



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LOS SIGNA EN LA
MARIPOSA CALLOPHYRUS XAMI (LEPIDIPTERA: LYCAENIDAE)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GALICIA MENDOZA, DALIA IVETTE

ASESOR: CORDERO, CARLOS

MÉXICO, D. F.

2006



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.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción..... | 2 |
| Objetivos..... | 8 |
| Especie de estudio | 8 |
| Métodos..... | 9 |
| Cultivo en el Laboratorio..... | 9 |
| Descripción de los <i>signa</i> | 10 |
| Análisis Estadísticos..... | 12 |
| Análisisde la función de los <i>signa</i> | 12 |
| Resultados..... | 13 |
| Descripción de los <i>signa</i> | 13 |
| Análisis de la función de los <i>signa</i> | 18 |
| Discusión..... | 25 |
| Morfología de los <i>signa</i> de <i>Callophrys xami</i> | 25 |
| Función de los <i>signa</i> de <i>Callophrys xami</i> | 27 |
| Literatura Citada..... | 32 |

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción..... | 2 |
| Objetivos..... | 8 |
| Especie de estudio..... | 8 |
| Métodos..... | 9 |
| Cultivo en el Laboratorio..... | 9 |
| Descripción de los <i>signa</i> | 10 |
| Análisis Estadísticos..... | 12 |
| Análisisde la función de los <i>signa</i> | 12 |
| Resultados..... | 13 |
| Descripción de los <i>signa</i> | 13 |
| Análisis de la función de los <i>signa</i> | 18 |
| Discusión..... | 25 |
| Morfología de los <i>signa</i> de <i>Callophrys xami</i> | 25 |
| Función de los <i>signa</i> de <i>Callophrys xami</i> | 27 |
| Literatura Citada..... | 32 |

RESUMEN

Los *signa* son estructuras esclerotizadas que presentan las hembras de muchos grupos de Lepidoptera. Pueden tener forma de espinas, dientes, tornillos, bandas o placas. Se localizan en la pared interna del *corpus bursae*, estructura donde son depositados los espermátóforos durante la cópula. La presencia, el número, tamaño, forma y ubicación de los *signa* varía entre taxa, por lo que tienen valor taxonómico.

En esta tesis se presenta un estudio descriptivo de la forma, tamaño, ubicación y variación individual de los *signa* en la mariposa *Callophrys xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). Además, se ponen a prueba experimental hipótesis previamente publicadas sobre la función de estas estructuras. También se proponen tres hipótesis adicionales y se plantean predicciones para cada una de ellas.

Para la descripción y medición de los *signa* se diseccionaron los *corpus bursae* de diversas hembras y se extrajeron los *signa*. Posteriormente fueron fotografiados bajo el microscopio estereoscópico. Se tomaron 3 medidas morfométricas para determinar el tamaño de los *signa* y tres para establecer su ubicación dentro del *corpus bursae*. Las fotografías fueron analizadas con el programa Image Tool UTHSCSA. Las hipótesis y predicciones sobre la función de los *signa* que tienen relación con la forma de esta estructura, fueron evaluadas mediante la observación de especímenes bajo el microscopio. Aquellas que hacen referencia a las relaciones espaciales de los *signa* con otras porciones del tracto reproductor (durante y después de la cópula), se pusieron a prueba mediante cópulas de individuos vírgenes criados en el laboratorio.

Los resultados indican que la mariposa *Callophrys xami* presenta dos *signa* quitinizados en forma de espinas triangulares. Estos se encuentran insertados en lados opuestos, en el primer tercio de la pared interna del *corpus bursae*.

De acuerdo a lo esperado por la hipótesis de la selección sexual, nuestros resultados mostraron que las características de los *signa* presentaron coeficientes de variación más altos que los del tamaño general del cuerpo. Sin embargo el análisis de homogeneidad de coeficientes de variación indicó que estas diferencias no fueron significativas.

Las características de los *signa* presentaron una correlación positiva con el tamaño corporal, lo que sugiere que la pleiotropía puede estar jugando un papel en la evolución de dichas características. Por otra parte, las características de los *signa* también mostraron una hiperalometría significativa, es decir, su tamaño se incrementa más rápidamente que el tamaño corporal, lo que pudiera ser resultado de selección sexual direccional actuando sobre las características de los *signa*.

La evidencia obtenida en este estudio indica que la función de los *signa* en *Callophrys xami* es la de romper los espermátóforos después de concluida la cópula. Esto es apoyado por el hecho de que los *signa* poseen la forma y la ubicación adecuadas para perforar el espermátóforo.

INTRODUCCIÓN

Los *signa* son estructuras esclerotizadas en forma de espinas, dientes, tornillos, bandas o placas (escobilladas, espinosas o dentadas) (Klots, 1970 En Tuxen, 1970; Powell, 2003 Hinton, 1964; Dummond, 1984; Scoble, 1992), que se localizan en la pared interna del *corpus bursae* (estructura en forma de saco de pared delgada no esclerotizada encerrada en una vaina muscular donde son depositados los espermátóforos durante la cópula) de las hembras de muchos grupos de Lepidoptera. Hinton (1964) mencionó que usualmente hay un *signum* en la *bursae*. Sin embargo, Sánchez (2004) indica que lo más común es que se presenten dos. El número, tamaño, forma y ubicación de los *signa* varía entre taxa, encontrándose ausente en varios grupos (Fig. 1), por lo que con frecuencia tienen valor taxonómico (Bradley, 1968; Ferris, 1991; Penz, 1999; Sánchez, 2004). Aunque el término *signa* (singular = *signum*) es el más utilizado actualmente, estas estructuras también han recibido otros nombres (todas las referencias citadas en Tuxen, 1970): “clítoris”, (Herold, 1815), “innere hornplatte” (placa interna en forma de cuerno; Suchow, 1818), “Reizorgan” (órgano irritante; Baltzer, 1864), “triangular valve” (valva triangular; Griffith, 1893), “lamina dentata” (lámina dentada Petersen, 1900). También se han descrito estructuras que probablemente sean sinónimos de *signa* como los “graniculi” de los Lithosiinae descritos por Smith (1965, citado en Tuxen, 1970). En algunos trabajos se describen estructuras que podrían considerarse *signum* aunque no se les asigna ningún nombre en especial (v. gr., Heppner, 1984; Li y Zheng, 1996; Rodríguez, 2000; Gozmany, 2002).

Una revisión elaborada por Sánchez (2004) en la que se incluyeron 1030 especies de Lepidoptera comprendidas en 303 géneros, 37 familias y 18 superfamilias, muestra que los *signa* se presentan en el 71.6% de las especies, el 72.3% de los géneros y el 86.9% de las familias. La distribución taxonómica y la diversidad estructural de los *signa* sugieren que estos órganos han evolucionado de manera rápida y divergente (Sánchez, 2004), lo que sugiere que son atributos objeto de la selección.

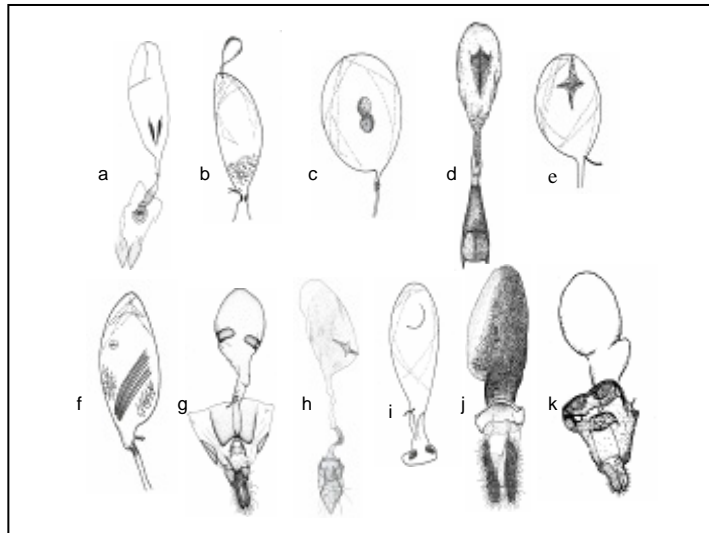


Figura 1. *Corpus bursae* de diferentes especies de lepidópteros. Se muestra la amplia diversidad en presencia/ausencia; forma, tamaño, número y ubicación de *signa*: a) *Anatole zygia*; b) *Otiophora leucura*, c) *Talanga sexpunctalis*, d) *Odanotun clarissimus*, e) *Hyalobathra archeleuca*, f) *Spoladea recurvalis*, g) *Epiblema infelix*, h) *Perittia clarkei*, i) *Metallarcha eurychrysa*, j) *Rebinea erebina*, k) *Diathera brunneata*.

Se han planteado diversas hipótesis sobre la función de los *signa* (Cuadro 1). Hinton (1964) hizo una revisión de las hipótesis y, después de evaluar la evidencia a favor de cada una, concluyó que los *signa* sirven para abrir los espermátóforos, ya sea rasgándolos o perforándolos.

Hinton señaló que la ruptura del espermátóforo por el *signum* es un proceso gradual acompañado de numerosas contracciones de la *bursae*; investigaciones posteriores sustentan sus conclusiones (Rogers y Welles, 1984; Tschudi-Rein y Benz, 1990). Sin embargo, se desconocen trabajos cuyo objetivo haya sido poner a prueba, mediante observaciones y experimentos, las distintas hipótesis existentes sobre la función de los *signa*. Por ello no es de extrañar que trabajos recientes atribuyan a los *signa* funciones diferentes. Por ejemplo Powell (2003), mencionó que los *signa* sirven para retener el espermátóforo, mientras que Drummond (1984) mencionó que los *signa* probablemente sirven para sostener el espermátóforo en su lugar mientras el *edeago* (órgano copulatorio del macho), es quitado ó durante las contracciones del *corpus bursae*. En el Cuadro 1 se describen las hipótesis que han sido publicadas previamente sobre la función de los *signa* (hipótesis 1—4), así como tres hipótesis adicionales (hipótesis 5—7) propuestos en este trabajo. Además, las dos versiones de las hipótesis 1 y 2 también son un resultado del análisis de esta tesis, así como el plantear de manera explícita todas las predicciones mostradas en el Cuadro 1.

Tabla 1. Hipótesis (H) acerca de la función de los *signa* y algunas de sus predicciones. Las predicciones (P) de cada hipótesis se presentan en itálicas y las precedidas con “▶” fueron puestas a prueba en este trabajo.

H1. Órgano para estimular (“titillating organ”, Hinton, 1964) la eyaculación del macho (Baltzer, 1864*; Dampf, 1921*).

▶ P1.1: Al menos una porción del *edeago* o la *vesícula* entra en contacto con los *signa* durante la cópula.

P1.2: El *edeago* y/o la *vesícula* del macho posee órganos sensoriales que le permiten ser estimulado por los *signa*.

H1.1. Órgano que utiliza la hembra para indicarle al macho, mediante estimulación mecánica, que su *edeago* se encuentra en la posición adecuada para eyacular.

▶ P1.3: Los *signa* entran en contacto con el *edeago* y/o la *vesícula* del macho previamente a la eyaculación (también es probable que sigan en contacto durante todo o parte del periodo de eyaculación)

P1.4: Todos los machos cuyo *edeago* y/o *vesícula* sea estimulado por los *signa* van a eyacular.

H1.2. Órgano que utiliza la hembra para “convencer” al macho de que produzca un eyaculado de la mayor calidad posible (es decir, que es un “ornamento” que ha evolucionado como resultado de la selección intersexual [elección masculina] post-copulatoria).

▶ P1.5: Los *signa* entran en contacto con el *edeago* y/o la *vesícula* del macho previamente y/o durante la eyaculación.

P1.6: El estimular el *edeago* y/o la *vesícula* del macho con los *signa* no garantiza que él eyacule o que produzca un eyaculado de la mayor calidad posible.

P1.7: Los *signa* evolucionan de manera rápida y divergente debido a que están sujetos a selección sexual por elección masculina.

H2. Órgano para rasgar o agujerear el espermátforo (Hagen, 1882*; Stitz, 1901*; Heberdey, 1931*; Weidner, 1934*).

▶ P2.1: Los *signa* se entierran y/o desgarran la cubierta del espermátforo.

▶ P2.2: Los *signa* tienen una forma y ubicación adecuadas para rasgar o agujerear (por ejemplo, espina, aguja, sierra, cuchillo, etc.).

H2.1. Órgano para rasgar o agujerear el espermátforo y permitir que se digieran y utilicen las sustancias contenidas en el mismo.

P2.3: La ruptura de la cubierta del espermátforo es un requisito para que la hembra pueda digerir y utilizar las sustancias contenidas en el mismo.

H2.2. Órgano para rasgar o agujerear el espermátforo permitiendo que los espermatozoides sean liberados (Klowden, 2003).

▶ P2.1: Los *signa* se entierran y/o desgarran la cubierta del espermátforo.

▶ P2.2: Los *signa* tienen una forma y ubicación adecuadas para rasgar o agujerear (por ejemplo, espina, aguja, sierra, cuchillo, etc.).

H2.1. Órgano para rasgar o agujerear el espermátforo y permitir que se digieran y utilicen las sustancias contenidas en el mismo.

P2.3: La ruptura de la cubierta del espermátforo es un requisito para que la hembra pueda digerir y utilizar las sustancias contenidas en el mismo.

H2.2. Órgano para rasgar o agujerear el espermátforo permitiendo que los espermatozoides sean liberados (Klowden, 2003).

▶ P2.4: La ruptura de la cubierta del espermátforo es un requisito para que los espermatozoides sean liberados del mismo y “migren” hacia los órganos de almacenamiento de la hembra (espermateca y, posiblemente, *bulla seminalis*; Klots, 1970).

H3. Órgano para sujetar el espermátforo.

▶ P3.1: Los *signa* entran en contacto con el espermátforo.

H3.1. Órgano para mantener el espermátforo en posición mientras su “hinchamiento, humedecimiento y tumefacción fuerzan hacia afuera el esperma” (Petersen, 1907†).

► P3.2: Los *signa* entran en contacto con el espermátforo previamente y durante a la “migración” del esperma hacia los órganos de almacenamiento de la hembra.

H3.2. Órgano para mantener el espermátforo en posición durante las contracciones del *corpus bursae* (Callahan, 1958†; Callahan y Cascio, 1963‡; Thibout, 1971‡).

► P3.3: Los *signa* entran en contacto con el espermátforo durante las contracciones del *corpus bursae*.

H3.3. Órgano para retener el espermátforo en el *corpus bursae* mientras el pene es removido (Ferro y Akre, 1975).

► P3.4: Los *signa* entran en contacto con el espermátforo durante la retirada del pene hacia el final de la cópula.

H4. Órgano que actúa como un filtro permitiendo el paso de los espermatozoides y evitando que el ductus seminalis se bloquee con partículas más grandes (Quast, 1921*).

► P4.1: La degradación del espermátforo ocurre de manera previa y/o simultánea a la “migración” de los espermatozoides hacia los órganos de almacenamiento de las hembras (espermateca y, posiblemente, *bulba seminalis*; Klots, 1970).

► P4.2: La ubicación de los *signa* les permite impedir que partículas producto de la degradación del espermátforo bloqueen el *ductus seminalis*.

► P4.3: Los *signa* tienen una forma y tamaño adecuados para actuar como filtros (p. ej. malla, peine, etc.).

H5. Órgano sensorial que permite detectar la presencia y/o evaluar el tamaño del espermátforo recibido (Cordero, 2005; ver Rogers y Wells, 1984).

P5.1: Los *signa* poseen (o están asociados con) mecano-receptores que permiten detectar la presencia y/o evaluar el tamaño del espermátforo.

H6. Órgano que permite el “acoplamiento” (“locking”) de estructuras “complementarias” del edeago y/o de la vesica (tales como la carina o los cornuti).

H6.1. Órgano que se “acopla” (“locking”) con estructuras “complementarias” del edeago y/o de la vesica permitiendo que la cópula ocurra “normalmente”, por ejemplo evitando que se desacoplen o “desacomoden” cuando caminan o vuelan.

► P6.1: Los *signa* entran en contacto con el edeago y/o vesica una vez que este(os) último(s) entra(n) en el *corpus bursae*.

► P6.2: Los *signa* y algunas estructuras del edeago y/o vesica (por ejemplo la *carina* o los *cornuti*) poseen tanto la forma como el tamaño adecuado para que mecánicamente puedan acoplarse de manera complementaria durante la cópula.

H6.2. Órgano que se “acopla” (“locking”) únicamente con los *cornuti* de la vesica del órgano copulador del macho de su propia especie contribuyendo a mantener el aislamiento reproductivo de la especie (Justus y Mitchell, 1999).

► P6.3: Los *signa* y la vesica y/o edeago poseen estructuras que solo permiten el acoplamiento dentro de la misma especie.

H7. Órgano que actúa como una protección para evitar daños al corpus bursae por parte de la carina del edeago y/o los cornuti de la vesica.

► P7.1: Existen estructuras en el pene que pueden causar daño al *corpus bursae* durante la cópula (por ejemplo, *cornuti* en forma de espinas que le permiten al macho enterrarse y “anclarse” en la hembra o simplemente dañarla).

► P7.2: Los *signa* poseen formas y/o tamaños tales que les permiten protegerse de estructuras que pudieran causar algún tipo de daño al *corpus bursae* (por ejemplo, estructuras engrosadas que pudieran servir para que se ensarten las espinas de la vesica, escudos, etc).

► P7.3: Los *signa* se encuentran ubicados en las zonas donde se establece contacto entre el *corpus bursae* y las estructuras del edeago y/o vesica que pueden causar daño.

*No consultado, citado por Hinton (1964). † No consultado, citado por Rogers y Wells (1984). ‡ No consultado, citado por Drummond (1984).

¿Por qué es necesario que las hembras de Lepidoptera desarrollen un órgano especializado para la ruptura de los espermatozoides? Esta cuestión acerca del origen evolutivo de los *signa* fue analizada en detalle por Cordero (2005), quien basó sus hipótesis en el hecho de que los machos de muchas especies de lepidópteros transfieren distintos tipos de recursos a las hembras y para tener acceso a estos recursos las hembras tienen que romper los espermatozoides. Estudios experimentales en lepidópteros muestran que las hembras obtienen recursos del espermatozoides transferido por los machos durante la cópula, pues éste no sólo contiene espermatozoides, sino también sustancias producidas por las glándulas accesorias que inducen cambios fisiológicos y conductuales en las hembras (Drummond, 1984). Estas sustancias accesorias, pueden estimular las contracciones del conducto seminal necesarias para el transporte de espermatozoides a la espermateca, activar el espermatozoides en el tracto reproductivo de la hembra e incrementar la cantidad y calidad de los huevos (Boggs y Gilbert, 1979; Sugawara, 1979, Drummond, 1984; He y Tsubaki, 1991; Oberhauser, 1989,1992; Wiklund y Kaitala, 1993; Cordero, 1995; Karlsson; 1996; Watanabe y Sato, 1996). Debido a que la hembra obtiene recursos de los espermatozoides, resulta importante el que tenga rápido acceso a ellos, ya sea rompiéndolos o degradándolos.

En lepidópteros, el estudio de la forma y función de estructuras genitales femeninas es aún muy reciente, e históricamente (comparado con estudios de los genitalia de machos), los genitalia de las hembras han sido subutilizados considerándolos evolutivamente más conservadores (estructuralmente menos complejos y con menos variación), que los genitalia de machos (Bradley, 1968). No obstante, es necesario considerar que las estructuras de los genitalia de las hembras son parte del medio ambiente selectivo en el cual las estructuras de los machos evolucionan y viceversa (King, 2003). Así, los estudios que han incluido a detalle descripciones de los genitalia en hembras han permitido redescubrir a las especies así como diferenciar entre especies y subespecies. De ahí la relevancia de realizar esta clase de estudios pues éstos pueden representar una plataforma para estudios comparativos o que permitan comprender la evolución de la gran variedad de estrategias de apareamiento, parentesco filogenético, aspectos conductuales o ayudar a el mejor entendimiento de patrones de asignación de recursos etc. (Slansky, 1982).

Hasta el momento no existe una descripción del aparato genital de las hembras de *C. xami*. Clench (1981) presenta un dibujo sin ninguna discusión del *corpus bursae* de *C. xami* donde se ilustra un solo *signum*. Por otra parte, se ha encontrado que en *Callophrys (Mitoura) barryi* los genitalia de las hembras presentan variación substancial en cuanto a la forma y presencia de los *signa* en el *corpus bursae* (Ferris, 1991).

En particular, en el presente trabajo se realizó un estudio de la morfología, función y variación individual de los *signa* en la mariposa *Callophrys xami*, el cual puede servir de base a estudios que permitan evaluar el papel que juega la selección sobre dichas estructuras. Para estudiar la morfología se describieron forma, tamaño, ubicación y variación individual de los *signa* mediante la disección de los *corpus bursae* de diversas hembras y se extrajeron los *signa*. Para estudiar la función de los *signa*, se pusieron a prueba experimental hipótesis previamente publicadas sobre la función de estas estructuras. También se propusieron hipótesis adicionales y se plantearon predicciones para cada una de ellas. Las hipótesis y predicciones sobre la función de los *signa* que se refirieron a la forma de esta estructura, fueron evaluadas mediante la observación de especímenes bajo el microscopio. Aquellas que hacen referencia a las relaciones espaciales de los *signa* con otras porciones del tracto reproductor (durante y después de la cópula), se pusieron a prueba mediante cópulas de individuos vírgenes criados en el laboratorio y congelados a diferentes tiempos durante y después de la cópula con el fin de determinar qué función tenían los *signa* y si tenían una relación con la degradación del espermatóforo.

OBJETIVOS

General

Describir la morfología y estudiar la función de los *signa* de la mariposa *Callophrys xami*.

Particulares

1. Describir cualitativa y cuantitativamente los *signa* de la mariposa *C. xami*.
2. Poner a prueba en *C. xami* las hipótesis propuestas acerca de la función de los *signa*.

ESPECIE DE ESTUDIO

Callophrys xami Reakirt (Lepidoptera: Lycaenidae) es una especie multivoltina que habita en zonas secas y rocosas que van desde el centro de México al sur de Texas, y sur del condado de Yavapai, en Arizona (Pyle, 1981; Beutelspacher, 1980). En la República Mexicana se distribuye desde Sonora hasta Jalisco a lo largo de la Sierra Madre Occidental, en los estados del Centro, Valle de México, Montañas de Veracruz, Valle de Tehuacan, Sierra Madre del Sur Guerrero y Oaxaca (Pyle, 1981). Beutelspacher (1980) señaló que la época de vuelo de esta mariposa en el Valle de México se extiende todo el año, aunque las épocas de mayor abundancia van de julio a septiembre y de diciembre a enero (Ziegler y Escalante, 1964). Parlange (1991) hizo una descripción detallada del ciclo de vida, que tiene una duración promedio de 40 a 50 días. *Callophrys xami* se alimenta de diversas especies de crasuláceas (Ziegler y Escalante, 1964). Los individuos estudiados en esta investigación provienen de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, ubicada dentro del campus principal de la Universidad Nacional Autónoma de México al sur de la Ciudad de México, donde el principal hospedero es *Echeveria gibbiflora* (Soberón et al., 1988). Los machos de *C. xami* defienden territorios y presentan un sistema de apareamiento poligínico es decir, se aparean con más de una hembra (Cordero y Soberón, 1990). En el campo se ha registrado un máximo de cuatro apareamientos en su vida (Cordero et al; 2000), y la duración promedio de la cópula es de 32 min (Cordero et al, 2000), aún cuando puede prolongarse varias horas si el macho ha copulado previamente en el mismo día (Cordero, 1998).

MÉTODO

Cultivo en el Laboratorio

Para iniciar el cultivo de *C. xami* en el laboratorio se utilizaron los métodos sugeridos por Jiménez (1988). Las hembras de *C. xami* fueron colectadas en el Jardín Botánico y la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, dentro de la Universidad Nacional Autónoma de México. El cultivo se estableció en el insectario ubicado en el Instituto de Ecología, UNAM. Las hembras colectadas se pusieron a ovipositar bajo la luz de un foco de jardín de 75 watts, colocándolas de forma individual en botes de plástico con capacidad de un litro que contenían una hoja de la planta hospedera *E. gibbiflora*, por un periodo de dos horas. Posteriormente a la puesta de huevos las hembras fueron liberadas en el mismo lugar en que fueron recolectadas.

La "cosecha" de huevos se llevó a cabo por las mañanas y los huevos colectados fueron considerados como la puesta del día anterior (las hembras prácticamente no ponen huevos en ausencia de la luz directa ya sea solar o de focos) (Jiménez, 1987). Los huevos fueron despegados de las hojas con ayuda de un pincel delgado previamente humedecido en agua. Cada huevo fue puesto sobre un trozo de hoja de *E. gibbiflora*, el cual se colocó dentro de una caja de Petri que tenía en el fondo una toalla de papel ligeramente humedecida (aproximadamente cinco gotas de agua para evitar la proliferación de hongos). De este momento en adelante las toallas de papel se mantuvieron con humedad constante. Las cajas fueron rotuladas identificando la madre de la que provenía cada huevo así como las fechas de cambio de un estadio a otro (huevo-larva; larva-pupa y pupa adulto) hasta la emergencia de los adultos. Una vez que las larvas emergieron, las cajas fueron revisadas diariamente para mantenerlas limpias, renovar el alimento y conservar la humedad de las toallas. Cuando alcanzaron el estadio adulto, los organismos fueron identificados con un número dibujado con un plumón indeleble en una de las alas, el número se asignó conforme los organismos fueron alcanzando el estado adulto. Al mismo tiempo, de cada individuo se obtuvo la longitud del ala (ALA) utilizando un vernier digital Mitutoyo ® con precisión de 0.02 mm y el peso del organismo en una balanza analítica Scientech®.

Los individuos fueron separados por sexos en insectarios elaborados con madera y tela de mosquitero en donde se alimentaron manualmente todos los días con esponjas humedecidas en una solución de agua con azúcar al 10%. Con los adultos de esta generación

y las que siguieron se realizaron cruzas con el fin de mantener un cultivo continuo de ejemplares y para poner a prueba las hipótesis funcionales (ver más adelante). Para obtener apareamientos se colocaron dos machos y una hembra no emparentados dentro de “jaulas de apareamiento” portátiles de 48 cm de alto x 24 cm de diámetro, hechas con tela de tul y alambre (Jiménez y Soberón, 1988-1989), las cuales fueron colgadas al aire libre en un lugar donde recibieran luz solar, aproximadamente entre 10:00 AM y 4:00 PM, fuera de las instalaciones del Instituto de Ecología (UNAM), (Jiménez y Soberón, 1988-89). Los huevos obtenidos fueron cultivados como se mencionó anteriormente.

Descripción de los *signa*

Para la descripción y medición de los *signa*, se realizaron disecciones de 108 hembras para extraer los *corpus bursae*. Para tal fin, los organismos fueron sacrificados por congelación -16 °C. Se retiró el abdomen entero de los especímenes utilizando unas pinzas finas de microcirugía (Rauma®) aplicando presión con la punta de las mismas en el punto de unión entre el tórax y el abdomen. El abdomen fue fijado a una base de silicón con la ayuda de alfileres entomológicos. Todas las disecciones se realizaron bajo un microscopio estereoscópico (Olympus ® SZH10) y en solución salina al 0.1 %. Primero se abrió la pared corporal con ayuda de las pinzas haciendo una incisión en el abdomen, la cual se procedió a abrir delicadamente de forma longitudinal hasta la abertura genital. Se eliminaron huevos y tejido graso. En algunos casos fue necesario limpiar las estructuras con una solución de KOH al 10% con ayuda de un pincel fino o bien, en casos donde los tejidos estuvieron muy endurecidos, se introdujo el abdomen completo en la solución de KOH por 10 minutos para facilitar la eliminación de la cutícula y tejidos grasos evitando romper las estructuras de interés. Los *corpus bursae* se observaron y fotografiaron con una cámara digital Olympus ® C-5050 montada en el microscopio estereoscópico. Posteriormente se extrajeron los *signa* e igualmente se observaron y fotografiaron bajo el microscopio estereoscópico. Las mediciones de los *signa* y de los *corpus bursae* se realizaron en las fotos digitales con el programa *Image Tool UTHSCSA*, desarrollado en el Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Texas en San Antonio (disponible en la red en la siguiente dirección: maxrad6.uthscsa.edu). Las

mediciones se realizaron en uno solo de los dos *signa* debido a que el manejo de estas estructuras es muy complejo y resultó muy difícil conservar ambos.

Las medidas que se consideraron para obtener el tamaño del *signa* fueron: Largo mayor (denominado L1) y menor (L2) del *signum*, Longitud de la base del *signum* (BASE), Largo total del *corpus bursae* (LTB) y para obtener la ubicación del *signum* dentro del *corpus bursae* se utilizó: Ubicación de la base del *signum* dentro del *corpus bursae* (A) y Ubicación de la punta del *signum* dentro del *corpus bursae* (B) (Figura 2).

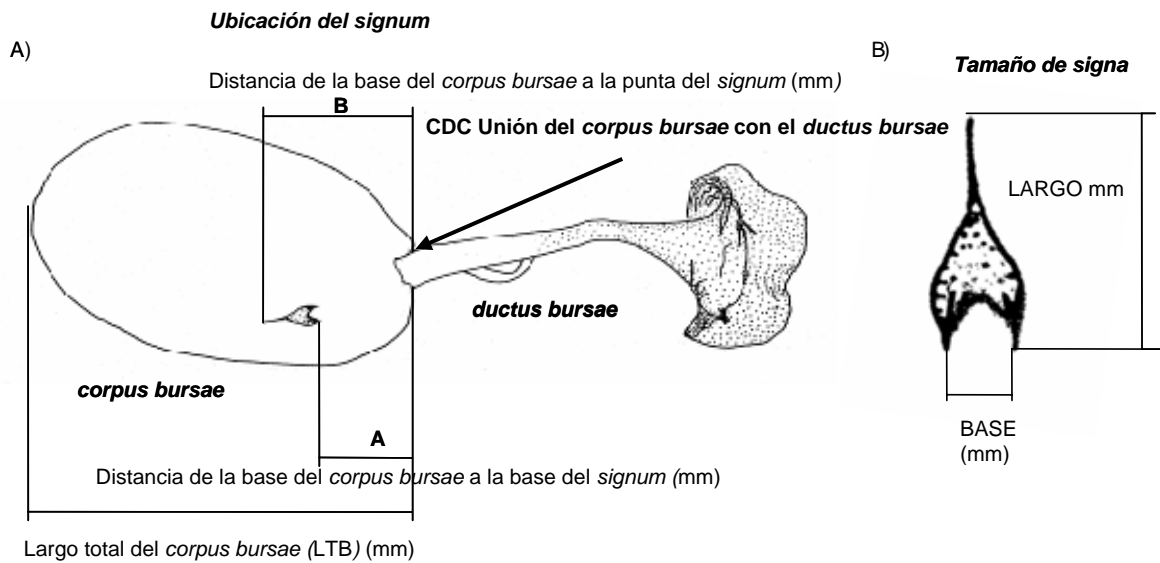


Figura 2. Esquema que muestra las medidas tomadas para determinar A) Ubicación de *signa* dentro del *corpus bursae* y B) Tamaño de *signa* en la mariposa *Callophrys xami*.

Análisis Estadísticos

Se obtuvo la estadística descriptiva (media, mediana, desviación estándar, error estándar, cuartiles, mínimos y máximos) de cada una de las características medidas. La variación entre hembras en el estimador de tamaño corporal (largo del ala, ALA) y en las características genitales medidas fue cuantificada utilizando los coeficientes de variación (CV; desviación estándar dividida entre el promedio de la característica). Los coeficientes de variación se compararon mediante una prueba de homogeneidad de coeficientes de variación (Zar, 1999).

Se calcularon las correlaciones entre el largo del ala y las medidas de las características genitales.

Se estimaron las relaciones alométricas de cada una de las características genitales. Las relaciones alométricas son cuantificadas utilizando la función $y = \alpha x^\beta$, donde (x) es tamaño de cuerpo (ALA en nuestro caso), y es la medida de la característica de interés (las características genitales en nuestro caso), α es una constante y β es el coeficiente alométrico. (Fairbairn, 1997). En la práctica, primero se realiza una transformación logarítmica: $\log(y) = \log(\alpha) + \beta \log(x)$. Posteriormente, las relaciones alométricas se estiman mediante regresiones lineales en las que β es la pendiente. Si (x) y (y) son medidas en la misma escala, la proporción (y/x) será una constante (α) cuando $\beta=1$. Esto define igualdad geométrica o isometría. Por extensión, se presenta alometría cuando $\beta \neq 1$. Si $\beta > 1$, (y) se incrementa más rápido que (x), y (y/x) se incrementa conforme (x) se incrementa lo que da como resultado una alometría positiva ó hiperalometría. La alometría negativa ó hipoalometría ocurre cuando $\beta < 1$, lo que indica que (y) se incrementa más lentamente que (x) y que (y/x) decrecer conforme (x) se incrementa (Fairbairn, 1997).

En el texto se presentan los promedios \pm desviación estándar.

Análisis de la función de los *signa*

Las predicciones acerca de la función de los *signa* que se pusieron a prueba están marcadas con el símbolo “►” en el Cuadro 1. Varias de estas predicciones se refieren a la forma de los *signa* (P2.2, P4.3, P6.2, P6.3 y P7.2), por lo que fueron evaluadas mediante la observación cuidadosa de 184 especímenes bajo el microscopio y en microfotografías de los

signa. Debido a que otras predicciones se refieren a las relaciones espaciales que guardan los *signa*, en distintos momentos durante y posteriormente a la cópula, con otras porciones del tracto reproductor de las hembras (por ejemplo, con la apertura del conducto seminal que une el *corpus bursae* con la espermateca; P4.2), con el espermátforo (v. gr. P2.1) o con el *edeago* y la *vesica* del *edeago* del macho (v. gr. P 1.1), para ponerlas a prueba se indujo la cópula entre individuos vírgenes criados en el laboratorio y las hembras (N = 63) o las parejas (N = 10) fueron sacrificadas por congelación (introduciéndolas en un congelador que se encontraba a una temperatura entre -16 y -20 °C) a diferentes tiempos durante y posteriormente a la cópula. El primer tiempo fue 20 min (N = 10), pues se requerían organismos que se encontraran copulando (en el campo la duración promedio de la cópula es de 32 min y congelar a las parejas 20 min después de iniciada la cópula evita que los organismos se separen al ser manipulados). También se sacrificaron hembras a los 15 min (N = 7), 30 min (N = 3), 3 h (N = 4), 4 h (N = 3), 5 h (N = 5), 6 h (N = 4), 6h½ (N = 2) 7 h (N = 16), 7½ h (N = 12), 8 h (N = 3), 11 h (N = 2), y 12 h (N = 2) después de concluida la cópula. Las cópulas, disecciones y fotografías se obtuvieron como se describió anteriormente. En los casos donde fue necesario observar estructuras más pequeñas como el *edeago* y la espermateca, se utilizó un microscopio óptico (Olympus ® BX51).

RESULTADOS

Descripción de los *Signa*

La mariposa *Callophrys xami* presenta dos *signa* en forma de espinas triangulares cuya base se inserta en la pared del *corpus bursae* y cuya punta (vértice del triángulo) se dirige hacia el fondo del *corpus bursae*. Son de color marrón, más claro en la base del *signum* y más oscuro en la parte media y la punta del mismo, lo cual sugiere diferentes grados de esclerotización en distintas porciones de los *signa*. Cada uno de los *signa* se encuentra insertado en lados opuestos de la pared interna, en el punto que equivale aproximadamente al límite entre el primer y segundo tercio de la pared considerados a partir de la unión entre el *corpus bursae* y el *ductus bursae* (Fig. 3 y 4).

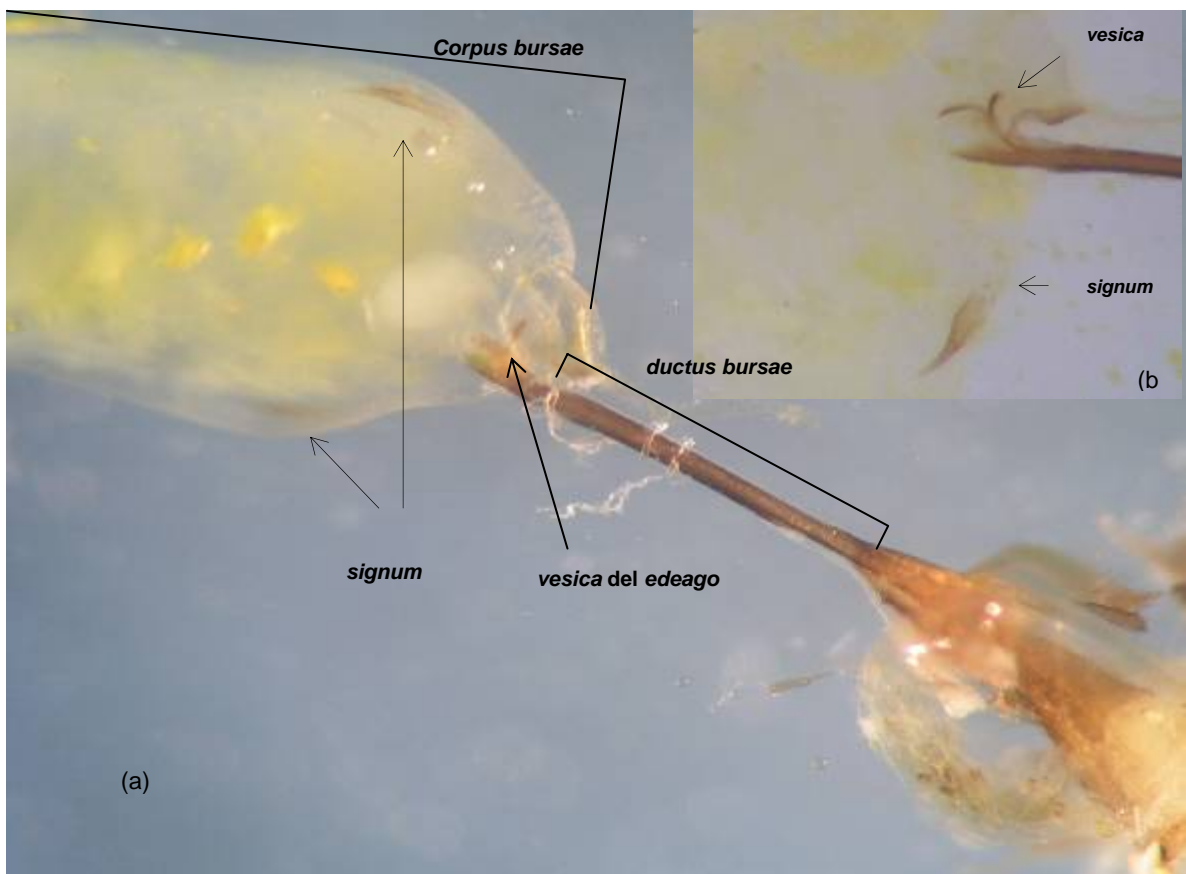


Figura 3. a) y b) Genitalias obtenidas de disecciones de organismos en cópula de *Callophrys xami* donde se observa la distancia que guardan los *signa* con la parte terminal del *edeago* (*vesica*), durante la cópula.

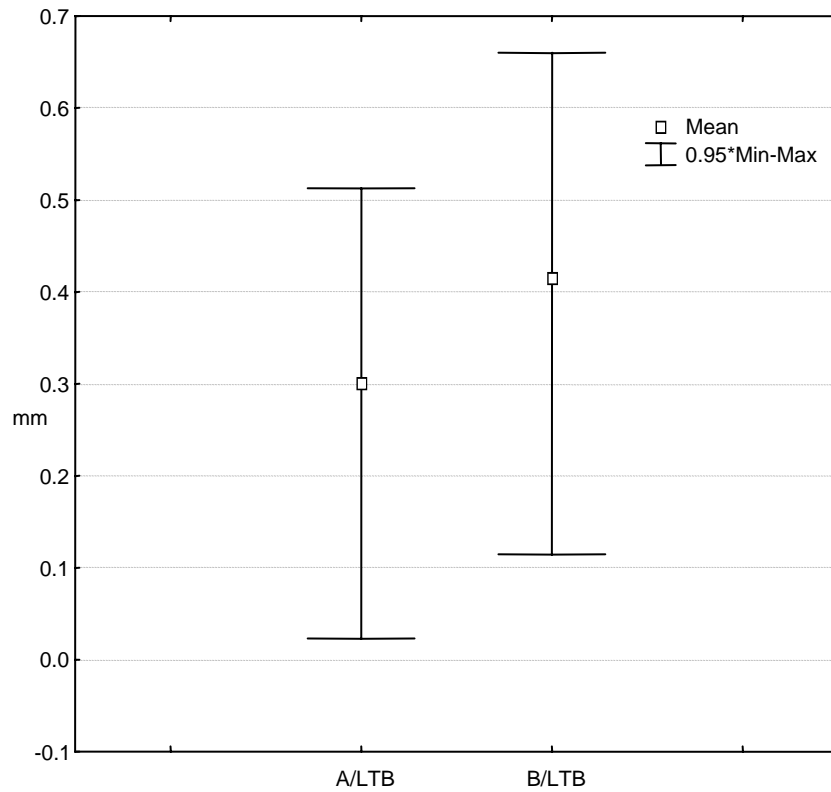


Figura 4. Ubicación relativa del *signum* dentro del *corpus bursae* en *Callophrys xami*. Largo total del *corpus bursae* (LTB); distancia de base del *corpus bursae* a la base del *signum* (A) y distancia de la base del *corpus bursae* a la punta del *signum* (B).

La longitud de los *signa* es casi tres veces mayor que el largo de su base (BASE = 0.008 ± 0.002 mm; largo menor (L1) = 0.025 ± 0.006 y largo mayor (L2) = 0.021 ± 0.005 mm; promedio de L1 y L2 = 0.023 ± 0.005 mm). Los *signa* ocupan una porción muy pequeña dentro del *corpus bursae*, ya que, tanto el largo del *signa* (L1 y L2) como su BASE alcanzan promedios que representan menos de la décima parte del largo y ancho del *corpus bursae* (LTB: 0.221 ± 0.041 mm; ANCB 0.115 ± 0.032) (Cuadro 2, Fig. 4).

Cuadro 2. Estadística que describe las características de tamaño y ubicación de *signa*

| Características | N | Media | Mediana | Minim | Máxi | Cuartil Inf. | Cuartil Sup. | D.E. | E.E. | CV | K-S | P |
|--|----|-------|---------|-------|------|--------------|--------------|-------|------|--------|------|-----|
| Ala | 3 | 0.21 | 0.21 | 0.14 | 0.2 | 0.19 | 0.24 | 0.02 | 0.00 | 13.1 | 0.10 | >.2 |
| Base | 10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0 | 24.70 | 0.09 | >.2 |
| Largo 1 | 10 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.04 | 0.0 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 24.292 | 0.05 | >.2 |
| Largo 2 | 10 | 0.02 | 0.02 | 0.0 | 0.03 | 0.01 | 0.02 | 0.00 | 0 | 24.40 | 0.04 | >.2 |
| Ángulo | 10 | 66.4 | 68.2 | 2 | 120. | 56.7 | 77.0 | 20.86 | 2.0 | 31.1 | 0.09 | >.2 |
| Largo promedio | 10 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.03 | 0.0 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 22.80 | 0.05 | >.2 |
| Ancho/largo | 10 | 0.38 | 0.36 | 0.21 | 0.85 | 0.30 | 0.44 | 0.10 | 0.0 | 27.8 | 0.08 | >.2 |
| Largo total <i>corpus bursae</i> | 10 | 0.22 | 0.22 | 0.12 | 0.34 | 0.19 | 0.24 | 0.04 | 0.00 | 18.63 | 0.07 | >.2 |
| Ancho de la <i>bursae</i> | 10 | 0.11 | 0.12 | 0.04 | 0.18 | 0.08 | 0.13 | 0.03 | 0.00 | 28.07 | 0.09 | >.2 |
| Distancia de base del <i>corpus bursae</i> a base del <i>sianum</i> (A) | 10 | 0.06 | 0.06 | 0.0 | 0.11 | 0.05 | 0.07 | 0.01 | 0.00 | 24.46 | 0.10 | >.2 |
| Distancia de base del <i>corpus bursae</i> a punta del <i>signum</i> (B) | 10 | 0.0 | 0.08 | 0.02 | 0.13 | 0.07 | 0.10 | 0.01 | 0.00 | 19.75 | 0.07 | >.2 |

El análisis de homogeneidad de coeficientes de variación obtenido entre las características de tamaño de *signa* (BASE, L1 y L2) y tamaño corporal indica que no existen diferencias significativas entre los coeficientes de variación (*ji cuadrada* = 0.01 $P > 0.05$) (Cuadro 2).

Las tres medidas de los *signa* están correlacionadas positivamente con el tamaño corporal (Cuadro 3). Las tres medidas de los *signa* presentaron una hiperalometría significativa, mientras que las medidas de ubicación de los *signa* presentan una alometría nula (Cuadro 4, Fig. 5).

Cuadro 3. Correlaciones positivas entre características de *signa* y tamaño corporal (ALA)

| Características | Media | D.E. | r(X,Y) | r | t | P | N |
|-----------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|----|
| ALA | 1,641 | 0,103 | | | | | |
| BASE | 0,008 | 0,002 | 0,417 | 0,174 | 2,674 | 0,011 | 36 |
| ALA | 1,641 | 0,103 | | | | | |
| LARGO 1 | 0,025 | 0,006 | 0,325 | 0,105 | 2,003 | 0,053 | 36 |
| ALA | 1,641 | 0,103 | | | | | |
| LARGO 2 | 0,02 | 0,005 | 0,378 | 0,143 | 2,377 | 0,023 | 36 |

Cuadro 4. Coeficientes alométricos (β), obtenidos de la relación entre tamaño corporal (ALA) y características de tamaño de los *signa*

| Característica | β | N | R ² | F | P |
|----------------|---------|----|----------------|-------|-------|
| BASE | 1,572 | 35 | 0,188 | 7,657 | 0,009 |
| LARGO 1 | 1,318 | 35 | 0,117 | 4,384 | 0,044 |
| LARGO 2 | 1,435 | 35 | 0,153 | 5,980 | 0,020 |
| LTB | -0,014 | 35 | 0,000 | 0,002 | 0,968 |
| A | 0,031 | 35 | 0,000 | 0,003 | 0,958 |
| B | 0,385 | 35 | 0,021 | 0,696 | 0,410 |

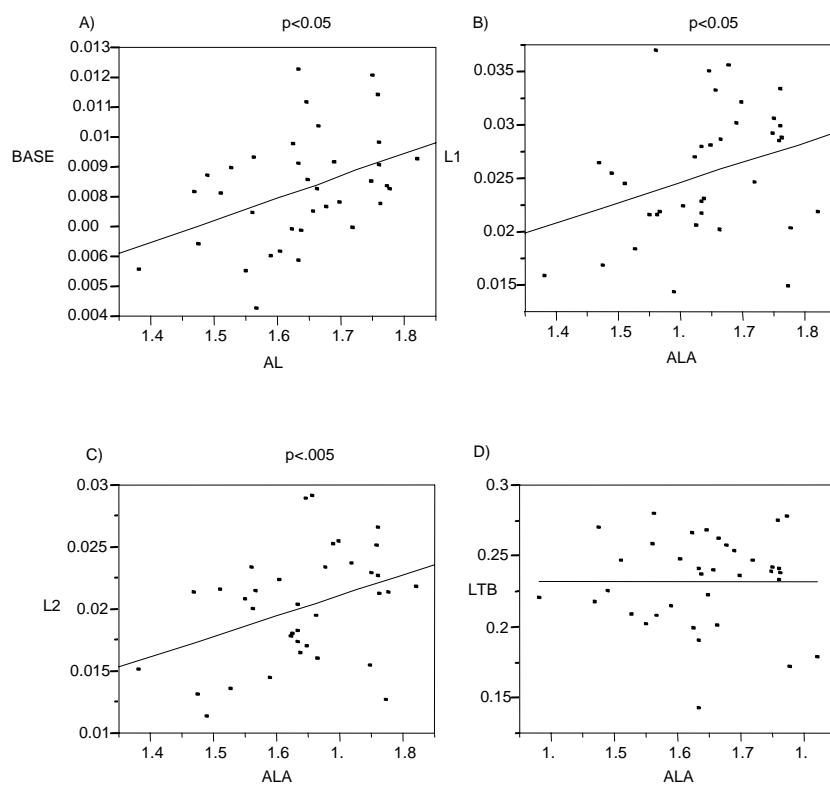


Figura 5. Regresiones entre tamaño corporal (longitud del ala izquierda, cm; ALA) y características de tamaño de *signa* (mm) A) BASE, B) L1, C) L2 y D) LTB.

Análisis de la Función de los *signa*

Las observaciones realizadas permiten poner a prueba 18 de las 23 predicciones (78.3%) de seis de las siete hipótesis planteadas acerca de la función de los *signa* (la excepción es la H5; Cuadro 1).

En *Callophrys xami* los *signa* no pueden servir para estimular la eyaculación del macho, como propone la H1, debido a que, contrario a lo que se espera de acuerdo a las predicciones P1.1, P1.3 y P1.5, durante la cópula estas estructuras no entran en contacto con ninguna parte del *edeago* o de la *vesica* (ésta es una estructura membranosa que se encuentra dentro del *edeago*, la cual sale y se inserta dentro del *ductus bursae* y el *corpus bursae* durante la cópula). En diez de diez disecciones de parejas en cópula se observó que apenas una pequeña porción de la *vesica* evertida entra dentro del *corpus bursae*, quedando muy alejada de los *signa* (Fig. 3)

De acuerdo con la H2, los *signa* de *C. xami* rompen la cubierta del espermatóforo (P2.1), ya que en 15 de 28 disecciones realizadas entre 7 y 7½ horas después de terminada la cópula, los *signa* estuvieron enterrados en la pared del espermatóforo y la rompieron (Figs. 6 y 9). Por otra parte, de acuerdo con la P2.2, los *signa* tienen forma de espina puntiaguda y esclerotizada que parece estar diseñada para perforar, además de que se ubican en una posición que corresponde a la porción del *corpus bursae* donde se deposita el espermatóforo (el *collum* del espermatóforo se encuentra en su mayor parte dentro del *ductus bursae*, de manera que el cuerpo de un espermatóforo recién depositado se encuentra muy cerca de la apertura del *ductus bursae* y relativamente lejos del fondo del *corpus bursae*), lo que podría permitir que una contracción lateral del *corpus bursae* a la altura de los *signa* pusiera a estas estructuras en contacto con el espermatóforo (Figs. 3 y 6).

Las observaciones realizadas permiten rechazar la segunda versión de la hipótesis 2 (H2.2) que propone que es necesario romper el espermatóforo para que los espermatozoides salgan de este y migren hacia la espermateca, ya que las disecciones muestran que las espermatecas estaban llenas de espermatozoides a las 3 h (N = 4) después de concluida la cópula (Figs. 7 y 9). En este tiempo los *signa* aún no han perforado el espermatóforo. Aunque no tenemos datos precisos de si es necesaria la ruptura del espermatóforo para digerir las sustancias que este contiene, sabemos que las hembras pueden reproducirse aun cuando no

tengan *signa* a juzgar por una hembra que encontramos sin *signa* y puso un número promedio normal de huevos. Desgraciadamente no pudimos seguir criando descendientes de esta hembra.

La predicción general de H3 se cumple en *C. xami*, ya que los *signa* sí entran en contacto con el espermátforo (aunque P3.1 no se refiere a que los *signa* rompan la pared del mismo al tocarlo, como ocurre en *C. xami*). La versión H3.1 plantea que los *signa* tienen la función de sujetar al espermátforo durante todo el proceso que culmina en la transferencia de espermatozoides hacia la espermateca, por lo que esta hipótesis puede descartarse con la misma evidencia que se utilizó para rechazar la H2.2: los *signa* entran en contacto con el espermátforo mucho después de que ocurre la transferencia de espermatozoides.

De acuerdo con la versión H3.3, los *signa* sirven para retener el espermátforo en el momento en que el *edeago* es retirado de la hembra. Aunque no se observó qué sucede con los *signa* cuando el macho saca el *edeago* de la hembra, parece poco probable que H3.3 sea correcta debido a que la forma y dureza de los *signa*, aunada a la relativamente delgada cubierta del espermátforo (observación personal), hacen poco probable que los *signa* puedan sujetar el espermátforo sin romperlo. Es decir que si los *signa* tocaran el espermátforo al momento de que sale el espermátforo, este se habría roto desde este momento y no entre 7 y 7½ horas después.

En *C.xami* se puede descartar la H4 porque los *signa* no funcionan como filtros que permiten el paso de los espermatozoides, a la vez que evitan que el *ductus seminalis* se bloquee con partículas más grandes (Hinton, 1964), tales como fragmentos de espermátforo. Ninguna de las tres predicciones de esta hipótesis encuentra apoyo en las observaciones de *C. xami*. La migración de los espermatozoides hacia la espermateca ocurre mucho antes de la degradación de los espermátforos por lo que la predicción P4.1 no se cumple (Fig. 7 y 9). Contrario a lo esperado, de acuerdo con la P4.2, los *signa* no se encuentran cerca de la apertura del *ductus seminalis*, ya que esta última se encuentra ubicada en el *ductus bursae*, mientras que los *signa* se encuentran a la altura del primer tercio del *corpus bursae*. Por otra parte, la forma de espina delgada y relativamente pequeña de los *signa* de *C. xami* no parece ser el diseño más adecuado para actuar como un filtro (P4.3).

La evidencia con que se cuenta no permite evaluar la H5. Sin embargo, al examen de los *signa* bajo el microscopio no hemos encontrado evidencia de pelos u otras estructuras cuya forma y ubicación sugieran un órgano sensorial.

Al igual que con la H1, la H6 en todas sus versiones se puede descartar por el hecho de que el contacto requerido entre los *signa* y el *edeago* o la *vesica* nunca ocurre (Fig. 3). Además, la morfología de los *signa* y el *edeago* no sugiere siquiera la existencia de estructuras “complementarias” que permitan un “acoplamiento” (Figs. 3 y 8).

Finalmente, las observaciones de *C. xami* proveen evidencia en contra de las tres predicciones de la H7. En primer lugar, ningún aspecto del *edeago* o de la *vesica* sugiere la existencia de estructuras que pudieran causar un daño mecánico a las paredes del *corpus bursae* (P7.1). La *carina* del *edeago* no tiene aspecto puntiagudo ni tiene forma de sierra o navaja, y no parecen existir *cornuti* en la *vesica* (Fig. 8). En segundo lugar, la forma de espina angosta de los *signa* de *C. xami* no tiene el aspecto de una estructura diseñada para actuar como escudo contra espinas puntiagudas o sierras y navajas bien afiladas (P7.2) (Fig. 8). Por último, como ya se mencionó anteriormente, durante la cópula solo una pequeña porción de la *vesica* entra dentro del *corpus bursae* y no parece posible que esta porción pudiera siquiera tocar las paredes del mismo, además de que los *signa* en ningún momento parecen entrar en contacto con la *vesica* (de hecho parecen estar bastante alejados uno de otro) (Fig. 3), por lo que no tiene sentido la P7.3 para esta especie.

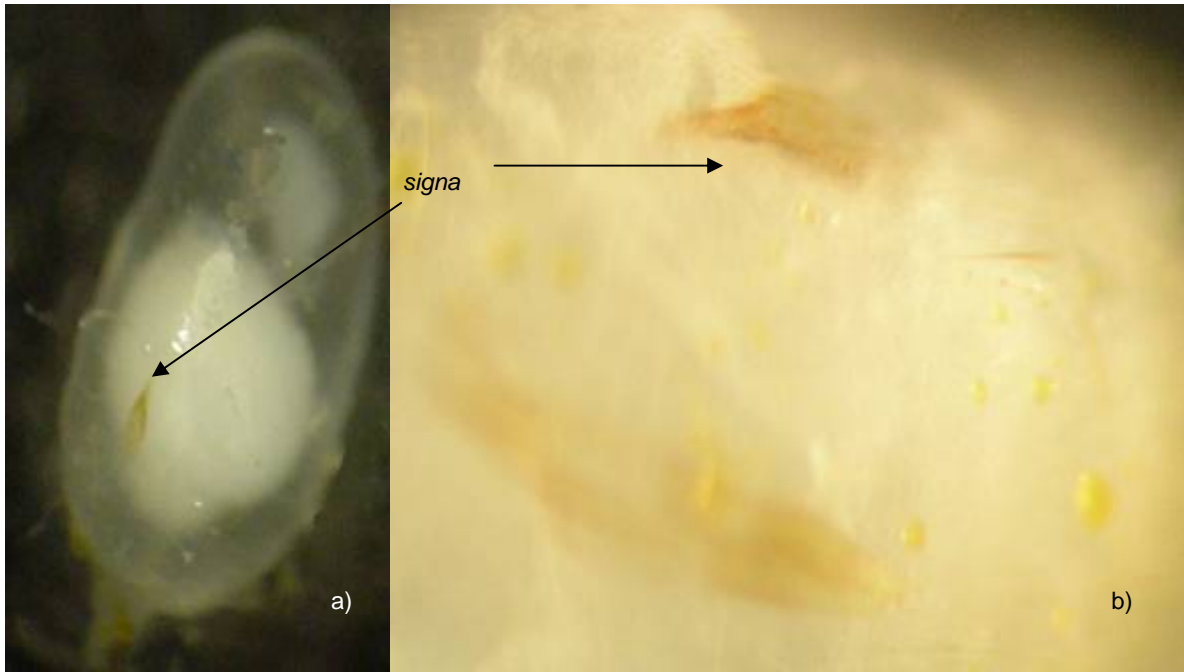


Figura 6. *Corpus bursae* de *Callophrys xami* (a) *signum* perforando un espermatóforo y (b) acercamiento de un *signum* rompiendo un espermatóforo en otro organismo.

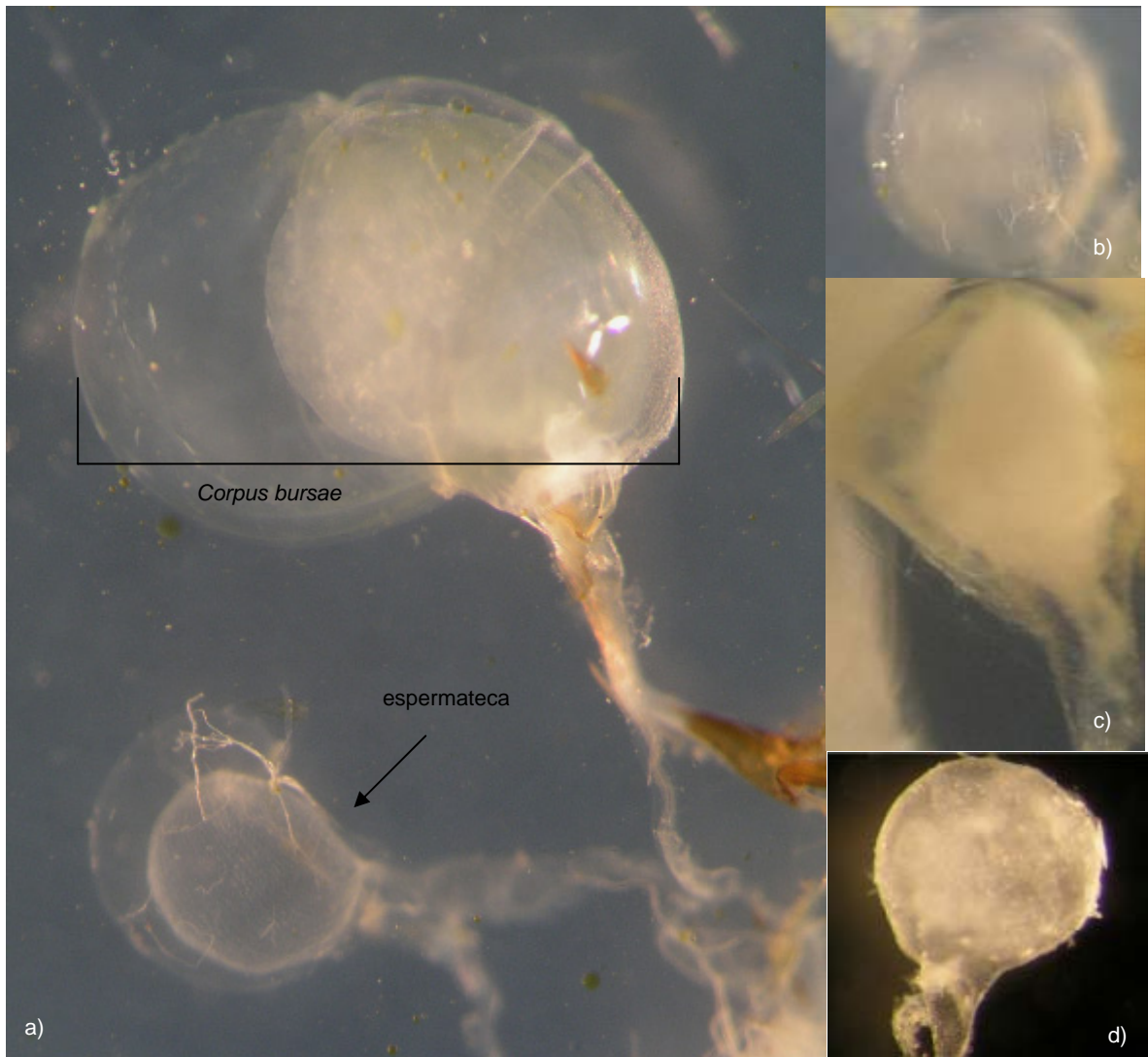
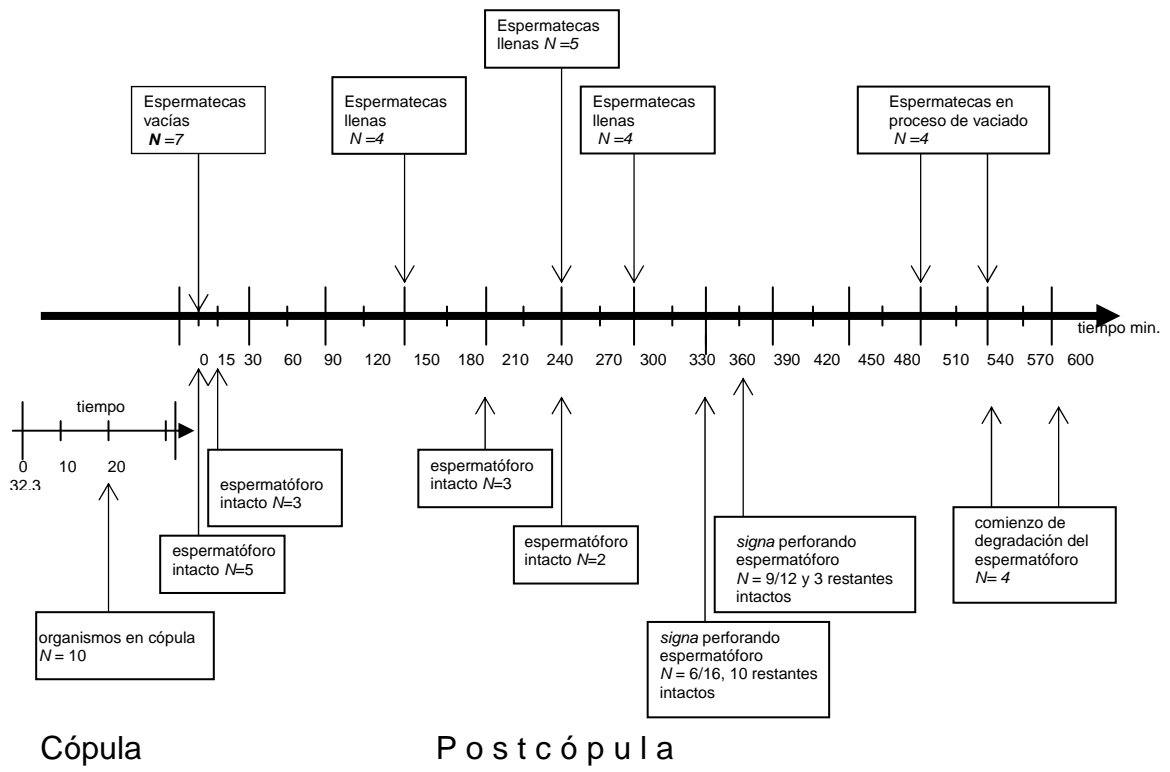


Figura 7. Espermatecas de diferentes hembras de *Callophrys xami* después de distintos tiempos de concluida la cópula: a) Corpus bursae y espermateca 15 minutos después; b) 3 horas, c) 6 1/2 horas y d) 8 horas.



Figura 8. (a) Órgano copulatorio (edeago) completo de un macho de *Callophrys xami*), (b) y (c) Acercamientos de la parte terminal del edeago (vésica) de organismos de *Callophrys xami*.



DISCUSIÓN

La distribución taxonómica y la diversidad morfológica de los *signa* sugieren que estos órganos han evolucionado de manera rápida y divergente (con respecto a otras estructuras), un patrón característico de intensa selección sexual actuando en las características de los genitalia. Esta interpretación se ve reforzada por el hecho de que los *signa* son estructuras que utilizan los taxónomos para distinguir a las especies (Sánchez, 2004).

Morfología de los *Signa* de *Callophrys xami*

De acuerdo a la hipótesis de la selección sexual, las características de los genitalia se encuentran sujetas a selección sexual direccional intensa (Arnqvist, 1997), y teóricamente se espera que presenten niveles de variación reducidos (como caracteres "clásicos de selección sexual"; Kirkpatrick y Ryan, 1991). Sin embargo, contrario a esta predicción, las características sujetas a selección sexual típicamente presentan niveles de variación altos. Pomiankowski y Moler (1995), en su revisión que incluyó 30 especies compararon la variación genética entre características blanco de selección sexual y características de morfología general, y encontraron altos o intermedios grados de variación genética en características sujetas a selección sexual como resultado de altos niveles de varianza genética aditiva. Nuestros resultados, acorde a lo esperado por la hipótesis de selección sexual, muestran que las características de los *signa* presentan CV más altos que los CV de la característica del tamaño general del cuerpo. Sin embargo, estas diferencias no resultaron significativas. En un estudio de 20 especies de insectos y arañas Eberhard y colaboradores (1998) también encontraron que los CV de características genitales eran similares a los de características que supuestamente no están sujetas a selección sexual. House y Simmons (2002) sugirieron que los valores de variación fenotípica pueden ser mejor entendidos en términos del balance entre selección sexual y natural señalando que la selección natural debería favorecer estructuras de una forma y tamaño apropiado para facilitar los mecanismos básicos de copula y transferencia de esperma, y la selección sexual direccional vía éxito en la fertilización, debería tener el potencial para elaborar esas estructuras, conduciendo a la variación en morfología genital pero solo al grado en que los mecanismos de cópula no fueran comprometidos. Moczek y Nijhout (2004), realizaron un estudio experimental con el escarabajo *Ontophagus taurus* que consistió

en remover células precursoras genitales y sus resultados sugieren que las características genitales y de morfología general pueden actualmente competir por un recurso común durante el desarrollo. Arnqvist (1994), en su estudio con chinches patinadoras (*Gerris odontogaster*), encontró que la mortalidad diferencial entre fenotipos durante eventos ontogenéticos pudo potencialmente no solo influir la evolución del tamaño corporal, sino, también restringir la evolución de características sexuales secundarias.

Por otro lado, nuestros resultados muestran una correlación positiva entre el tamaño corporal y características del tamaño de los *signa*, lo cual sugiere al menos en alguna medida, que la pleiotropía puede estar jugando un papel en la evolución de las características de tamaño de los *signa* (Arnqvist, 1997).

Encontramos una relación alométrica positiva (hiperalometría) entre el tamaño corporal y los tres estimadores del tamaño de los *signa* (BASE, L1 y L2), es decir, el tamaño de los *signa* se incrementa más rápidamente que el tamaño corporal. Hosken y Stockley (2004) mencionan que la hiperalometría está asociada con la existencia de selección direccional sobre la característica. En el caso de *C. xami* podría ocurrir que las hembras más grandes reciben espermatozoides con cubiertas más gruesas (debido a que son más “valiosas” para los machos, ya que podrían producir más descendientes) que requieren *signa* más grandes para romperse. Por otra parte, Green (1992) propone que las características genitales pueden ser hiperalométricas por al menos dos razones. La primera, es que el tamaño corporal no influye en el éxito reproductivo. Sin embargo, este no es el caso en las hembras de Lepidoptera en general (Miller, 2005) y de *C. xami* en particular (C. Cordero, datos no publicados), ya que el tamaño se correlaciona positivamente con el número de huevos producidos. La segunda razón propone que los caracteres genitales se incrementan más rápidamente que el tamaño corporal como resultado directo de un ambiente limitado, donde los costos de alcanzar una talla corporal grande resultan mucho más elevados que los beneficios que esto pudiera traer. En el caso de los *signa* de *C. xami* esta explicación tampoco parece plausible debido a que las larvas fueron criadas individualmente (es decir, en ausencia de competencia), con alimento *ad libitum* y en condiciones ambientales benignas.

Función de los *signa* de *Callophrys xami*

La evidencia obtenida en este estudio indica que la función de los *signa* en *C. xami* es la de romper los espermatóforos (Hipótesis H2). Esto se ve apoyado por el hecho de que los *signa* poseen la forma y ubicación adecuadas para perforar el espermatóforo. Los espermatozoides migran hacia la espermateca mucho antes que se rompa el espermatóforo. Por lo anterior, y por el hecho de que existe evidencia que sugiere que las hembras obtienen recursos de los espermatóforos (C. Cordero, datos no publicados), me inclino a pensar que al romper los espermatóforos los *signa* permiten iniciar la utilización y digestión de las sustancias que contienen (H2.1).

Aunque la predicción general de H3 se cumple, parece difícil que los *signa* de *C. xami* tengan como única función el sostener el espermatóforo, ya que difícilmente pueden hacer esto sin romperlo.

Para evaluar H5 es necesario hacer estudios micro-estructurales y fisiológicos para determinar si los *signa* pueden actuar como órganos sensoriales que permiten detectar la presencia y medir el tamaño de los espermatóforos. Sin embargo, al examinar los *signa* bajo el microscopio no encontré evidencia de pelos u otras estructuras cuya forma y ubicación sugieran un órgano sensorial.

Función de los *signa* en Otros Lepidoptera

¿Podemos generalizar que la función de los *signa* es romper la pared de los espermatóforos para permitir la utilización de las sustancias que contienen?

Pienso que la respuesta es no, ya que los *signa* son estructuras que presentan una amplia variación entre especies en el tamaño, forma, número, grado de esclerotización y ubicación dentro del *corpus bursae* (Sánchez, 2004), y para algunas especies de lepidópteros, las características de los *signa* pudieran ser compatibles con algunas de las funciones descartadas para *C. xami*. Por ejemplo, los *signa* pudieran funcionar como órganos que permiten el “acoplamiento” (“locking”) de estructuras complementarias del *edeago*, tales como la *carina* o los *cornuti* (H6). Mikkola (1992, 1993), en sus estudios con especies del género *Apamea* (Noctuidae) y *Eupithecia* (Geometridae) presenta evidencia de correspondencia entre las características de la bursa copulatrix y el *edeago* que interpreta como un mecanismo “llave-

cerradura” que ha evolucionado de aislamiento reproductivo post-copulatorio. Nauman (1987 En Mikkola, 1992), también encuentra correspondencia morfológica en *Zygaena Fabricius* (Lepidoptera: Zygaenidae), entre los genitalia de machos y hembras relacionados con la inserción del *edeago* dentro del *ductus bursae*. Sin embargo, la correspondencia anatómica no es en si misma una prueba de la hipótesis “llave-cerradura” pues tal compatibilidad puede ser mucho mejor explicada por otras hipótesis evolutivas como la selección sexual por elección críptica de las hembras; el reconocimiento genital por estimulación, competencia espermática o el pleiotropismo (Eberhard, 1985). Arnqvist (1998), en un estudio comparativo donde incluyó cuatro órdenes de insectos que difieren en sistemas de apareamiento proporciona clara evidencia en contra de la hipótesis de llave-cerradura como mecanismo que explique la evolución de la genitalia. Por otro lado, tampoco puede descartarse la posibilidad de que en otras especies los *signa* puedan funcionar como escudos que eviten daño al *corpus bursae*. Por ejemplo, en el género *Dichomeris* (Lepidoptera: Gelechiidae), se presentan diversas especies (*Dichomeris horoglifa, hodgesi, obsepta, malacodes, cuspis, violacula, acritopa, polygona, saxafurca, varifurca, bifurca*) (Li y Zheng, 1996), con *edeagos* que presentan estructuras en forma de lóbulos fuertemente esclerotizadas que podría pensarse dañan el *corpus bursae* y *signa* muy esclerotizados que pudieran actuar como escudos protectores que evitan el daño que pudieran causar dichos lóbulos. Existen algunos trabajos que sugieren que la evolución de contrapartes femeninas reducen el daño producido por estructuras masculinas, esas contrapartes femeninas pueden ser respuestas de tipo morfológicas, fisiológicas o conductuales (Reinhardt *et al.* 2003), por ejemplo, las hembras de las chinches patinadoras (Heteroptera: Gerridae), presentan espinas abdominales como una contradaptación morfológica a prolongados ganchos utilizados por los machos para sostenerlas (Arnqvist y Rowe, 2002). Por otro lado evidencia experimental sugiere que una estructura anatómica llamada *spermalege* presente en hembras de la chinche *Cimex lectularius*, ha evolucionado como una contradaptación para reducir los costos impuestos debidos a inseminación traumática de parte del macho (Reinhardt *et al.* 2003). Crudgington y Siva-Jothy (2000), encontraron que hembras de *Callosobruchus maculatus* patean constantemente a sus parejas durante la cópula como una conducta que reduce el daño genital producido por espinas fuertemente esclerotizadas presentes en el órgano intromitente de los machos. La forma de los

signa de muchas especies sugiere que la ruptura de los espermatóforos podría ser una función bastante común (Hinton 1964; Rogers y Welles, 1984; Tschudi-Rein and Benz, 1990; Cheong et al, 1990; Sánchez, 2004), no obstante, no podemos descartar que la ruptura tenga como fin de permitir o ayudar a que los espermatozoides salgan del espermatóforo y migren hacia la espermateca (H2.2), más que permitir el uso de los recursos contenidos en el espermatóforo (H2.1). Sin embargo, nosotros nos inclinamos más por H2.1 debido a que, de acuerdo con Drummond (1984) y Simmons y Siva-Jothy (1998), la migración de los espermatozoides del espermatóforo hacia la espermateca requiere que la apertura por donde salen los espermatóforos esté perfectamente opuesta a la desembocadura del *ductus seminalis* (la cual puede encontrarse en el *ductus bursae* o en el *corpus bursae*) y es posible que el rasgado o perforación del espermatóforo afecten negativamente este acomodo.

Si los *signa* son necesarios para tener acceso a los nutrientes contenidos en el espermatóforo, ¿cómo adquieren dichos nutrientes las especies sin *signa*? A juzgar por la hembra que encontramos sin *signa*, parece que esta estructura no es necesaria en *Callophrys xami* para que las hembras puedan poner un número de huevos cercano al promedio y que estos puedan eclosionar, sin embargo, desafortunadamente no pudimos realizar experimentos que nos pudieran indicar si la ausencia de *signa* evita la degradación de los espermatóforos o si esta ausencia afecta la tasa de degradación de los mismos. Importante variación ha sido reportada en cuanto a la presencia de *signa* en la mariposa *Mitoura b. barryi*. La variación en la presencia de los *signa* puede ser resultado de algún tipo de mutación o restricción ambiental donde los costos de producir dicha característica excedan los beneficios de su desarrollo. Por ejemplo, Miller y Pitnick (2003), encontraron que hembras de *Drosophila melanogaster* pueden enfrentar los costos del tiempo que se necesita para desarrollar grandes órganos de almacén de espermatozoides, debido a que obtienen considerables beneficios al almacenar grandes cantidades de espermatozoides. Sin embargo estos costos pueden haber impedido la evolución de estructuras similares en otras *Drosophilas*.

Por otro lado, en especies monándricas no esperamos que los espermatóforos sean difíciles de romper debido a que en estas especies suelen presentarse cubiertas de espermatóforos delgadas (por ejemplo, se podría lograr la ruptura o perforación con ayuda de alguna enzima o simplemente con la presión generada por las paredes del *corpus bursae* al

contraerse). Sin embargo, existen algunas especies poliándricas en las que no existen *signa* (por ejemplo, el hespérido *Urbanus proteus*; Sánchez, 2004). Una posible respuesta se encuentra en el estudio realizado por Cheong y colaboradores (1990) donde se incluyen 12 especies de la familia Pieridae, un grupo altamente poliándrico (obviamente con algunas excepciones). Estos autores encontraron que la pared interna del corpus bursae presenta finas protuberancias que sostienen el espermátforo y ayudan a rasgarlo. Estas protuberancias aparentemente sustituyen a los *signa* pues, se ha encontrado que dichas estructuras varían entre especies y su tamaño y grado de rigidez están relacionados de manera inversa con la existencia de *signa* en el *corpus bursae*.

¿Por qué será necesario que las hembras de Lepidoptera desarrollen un órgano especializado para la ruptura de los espermátforos? Cordero (2005) plantea hipótesis sobre el origen evolutivo de los *signa* y todas ellas suponen que las hembras obtienen recursos de los espermátforos transferidos por los machos. Una hipótesis considera que cambios en las condiciones ambientales que favorecen un incremento en la tasa de oviposición, también podrían favorecer la evolución de los *signa*. Otro grupo de hipótesis propone que la coevolución sexual es la responsable de la evolución de los *signa*. Por ejemplo, la relación inversa entre la duración del periodo refractario de las hembras y la cantidad de eyaculado remanente en el *corpus bursae*, observada en muchos lepidópteros, favorece en los machos la evolución de espermátforos gruesos con alto contenido de quitina que incrementan la duración del periodo de no-receptividad sexual más allá del óptimo para las hembras. En estas condiciones, la selección favorecerá en las hembras la evolución de los *signa* como una contra-adaptación para restaurar el óptimo en las hembras incrementando la tasa de digestión de los espermátforo. Existen diversos trabajos que han abordado la coevolución a nivel genital en insectos los cuales sugieren que los conflictos entre los sexos sobre el control de decisiones reproductivas pueden conducir a coevolución de características sexuales de machos y hembras (Arnqvist, 1989; Arnqvist y Rowe, 2002; Sakaluk *et al.*, 1995; Crudgington y Siva-Jothy, 2000; Reinhardt *et al.*, 2003). Por ejemplo, Cordoba-Aguilar (2005), sugiere una posible coevolución en la libélula *Calopteryx haemorrhoidalis*. El encontró que el *edeago* de esta especie presenta considerable variación y una correlación positiva con el volumen de esperma que puede ser expulsado de la spermateca. Al mismo tiempo, encontró que las hembras de *C.*

haemorrhoidalis presentan una reducción significativa de número de sensilios lo que considero un posible mecanismo de respuesta coevolutiva para hacer que la expulsión de esperma por los machos sea menos efectiva.

LITERATURA CITADA

- Arnqvist, G.1989. Sexual conflict and arms races between the sexes: a morphological adaptation for control of mating in a female insect. *Proceedings of the Royal Society London Ser. B* 261: 123-127.
- Arnqvist, G. 1994. The cost of male secondary sexual traits: developmental constraints during ontogeny in a sexually dimorphic water strider. *The American Naturalist* 144: 119-132.
- Arnqvist, G.1997. The evolution of animal genitalia: distinguishing between hypotheses by single species studies. *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 365-379.
- Arnqvist, G.1998. Comparative evidence for the evolution of genitalia by sexual selection. *Nature* 393: 784-786.
- Arnqvist, G. y L. Rowe. 2002. Antagonistic coevolution between the sexes in a group of insect. *Nature* 415:787-789.
- Beutelspacher, C. R. 1980. *Mariposas diurnas del Valle de México*. Ed. Científicas L. P. M. M. México. 33pp.
- Boggs, C. L., y L. E. Gilbert. 1979. Male contribution to eggs production in butterflies: Evidence for transfer of nutrients at mating. *Science* 206: 83-84.
- Bradley, J. D. 1968. Description of two new genera and species of Phycitinae associated with *Hypsipyla robusta*. (Moore) on Meliceae in Nigeria (Lepidoptera, Pyralidae), *Bulletin of Entomological Research* 57: 605-613
- Cheong, S. W., C. E. Lee y H. C. Park. 1990. A microscopic study on the bursa copulatrix of Korean Pieridae (Lepidoptera). *Esakia*, Special Issue 1: 167-172.
- Clench, H. K. 1981. New *Callophrys* (Lycaenidae) from North and Middle America. *Bulletin of the Allyn Museum* 64: 1-31.
- Cordero, C. y J. Soberón. 1990. Non- resource based territoriality in males of the butterfly *Xamia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal Insect Behavior* 3:719-732.
- Cordero, C. 1995. Ejaculate substances that affect female insect reproductive physiology and behavior: honest or arbitrary traits. *Journal of Theoretical Biology* 174: 453-461.
- Cordero, C. 1998. *Ecología del comportamiento sexual de los machos de la mariposa Callophrys xami (Lycaenidae), con algunas consideraciones acerca de la evolución*

- del semen de los insectos*. Tesis Doctoral. Instituto de Ecología, UNAM, México, 100pp.
- Cordero, C. R. Macías y G. Jiménez. 2000. The number of copulations of territorial males of the butterfly *Callophrys xami* (Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 35: 78-80.
- Cordero, C. 2005. The evolutionary origin of *signa* in female Lepidoptera: Natural and sexual selection hypotheses. *Journal of Theoretical Biology* 232: 443-449.
- Córdoba-Aguilar, A. 2005. Possible coevolution of male and female genital form and function in a calopterygid damselfly. *Journal of Evolutionary Biology*. 18: 132-137.
- Crudginton, H. S. y M. T. Siva-Jothy. 2000. Genital damage, kicking and early death. *Nature* 407:855-856.
- Drummond III, B. A., 1984. *Multiple mating and sperm competition in lepidoptera*. En: Smith, R. L. (Ed.). *Sperm Competition and the Evolution of the Animal Mating System*. Academic Press, Orlando, pp. 291-371.
- Eberhard, W. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Harvard University Press.
- Eberhard, W. G., B. A. Huber, R. L. Rodríguez., R. D. Briceño., I. Salas y V. Rodríguez. 1998. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. *Evolution* 52: 415-431.
- Fairbairn, D. J. 1997. Allometry for sexual size dimorphism: Pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Annual Review of Ecology Systematics* 28: 659-687.
- Ferris, C. D. 1991. Appearance of the "heathii" aberration and genitalic variation in a *Mitoura* population from Oregon (Lycaenidae): Theclinae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 30: 113-120.
- Gozmany, L. 2002. Some Lecithocerid species from Morocco and the middle east (Lepidoptera-Lecithoceridae). *SHILAP Revista de Lepidopterología* 30: 33-38.
- Green, A. 1992. Positive allometry is likely with mate choice, competitive display and other functions. *Animal Behaviour* 43:170-172.
- He, Y. Y. Y. Tsubaki. 1991. Effects of spermatophore size on female remating in the armyworm, *Pseudaletia separata*, with reference to larval crowding. *Journal of Ethology* 9: 47-51.

- Heppner, J. B. 1984. Revision of the Oriental and Nearctic Genus *Ellabella* (Lepidoptera: Copromorphidae). *Journal of Research on the Lepidoptera* 23: 50-53.
- Hinton, H. E., 1964. Sperm transfer in insects and the evolution of haemocelic insemination. En: Highnam, K. C. (Ed.), *Insect Reproduction. Symposium of the Royal Entomological Society of London*, London, pp. 95-107.
- Hosken, D. J. y P. Sockley. 2004. Sexual selection and genital evolution. *Trends in Ecology and evolution* 19: 87-93.
- House, C. M. y L. W. Simmons. 2002. Genital morphology and fertilization success in the dung beetle *Onthophagus taurus*: an example of sexually selected male genitalia. *Proceedings of the Royal Society London Ser. B* 270:447-455.
- Jiménez, G. C. 1987. *Reproducción, mantenimiento y cultivo en el laboratorio de Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, 89pp.
- Jiménez, G. y J. Soberón. 1988-1989. Laboratory rearing of *Sandia xami* (Lycaenidae, Eumaeini). *Journal of Research on the Lepidoptera* 27: 268-271.
- Karlsson, B. 1995. Resource allocation and mating system in butterflies. *Evolution* 263: 187-192.
- Karlsson, B. 1996. Mate reproductive reserves in relation to mating system in butterflies: a comparative study. *Proceedings of the Royal Society London Serie B* 263:187-192.
- King, L. 2003. The evolution of insect mating structures through sexual selection. *Florida Entomologist* 86:124-133.
- Kirkpatrick, M., M. J. Ryan. 1991. The evolution of mating preferences and paradox of lek. *Nature* 350: 33-38.
- Li, H. y Z. Zheng. 1996. A systematic study on the genus *Dichomeris* Hübner, 1818 from China (Lepidoptera: Gelechiidae). *SHILAP Revista de Lepidopterología* 24: 229-273.
- Mikkola, K. 1992. Evidence for lock-and-key mechanisms in the internal genitalia of the Apamea moths (Lepidoptera, Noctuidae). *Systematic Entomology* 17: 145- 153.
- Mikkola, K. 1993. The lock-and-key mechanisms of the internal genitalia of the noctuid and geometrid moths (Lepidoptera) in relation to speciation concepts. *Folia Baeriana* 6: 149-157.

- Miller, G. T. y S. Pitnick. 2003. Functional significance of seminal receptacle length in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 16: 114-126.
- Miller, W. E. 2005. Extrinsic effects on fecundity-maternal weight relations in capital- breeding Lepidoptera. *Journal of the Lepidopterists' Society* 59: 143-160.
- Moczek, A. P. y H. F. Nijhout. 2004. Trade offs during the development of primary and secondary sexual traits in a horned beetle. *The American Naturalist* 163: 184-191.
- Oberhauser, K. S. 1989. Effects of spermatophores on male and female monarch butterfly reproductive success. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 25: 237-246.
- Oberhauser, K. S. 1992. Rate of ejaculate breakdown and intermating intervals in monarch butterflies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 31: 367-373.
- Parlange, P. P. 1991. Ciclo de vida de *Sandia xami* (Lepidoptera: Lycaenidae): su biología y notas acerca de su cultivo en laboratorio, Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 99 pp.
- Powell, J. A. 2003. *Lepidoptera (Moths, Butterflies)*. En: V. H. Vincent y R. T. Cardé (Eds.), *Encyclopedia of Insects*. Academic Press. pp. 631-663.
- Penz, C. M. 1999. Higher level phylogeny for the passion-vine butterflies (Nymphalidae, Heliconiinae) based on early stage and adult morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society* 127: 277-344.
- Pyle, R. M. 1981. *The Audubon Society Field Guide to North American Butterflies*. Alfred A. Knopf. New York. 917pp.
- Reinhardt, K. R. Naylor y M.T. Siva-Jothy. 2003. Reducing a cost of traumatic insemination: female bedbugs evolve a unique organ. *Proceedings of the Royal Society London Ser. B* 270: 2371-2375
- Rodríguez. 2000. *Scriptania. Hamson, 1905 y Strigania Hamson, 1905: Dos géneros hadeninos de la región neotropical (Lepidoptera: Noctuidae:Hadeninae)*. Tesis para obtener el grado de Magister en Cs Mención Zoología de la Universidad de Concepción.
- Rogers, S. y H. Wells 1984. The structure and function of the bursa copulatrix of the monarch butterfly (*Danaus plexippus*). *Journal of Morphology* 180, 213-221.

- Sakaluk, S. K., J. P. Bangert, A. -K. Eggert, C. Gack y L. V. Swanson. 1995. The gin trap as a device facilitating coercive mating in sagebrush crickets. *Proceedings of the Royal Society London Ser. B* 261: 65-71.
- Sánchez, V. M. 2004. *La evolución de los Signa (en) Lepidoptera: Un Estudio Comparativo de Coevolución Sexual*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Simmons, L. W. y M. T. Siva-Jothy. 1998. *Sperm competition in insects: mechanism and the potential for selection*. En *Sexual selection and sperm competition* (ed. T. Birkhead y A. P. Moller), 341-414 pp. London Academic Press.
- Scoble, M. J. 1992. *The Lepidoptera*. Oxford University Press, Oxford.
- Soberón, J., C. Cordero, B. Benrey, P. Parlante, C. García-Saez y G. Berges. 1988. Patterns of oviposition by *Sandia xami* (Lepidoptera) in relation to food plant apparency. *Ecological Entomology* 13: 71-79.
- Sugawara, T. 1979. Stretch reception in the bursa copulatrix of the butterfly *Pieris rapae* crucivora, and its role in behaviour. *Journal Comparative Physiology A* 130: 191-199.
- Tschudi- Rein, K, G. Benz. 1990. Mechanisms of sperm transfer in female *Pieris brassicae*. *Annals of the Entomological Society of America* 83: 1158-1164.
- Tuxen, S. L. (Ed.) 1970. *Taxonomist' Glosary of genitalia in Insects*. Second Edition. Munksgaard, Copenhagen, Denmark. 359 pp.
- Watanabe, M. y K. Sato. 1996. Aspermatophore structured in the bursa copulatrix of the small white *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) during copulation, and its sugar content. *Journal of Research on the Lepidoptera* 32: 26-36.
- Wiklund, C. y A. Kaitala 1993. Sexual selection for large male size in a polyandrous butterfly: The effect on body size of male versus female reproductive seccess in *Pieris napi*. *Behavioral Ecology* 6: 6-13.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth Edition. Prentice Hall, New Jersey.
- Ziegler, B. J. y T. Escalante. 1964. Observatios on the life history of *Callophrys xami* (Lycaenidae). *Journal Lepidoptera Society* 18: 85-89.