismo sexual (los machos poseen un tórax delgado y corto con respecto a las hembras; Fig. 1), muy abundante durante la temporada de lluvias en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (Cueva del Castillo & Núñez-Farfán, 1999; Cueva del Castillo *et al.*, 1999; Cueva del Castillo & Núñez-Farfán, 2002). Su ciclo de vida se lleva a cabo en un promedio de  $252.4 \pm 7.7$  días y antes de alcanzar la madurez sexual atraviesa por 5 estadios ninfales (Galicia Mendoza, 2002). Las ninfas del primer estadio emergen a mediados del mes de mayo y los primeros organismos adultos alcanzan la madurez sexual en agosto. El pico máximo de abundancia es a mediados de octubre, después del cual el tamaño de la población disminuye hasta extinguirse a principios de enero. Las hembras ovipositan entre octubre y diciembre, existiendo una relación positiva entre el tamaño del cuerpo de la hembra y el número de huevos que ovipositan (fecundidad) (Cueva del Castillo, 2003).

La conducta de apareamiento de los machos de esta especie se caracteriza porque no existe cortejo sino que acosan a las hembras para copular (Cueva del Castillo & Núñez-Farfán, 1999). El apareamiento se inicia con la monta de la hembra y un intento de cópula. Generalmente, las hembras responden a estos primeros intentos alzando su tercer par de patas, sacudiendo su cuerpo repetidamente para desplazar al macho de su espalda, o bien, retrayendo el abdomen para evitar el

contacto genital. Si a pesar de estas respuestas el macho permanece montado sobre ella, la cópula toma lugar (Cueva del Castillo *et al.*, 1999).

Se sabe que en la población de *S. purpurascens* del Pedregal de San Ángel, los machos protándricos y de mayor tamaño son los que alcanzan el máximo éxito de apareamiento (Cueva del Castillo & Núñez-Farfán, 1999). Por su parte, las hembras que tienen un mayor tamaño corporal y que maduran sexualmente entre 20 y 30 días después de la madurez sexual de los primeros machos, son las que alcanzan un alto éxito de apareamiento al ser más longevas y fecundas (Cueva del Castillo *et al.*, 1999; Cueva del Castillo y Núñez-Farfán, 2002). Los machos pueden copular un máximo de 8 horas y, después, permanecer montados sobre las hembras hasta por 18 días (resguardo) (Cueva del Castillo *et al.*, 1999). Durante el resguardo, las parejas copulan repetidamente (Cueva del Castillo, 2003).



**Figura 1.** Dimorfismo sexual en *Sphenarium purpurascens*. El cuerpo de la hembra (izquierda) es más largo y ancho que el del macho (derecha); tomado de Galicia Mendoza, D.I. 2002. Selección sexual en proceso y la evolución del dimorfismo sexual en el tamaño corporal en *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). Tesis de Licenciatura (Biología), UNAM, pp. 10.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS.

De la segunda semana de agosto hasta la segunda semana de octubre de 2003, se emplearon redes entomológicas de golpeo para coleccionar ninfas en los últimos estadios de desarrollo en tres senderos de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, México. Éstas fueron transportadas al Laboratorio de Ecología, Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la U.N.A.M. F.E.S. Iztacala, y colocados en recipientes de plástico transparente de 5 litros, separados por sexo para preservar su virginidad y considerando que en cada recipiente hubiera igual cantidad de individuos. Los chapulines fueron criados bajo condiciones naturales de luz y alimentados *ad libitum* con Cricket Chow® y agua suministrada en tubos Eppendorf sellados con algodón. Cuando los chapulines alcanzaban el estadio adulto, éstos eran transferidos a recipientes de plástico transparente de 5 litros marcados con la fecha en que alcanzaron este estadio, separando hembras de machos y manteniendo igual densidad de individuos por recipiente.

Para determinar si las hembras se benefician por copular repetidamente y separar los beneficios potenciales por tener múltiples cópulas con uno y varios machos, se realizaron dos experimentos. En el primero, se analizaron los beneficios de copular repetidamente con un solo macho, mientras que en el segundo se exploraron los beneficios de copular con dos machos diferentes. En este último objetivo, se evaluó además la capacidad de los machos para detectar el riesgo de competencia espermática, basándose en las diferencias temporales de cada macho en copular y resguardar a la hembra.

### 5.1 Múltiples cópulas con una pareja.

Para determinar si las hembras obtienen ventajas de copular repetidamente con el mismo macho se establecieron dos lotes experimentales (A y B), cada uno integrado por 50 machos y 50 hembras. Diez días después de alcanzar la madurez sexual, las hembras de ambos lotes fueron colocadas individualmente en recipientes de plástico transparente de 1 litro. En cada recipiente se introdujo un macho virgen de edad (fecha en que alcanzó el estadio adulto) y tamaño (longitud del fémur III) similar a la hembra experimental. Cada 10 minutos se realizaron observaciones de barrido (ver Martin & Bateson, 1993) para registrar si la cópula tenía lugar. Para fines prácticos y debido al tiempo que estos chapulines pueden invertir copulando y resguardando (hasta 8 hrs y 18 días respectivamente; ver Cueva del Castillo *et al.*, 1999), después de la primera hora de observación, los

registros se hicieron cada treinta minutos. A partir de estos intervalos de observaciones se estimaron el inicio y duración de la cópula así como la duración del resguardo (ver Cueva del Castillo *et al.*, 1999). Las hembras del lote A tuvieron 6 cópulas y las hembras del lote B 14 cópulas con el mismo macho; considerándose que el número de cópulas no fuera cercano para que las diferencias (en caso de haberlas) fueran contrastantes. Cada hembra de cada lote copuló siempre con su misma pareja, nunca se repitió un macho para hembras diferentes. Si durante el periodo de registro la pareja no copulaba, los individuos eran separados y, al día siguiente, puestos juntos nuevamente para registrar si copulaban. Si después de dos intentos la pareja no copulaba, ésta era retirada del experimento y reemplazada por otra. Las observaciones se iniciaron siempre a las 15:00 horas y bajo las mismas condiciones ambientales.

Después de las cópulas, las hembras fueron marcadas en el abdomen con etiquetas (Opalithplättchen, Graze Bienenzuchtgeräte, Weinstadt, Alemania) y transferidas para la oviposición a tarros de plástico transparentes de 500 ml con 4 cm de tierra extraída de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (ver Castellanos, 2001). Cada tarro se revisó diariamente en busca de ovotecas. En todos los casos se registró el intervalo entre la primera cópula y la oviposición. Cada ovoteca fue disgregada y se cuantificó el número y el peso de todos los huevos de la ovoteca utilizando una balanza analítica con precisión de 0.0001 de gramo (Sartorius Analytic GMBH Göttingen A200S, Alemania). Concluido el experimento, las hembras y machos de cada lote fueron sacrificados y se les midió la longitud del fémur III izquierdo con un vernier digital (Mitutoyo Corp., Tokio, Japón), para confirmar mediante un análisis de varianza (de aquí en adelante léase ANOVA) que no existieran diferencias significativas en el tamaño de los individuos. Ya que las hembras de *S. purpurascens* de mayor tamaño corporal producen un mayor número de huevos por ovoteca (Cueva del Castillo, 2003) y que éstas prefieren aparearse con machos grandes (Cueva del Castillo & Núñez Farfán, 1999), fue necesario controlar el tamaño corporal para asegurar que las hembras tuvieran la capacidad de producir igual número de huevos y que el tamaño de los machos no influyera en la disposición de las hembras para aparearse con ellos.

Para determinar si existían diferencias en la cantidad y peso de los huevos depositados así como en el intervalo de tiempo a la oviposición, en función del número de cópulas, se realizaron análisis de covarianza (de aquí en adelante léase ANCOVA) considerando el tiempo de cópula como covariable.

### ***5.2 Múltiples cópulas con dos parejas.***

Para determinar si existían diferencias en las ventajas que obtienen las hembras por copular repetidamente con uno o diferentes machos se establecieron dos lotes experimentales; el lote C integrado por 50 hembras y 50 machos y el lote D compuesto por 50 hembras y 100 machos. Para ambos tratamientos, las hembras se aparearon con machos vírgenes de edad (fecha en que alcanzaron el estadio adulto) y tamaño (longitud del fémur III) similar a la hembra experimental y entre sí. Los organismos fueron colocados en el mismo tipo de recipientes que en el experimento anterior. A las hembras del lote C se les permitió copular en 12 ocasiones con un mismo macho, mientras que las hembras del lote D se aparearon con dos machos diferentes. En este último tratamiento, cada macho copuló 6 veces consecutivas con la hembra. De esta manera se tuvo que cada hembra en ambos lotes copuló doce veces, nunca repitiéndose un macho para hembras diferentes. Para la oviposición, las hembras se trataron de la misma manera que en el experimento anterior.

Para determinar si existían diferencias en la cantidad y peso de los huevos depositados así como en el intervalo de tiempo a la oviposición, en función del número de machos, se hicieron análisis de covarianza (de aquí en adelante léase ANCOVA) considerando al tiempo de cópula como covariable.

Para determinar si existían diferencias significativas en el tiempo de cópula entre e intra-tratamientos en función del número de machos, se recurrió a un análisis de varianza de medidas repetidas (de aquí en adelante léase ANOVA de medidas repetidas).

### ***5.3 Riesgo de competencia espermática.***

Para determinar si los machos pueden evaluar el riesgo de competencia espermática cuando copulan con una hembra previamente apareada con un macho diferente, se contrastó, a través de una prueba de Wilcoxon, la duración de la cópula y del resguardo de los primeros machos en copular con las hembras del lote D contra la duración de la cópula y del resguardo de los segundos machos en aparearse con las mismas hembras del lote D.

Todos los datos fueron registrados de la siguiente manera: el tamaño del fémur III izquierdo de machos y hembras en milímetros, la duración de la cópula en horas, el peso de los huevos por

ovoteca en miligramos, el tiempo de oviposición en días y la duración del resguardo en días. En las gráficas de barras se estableció el promedio de la variable dependiente  $\pm$  el error estándar.

## 6. RESULTADOS.

### 6.1 Múltiples cópulas con una pareja.

El ANOVA no detectó diferencias significativas en el tamaño del fémur III izquierdo entre las hembras ( $F_{(1, 56)} = 1.51$ ;  $p = 0.23$ ) ni entre los machos ( $F_{(1, 56)} = 1.1$ ;  $p = 0.3$ ) de ambos lotes experimentales, debido a lo cual las hembras tenían la capacidad de producir el mismo número de huevos.

El ANCOVA no detectó diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 55)} = 0.41$ ;  $p = 0.52$ ) ni en el peso ( $F_{(1, 55)} = 0.54$ ;  $p = 0.47$ ) de los huevos ovipositados en función del número de cópulas, ya que ambos lotes experimentales depositaron un promedio de  $21 \pm 1.24$  huevos (E.E.) con un peso de  $84.81 \pm 6.32$  mg (E.E.) (lote A;  $n = 32$ ) y  $87.01 \pm 7.82$  mg (E.E.) (lote B;  $n = 26$ ). El tiempo total de la cópula (covariable) tampoco produjo ningún efecto sobre el número ( $F_{(1, 55)} = 2.47$ ;  $p = 0.12$ ) ni peso ( $F_{(1, 55)} = 3.06$ ;  $p = 0.086$ ) de los huevos (Fig. 2a y b). Las hembras no aumentaron la producción de huevos ni el peso de los mismos copulando un mayor número de veces ni invirtiendo más tiempo en la cópula.

Sustrayendo el dato de una pareja atípica (con un tiempo total de cópula de 193 hrs y una producción de solamente 3 huevos con un peso total de 15 mg) el ANCOVA no detecta diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 54)} = 1.16$ ;  $p = 0.29$ ) ni en el peso ( $F_{(1, 54)} = 1.42$ ;  $p = 0.24$ ) de los huevos ovipositados en función del número de cópulas, ya que en promedio las hembras del lote A ( $n = 32$ ) depositaron  $20.94 \pm 1.62$  huevos (E.E.) con un peso de  $84.81 \pm 6.32$  mg (E.E.) y las del lote B ( $n = 25$ )  $22.24 \pm 1.88$  huevos y un peso de  $89.88 \pm 7.57$  mg (E.E.). Sin embargo, el ANCOVA detecta diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 54)} = 8.79$ ;  $p = 0.004$ ) y peso ( $F_{(1, 54)} = 10.09$ ;  $p = 0.002$ ) de los huevos ovipositados en función del tiempo total de cópula (Fig. 3a y b). Las hembras que produjeron más huevos no fueron aquellas que tuvieron un mayor número de cópulas sino las que copularon durante más tiempo. El sustraer el dato de la pareja atípica no produjo diferencias significativas en el tamaño del fémur III izquierdo entre las hembras ( $F_{(1, 55)} = 1.38$ ;  $p = 0.25$ ) ni entre los machos ( $F_{(1, 55)} = 1.37$ ;  $p = 0.25$ ) de ambos lotes experimentales.

El ANCOVA detectó diferencias significativas en el intervalo de tiempo entre la primera

ovoteca en miligramos, el tiempo de oviposición en días y la duración del resguardo en días. En las gráficas de barras se estableció el promedio de la variable dependiente  $\pm$  el error estándar.

## 6. RESULTADOS.

### 6.1 Múltiples cópulas con una pareja.

El ANOVA no detectó diferencias significativas en el tamaño del fémur III izquierdo entre las hembras ( $F_{(1, 56)} = 1.51$ ;  $p = 0.23$ ) ni entre los machos ( $F_{(1, 56)} = 1.1$ ;  $p = 0.3$ ) de ambos lotes experimentales, debido a lo cual las hembras tenían la capacidad de producir el mismo número de huevos.

El ANCOVA no detectó diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 55)} = 0.41$ ;  $p = 0.52$ ) ni en el peso ( $F_{(1, 55)} = 0.54$ ;  $p = 0.47$ ) de los huevos ovipositados en función del número de cópulas, ya que ambos lotes experimentales depositaron un promedio de  $21 \pm 1.24$  huevos (E.E.) con un peso de  $84.81 \pm 6.32$  mg (E.E.) (lote A;  $n = 32$ ) y  $87.01 \pm 7.82$  mg (E.E.) (lote B;  $n = 26$ ). El tiempo total de la cópula (covariable) tampoco produjo ningún efecto sobre el número ( $F_{(1, 55)} = 2.47$ ;  $p = 0.12$ ) ni peso ( $F_{(1, 55)} = 3.06$ ;  $p = 0.086$ ) de los huevos (Fig. 2a y b). Las hembras no aumentaron la producción de huevos ni el peso de los mismos copulando un mayor número de veces ni invirtiendo más tiempo en la cópula.

Sustrayendo el dato de una pareja atípica (con un tiempo total de cópula de 193 hrs y una producción de solamente 3 huevos con un peso total de 15 mg) el ANCOVA no detecta diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 54)} = 1.16$ ;  $p = 0.29$ ) ni en el peso ( $F_{(1, 54)} = 1.42$ ;  $p = 0.24$ ) de los huevos ovipositados en función del número de cópulas, ya que en promedio las hembras del lote A ( $n = 32$ ) depositaron  $20.94 \pm 1.62$  huevos (E.E.) con un peso de  $84.81 \pm 6.32$  mg (E.E.) y las del lote B ( $n = 25$ )  $22.24 \pm 1.88$  huevos y un peso de  $89.88 \pm 7.57$  mg (E.E.). Sin embargo, el ANCOVA detecta diferencias significativas en el número ( $F_{(1, 54)} = 8.79$ ;  $p = 0.004$ ) y peso ( $F_{(1, 54)} = 10.09$ ;  $p = 0.002$ ) de los huevos ovipositados en función del tiempo total de cópula (Fig. 3a y b). Las hembras que produjeron más huevos no fueron aquellas que tuvieron un mayor número de cópulas sino las que copularon durante más tiempo. El sustraer el dato de la pareja atípica no produjo diferencias significativas en el tamaño del fémur III izquierdo entre las hembras ( $F_{(1, 55)} = 1.38$ ;  $p = 0.25$ ) ni entre los machos ( $F_{(1, 55)} = 1.37$ ;  $p = 0.25$ ) de ambos lotes experimentales.

El ANCOVA detectó diferencias significativas en el intervalo de tiempo entre la primera

cópula y la oviposición en función del número de cópulas ( $F_{(1, 55)} = 7.80$ ;  $p = 0.007$ ) (Fig. 4). Las hembras que tuvieron mayor cantidad de cópulas aumentaron el intervalo de tiempo entre la primera cópula y la oviposición.

### 6.2 Múltiples cópulas con dos parejas.

El ANOVA no detectó diferencias significativas en el tamaño del fémur III izquierdo entre las hembras ( $F_{(1, 48)} = 0.51$ ;  $p = 0.48$ ) ni entre los machos ( $F_{(2, 71)} = 2.1$ ;  $p = 0.13$ ) de ambos lotes experimentales ni entre los dos machos apareados con una misma hembra ( $F_{(1, 46)} = 0.28$ ;  $p = 0.60$ ), debido a lo cual las hembras tenían la capacidad de producir el mismo número de huevos.

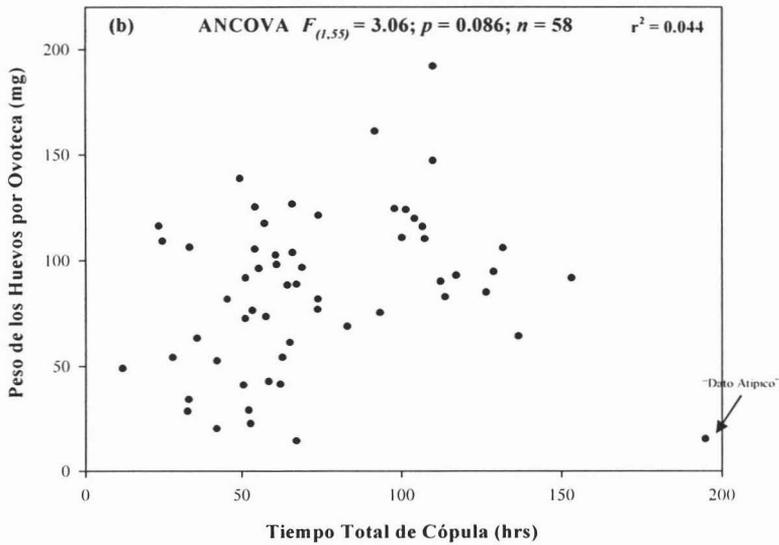
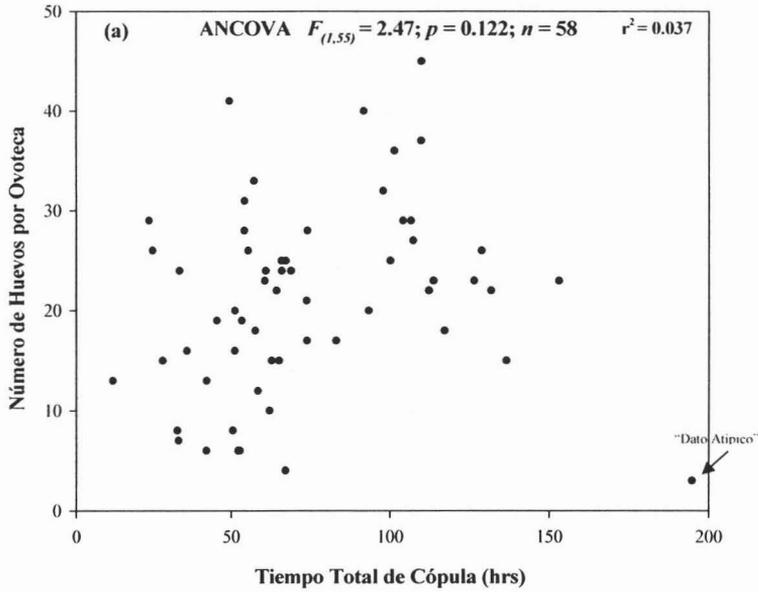
Se encontró una relación directa significativa entre el número ( $F_{(1, 47)} = 11.88$ ;  $p = 0.001$ ; Fig. 5a) y peso ( $F_{(1, 47)} = 7.95$ ;  $p = 0.007$ ; Fig. 5b) de los huevos ovipositados y el número de machos. Las hembras apareadas con dos machos depositaron menos huevos ( $16 \pm 1.49$  huevos (E.E.)) y más ligeros ( $68.8 \pm 7.17$  mg (E.E.)) que las apareadas con un solo macho ( $23 \pm 1.88$  huevos (E.E.); peso  $92.67 \pm 7.16$  mg (E.E.)).

El análisis de varianza de medidas repetidas indicó que existen diferencias significativas en el tiempo de cópula ( $F_{(1, 48)} = 8.57$ ;  $p = 0.005$ ; Fig. 6) en función del número de machos; las hembras que copularon con dos machos diferentes invirtieron más tiempo copulando. También hubo diferencias significativas entre el tiempo de cópula de cada evento de cópula ( $F_{(11, 528)} = 2.94$ ;  $p = 0.0009$ ; Fig. 7), existiendo una considerable variación intraespecífica en el tiempo que los machos invierten en cada cópula.

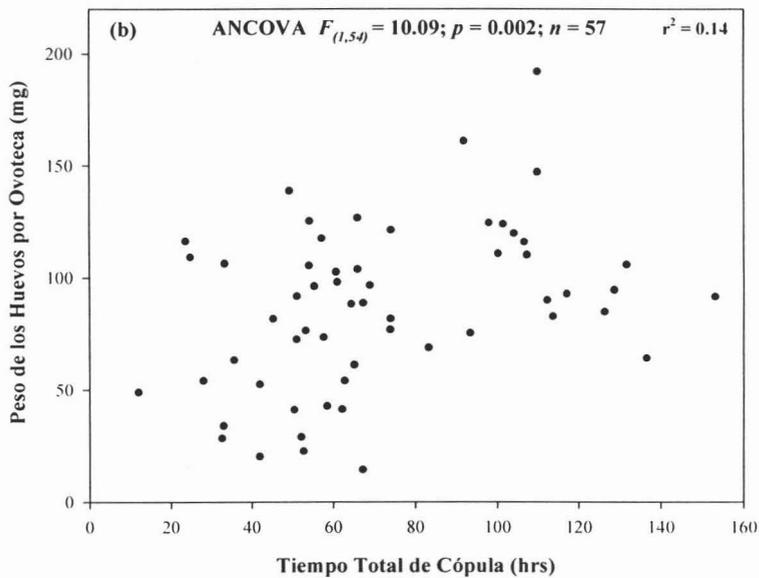
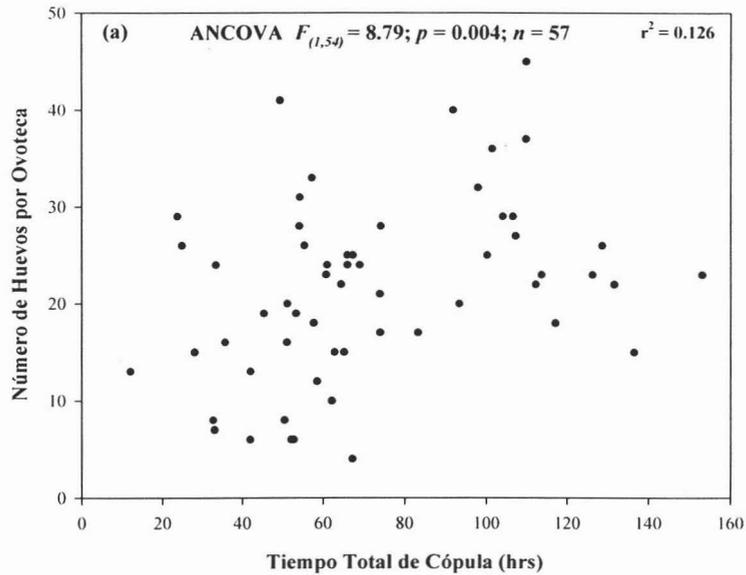
El ANCOVA no detectó diferencias significativas en el intervalo de tiempo entre la primera cópula y la oviposición en función del número de machos ( $F_{(1, 47)} = 0.096$ ;  $p = 0.7573$ ), pero sí en función del tiempo de cópula (covariable) ( $F_{(1, 47)} = 4.03$ ;  $p = 0.050$ ; Fig. 8). El periodo de tiempo entre la primera cópula y la oviposición se prolonga, cuanto más tiempo invierte una pareja copulando.

### 6.3 Riesgo de competencia espermática.

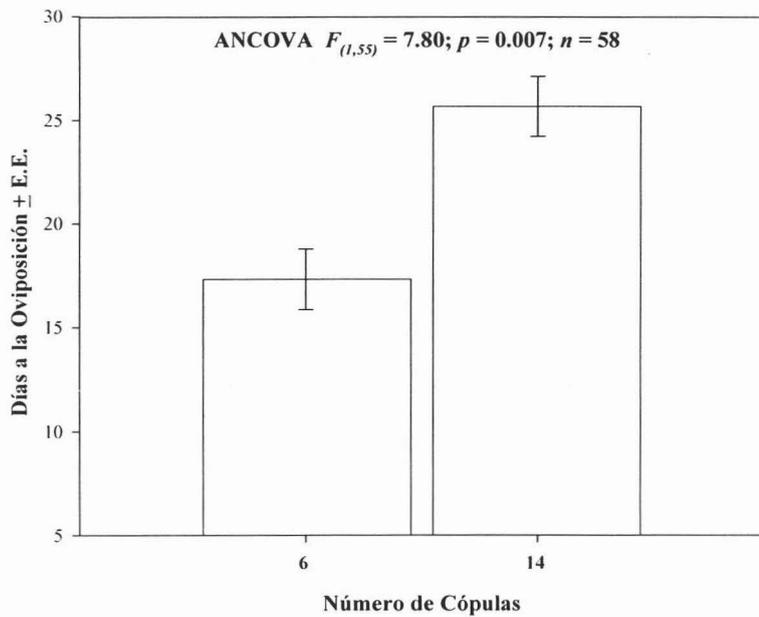
Se encontraron diferencias significativas en el tiempo de cópula (*Prueba de Wilcoxon*  $N = 24$ ;  $T = 58$ ;  $Z = 2.63$ ;  $p = 0.009$ ; Fig. 9a) y en el tiempo de resguardo (*Prueba de Wilcoxon*  $N = 24$ ;  $T = 36$ ;  $Z = 2.94$ ;  $p = 0.003$ ; Fig. 9b) de dos machos apareados con una misma hembra. El segundo macho en copular invierte más tiempo copulando y resguardando a la hembra.



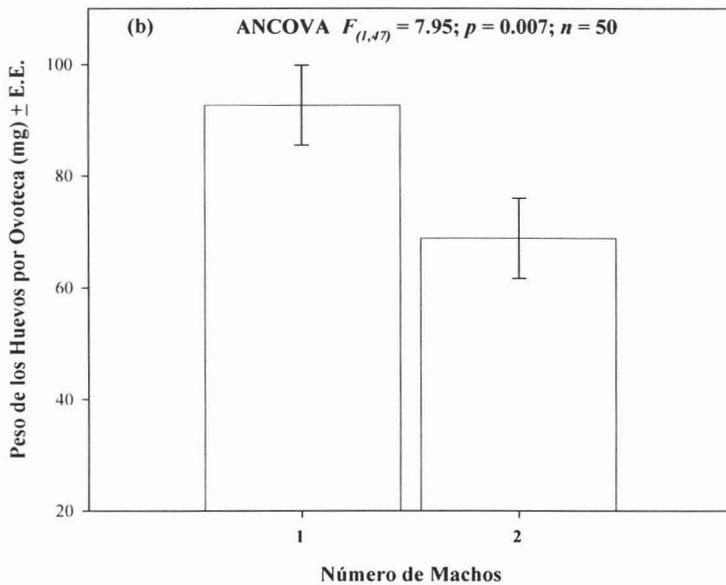
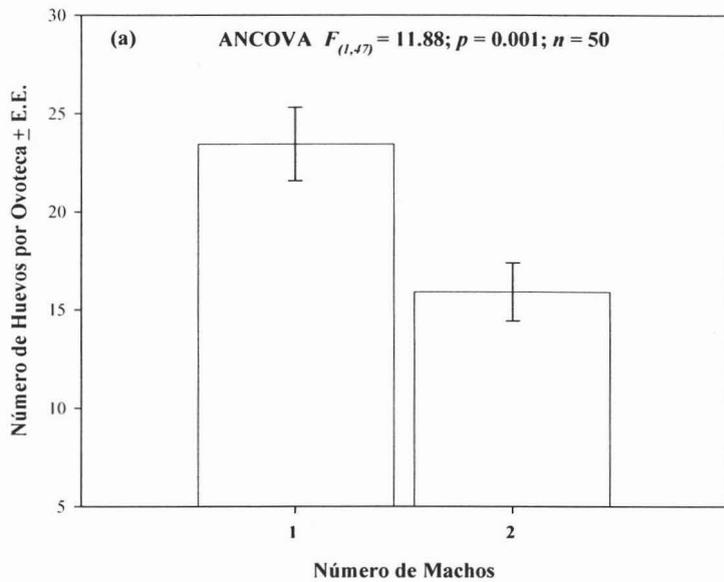
**Figura 2.** Relaciones entre el tiempo total de cópula y el número (a) y peso (b) de los huevos ovipositados por hembras apareadas con un mismo macho. Se observa el dato de una “pareja atípica” señalado con una flecha.



**Figura 3.** Relaciones entre el tiempo total de cópula y el número (a) y peso (b) de los huevos ovipositados por hembras apareadas con un mismo macho, sin tomar en cuenta el dato de la “pareja atípica” señalado en la figura anterior.



**Figura 4.** Intervalo de tiempo transcurrido entre la primera cópula y la oviposición, en función del número total de cópulas, en hembras apareadas con un mismo macho.



**Figura 5.** Comparación del número (a) y peso (b) de los huevos ovipositados en función del número de machos apareados con una hembra.

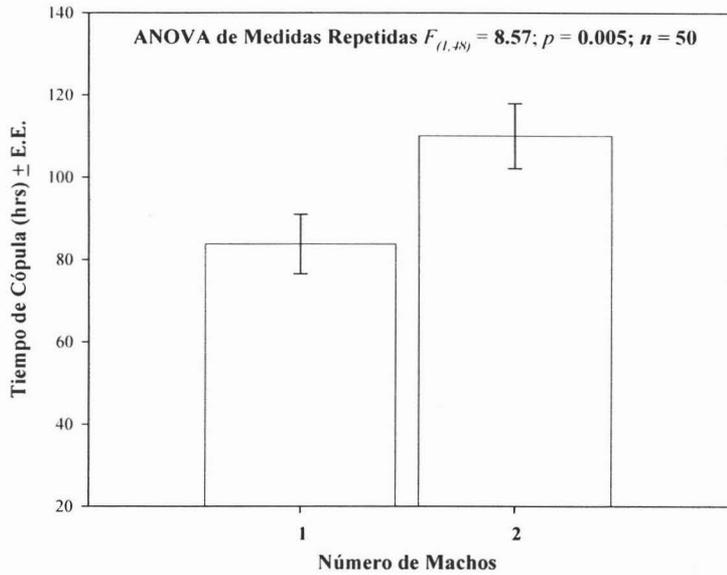


Figura 6. Tiempo total de cópula en función del número de machos apareados con una hembra.

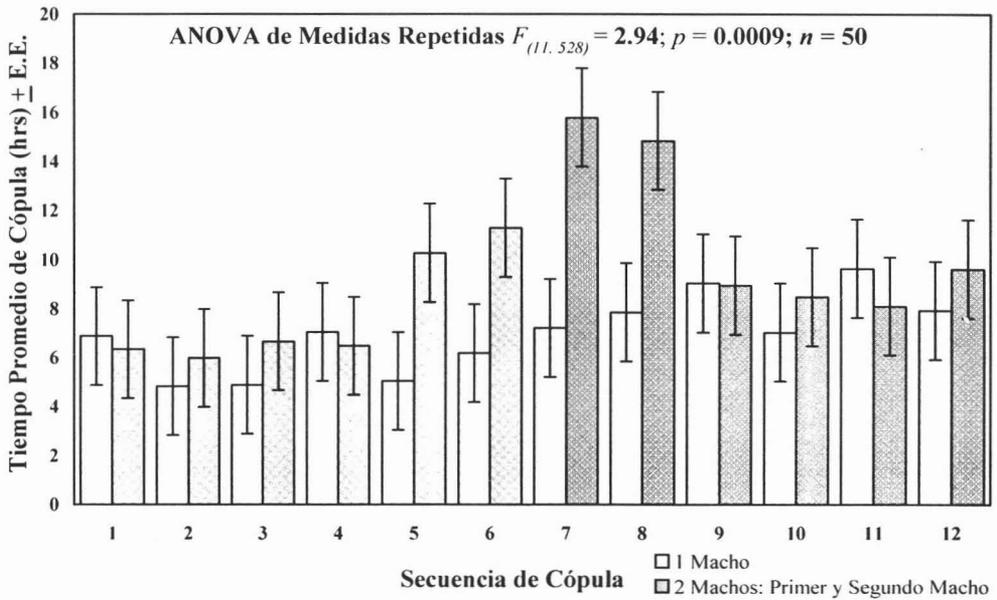
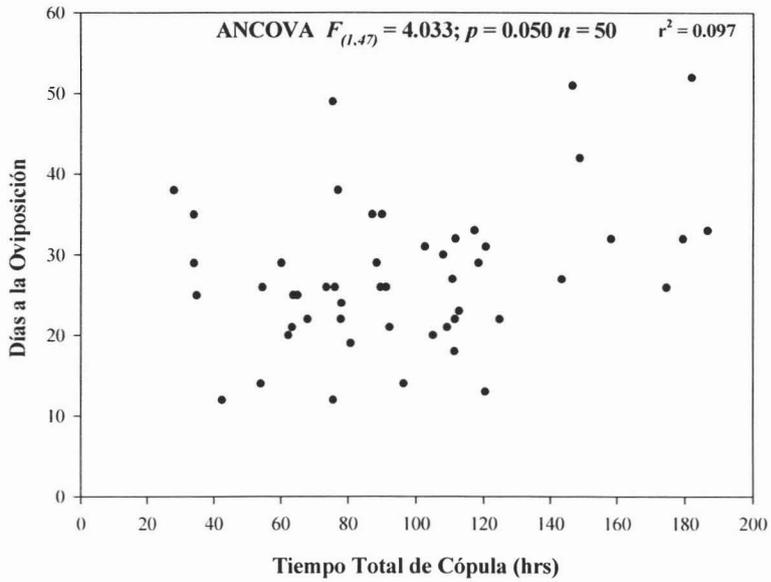
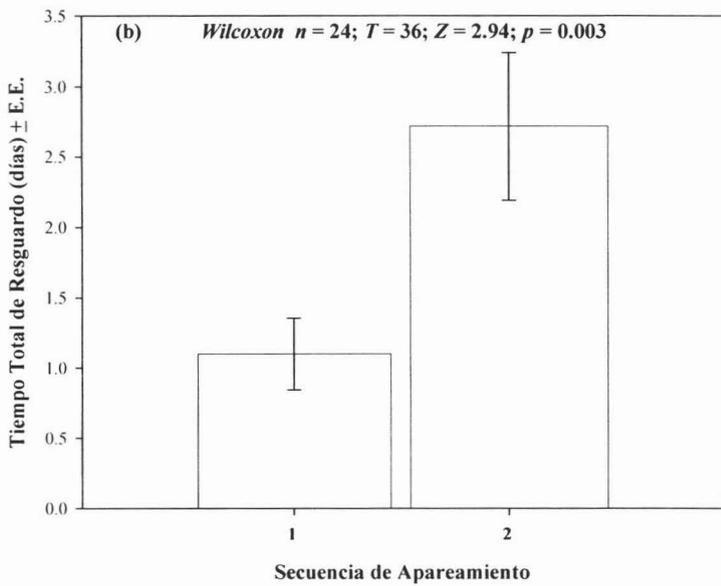
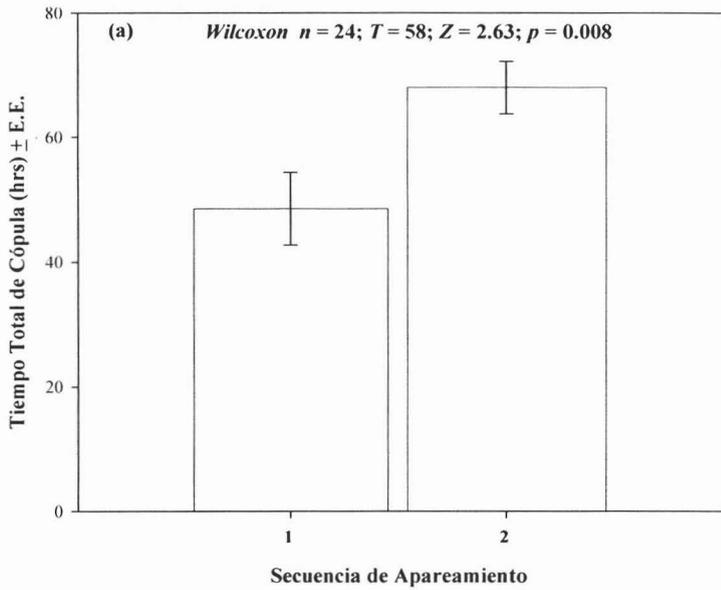


Figura 7. Duración de cada evento de cópula en hembras apareadas con 1 y 2 machos.



**Figura 8.** Relación entre el tiempo total de cópula y el intervalo de tiempo transcurrido entre la primera cópula y la oviposición en hembras apareadas con uno y dos machos.



**Figura 9.** Diferencia en el tiempo total de cópula (a) y el tiempo total de resguardo (b) entre el primer y segundo macho en copular con la misma hembra.

## 7. DISCUSIÓN.

### 7.1 Beneficios de las múltiples cópulas sobre la fecundidad.

En hembras de *S. purpurascens* apareadas con un mismo macho y con diferente número de cópulas, no existen diferencias significativas en la producción de huevos (número y peso). Esto contrasta marcadamente con el patrón que exhiben los chapulines *Chorthippus brunneus* (Butlin *et al.*, 1987) y *Eyprepocnemis plorans* (Pardo *et al.*, 1995), donde copular frecuentemente incrementa la producción de huevos como consecuencia de la transferencia de nutrientes en el eyaculado. Varios factores podrían explicar la ausencia de algún efecto de las cópulas repetitivas sobre la fecundidad en *S. purpurascens*. Primero, podría ser que la contribución nutricional del macho a los huevos sea de poca importancia en relación al total de nutrientes que la hembra puede obtener directamente del alimento; por lo que quizás las múltiples cópulas sean necesarias pero para asegurar la total fertilización de los huevos de una hembra, como ha sido reportado en el chapulín *Chorthippus parallelus* (Reinhardt *et al.*, 1999). Segundo, existe evidencia en chapulines de que la cantidad de nutrientes derivados del eyaculado y su beneficio sobre la adecuación femenina es dependiente de la dieta (ver Branson, 2003; Butlin *et al.*, 1987; Joern & Behmer, 1997); en este estudio las hembras fueron alimentadas *ad libitum* y no se monitoreó el tiempo o calidad del último evento alimenticio antes de la cópula, por lo que los efectos de la contribución masculina a la fecundidad pudieron verse enmascarados por la alimentación de las hembras. Tercero, podría resultar que el aporte nutricional del macho sirva exclusivamente para el mantenimiento somático de la hembra y no para la producción de huevos, como ocurre en *Locusta migratoria* (Castro *et al.*, 1997).

El número de cópulas no tuvo un efecto positivo sobre la fecundidad de *S. purpurascens* pero sí la tuvo la covariable (el tiempo de cópula), indicando que a las hembras de este ortóptero no les resulta beneficioso copular con el mismo macho en varias ocasiones sino copular con él durante más tiempo, pues al incrementar el tiempo de cópula aumenta la producción de huevos (número y peso). Esto se podría explicar considerando el patrón de transferencia del espermátforo (paquete de esperma y otros materiales) en otros chapulines. En *Melanoplus differentialis* (Hinn & Niedzlek-Feaver, 2001) y *Anacridium aegyptium* (Fedorov, 1927) la transferencia del eyaculado depende del tiempo total que invierten copulando, existiendo un incremento en el número de espermátforos transferidos cuando se prolonga la duración de la cópula. En *Eyprepocnemis plorans* también existe una relación entre la duración de la cópula y la cantidad de eyaculado transferido, reportándose un

incremento en la producción de huevos cuánto más se prolonga la cópula (Pardo *et al.*, 1995). Podría ser que en *S. purpurascens* ocurriera algo similar, que el tiempo de cópula tenga un efecto positivo sobre la fecundidad debido al período que el macho tarda en transferir suficiente cantidad de eyaculado para la producción de huevos.

Para las hembras de *S. purpurascens* tampoco resulta beneficioso tener múltiples cópulas con machos diferentes, ya que la producción de huevos (número y peso) se reduce cuando las hembras copulan con dos machos a cuando copulan con uno solo. Esto contrasta nuevamente con lo que ocurre en ciertos grillos y chapulines (*Melanoplus bilituratus*, *Chorthippus brunneus*, *Eyprepocnemis plorans*, *Gryllus bimaculatus*, *G. veletis* y *Acheta domesticus*; Vahed, 1998), donde copular repetidamente con diferentes machos incrementa significativamente la producción de huevos. Que la fecundidad en *S. purpurascens* disminuya cuando la hembra copula con machos diferentes podría explicarse considerando que el primer macho de *S. purpurascens* en copular con una hembra virgen tiene un alto coeficiente de paternidad, por lo que invierte una menor cantidad de esperma, destinado a fecundar los huevos, y una mayor cantidad de recursos para beneficiar la producción de huevos. En contraste, el segundo macho en copular con esa hembra no tendrá el mismo coeficiente de seguridad de la paternidad, por lo que quizás invierte más esperma, que le permita competir por la fecundación de los huevos, pero menos recursos, para minimizar la probabilidad de que éstos sean utilizados para beneficiar los huevos de otro macho. Esto sería consistente con el patrón que exhibe *Requena verticalis* (Bateman *et al.*, 2001); cuando los machos detectan a una hembra vieja, previamente apareada y que les ofrece un bajo coeficiente de paternidad, producen grandes cantidades de esperma y reducen la inversión en recursos destinada a la producción de huevos.

Lo anterior podría también explicar por qué las hembras de *S. purpurascens* apareadas con dos machos tardaron más tiempo copulando que las hembras apareadas con un solo macho. Podría ser que los segundos machos de *S. purpurascens* en copular con una hembra tengan la capacidad de detectar que ésta ha tenido cópulas previas, por lo que la cópula prolongada podría funcionar como una estrategia para maximizar el número de esperma transferido y aumentar la habilidad competitiva de su eyaculado sobre la del rival (“hipótesis de la carga de esperma”), como ocurre en ciertos heterópteros (*Phyllomorpha laciniata*, García González & Gomendio, 2004), lepidópteros (*Pieris rapae*, *P. brassicae*, *Aporia crataegi*, Bissoonsath & Wiklund, 1996) y otros ortópteros

(*Eyrepocnemis plorans*, Pardo *et al.*, 1995; *Melanoplus differentialis*, Hinn & Niedzlek-Feaver, 2001; y *Dichromorpha viridis*, Zhu & Tanaka, 2002). En esa misma línea, las diferencias intraespecíficas en la duración de los eventos de cópula de *S. purpurascens* podrían deberse a la variación en la habilidad de los machos para producir y transferir el eyaculado, en proporción y tamaño necesarios para la fertilización de los huevos de una hembra, como está documentado para *Melanoplus* spp. (Hinn & Niedzlek-Feaver, 2001).

Por otro lado, el lapso de tiempo entre la primera cópula y la oviposición se alarga en función del número de cópulas y del tiempo de cópula. Las hembras de *S. purpurascens* apareadas con un macho tuvieron diferencias significativas en el intervalo de tiempo entre la primera cópula y la oviposición en función del número de cópulas. En contraste, las hembras de *S. purpurascens* apareadas con uno y dos machos, no tuvieron diferencias en el intervalo de oviposición en función del número de machos sino con la covariable (tiempo de cópula). Ello indica que el tiempo de oviposición en las hembras de este ortóptero se ve afectado tanto por el número de cópulas como por la duración de éstas. Ello simplemente sugiere que entre más cópulas tengan o más prolongadas resulten éstas, más tiempo tardará la hembra en ovipositar.

### **7.2 Riesgo de competencia espermática.**

Bajo un escenario de riesgo de competencia espermática, el segundo macho de *S. purpurascens* en copular con una hembra previamente apareada invierte más tiempo copulando y resguardando que cuando la hembra es virgen. Las diferencias en la duración de la cópula y del resguardo entre los primeros y segundos machos podrían estar indicando que este ortóptero es capaz de detectar el estatus de apareamiento de una hembra y actuar en consecuencia, como ocurre en el chapulín *Dichromorpha viridis* (Zhu & Tanaka, 2002) y en el tetigónido *Requena verticalis* (Bateman *et al.*, 2001). Más aún, la variación en ambas conductas podría explicarse como una adaptación para disminuir el riesgo de competencia espermática, si el resguardo y la cópula prolongada (viéndola, por un lado, como una forma de resguardo extremo en la que el macho actúa como un tapón sexual que bloquea el área genital de la hembra [Alcock, 1994] y, por el otro, como una vía para maximizar la transferencia de eyaculado) evitan que la hembra copule con otros machos antes de la oviposición (Alcock, 1994) e incrementan la proporción de progenie fertilizada por este macho ("valor de  $P_2$ "; Danielsson, 1998).

La duración de la cópula en *S. purpurascens*, bajo un escenario de competencia espermática, puede compararse con la del chapulín *Eyprepocnemis plorans* (Pardo *et al.*, 1995), donde está comprobado que la cópula prolongada funciona como una forma de resguardo y para transferir una mayor cantidad de eyaculado. Con ello, los machos de este ortóptero reducen la competencia espermática y aumentan la seguridad sobre la paternidad, a tal grado que  $P_2$  tiene un valor promedio del 90%. La principal diferencia entre éste y *S. purpurascens* sería que *E. plorans* no despliega conducta de resguardo post-cópula y que durante la cópula los machos transfieren nutrientes que incrementan la fecundidad de las hembras.

En cuanto al resguardo post-cópula, esta conducta ha sido reportada en diversos órdenes de insectos (ver Alcock, 1994) como una estrategia de los machos para abatir la competencia espermática. Sin embargo, la duración del resguardo en *S. purpurascens* sólo es comparable con la del pirgomórfido *Zonocerus elegans*, quien también permanece en resguardo post-cópula por más de 15 días para evitar que la hembra copule con otros machos (Wickler & Seibt, 1985). Si consideramos que en condiciones naturales la duración del resguardo en *S. purpurascens* guarda una relación positiva con la historia reproductiva de la hembra (las hembras con cópulas previas son resguardadas por más tiempo) y con el periodo de la temporada reproductiva (la máxima duración del resguardo se presenta a mitad de la temporada reproductiva, cuando existen pocas hembras disponibles y un gran potencial de rivales) (ver Cueva del Castillo, 2003), es muy posible que los machos de *S. purpurascens* estén utilizando el resguardo para abatir el riesgo de competencia espermática. Aunque esta conducta también podría explicarse en otros sentidos. Primero, que la ocurrencia del resguardo sea ventajosa para las hembras en cuanto a que, por un lado, les evita estar constantemente rechazando machos que intentan copular con ellas y, por el otro, aseguran la total fertilización de sus huevos al copular con el macho que las resguarda en varias ocasiones, reabasteciendo sus reservas de esperma en cualquier momento sin la necesidad de buscar un macho con quién aparearse. Segundo, que la duración del resguardo sea un rasgo distintivo de la familia Pyrgomorphae, como ya lo ha planteado Cueva del Castillo (2003). Sin embargo es necesario realizar más experimentos que ayuden a comprobar cuál es la explicación más plausible para la ocurrencia de esta conducta en esta especie.

### 7.3 Futuras líneas de investigación.

Debido a la cantidad de información que falta por conocer sobre *S. purpurascens*, no es posible concluir en definitiva varios aspectos sobre los efectos que las múltiples cópulas tienen sobre la fecundidad. Por ello es necesario continuar con la investigación y brindar más información detallada sobre su fisiología y su reproducción. Sería un gran complemento para este trabajo realizar experimentos que permitan conocer desde los componentes básicos del eyaculado y sus patrones de transferencia, hasta cómo la hembra almacena y utiliza el eyaculado para la producción de huevos, el mantenimiento somático o para asegurar la fertilidad. También sería interesante plantear experimentos sobre los patrones de paternidad y precedencia espermática así como otros ensayos que evidencien la influencia de la competencia espermática en el uso del espermatozoide y en el comportamiento de los sexos.

La introducción de nuevas ideas sobre cómo las hembras pueden influenciar los procesos de cópula y post-cópula ha planteado otra perspectiva de la problemática. Existe escasa evidencia sobre temas como la elección críptica femenina, debido a la dificultad para diferenciar entre la manipulación por parte del macho y la elección críptica de la hembra, pero es necesario hacer más investigación empírica en esta área y con este insecto. Quizás los resultados que se obtengan de dichas investigaciones lleven a la re-evaluación de algunos procesos hasta ahora aceptados como controlados absolutamente por el macho. En *S. purpurascens* persisten muchas preguntas sobre este tema en particular. Por ejemplo, ¿pueden las hembras pautar el inicio, duración y término de la cópula y el resguardo?, ¿por qué las hembras no evitan el resguardo post-cópula, si al llevar al macho sobre su espalda pagan un costo energético?, ¿cuáles son los mecanismos de elección críptica utilizados en esta especie? Quizás se sabrá en el futuro...

## 8. BIBLIOGRAFÍA.

- ALCOCK, J. 1994. Postinsemination associations between males and females in insects: The mate-guarding hypothesis. *Ann. Rev. Entomol.* **39**: 1-21.
- ANDERSSON, M. 1994. *Sexual selection*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- ARNQUIST, G. & T. NILSSON. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Anim. Behav.* **60**: 145-164.
- BATEMAN, A.J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* **2**: 349-368.
- BATEMAN, P.W., L.N. GILSON & J.W.H. FERGUSON. 2001. Investment in mate guarding may compensate for constraints on ejaculate production in the cricket *Gryllodes sigillatus*. *Ethology* **107**: 1087-1098.
- BISSOONDATH, C.J. & C. WIKLUND. 1996. Male butterfly investment in successive ejaculates in relation to mating system. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **39**: 285-292.
- BRANSON, D.H. 2003. Reproduction and survival in *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae) in response to resource availability and population density: the role of exploitative competition. *Can. Entomol.* **135**: 415-426.
- BUTLIN, R.K., C.W. WOODHATCH & G.M. HEWITT. 1987. Male spermatophore investment increases female fecundity in a grasshopper. *Evolution* **41**: 221-225.
- CASTELLANOS-VARGAS, I. 2001. *Ecología de la oviposición de Sphenarium purpurascens (Orthoptera: Pyrgomorphidae) en la Reserva del Pedregal de San Ángel, México, D.F.* Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México. 115 p.
- CASTRO, A.J., M.C. PARDO, M.D. LÓPEZ-LEÓN, J. CABRERO & J.P.M. CAMACHO. 1997. Mating frequency increases somatic condition but not productivity in *Locusta migratoria* females. *Hereditas* **126**: 53-57.
- CUEVA DEL CASTILLO, R. 2003. Body size and multiple copulations in a neotropical grasshopper with an extraordinary mate-guarding duration. *J. Insect Behav.* **16**: 503-522.
- CUEVA DEL CASTILLO, R. & J. NÚÑEZ-FARFÁN. 1999. Sexual selection on maturation time and body size in *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphidae): correlated response to selection. *Evolution* **53**: 209-215.
- CUEVA DEL CASTILLO, R., J. NÚÑEZ-FARFÁN & Z. CANO-SANTANA. 1999. The role of body size in mating success of *Sphenarium purpurascens* in Central Mexico. *Ecol. Entomol.* **24**: 146-155.

- CUEVA DEL CASTILLO, R. & J. NÚÑEZ-FARFÁN. 2002. Female mating success and risk of pre-reproductive death in a protandrous grasshopper. *Oikos* **96**: 217-224.
- DANIELSSON, I. 1998. Mechanisms of sperm competition in insects. *Ann. Zool. Fennici*. **35**: 241-257.
- DARWIN, C.R. 1859. El Origen de las Especies por la Selección Natural. Ed. Época, México. 285 p.
- EBERHARD, W.G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- FEDORKA, K.M. & T.A. MOUSSEAU. 2002. Material and genetic benefits of female multiple mating and polyandry. *Anim. Behav.* **64**: 361-367.
- FEDOROV, S.M. 1927. Studies in the copulation and oviposition of *Anacridium aegyptium* L. (Orthoptera, Acrididae). *Trans. Ent. Soc. Lond.* **1**: 53-61.
- FRANKINO, W.A. & S.K. SAKALUK. 1994. Post-copulatory mate guarding delays promiscuous mating by female decorated crickets. *Anim. Behav.* **48**: 1479-1481.
- GALICIA MENDOZA, D.I. 2002. Selección sexual en proceso y la evolución del dimorfismo sexual en el tamaño corporal en *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Pyrgomorphae). Tesis de Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM. México. 39 p.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, F. & M. GOMENDIO. 2004. Adjustment of copula duration and ejaculate size according to the risk of sperm competition in the golden egg bug (*Phyllomorpha laciniata*). *Behav. Ecol.* **15**: 23-30.
- HINN, J.C. & M. NIEDZLEK-FEAVER. 2001. Spermatophore number transferred increases linearly with copulation duration in *Melanoplus differentialis* (Orthoptera: Acrididae). *J. Orthoptera Research* **10**: 147-152.
- HUNTER, F., M. PETRIE, M. OTRONEN, T. BIRKHEAD & A.P. MÖLLER. 1993. Why do females copulate repeatedly with one male? *Trends Ecol. Evol.* **8**: 21-26.
- JOERN, A. & S.T. BEHMER. 1997. Importance of dietary nitrogen and carbohydrates to survival, growth, and reproduction in adults of the grasshopper *Ageneotettix deorum* (Orthoptera: Acrididae). *Oecologia* **112**: 201-208.
- MARTIN, P. & P. BATESON. 1993. *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*. Cambridge University Press. 222 p.

- MUSE, W.A. & T. ONO. 1996. Copulatory behavior and post-copulatory mate guarding in a grasshopper *Atractomorpha lata* Motschulsky (Orthoptera: Tetrigidae) under laboratory conditions. *Appl. Entomol. Zool.* **31**: 233-241.
- PARDO, M.C., M.D. LÓPEZ-LEÓN, G.M. HEWITT, J.P.M. CAMACHO. 1995. Female fitness is increased by frequent mating in grasshoppers. *Heredity* **74**: 654-660.
- PARKER, G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol. Rev.* **45**: 525-567.
- REINHARDT, K., G. KÖHLER & J. SCHUMACHER. 1999. Females of the grasshopper *Chorthippus parallelus* (Zett.) do not remate for fresh sperm. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **266**: 2003-2009.
- RIDLEY, M. 1988. Mating frequency and fecundity in insects. *Biol. Rev.* **63**: 509-549.
- STOKS, R., L. DE BRUYN & E. MATTHYSEN. 1997. The adaptiveness of intense contact mate guarding by males of the emerald damselfly, *Lestes sponsa* (Odonata, Lestidae): The male's perspective. *J. Insect Behav.* **10**: 289-298.
- VAHED, K. 1998. The function of nuptial feeding in insects: A review of empirical studies. *Biol. Rev.* **73**: 43-78.
- WICKLER, W. & U. SEIBT. 1985. Reproductive behavior in *Zonocerus elegans* (Orthoptera: Pyrgomorphidae) with special reference to nuptial gift guarding. *Z. Tierpsychol.* **69**: 203-223.
- YASUI, Y. 1998. The "genetic benefits" of female multiple mating reconsidered. *Trends Ecol. Evol.* **13**: 246-250.
- ZHU, D.H. & S. TANAKA. 2002. Prolonged precopulatory mounting increases the length of copulation and sperm precedence in *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **95**: 370-373.