



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

**Dimorfismo sexual e intrasexual asociado a la condición
fisiológica, inmunológica y patrones conductuales de
Ischnura denticollis (Odonata: Coenagrionidae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

ERIK EDUARDO AGUILAR VACA



DIRECTOR DE TESIS:
DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA
STEYER

LOS REYES IZTACALA, TLANEPANTLA,
ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A la UNAM, la máxima casa de estudios, cuyos cimientos son el esfuerzo, el trabajo y la lucha diaria del pueblo mexicano.

Con expresión de gratitud al Dr. Roberto Munguía Steyer, por todo el conocimiento compartido, por su tiempo, dedicación y apoyo incondicional. Por ser un tutor entregado a su trabajo, un maestro ejemplar y un gran amigo.

A los miembros de mi comité tutorial:

- Dr. Raúl Cueva del Castillo
- Dra. Leticia Ríos Casanova
- Dr. Jorge Ciro Pérez
- Dr. Alejandro Córdoba Aguilar

Gracias por su tiempo, por las revisiones y observaciones que me ayudaron durante todo el proceso de mi tesis.

Al Biól. Francisco Martínez, administrador de la Cantera Oriente, por su atención y apoyo cuando realicé muestreos.

A mi gran equipo del Laboratorio de Ecología Evolutiva de Artrópodos: Clarisa, Erik, Bruno, Fofó, Martín, César, Carla; por escuchar tantas preguntas, darme tan buenos consejos y su ayuda en campo y laboratorio.

Al equipo del Laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos: Dr. Alejandro, David, Alicia, Angélica; por compartir su equipo para mis análisis, sus consejos y su amistad, gracias.

A mis amigos Diego, Juan, Lucero, por su amistad y por compartir sus ideas, aunque no lo crean, me ayudaron mucho.

A mi hermano y mis padres, por estar siempre para escuchar lo que aprendía durante la carrera, por su apoyo y cariño, aunque fueran tiempos difíciles, los admiro, gracias.

A Liz, gracias por ayudarme a encontrar la carrera que siempre soñé y no conocía, por ayudarme cuando yo no creía que podía, por estar cada momento y escucharme, por muy lejos que estuviera. ¡Somos el mejor equipo, siempre!

Índice	
Resumen	1
Introducción	3
Objetivo general	11
Objetivos particulares	11
Hipótesis	12
Predicciones	13
Materiales y Métodos	14
<i>Fase 1: Reservas energéticas y Ectoparásitos</i>	14
<i>Conteo de ectoparásitos</i>	15
<i>Cuantificación de reservas energéticas</i>	15
<i>Fase 2: Patrones conductuales</i>	17
<i>Análisis estadísticos</i>	19
Resultados	22
<i>Fase 1: Reservas energéticas y Ectoparásitos</i>	22
<i>Fase 2: Patrones conductuales</i>	33
Discusión	42
<i>Reservas energéticas y ectoparásitos</i>	42
<i>Conducta</i>	48
Conclusiones	54
Literatura citada	55

Resumen

En las libélulas de la especie *Ischnura denticollis* existe tanto dimorfismo sexual como dimorfismo intrasexual femenino, el cual representa un caso de mimetismo sexual femenino. En este sistema, las hembras presentan dos morfos, uno críptico (hembras ginocromas, HG) y otro conspicuo (hembras androcromas, HA), que es similar a los machos (M) en morfología y conducta. Debido a que los recursos asociados a reproducción, crecimiento y sistema inmune son limitados, existe una disyuntiva entre la asignación de recursos asociados a un mayor éxito reproductivo y/o un sistema inmune eficiente. Por lo general, los machos invierten más recursos a caracteres vinculados a selección sexual, lo que les suele causar una mayor mortalidad y una menor capacidad de respuesta inmunológica. El hecho de que las HA se parezcan morfológica y conductualmente a los machos podría causar que también hubiera diferencias importantes en la condición fisiológica e inmunológica entre las HA, HG y M, y que dichas diferencias estuvieran relacionadas con sus patrones conductuales. En el presente trabajo 1) evaluamos la condición fisiológica de los individuos pertenecientes a diferente sexo y morfo midiendo la concentración de sus reservas energéticas (lípidos, carbohidratos y glucógeno), 2) estimamos abundancia y prevalencia (porcentaje de individuos parasitados) de ácaros en cada grupo como indicadores de la condición inmunológica y 3) registramos patrones de conducta para conocer si hay correspondencia con las condición fisiológica e inmunológica.

- 1) Nuestros resultados comprueban que M y HA presentan una condición fisiológica similar, mientras que las HG presentan mayor cantidad de glucógeno y lípidos que los otros dos grupos.
- 2) Encontramos que las HG presentaron una menor abundancia y prevalencia de ácaros, comparados con las HA y M.
- 3) Los resultados de conducta comprueban que las HA y M están invirtiendo significativamente mayor tiempo de vuelo que HG y M, así como una frecuencia de enfrentamientos similar a la de los machos, lo cual coincide con que HA y M tienen una condición fisiológica e inmunológica similar, mientras que las HG tienen la estrategia de no volar y hacer despliegues alares, invirtiendo menos energía en el vuelo, por lo que probablemente tienen mejor condición fisiológica e inmunológica.

Este estudio es el primero en demostrar que hay un gasto energético diferencial entre HA y HG, y que las HA invierten sus recursos de manera similar a los machos, como consecuencia de su mimetismo en patrones conductuales. Asimismo, el presente trabajo demuestra la integración fenotípica en caracteres morfológicos, fisiológicos y conductuales de los individuos que definen el dimorfismo sexual e intrasexual en *I. denticollis*.

Introducción

El dimorfismo sexual se define como aquellas diferencias existentes entre machos y hembras en sus caracteres morfológicos, fisiológicas y conductuales (Andersson, 1994). Por ejemplo, los individuos de un sexo, generalmente los machos, suelen presentar ornamentos como señales atractivas empleadas en la elección de pareja por individuos del sexo opuesto (Andersson & Simmons, 2006). Del mismo modo, los machos suelen presentar estructuras utilizadas en interacciones agonísticas por el acceso reproductivo a parejas sexuales (Andersson, 1994). Estos atributos pueden ser explicados por selección sexual, ya que confieren a los individuos que los poseen un mayor éxito reproductivo debido a su habilidad de ser preferidos o competir por parejas sexuales (Andersson, 1994; Andersson & Simmons, 2006; Emlen, 2008). Sin embargo, entre los individuos de un mismo sexo pueden existir estrategias reproductivas alternativas, donde dos o más fenotipos alternativos (morfos alternativos) presentan diferentes ventajas que les permiten tener éxito reproductivo en competencias sexuales e intrasexuales (Oliveira et al., 2008).

El dimorfismo intrasexual se puede expresar en diferentes rasgos como el tamaño, coloración y conductas (Oliveira et al., 2008; Taborsky & Brockmann, 2010). El desarrollo y mantenimiento de estos caracteres requiere una asignación y distribución diferencial de recursos energéticos y conductuales, lo cual indica que mientras confieren una ventaja reproductiva, también pueden ser costosos en otros aspectos de la adecuación de los individuos dentro del contexto de los atributos de historia de vida (Oliveira et al., 2008; Taborsky & Brockmann, 2010;

McKinnon & Pierotti, 2010). Por ejemplo, los machos de escarabajo del género *Onthophagus* son dimórficos: un morfo presenta cuernos bien desarrollados y el otro sólo reminiscencias de los cuernos; además, los machos ornamentados tienen una conducta territorial y defienden la entrada de su túnel y cámara nido donde se aloja la hembra, de otros machos, mientras que el macho no ornamentado es furtivo, y al ser similar a las hembras, puede pasar desapercibido para los machos territoriales y copular con la hembra (Oliveira et al., 2008). Este dimorfismo surge como consecuencia de la alimentación durante su etapa larval. Los machos con mejor alimentación desarrollan cuernos al llegar a la etapa adulta, pero los que no tienen dicha condición no los desarrollan (Oliveira et al., 2008).

El mimetismo sexual es una estrategia de reproducción alternativa moldeada por selección sexual, donde dos o más morfos alternativos de un sexo (o de ambos) que coexisten en el mismo tiempo, presentan un fenotipo semejante al sexo opuesto (Oliveira et al., 2008), así como una adecuación distinta a la de los individuos sin mimetismo (Córdoba-Aguilar, 2008). Generalmente, la evolución de dicha estrategia ocurre por selección dependiente de la frecuencia, en la cual los individuos miméticos tendrán ventaja en su adecuación mientras se encuentren en menor frecuencia relativa que los no miméticos (Oliveira et al., 2008). En la mayoría de las especies el mimetismo sexual ocurre en machos (mimetismo sexual masculino), facilitando a los que presentan mimetismo (rasgos parecidos a las hembras), entrar en territorios de machos dominantes sin ser detectados y copular con hembras que se encuentren en dichos territorios (Sinervo & Lively, 1996; Oliveira et al., 2008). Sin embargo, existen varios sistemas animales en los

cuales las hembras presentan mimetismo sexual femenino, en el cual la conducta y morfología de las hembras son similares a las de los machos (Oliveira et al., 2008).

El mimetismo sexual femenino se ha documentado en una serie de sistemas animales: en peces (Craig & Foote, 2001), lagartijas (Galeotti et al., 2013), odonatos (Cordero & Andrés, 1996; Oliveira et al., 2008; Svensson et al., 2005, Sánchez-Guillén et al., 2017), y mariposas (Nielsen & Watt, 2000; Kunte, 2009a; Kunte, 2019b; Turlure et al., 2016). En lepidópteros, es común que las hembras, además del mimetismo sexual masculino, también presenten mimetismo con otras especies de mariposas con señales aposemáticas (mimetismo batesiano), por lo que las hembras miméticas tienen ventaja sobre las no miméticas evitando la depredación (Kunte, 2009; Turlure, 2016). Otra de las ventajas del mimetismo sexual femenino se puede observar claramente en odonatos. En estos sistemas, las hembras miméticas pueden disminuir el acoso sexual por los machos, el cual es costoso para las hembras en términos de adecuación, como se ha documentado en la libélula *Ischnura ramburii* (Robertson, 1985; Sirot & Brockmann, 2001; Sánchez-Guillén et al., 2018).

Los odonatos del género *Ischnura* (Zygoptera: Coenagrionidae), representan un sistema de estudio interesante ya que las hembras presentan mimetismo sexual femenino (Cordero, 1990; Svensson et al., 2005, Sánchez-Guillén et al., 2018). En varias especies del género (p. ej., *I. denticollis*, *I. elegans*, *I. ramburii*), uno de los morfos es semejante en color y conducta a los machos mientras que el otro suele ser críptico y difiere de los machos (Oliveira et al., 2008;

Futahashi, 2016; Sánchez-Guillén et al., 2017). Así las hembras parecidas a los machos son llamadas hembras androcromas (HA) y las hembras ginocromas (HG), que son aquellas con fenotipo distinto a los machos (Oliveira et al., 2008; Willink & Svensson, 2017). En las especies *I. graellsii* y *I. elegans*, en la cual las hembras presentan tres morfos (un androcromo y 2 ginocromos: *infuscans* y *obsoleta*), el color se determina por 3 loci autosomales con tres alelos en una dominancia jerárquica: $p^a > p^i > p^o$ (Sánchez-Guillén et al., 2005; Willink & Svensson, 2017).

I. denticollis es un odonato (Zygoptera: Coenagrionidae) que habita en áreas templadas y subtropicales de México. Como adultos viven en la vegetación que se encuentra a las orillas de cuerpos de agua lénticos (Córdoba-Aguilar, 1993). Las hembras presentan estrategias reproductivas alternativas con un morfo androcromo y otro ginocromo. Los machos se caracterizan por presentar coloración verde en la cabeza, parte inferior del tórax, en la mitad inferior de los ojos y un punto azul en la parte dorsal de los últimos segmentos del abdomen (Fig. 1A). Las hembras androcromas presentan coloración café en la mitad inferior de los ojos y un punto azul en el abdomen, similar al que presentan los machos (Fig. 1B). Las hembras ginocromas tienen una coloración negra en la parte dorsal, verde en la mitad inferior de los ojos y en la parte ventral del tórax, tienden a alejarse de zonas riparias, donde abundan los machos (Fig. 1C) (Córdoba-Aguilar, 1993; Martínez-Zamilpa, 2012). Se ha documentado que los machos realizan interacciones agonísticas como persecuciones de corta duración por la defensa de un territorio (Córdoba-Aguilar, 1993).



Figura 1. Dimorfismo sexual e intrasexual en *I. denticollis* (A = macho, B = hembra androcroma y C = hembra ginocroma).

Debido a que los recursos asociados a reproducción, crecimiento y sistema inmune son limitados, existe una disyuntiva entre la asignación de recursos para lograr éxito reproductivo y un sistema inmune eficiente (Zuk, 2009; Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013). Generalmente, los machos invierten más recursos en la producción y exhibición de caracteres sexuales secundarios que las hembras, presentando un sistema inmunológico más comprometido (Folstad & Karter, 1992; Roulin, 2016; Gilbert et al., 2016). En odonatos, los machos presentan conductas que implican un desgaste energético importante, como búsqueda activa de pareja y defensa de territorio (Córdoba-Aguilar, 2008). Por lo tanto, es común que en estos sistemas los machos se encuentren infectados por parásitos como consecuencia de su desventaja inmune por expresar caracteres sexuales secundarios y conductas desgastantes (Zuk, 2009; Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013). Asimismo, los machos sometidos a retos inmunológicos suelen presentar una mayor mortalidad (Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013). Por otra parte, en sistemas donde hay mimetismo sexual femenino, se ha sugerido que debido a que las hembras miméticas invierten recursos en la generación del mimetismo (además de los recursos empleados en la producción de huevos), su condición inmunológica y fisiológica debería ser similar a la de los

machos y más comprometida que la de las hembras no miméticas. Sin embargo, no se han realizado estudios que evalúen el costo en la condición fisiológica e inmunológica del mimetismo sexual femenino.

Los parásitos, al incidir sobre la adecuación de su huésped, son considerados como una aproximación a la condición inmunológica de éstos, por lo que podrían ser un buen indicador del costo que pueda tener el mimetismo sexual femenino (Sánchez-Guillén et al., 2013; Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013). Se ha reportado que en *I. denticollis* y *Enallagma novahispaniae* hay una correlación entre morfos y carga de parásitos: las HA tienen una mayor carga de parásitos que las HG (Sánchez-Guillén et al., 2013). Martínez-Zamilpa (2012) evaluó las tasas parasitarias para *I. denticollis* e identificó ácaros del género *Arrenurus*. Estos estudios previos sugieren que hembras androcromas son más susceptibles a presentar parásitos que las hembras ginocromas. Willink y Svensson (2017) evaluaron la prevalencia de ácaros ectoparásitos (probabilidad de presentar parásitos), la tolerancia (capacidad de mitigar los efectos de patógenos en su adecuación; p. ej., fecundidad) y resistencia (capacidad de combatir patógenos; p. ej., mejor sistema inmune) (Best et al., 2008, Willink & Svensson, 2017) a estos ectoparásitos en *I. elegans*, donde las hembras ginocromas (*infuscans* y *obsoleta*) presentaron mayor resistencia, es decir, presentaron pocos ácaros; pero cuando presentaron ácaros, disminuía su fecundidad, por lo tanto tenían menor tolerancia. En cambio, las HA presentaron mayor tolerancia, pero poca resistencia (Willink & Svensson, 2017). De acuerdo con dichos estudios previos, se puede suponer que existen diferencias importantes en la condición

inmunológica entre hembras androcromas y ginocromas; sin embargo, aún se desconoce si existe una relación entre la carga parasitaria y la condición fisiológica y cómo influye la presencia de parásitos en la condición fisiológica, dependiendo del grupo al que pertenezca cada individuo.

Durante su desarrollo, machos y hembras acumulan reservas energéticas que serán empleadas en diferentes funciones a lo largo de su vida (Arrese & Soulages, 2010). Las principales macromoléculas empleadas como reservas energéticas son los carbohidratos (almacenados en forma de glucosa, fructosa y glucógeno), como energía a corto plazo, mientras que los lípidos (almacenados como triglicéridos) y proteínas son reservas a largo plazo (Suárez et al., 2005; Arrese & Soulages, 2010, Castaños et al., 2017). Por lo que conocer la concentración de estas macromoléculas puede dar una buena aproximación de la condición fisiológica (Castaños et al., 2017).

Debido al dimorfismo sexual fisiológico entre hembras y machos, existe una inversión diferencial de recursos entre ellos: en odonatos, las hembras emplean más reservas energéticas en la producción de huevos, mientras que los machos las invierten en periodos de vuelo más largos, generalmente en la búsqueda activa de territorios (Hahn, 2003; Arrese & Soulages, 2010) y en interacciones agonísticas intrasexuales de desgaste como persecuciones (Córdoba-Aguilar, 2008). Generalmente, se ha utilizado el peso seco de los lípidos como indicadores de condición fisiológica para evaluar los costos asociados a interacciones agonísticas entre machos de una misma especie de odonatos (Marden & Rollins, 1994; Koskimäki et al., 2004; Contreras-Garduño et al., 2006). Córdoba-Aguilar y

Munguía-Steyer (2013) encontraron mayor cantidad de lípidos en hembras que en machos de *Argia anceps*, *A. extranea*, *Hetaerina americana* y *Protoneura cara*. Se puede suponer que, en sistemas con mimetismo sexual femenino, las hembras androcromas presenten una condición fisiológica similar a los machos como consecuencia de su inversión en la expresión del mimetismo. Sin embargo, no se han realizado estudios donde evalúen la condición fisiológica en sistemas con mimetismo sexual femenino y si ésta difiere entre hembras miméticas, no miméticas y machos.

En varias especies del género *Ischnura*, las hembras androcromas realizan patrones conductuales muy similares a los de los machos (Sánchez-Guillén et al., 2018). Sirot y Brockmann (2001), evaluaron la conducta de HA y HG de *I. ramburii*, reportando que las HA presentan una conducta agresiva similar a la de los machos, con lo cual logran evadir el acoso por intento de cópula. Mientras que las HG, son pasivas y evaden a los machos alejándose de las orillas de los cuerpos de agua. Esto sugiere que las hembras androcromas no solo invierten recursos energéticos en generar coloración similar a los machos, sino que también emplean sus reservas en conductas agonísticas como los machos. En este trabajo se empleó a *I. denticollis* como modelo de estudio para evaluar el costo del mimetismo de las hembras androcromas en comparación con las hembras ginocromas y machos, evaluando su condición inmunológica y fisiológica, así como su relación con los patrones conductuales de cada grupo.

Objetivo general

- Evaluar la condición fisiológica e inmunológica, así como los patrones conductuales entre machos y hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*.

Objetivos particulares

- Evaluar la condición fisiológica de machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*, a través de las reservas energéticas (concentración de lípidos, carbohidratos y glucógeno) que presentan.
- Evaluar la condición inmunológica de machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*, estimando la prevalencia y abundancia de ácaros que presentan.
- Registrar patrones de conducta agonística y sexual de machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*.

Hipótesis

- La condición fisiológica evaluada a partir del contenido de reservas energéticas (concentración de lípidos, carbohidratos y glucógeno) diferirá entre machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*.
- La prevalencia y abundancia de ácaros diferirá entre machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*.
- Existirá una correspondencia entre las reservas energéticas presentes y los patrones conductuales de machos, hembras androcromas y ginocromas de *I. denticollis*.

Predicciones

- Las hembras ginocromas presentarán más reservas energéticas que los machos y hembras androcromas de *I. denticollis*.
- Las hembras ginocromas presentarán una menor prevalencia y abundancia de ácaros ectoparásitos que los machos y hembras androcromas de *I. denticollis*.
- Las hembras androcromas tendrán patrones conductuales más parecidos a los machos que a las hembras ginocromas de *I. denticollis*.

Materiales y Métodos

Este estudio se llevó a cabo en la vegetación que crecía a las orillas de los cuerpos de agua en la Zona de Amortiguamiento A3 (Cantera Oriente) de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) de Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México. Realizamos el estudio en dos fases: Análisis de reservas energéticas y ectoparásitos (realizado en agosto y septiembre del 2016), y la evaluación de los patrones de conducta (realizado en agosto y septiembre del 2017). Para ambas fases, trabajamos con individuos adultos jóvenes y sexualmente maduros de *I. denticollis*, identificados por presentar coloración brillante y alas transparentes, sin opacidad (Plaistow & Siva-Jothy, 1996; Castaños et al., 2017). El trabajo de laboratorio de la primera fase se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología de Artrópodos de la Unidad de Morfología y Función de la FES-Iztacala.

Fase 1: Reservas energéticas y Ectoparásitos

Colectamos 130 individuos de *I. denticollis* con redes entomológicas, 47 machos, 44 hembras androcromas y 39 hembras ginocromas. Entre las 9 y 13 horas, del 31 de agosto al 23 de septiembre del 2016. Una vez colectados los depositamos en tubos de centrífuga de polipropileno (Eppendorf ®) de 2 ml, sin fijarse en alcohol. Posteriormente los congelamos a -20°C para realizar el análisis fisiológico.

Conteo de ectoparásitos

Realizamos el conteo de ácaros ectoparásitos en campo con una lupa de 60X. Asimismo, realizamos una repetición con un conteo de ácaros con un microscopio estereoscópico (Motic SMZ-168) para confirmar la medición en campo. Con esto fue posible estimar la abundancia de ácaros en cada individuo.

Debido a que el tamaño puede ser una variable que difiera entre los grupos y que pueda estar relacionada con la concentración de reservas energéticas y el grado de parasitismo, utilizamos el área alar posterior derecha de cada individuo como referencia de tamaño (Outomuro et al., 2016). Extrajimos las alas de cada individuo y se hizo un registro fotográfico con una cámara Canon EOS REBEL T3(®), con ayuda de un tripié colocado en forma perpendicular para evitar sesgos en la captura y análisis de imágenes (Castaños et al., 2016). Posteriormente, con la imagen alar de cada individuo determinamos el área alar mediante el uso del programa ImageJ (Schneider et al., 2012).

Cuantificación de reservas energéticas

Realizamos la cuantificación de reservas energéticas en el Laboratorio de Ecología de la Conducta de Insectos del Instituto de Ecología, UNAM, en Ciudad Universitaria y en el Laboratorio de Ecología Evolutiva de Artrópodos, FES Iztacala-UNAM, Estado de México. Utilizamos el método de Foray (Foray et al., 2012), que consiste en realizar ensayos colorimétricos a cada muestra para

evaluar la concentración de reservas energéticas. Homogenizamos cada individuo (sin alas ni apéndices) tubos de centrifuga de polipropileno (Eppendorf ®) de 2 ml con 360 µl de buffer de lisis (PBS: 100 mM KH₂PO₄ [100 mM], di-tio-treitol [1 mM] y ácido etileno-diamino-tetra-acético [1 mM]), y con ayuda de un homogeneizador de tejidos (Tissue Lyser-II: Qiagen, Valancia, California; 30 s a 25 Hz), para desintegrar todos los tejidos. Posteriormente, extrajimos 180 µL de cada homogenizado como stock de cada muestra, utilizados en los ensayos posteriores para cuantificar las reservas.

Carbohidratos. Añadimos 20 µL de Na₂SO₄ (al 20 %), 5 µL de buffer de fosfato salino (PBS) y 1.5 mL de metanol-cloroformo (2:1). Agitamos en vórtex y centrifugamos (180G, 4°C por 15 min). Pasamos el sobrenadante a un nuevo tubo (el poso se utilizó para medir glucógeno). Extrajimos 150 µL del sobrenadante a placas de 96 pozos. Dejamos las placas a temperatura ambiente hasta tener un volumen aproximado de 10 µL (aproximadamente de 23°-25° C, por 10 min). Después, agregamos 240 µL del reactivo artrona a cada pozo de la placa. Tapamos las placas y las incubamos a 90° C en agua por 15 min. Dejamos enfriar las placas en hielo y medimos la absorbancia a 630 nm en un lector de placas de ELISA (Absorbance Reader ELx800; BioTek Inc., Winooski, Vermont).

Glucógeno. Enjuagamos los posos (obtenidos en el ensayo de carbohidratos) dos veces con 400 µL de metanol al 80 %. Centrifugamos (16 G, 4° C por 5 min) y retiramos el sobrenadante. Posteriormente, agregamos 1 ml del reactivo artrona a cada tubo e incubamos a 90°C durante 15 min. Enfriamos en hielo y filtramos el

contenido de los tubos en membranas de poca afinidad a proteínas (fluoruro de polivinilideno; $d = 0.45 \mu\text{M}$; Durapore, Millipore, Millex, Japón). Finalmente, pasamos 150 μL del filtrado a los pozos y medimos la absorbancia a 630 nm en un lector de placas de ELISA (Absorbance Reader ELx800; BioTek Inc., Winooski, Vermont).

Lípidos. Colocamos 100 μL de sobrenadante (obtenido para el ensayo para carbohidratos) en las placas e incubamos en agua a 90° C hasta evaporación total. Agregamos 10 μL de ácido sulfúrico al 98 % a cada pozo e incubamos las placas en agua a 90° C durante 2 min. Seguido de esto, enfriamos las placas en hielo y añadimos 190 μL del reactivo vanilina. Después de dejar a temperatura ambiente durante 15 min las placas, medimos la absorbancia a 540 nm en un lector de placas de ELISA (Absorbance Reader ELx800; BioTek Inc., Winooski, Vermont).

Fase 2: Patrones conductuales

Realizamos observaciones en vivo de 129 individuos focales (43 individuos de cada morfo), entre las 9:00 y 15:00 horas, con duración de 30 min por individuo. Este periodo fue considerado en función de que los patrones de actividad de los ectotermos, como las libélulas, ocurren durante este periodo del día. Todas las observaciones se llevaron a cabo del 9 de agosto al 27 de septiembre del 2017. Marcamos cada individuo al terminar el registro para evitar repetir observaciones

en un mismo individuo y cometer pseudorreplicación en los análisis conductuales (Lehner, 1987).

Para la categorización de conductas utilizamos el criterio usado para especies del mismo género que presentan mimetismo sexual femenino (Robertson, 1985; Sirot & Brockmann, 2001). Con base en ese criterio, establecimos 7 patrones de conducta: tándem, cópula, vuelo, enfrentamientos, acoso (intento de un macho por sujetar a una hembra en tándem), persecución y despliegue alar.

Una vez establecidos los patrones de conducta, realizamos un etograma en el programa BORIS Desktop v.4.1.4 (Friard & Gamba, 2016), el cual permite medir la duración y ocurrencia de cada conducta y crear una base de datos de frecuencia y duración de las distintas conductas con la información obtenida (Friard & Gamba, 2016). Dividimos las observaciones en eventos puntuales (conductas de muy corta duración, prácticamente instantáneas: enfrentamientos y despliegue alar) y secuenciales (conductas de duración significativa: tándem, cópula, vuelo, acoso y persecución) (Lehner, 1987; Friard & Gamba, 2016). Para registrar los patrones de conducta en campo, extrajimos el etograma como código para ejecutarse en el programa BORIS App v.0.2.2 (Friard & Gamba, 2016) en un teléfono celular con sistema Android (v.2.2 o mayor). Posteriormente, extrajimos los datos colectados como base de datos en el programa BORIS Desktop v.4.1.4 (Friard & Gamba, 2016).

Análisis estadísticos

Reservas energéticas. Realizamos análisis de la cantidad de reservas energéticas con modelos lineales generales, donde la variable de respuesta fue la concentración de reservas energéticas (carbohidratos, glucógeno y lípidos). Las variables predictoras continuas fueron el área alar, incluimos como variable categórica el grupo (machos, hembras ginocromas y androcromas) y se consideraron las interacciones de segundo grado entre cada variable. Para conocer si la cantidad de ácaros tenía efecto en las reservas energéticas, dividimos el número de ácaros en tres niveles de parasitismo: ningún ácaro (N), escasos (E = 1 a 5 ácaros) y abundantes (A = 6 a 55 ácaros, ya que datos mayores a 6 fueron raros), y lo incluimos como una variable categórica a los modelos.

Pusimos a prueba las hipótesis mediante un análisis de covarianza y en caso de que las variables categóricas presentaran más de dos grupos y el grupo haya sido significativo en el ANCOVA, realizamos pruebas post-hoc para determinar en comparaciones múltiples qué grupos diferían entre sí. Con el fin de evitar errores de tipo 1 al realizar las comparaciones múltiples, usamos el método conocido como tasas de descubrimiento falsas (*false discovery rates*; FDR) (Verhoeven et al., 2005).

Ectoparásitos. Realizamos dos análisis para los datos de ectoparásitos: abundancia (abundancia de ácaros por individuo), y prevalencia (si los individuos

se encontraban parasitados o no) de ácaros, donde la variable predictora para ambos análisis fue el grupo (machos, hembras ginocromas y androcromas).

En el análisis relativo a la abundancia de parásitos que presentaban las libélulas, usamos modelos lineales generalizados de distribución binomial negativa, ya que la abundancia de parásitos son conteos (Wilson & Grenfell, 1997). Mientras que, para el análisis de prevalencia, dado que la variable de respuesta (abundancia de ácaros) es una variable dicotómica, para conocer si un individuo se encuentra parasitado o no, empleamos modelos lineales generalizados con una distribución binomial.

Patrones de conducta. Los datos de conductas asociadas a interacciones agonísticas (persecuciones, enfrentamientos y acoso), relacionados con reproducción (tándem, cópula y despliegue alar) y el vuelo, los analizamos mediante modelos lineales generalizados, usando distribución tipo Poisson o binomial negativa cuando había sobredispersión (Wilson & Grenfell, 1997). La variable de respuesta fue la frecuencia de las conductas, y la variable predictora fue el grupo (machos, hembras ginocromas y androcromas).

En cada análisis establecimos el modelo global, que contenía las combinaciones de las variables predictoras, así como sus interacciones de segundo grado. A partir del modelo global ajustamos otros modelos, reduciendo el número de parámetros y poder seleccionar aquellos que explicaran mejor nuestros datos.

Para seleccionar los modelos que presentaran mayor soporte estadístico en los diferentes análisis realizados, utilizamos el criterio de información de Akaike (AIC), que combina el grado de ajuste del modelo penalizado por el número de parámetros que contiene (Johnson & Omland, 2004). Utilizamos AICc, ajustado a tamaños de muestras pequeñas, y QAIC cuando los datos presentaron sobredispersión (Johnson & Omland, 2004). Los modelos que tuvieron menor valor de AIC fueron los que presentaron mayor soporte.

Resultados

Fase 1: Reservas energéticas y Ectoparásitos

Abundancia de ácaros. Las hembras androcromas (min-máx. = 0-55; media = 10; d.e. = ± 14.98) y machos (min-máx. = 0-54; media = 5.851 ± 10.14) presentaron una mayor cantidad de ácaros, mientras que las hembras ginocromas (min-máx. = 0-12; media = 1.308 ± 2.75) fueron el grupo con menos ácaros (Fig. 2). En la Figura 3 se muestra en una gráfica de barras la frecuencia de individuos que presentaron desde 0 a más de 11 ácaros (11+). En esta gráfica se observa que existen patrones de dimorfismo sexual e intrasexual en el parasitismo, ya que se muestra que existen muchas hembras ginocromas no parasitadas, mientras que los machos y las hembras androcromas presentan una porción significativa de individuos muy parasitados (11+).

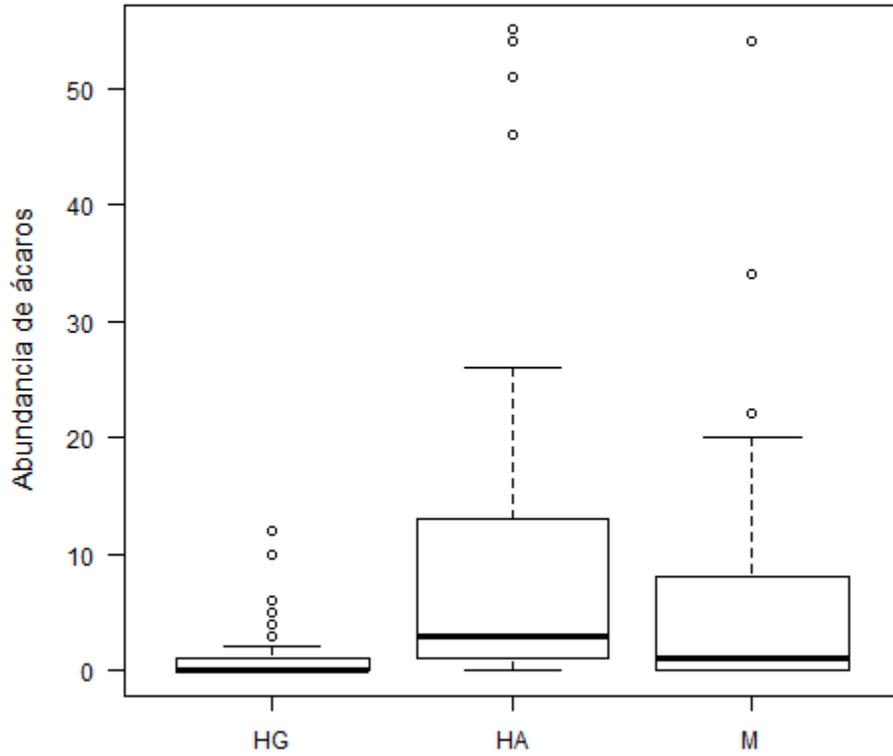


Figura 2. Abundancia de ácaros por grupo (HG, HA = hembras ginocromas y androcromas, M = machos; Línea negra = mediana; Círculos = valores atípicos; Bigotes = distancia intercuartílica \times 1.5).

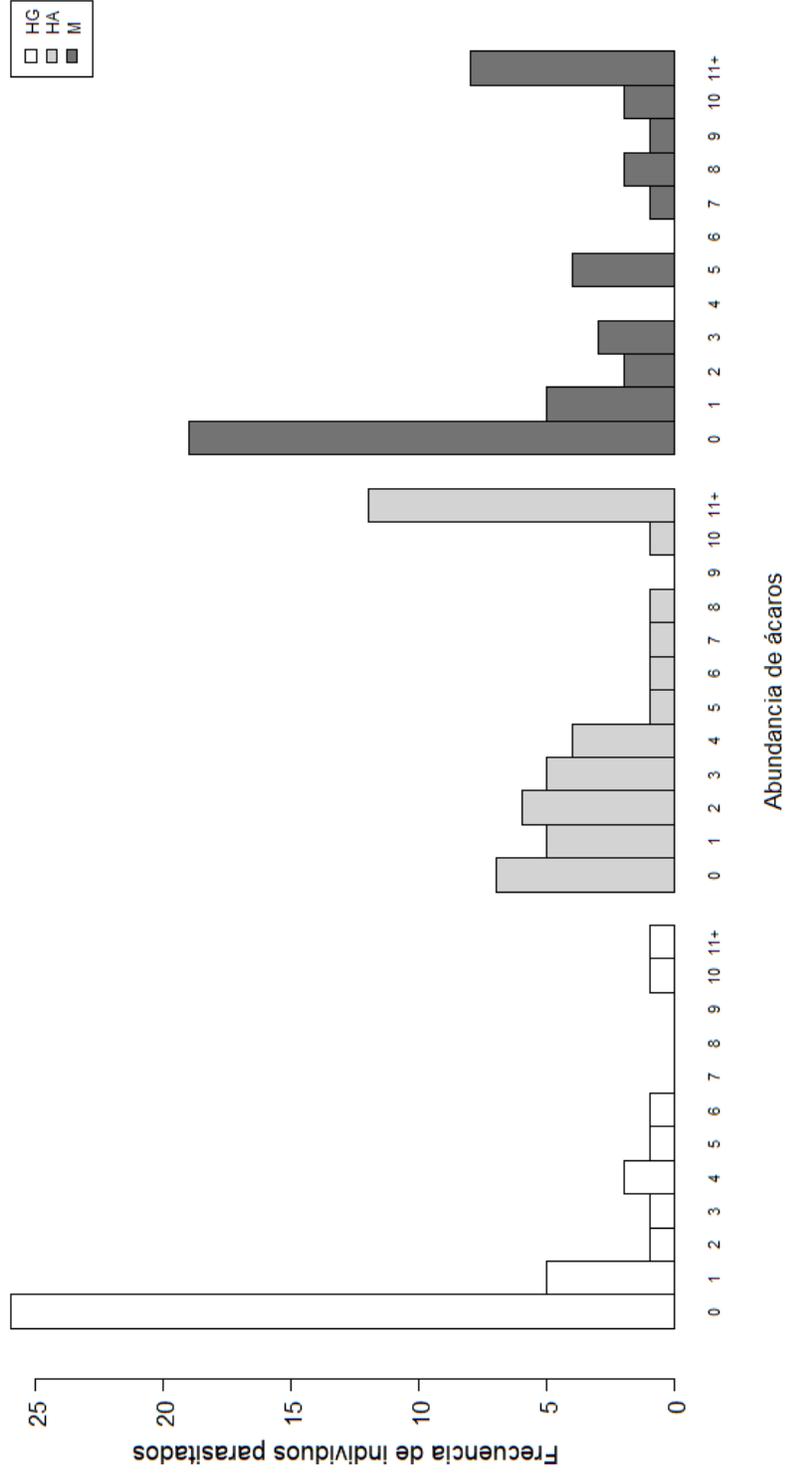


Figura 3. Individuos que presentaron de 0 a más de 11 ácaros (11+), en cada grupo (HG= h. ginocromas, blanco; HA= h. androcromas, gris claro; M= machos, gris oscuro).

El modelo que considera la abundancia de ácaros como variable de respuesta y que considera área alar y grupo como predictores fue el que presentó mayor soporte (AIC= 654.2; modelo global: AIC= 647.7), donde el grupo y el área alar son variables con significancia estadística (Tabla 1). En las pruebas post-hoc se comprobó que hay diferencias significativas entre los grupos HA-HG ($P < 0.001$) y HG-M ($P < 0.001$). El análisis de covarianza mostró que la abundancia de ácaros aumenta en los tres grupos a mayor área alar en todos los grupos (Fig. 4).

Tabla 1. Análisis de devianza del modelo de abundancia de ácaros con mayor soporte (GL= grados de libertad).

	GL	GL Residuales	Devianza	P
Nulo		129		
Grupo	2	127	25.976	<0.001
Área alar	1	126	6.871	0.009

Relación entre abundancia de ácaros y área alar

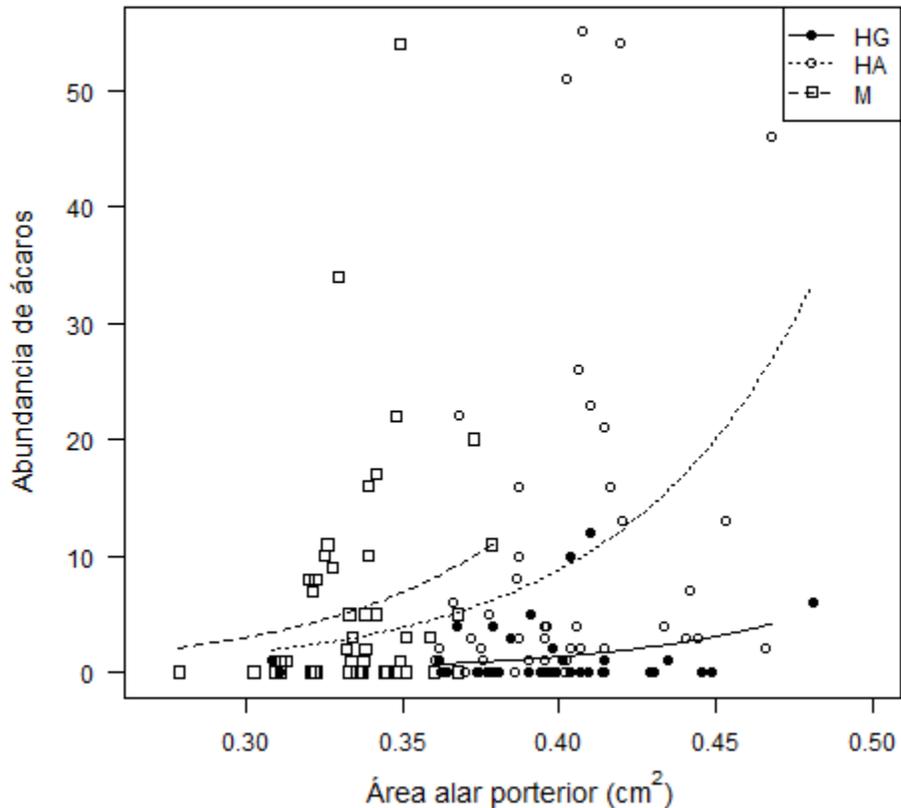


Figura 4. Relación entre el número de ácaros y el área alar (cm²) de cada individuo de los 3 grupos (HG, HA= hembras ginocromas y androcromas, M = machos; línea continua/círculos negros = HG; línea punteada/círculos blancos = HA; línea discontinua/cuadros blancos = M).

Prevalencia. El modelo de mayor soporte consideró sólo el grupo como variable predictora (AIC = 167.1; modelo global: AIC = 169.6) (Devianza = 5.387, gl = 2.127, $P < 0.001$). De acuerdo con las pruebas post-hoc, se comprobó que existen diferencias significativas en la prevalencia entre los grupos HA-HG ($P < 0.001$),

HA-M ($P = 0.009$) y HG-M ($P = 0.007$). Se puede observar en la Figura 5 que el grupo de las HA tiene mayor probabilidad de ser infectado por ácaros.

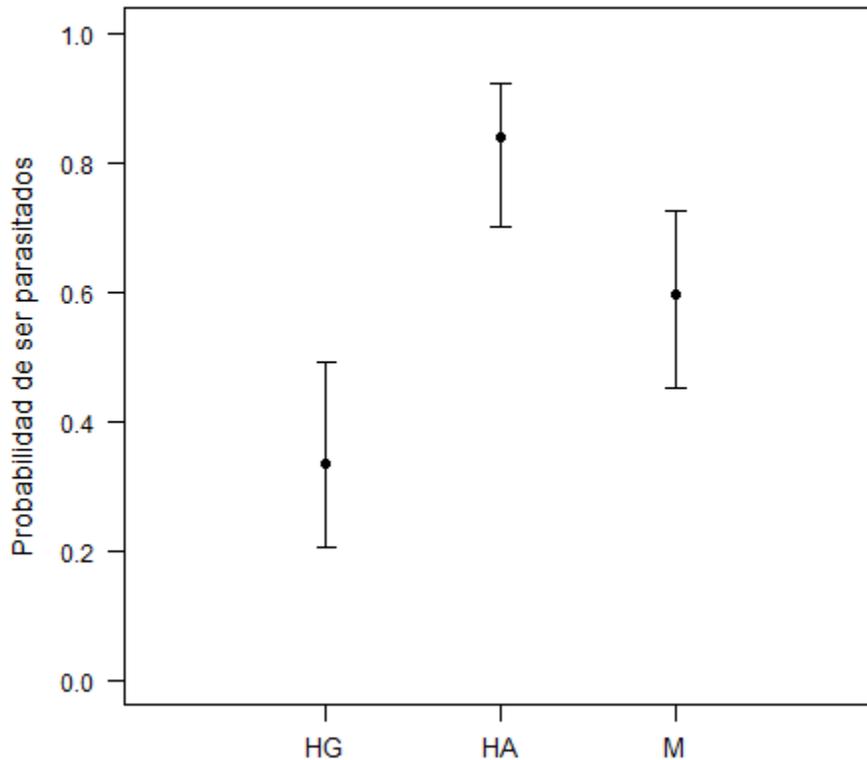


Figura 5. Probabilidad de cada grupo a ser parasitados por ácaros (HG, HA = hembras ginocromas y androcromas, M = machos).

Reservas energéticas

Lípidos. El modelo con mayor soporte consideró el grupo, ácaros (categorías: ninguno, escasos y abundantes) y la interacción ácaros-grupo ($AICc = 308.21$;

modelo global: AICc = 310.77), donde sólo el grupo resultó ser significativo (Tabla 2). Las hembras ginocromas presentaron mayor concentración de lípidos (media = 2.65 ± 1.05), a diferencia de hembras androcromas (media = 2.13 ± 0.69) y machos (media = 1.88 ± 0.63) (Fig. 6). Las pruebas post-hoc comprueban que hay diferencias significativas en la concentración de lípidos entre HG-M ($P < 0.001$) y HG-HA ($P < 0.001$). En la Figura 7 se observa que la concentración de lípidos es significativamente mayor en HG, mientras que HA y M tienen concentraciones similares y menores a HG.

Tabla 2. Análisis de varianza del modelo de mayor soporte para lípidos (VP = variables predictoras; GL = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrados medios).

VP	GL	SC	CM	F	P
Ácaros	2	2.378	1.189	2.088	0.128
Grupo	2	16.786	8.393	14.743	<0.001
Ácaros × grupo	4	5.397	1.349	2.369	0.056
Residuales	121	68.886	0.569		

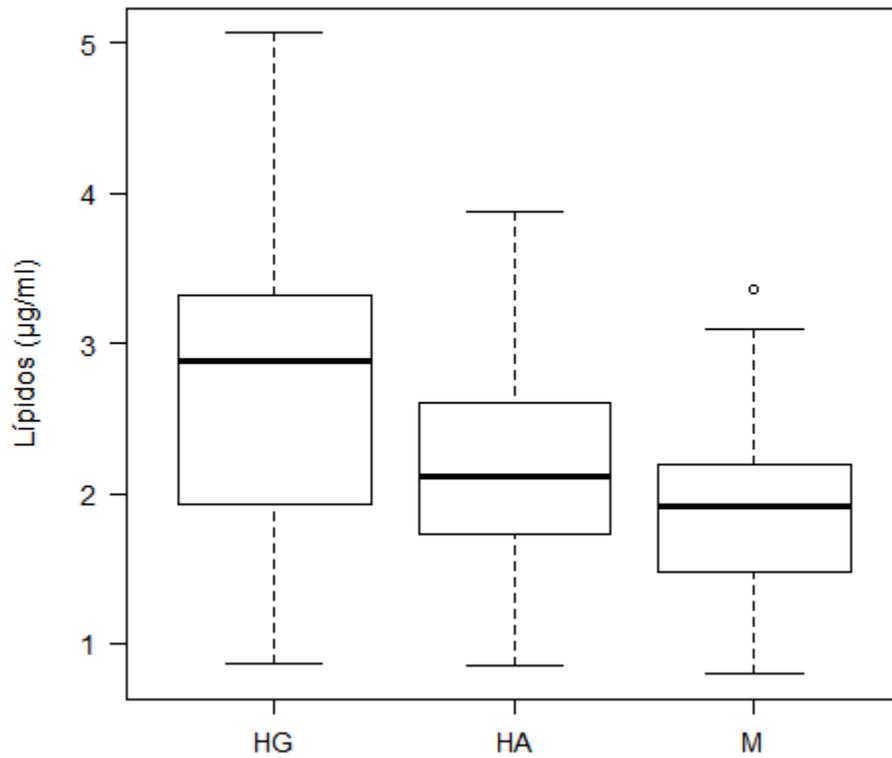


Figura 6. Concentración de lípidos por grupo (HG, HA = hembras ginocromas y androcromas, M = machos; Línea negra = mediana; Círculos = valores atípicos; Bigotes = distancia intercuartílica $\times 1.5$).

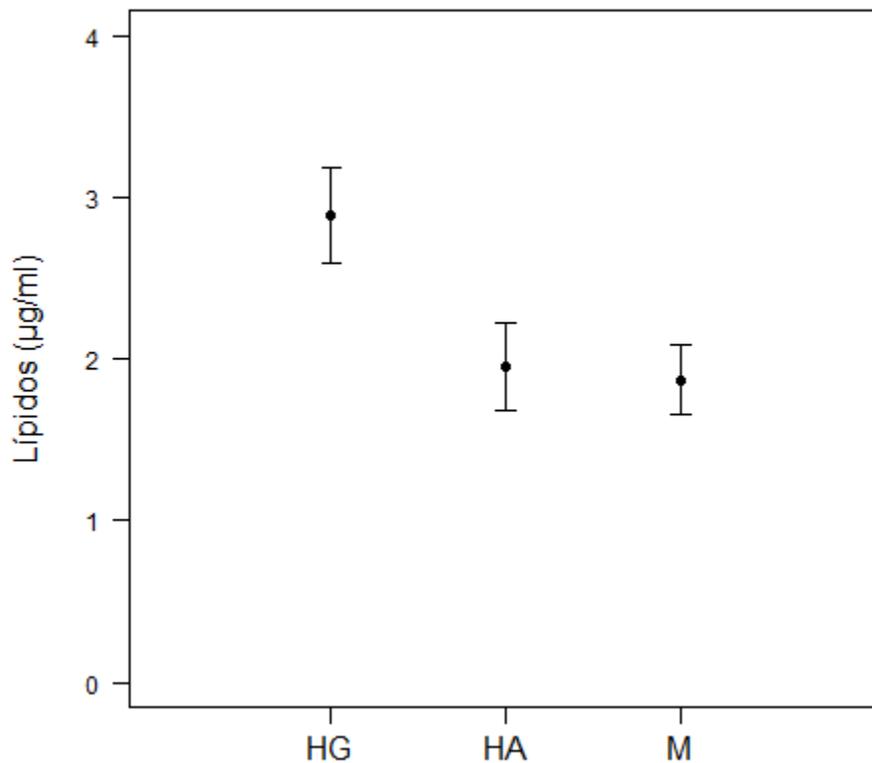


Figura 7. Concentración de lípidos de cada grupo (HA, HG = hembras androcromas y ginocromas, M = machos; bigotes: intervalos de confianza).

Carbohidratos. El modelo con mayor soporte fue el nulo, que considera solo los carbohidratos (AICc = 449.604; modelo global: AICc = 457.730), ninguna variable resultó tener significancia estadística en el modelo global. La concentración de carbohidratos en todos los grupos fue similar (HG: media = 1.69 ± 1.5 ; HA: media = 1.39 ± 0.71 ; M: media = 1.47 ± 1.65), sin diferencias significativas entre ningún grupo ($P > 0.05$).

Glucógeno. El modelo con mayor soporte consideró los ácaros (categorías: ninguno, escasos y abundantes), área alar posterior derecha (AAPD), grupo y la interacción ácaros-grupo (AICc = 433.43; modelo global: AICc = 441.41), sólo los ácaros no resultaron significativos (Tabla 3). Se encontró mayor concentración de glucógeno en las hembras ginocromas (media = 2.98 ± 1.71), a diferencia de hembras androcromas (media = 2.36 ± 1.21) y machos (media = 2.05 ± 0.82) (Figura 8). Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre HG-M ($P < 0.001$) y G-HA ($P = 0.004$). En la Figura 9 se observa que la concentración de glucógeno es significativamente mayor en HG con pocos ácaros, pero es menor cuando el nivel de parasitismo es mayor; mientras que HA y M cuando aumenta el nivel de parasitismo, también aumenta la concentración del glucógeno.

Tabla 3. Análisis de varianza del modelo de mayor soporte para glucógeno (VP = variables predictoras; GL = grados de libertad; SC = suma de cuadrados; CM = cuadrados medios).

VP	GL	SC	CM	F	P
Ácaros	2	3.978	1.989	1.347	0.263
Área alar	1	13.363	13.363	9.049	0.003
Grupo	2	11.295	5.647	3.824	0.024
Ácaros × grupo	4	18.372	4.593	3.110	0.018
Residuales	120	177.201	1.477		

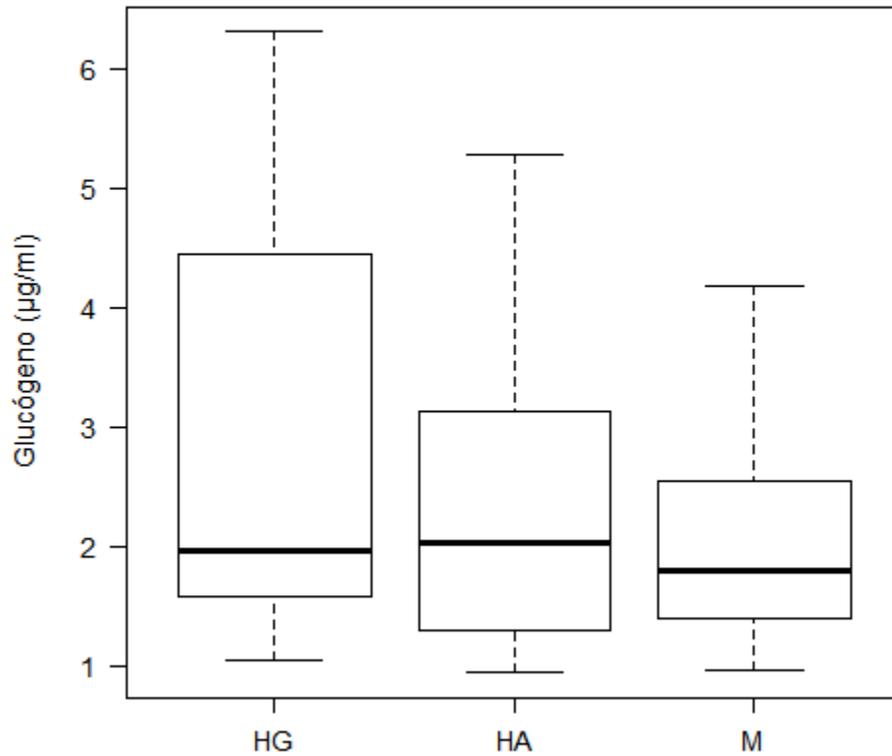


Figura 8. Concentración de carbohidratos por grupo (HG, HA= hembras ginocromas y androcromas, M = machos; Línea negra = mediana; Círculos = valores atípicos; Bigotes distancia intercuartílica $\times 1.5$).

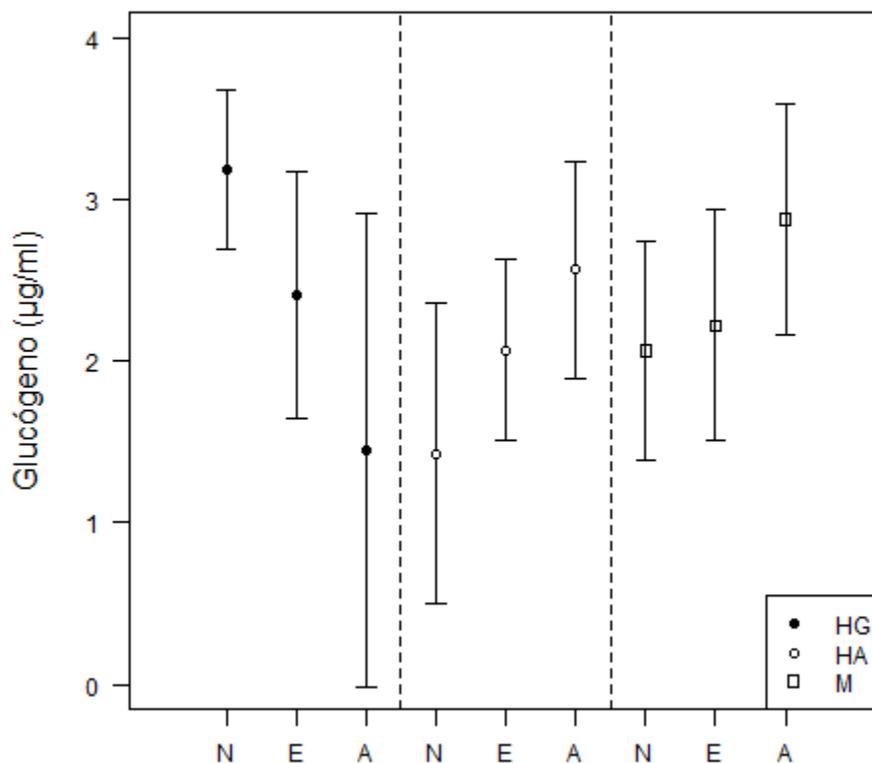


Figura 9. Concentración de glucógeno por grupo en relación con el nivel de parasitismo: N = ningún ácaro, E = escasos, de 1 a 5 ácaros; A = abundantes, de 6 a 55 ácaros (HG, HA = hembras ginocromas y androcromas, M = machos; bigotes: intervalos de confianza).

Fase 2: Patrones conductuales

Conductas agonísticas

Persecuciones. Los machos realizan persecuciones con mayor frecuencia (media = 3.74 ± 3.89) que hembras androcromas (media = 0.23 ± 0.65) y ginocromas

(media= 0.11 ± 0.44). El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas entre los grupos (Devianza = 132.56; $gl = 2$ $P < 0.001$). Las pruebas post-hoc demuestran que hay diferencias significativas entre M-HG ($P < 0.001$) y M-HA ($P < 0.001$). Los valores predichos muestran que los machos tienen mayor probabilidad de realizar esta conducta (Fig. 10).

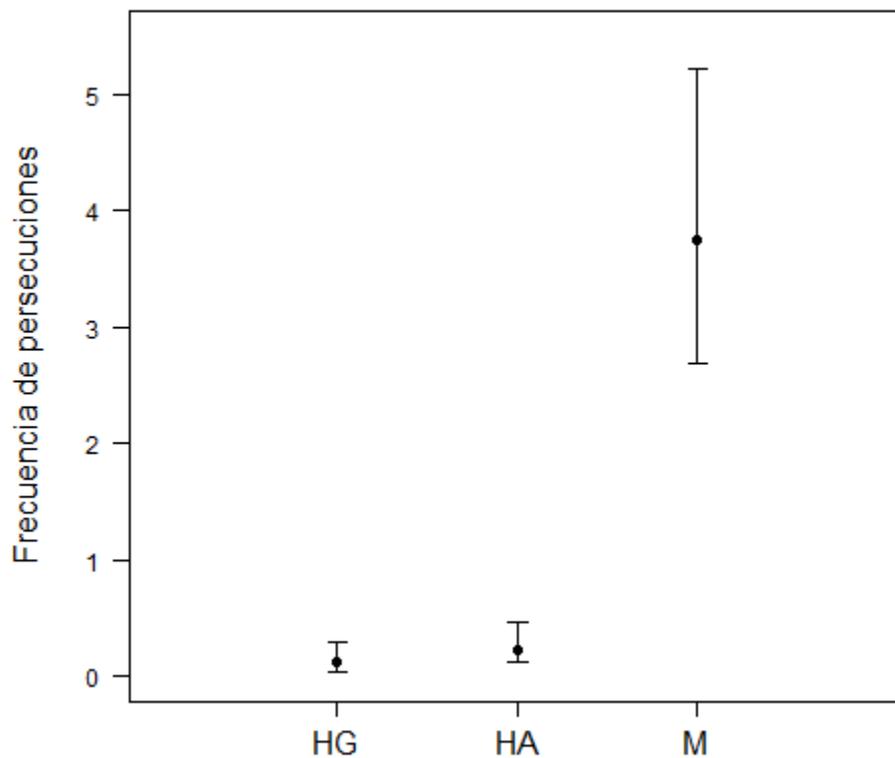


Figura 10. Frecuencia de persecuciones que realizó cada grupo (HA, HG = hembras androcromas y ginocromas, M = machos; bigotes: intervalos de confianza).

Acoso. Observamos eventos de acoso de machos a machos a pesar de que esperábamos observar sólo acoso de machos a hembras. Se registraron más eventos de acoso en hembras ginocromas ($n = 27$), seguidas de los machos ($n = 16$). El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas entre los grupos (Devianza = 38.267; $gl = 2$; $P < 0.001$). Las pruebas post-hoc comprobaron que hay diferencias significativas entre HG-HA ($P < 0.001$) y HA-M ($P = 0.012$). En la Figura 11 se observa que las hembras ginocromas y machos tienen mayor frecuencia de ser acosados, mientras que las hembras androcromas son menos acosadas que las hembras ginocromas y machos.

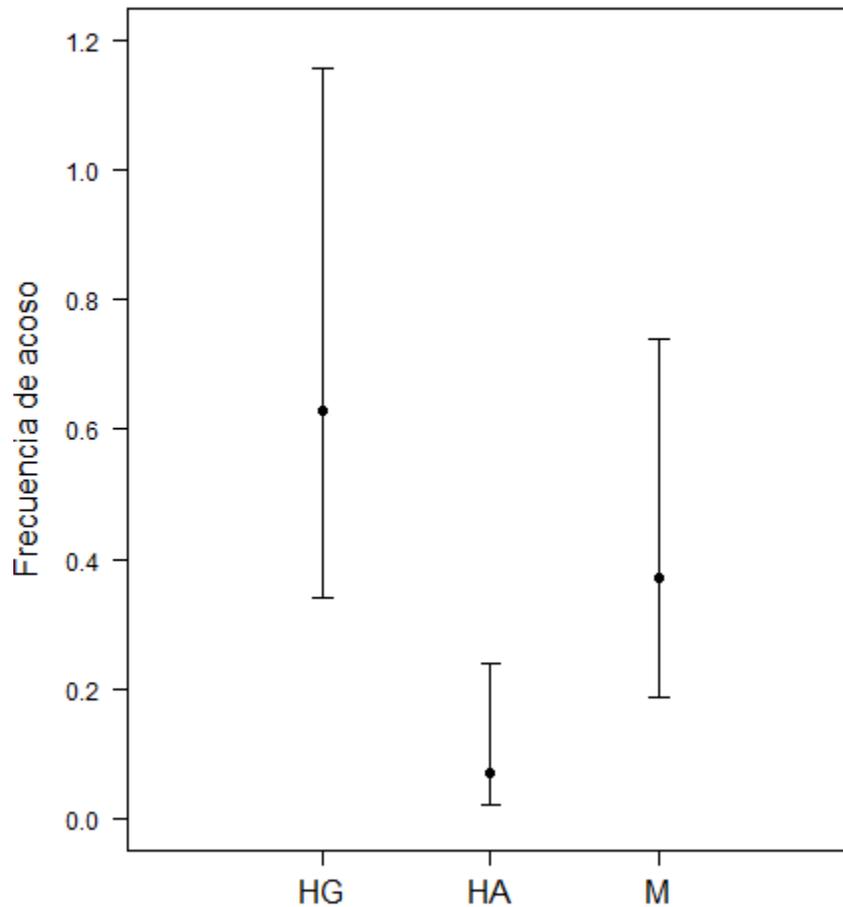


Figura 11. Frecuencia de acoso por machos a cada grupo (M = machos; HA, HG = hembras androcromas y ginocromas, M = machos; bigotes: intervalos de confianza).

Enfrentamientos. La frecuencia de enfrentamientos fue alta en machos (n = 398) y en hembras androcromas (n = 476), mientras que las hembras ginocromas (n = 53) tendían a volar a otro lugar en vez de enfrentar intrusos (Fig. 12). El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas entre los grupos (Devianza =

1132.6; $gl = 2$; $P < 0.001$). Las pruebas post-hoc demuestran que hay diferencias significativas entre HG-HA ($P < 0.001$) y HG-M ($P < 0.001$).

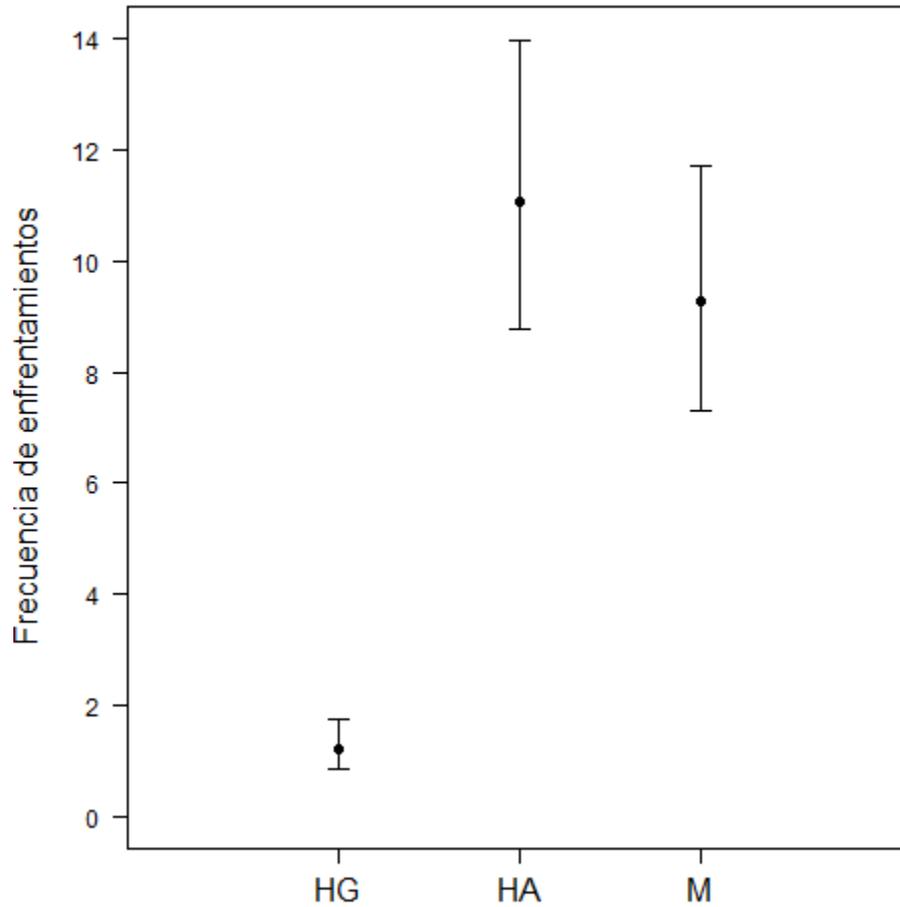


Figura 12. Frecuencia de enfrentamientos realizados por cada grupo (M = machos; HA, HG = hembras androcromas y ginocromas; bigotes: intervalos de confianza).

Conductas reproductivas

Tándem. Esta conducta se registró sólo en hembras, aunque también observamos tándems de macho–macho en individuos no focales. El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas en la frecuencia de tándem entre

hembras ginocromas y androcromas (Devianza = 19.785; gl = 2; $P < 0.001$), siendo las HG las que menos participaron en los enfrentamientos. Las hembras ginocromas tienen mayor probabilidad de encontrarse en tándem, comparadas con las androcromas (Fig. 13).

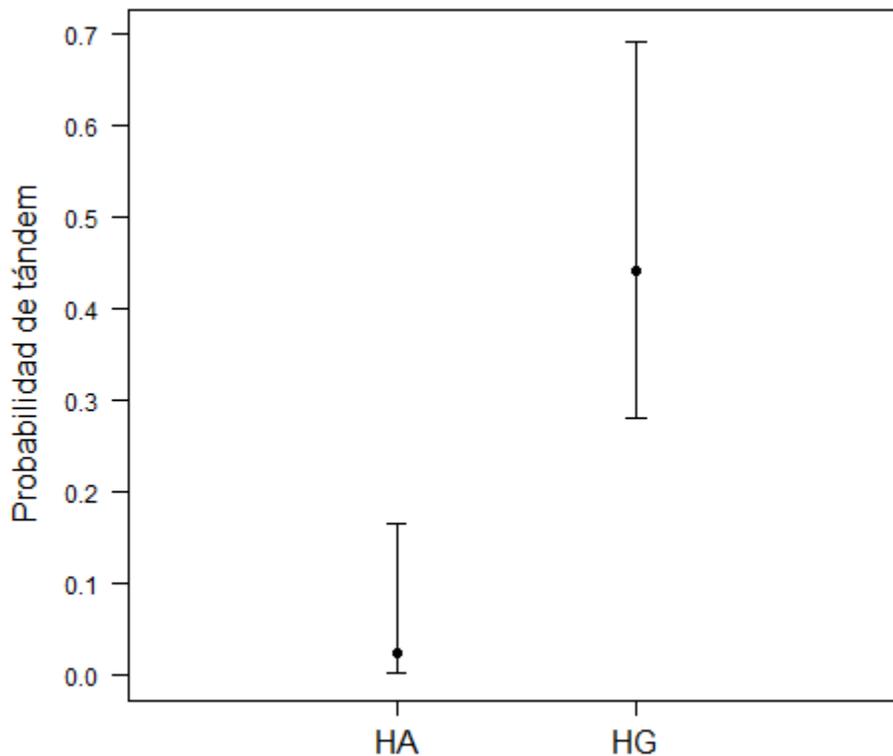


Figura 13. Probabilidad de que las HA y HG realicen tándem (HA, HG = hembras androcromas y ginocromas; bigotes: intervalos de confianza).

Cópula. El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas en la frecuencia de cópula entre hembras ginocromas y androcromas (Devianza = 126.84; gl = 2; $P < 0.001$). En la Figura 14 se muestra que las hembras

ginocromas tienen mayor probabilidad de encontrarlas en cópula en tiempos de observación semejantes.

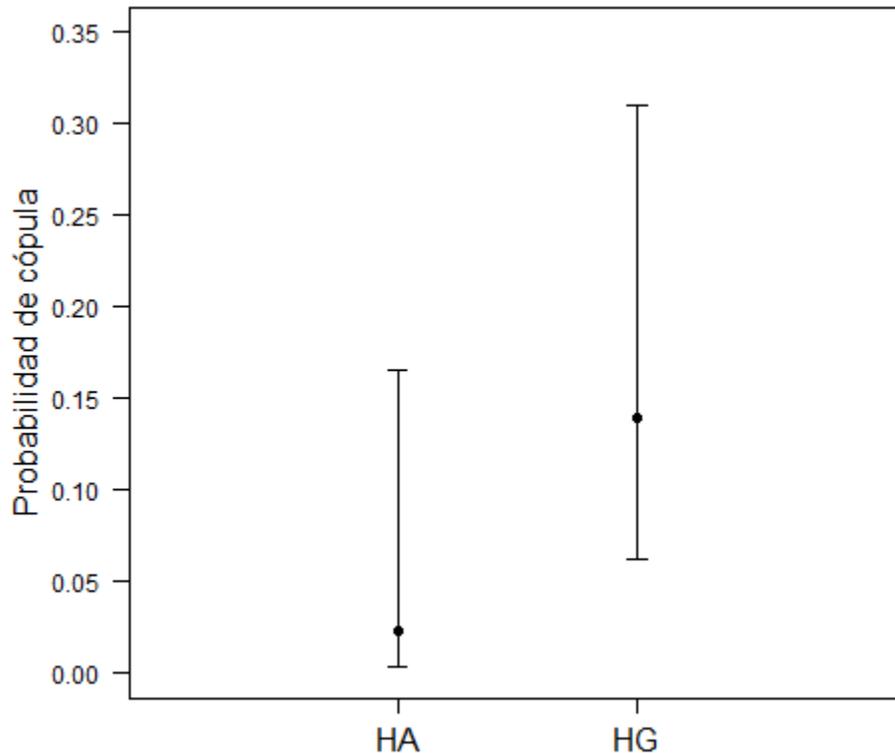


Figura 14. Probabilidad de que las HA y HG realicen cópula (HA, HG = hembras androcromas y ginocromas; bigotes: intervalos de confianza).

Despliegue alar. Encontramos que las hembras ginocromas realizan el despliegue alar con mayor frecuencia ($n = 523$) a diferencia de machos ($n = 30$) y hembras androcromas ($n = 20$). El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas entre los grupos (Devianza = 1673.1; $gl = 3$; $P < 0.001$). Las pruebas post-hoc demuestran que hay diferencias significativas entre HG-HA ($P < 0.001$) y

HG-M ($P < 0.001$). Las hembras ginocromas presentan mayor frecuencia de esta conducta, a diferencia de machos y hembras androcromas (Fig. 15).

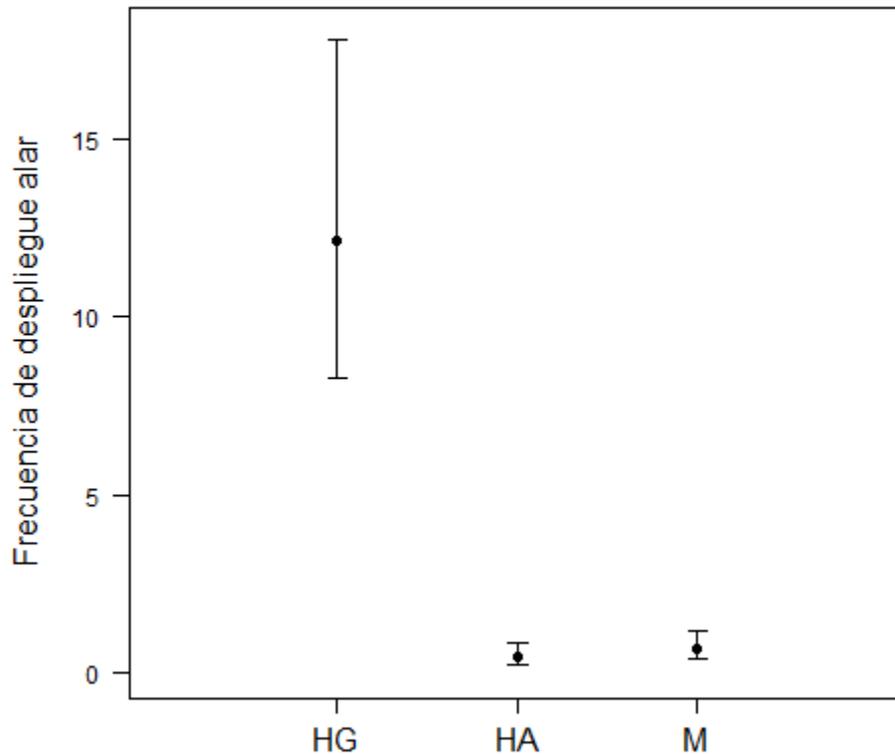


Figura 15. Frecuencia de despliegue alar realizado por cada grupo (HA, HG= hembras androcromas y ginocromas, M= machos; bigotes: intervalos de confianza).

Vuelo. El análisis de varianza demuestra que hay diferencias significativas en el promedio de vuelo entre los grupos ($F = 3.359$; $gl = 2,126$; $P = 0.038$). Las pruebas

post-hoc comprueban que hay diferencias significativas entre HG-HA ($P = 0.036$) y HA-M ($P = 0.020$). En la Figura 16 se observa que las HA tuvieron mayor tiempo de vuelo promedio que las HG y M.

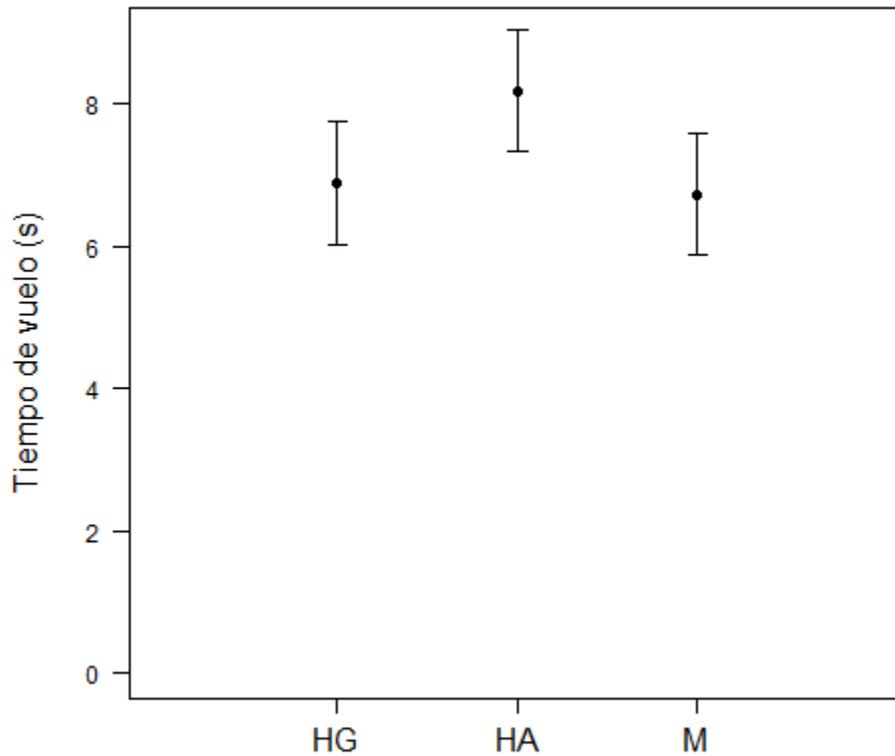


Figura 16. Tiempo de vuelo promedio de los grupos. (HA, HG = hembras androcromas y ginocromas, M = machos; bigotes: intervalos de confianza).

Discusión

Reservas energéticas y ectoparásitos

Como consecuencia de los recursos limitados disponibles para la reproducción, crecimiento y el sistema inmune, existe una disyuntiva entre la asignación de recursos para lograr éxito reproductivo y un sistema inmune eficiente (Zuk, 2009; Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013). En sistemas con mimetismo sexual femenino, debido a que las hembras miméticas expresan un fenotipo similar a los machos (p. ej., fisiología, morfología y conducta) es posible que al invertir recursos en el mimetismo tengan una condición fisiológica (p. ej., reservas de grasas) e inmunológica (p. ej., abundancia y prevalencia de ácaros ectoparásitos) similar a la de los machos, y distinta a la de las hembras no miméticas. Este es el primer trabajo en evaluar el dimorfismo sexual e intrasexual asociado a la condición fisiológica e inmunológica en un sistema con mimetismo sexual femenino.

Los estudios sobre el dimorfismo sexual e intra-sexual en la condición fisiológica e inmunológica entre machos y morfos hembras en especies del género *Ischnura*, sugieren que las hembras androcromas son más susceptibles a ser parasitadas por ácaros ectoparásitos, en comparación con las hembras ginocromas e incluso con los machos. Nuestros resultados muestran que las hembras androcromas tienen mayor abundancia de parásitos que las hembras ginocromas e incluso más que los machos (Fig. 1). La mayoría de las hembras androcromas presentaron más de 11 ácaros, similar a la abundancia que presentaron los machos; mientras que la mayoría de las hembras ginocromas no

presentaron ácaros (Fig. 2). Otros estudios han reportado resultados similares para *I. denticollis* y *E. novahispaniae* (Sánchez-Guillén et al., 2013) así como para *I. elegans* (Willink & Svensson, 2017), donde las hembras androcromas tienen más ácaros que las ginocromas, pero no más que los machos como observamos en *I. denticollis* (Fig. 1). Sin embargo, estos patrones de parasitismo pueden variar entre años y temporadas, como se ha documentado anteriormente en *I. denticollis* (Martínez-Zamilpa, 2013). El área alar posterior tuvo relación con la abundancia de ácaros, los individuos con mayor área alar presentaron mayor cantidad de ácaros (Fig. 3), probablemente debido a que su tamaño permite una mayor área donde los ácaros puedan infectar.

La prevalencia de ácaros entre machos y hembras de odonatos varía mucho entre especies (Ilvonen et al., 2016); sin embargo, en *I. denticollis* encontramos mayor prevalencia de ácaros en hembras androcromas y machos (Fig. 4), mientras que las hembras ginocromas presentaron menor prevalencia, pero solo resultaron estadísticamente diferentes de las hembras androcromas. Esto concuerda con lo reportado por Sánchez-Guillén y colaboradores (2013), quienes encontraron mayor prevalencia para las hembras androcromas de *E. novohispaniae*, *Argia oenea* y *I. denticollis*. Para explicar la diferencia en la abundancia y prevalencia entre hembras androcromas, ginocromas y machos en *I. denticollis* se ha propuesto que cada grupo tiene una exposición diferente a los ácaros durante su metamorfosis de náyade a adulto, ya que en ese momento los ácaros se adhieren al exoesqueleto (Sánchez-Guillén et al., 2013; Córdoba-Aguilar

y Munguía-Steyer, 2013); sin embargo, no se ha comprobado aún esa hipótesis. Se ha demostrado que la tolerancia y resistencia a patógenos difiere entre hembras androcromas, ginocromas y machos en *I. elegans* (Willink & Svensson, 2017), aunque se desconoce cómo reacciona el sistema inmune de cada grupo frente a patógenos. Sánchez-Guillén y colaboradores (2013), han sugerido que es probable que la diferencia en la abundancia y prevalencia de ácaros entre los morfos de hembras de *I. denticollis* se deba a que tienen diferente exposición a estos parásitos; o bien, que, durante su metamorfosis de náyade a adulto, las hembras ginocromas son más resistentes a ser parasitadas que las androcromas. Sin embargo, hace falta realizar estudios experimentales para comprobar cómo es que las hembras ginocromas evitan ser más parasitadas que hembras androcromas y machos.

Otros estudios han sugerido que la presencia de parásitos puede afectar la condición fisiológica (Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013; Sánchez-Guillén et al., 2013). El contenido de reservas energéticas como indicador de la condición fisiológica en odonatos se ha estudiado casi exclusivamente midiendo el total de lípidos o su peso seco, generalmente para evaluar si existen diferencias entre machos de una misma especie (Marden & Rollins, 1994; Koskimäki et al., 2004; Contreras-Garduño et al., 2006). Nosotros medimos la concentración de lípidos por individuo para cada grupo y encontramos que el grupo con mayor concentración de esta reserva fueron las hembras ginocromas, mientras que hembras androcromas y machos no presentaron diferencias en la concentración

de lípidos (Figs. 5 y 6). Esto sugiere que al menos las hembras ginocromas tienen mayor disponibilidad de lípidos que pueden ser empleados en la producción de huevos, y por lo tanto mayor fecundidad. Otros estudios en especies del mismo género (Willink & Svensson, 2017) han demostrado que las hembras ginocromas ovipositan más frecuentemente que las hembras androcromas. Por lo tanto, la concentración de lípidos que presentaron las hembras ginocromas puede estar directamente relacionada con su capacidad de producir más huevos que las hembras androcromas, al menos en *I. denticollis*.

En *Hetaerina americana* (Contreras-Garduño et al., 2006) y *Calopteryx virgo* (Koskimäki et al., 2004) se ha demostrado que hay una correlación positiva entre la respuesta inmune (encapsulación relativa por melanina) y el contenido de lípidos en machos territoriales. Aunque en *H. americana* se desconoce por qué los individuos con más reservas de lípidos tenían una mejor respuesta inmune, es posible que los lípidos estén involucrados en la respuesta inmune (Arrese & Soulages, 2010). En el mosquito *Aedes aegypti* se ha encontrado que, bajo infecciones experimentales, hay un aumento en la producción de lipoforinas (Mendes et al., 2008), que son moléculas transportadoras de lípidos. Se ha supuesto que la movilización de lípidos durante una infección se debe a que pueden participar en la formación de membranas en la zona de infección o como energía disponible para los hemocitos (células del sistema inmune en insectos) (Arrese & Soulages, 2010). De acuerdo con esto, es posible que las hembras ginocromas almacenen más lípidos que las hembras androcromas y los machos ya que representan una ventaja tanto en la posibilidad de producir más huevos

como en que pueden tener una mejor respuesta inmune cuando están infectadas por ácaros.

No observamos diferencias significativas en la concentración de carbohidratos entre los grupos (Tabla 4). Debido a que los carbohidratos pueden encontrarse en forma de reserva (glucógeno y triosa) o listos para usarse en el metabolismo en forma de glucosa (Castaños et al., 2017), es probable que no fueran una aproximación precisa para conocer diferencias entre machos y morfos de hembras, al menos no para *I. denticollis*. Sin embargo, puede considerarse que debido a que la concentración es similar en los tres grupos, es posible que los individuos que estudiamos tuvieran un consumo similar de alimento, teniendo en cuenta la glucosa libre cuantificada en la medición de carbohidratos.

El glucógeno es una reserva importante de energía a corto plazo en insectos, aunque se almacena en menor cantidad que los lípidos (Arrese & Soulages, 2010). Esta reserva se ha utilizado principalmente como indicador de la resistencia a pesticidas en mosquitos vectores de enfermedades (Rivero et al., 2011), por lo que nuestro estudio es el primero en utilizar el glucógeno como indicador de la condición fisiológica en un sistema con mimetismo sexual femenino. Encontramos que la concentración de glucógeno fue mayor en hembras ginocromas que en hembras androcromas y machos, sin diferencias entre machos y hembras androcromas (Fig. 7). Nuestros resultados también mostraron que entre

más ácaros tenían los machos y hembras androcromas, presentaban mayor concentración de glucógeno (Fig. 8). Aparentemente, la presencia de ácaros en hembras androcromas y machos no tiene un efecto negativo en sus reservas de glucógeno. Aunque registramos mayor concentración de esta reserva en hembras ginocromas, en general, ésta fue menor cuando el nivel de parasitismo aumentaba (Fig. 8). Debido a que los ácaros se están alimentando constantemente de su huésped, es probable que las hembras ginocromas con más parásitos estén perdiendo glucógeno debido a la infección (Córdoba-Aguilar & Munguía-Steyer, 2013).

Nuestros resultados indican que las hembras ginocromas son más resistentes a parásitos, ya que fueron las que presentaron menor prevalencia y abundancia de ácaros; así como una mayor concentración de lípidos y glucógeno. Por lo tanto, tienen mejor condición fisiológica e inmunológica en comparación con las hembras androcromas y machos. En *I. elegans* se ha reportado que las hembras ginocromas presentan mayor resistencia a ser parasitadas por ácaros, debido a que es menos probable que se infecten; sin embargo, son poco tolerantes en términos de fecundidad cuando presentan parásitos (Willink & Svensson, 2017). De acuerdo con ese estudio, podemos suponer que las hembras androcromas son más tolerantes que las ginocromas, pero menos resistentes a parásitos. En cambio, las hembras ginocromas, al poseer mayor cantidad de lípidos que pueden estar involucrados en la respuesta inmune (Arrese & Soulages, 2008), podrían ser más resistentes a los ácaros, con una respuesta inmune más

eficiente, el costo de presentar ácaros se refleja en la concentración de glucógeno debido al su nivel de parasitismo (Fig. 8). Takahashi y Watanabe (2010) demostraron en *I. senegalensis* que las hembras androcromas y machos puedan alimentarse con más frecuencia ya que no son acosados constantemente como lo son las hembras ginocromas. Actualmente, se está trabajando en un estudio que evaluará la resistencia y tolerancia en los morfos de hembras y en los machos de *I. denticollis*, de forma experimental (Jaime-Reyes, comunicación personal).

Conducta

El dimorfismo sexual fisiológico implica que machos y hembras emplean sus recursos energéticos diferencialmente (Andersson, 1994). Estas diferencias fisiológicas entre machos y hembras pueden ocurrir como consecuencia del dimorfismo conductual, ya que machos y hembras invierten sus reservas energéticas de acuerdo con los patrones conductuales que expresen. En sistemas con mimetismo sexual femenino las hembras miméticas también pueden expresar patrones de conducta similar a los de los machos (Oliveira et al., 2008). Por lo tanto, es probable que las hembras miméticas estén invirtiendo recursos energéticos de manera similar a los machos. Basados en el trabajo de Sirot y Brockmann (2001) registramos 7 patrones conductuales: tándem, cópula, despliegue alar, enfrentamientos, persecuciones, acoso y vuelo de conducta de *I. denticollis* para conocer si existe una correspondencia con su condición fisiológica e inmunológica.

En odonatos, la persecución es una conducta común en los machos territoriales, ya que suelen perseguir a otros machos que se introduzcan a sus territorios y ocasionalmente a otras especies intrusas (Chavaría-Yáñez, 2018). Nuestros resultados sugieren que las persecuciones (Fig. 9) y los enfrentamientos (Figura 11) son patrones de conductas particulares de los machos. Podemos definir el enfrentamiento como la conducta común entre machos y hembras androcromas de *I. denticollis* (Fig. 11). Mientras que las persecuciones son realizadas por los machos con frecuencia significativamente mayor, por lo tanto, es una conducta prácticamente exclusiva de machos (Fig. 9). Esto concuerda con lo reportado por Sirot y Brockmann (2001), ya que identifican los enfrentamientos como la conducta que las hembras mimetizan de los machos de *I. ramburii*.

Durante el registro de conducta en campo observamos que tanto machos como hembras androcromas realizaban enfrentamientos cuando otros individuos se aproximaban a su territorio, en vez de realizar despliegues alares como lo hacen las ginocromas (Fig. 14). Durante el registro de conducta, era común observar que machos y hembras androcromas se encontraran perchados muy cerca unos de otros, mientras que las hembras ginocromas tendían a alejarse de estas zonas. Es probable que debido a esta cercanía entre machos y hembras androcromas, la frecuencia de enfrentamientos resultara elevada entre estos grupos. Aunque las hembras androcromas tuvieron una condición fisiológica similar a la de los machos, es probable que además de tener mayor probabilidad de prevalencia de ácaros que las hembras ginocromas (Fig. 4), el realizar

enfrentamientos tenga un costo importante en sus reservas energéticas, ya que constantemente defienden su territorio.

El origen del mimetismo sexual femenino en odonatos se ha supuesto que surgió como consecuencia del acoso de los machos por intento de cópula, y que esta estrategia les permite a las hembras miméticas evadir los costos del acoso expresando un fenotipo similar a los machos (Robertson, 1985; Oliveira et al., 2008). En algunas especies del género *Ischnura* se ha demostrado que las hembras androcromas no logran evadir el acoso cuando la densidad de estas es mayor que la de las hembras ginocromas (*I. elegans*: Van Gossum et al., 2001; Svensson et al., 2005; *I. ramburii*: Sirot et al., 2003), al menos en estos sistemas, el mimetismo es efectivo cuando la densidad de hembras androcromas es baja. Nosotros encontramos que las hembras androcromas de *I. denticollis* son significativamente menos acosadas por machos que las hembras ginocromas, además, registramos machos que son acosados por otros machos y con mayor probabilidad que las hembras androcromas (Fig. 10). Incluso observamos tándem de macho con macho en individuos no focales. Esto indica que el mimetismo de las hembras androcromas fue efectivo al menos durante la temporada en que realizamos el estudio. Durante los registros de conducta pudimos observar una aparente mayor densidad de hembras androcromas que ginocromas, además de que las hembras androcromas conviven cerca de los territorios de los machos, lo cual puede afectar el reconocimiento de posibles parejas para los machos, por lo que pueden llegar a acosar a otros machos; sin embargo, hace falta realizar un

estudio de densidad poblacional para conocer la frecuencia relativa de los morfos y como esta afecta el reconocimiento de pareja. Un estudio con *I. elegans* demuestra que cuando los machos son incapaces de reconocer a las hembras androcromas como parejas potenciales, afecta negativamente su supervivencia ya que pierden tiempo intentando sujetar machos en tándem (Gering, 2017).

Durante el tándem y la cópula, los odonatos son más conspicuos para posibles depredadores, vuelan lento o tienden a quedarse más tiempo posados, además de que no pueden alimentarse hasta que el macho suelte a la hembra, o esta se libere (Córdoba-Aguilar, 2008). Nuestros resultados muestran que las hembras ginocromas tienen mayor probabilidad de realizar tándem y cópula que las androcromas (Fig. 12 y 13). Esto concuerda con la frecuencia de acoso por machos hacia hembras ginocromas. En campo, observamos en ginocromas focales y no focales que en cuanto eran identificadas por un macho eran acosadas. A diferencia de las hembras androcromas que evaden el acoso realizando enfrentamientos las hembras ginocromas no receptivas realizaban un despliegue alar, una posición que les dificulta a los machos sujetarlas en tándem (Robertson, 1985; Sirot & Brockmann, 2001).

De acuerdo con nuestros resultados de conducta, es posible definir que las hembras ginocromas y androcromas emplean diferentes estrategias que les permiten evadir el acoso de los machos: las hembras ginocromas tienen poca

actividad y las hembras androcromas son más activas, como los machos. Estos patrones conductuales son similares a los que se reportaron para *I. ramburii* (Robertson, 1985; Sirot & Brockmann, 2001) e *I. elegans* (Willink & Svensson, 2017). La similitud en la condición fisiológica entre machos y hembras androcromas, probablemente se debe a que son casi tan activas como los machos (exceptuando las persecuciones), además de que tienen mayor tiempo de vuelo promedio que hembras ginocromas y machos (Fig. 15). Por lo tanto, el mimetismo que expresan las hembras androcromas tiene un costo importante en su condición fisiológica e inmunológica, en relación con sus patrones conductuales; sin embargo, aunque parece una desventaja, se ha demostrado en *I. elegans* que las hembras androcromas son más tolerantes a la infección por ácaros ectoparásitos que las hembras ginocromas, mientras que las hembras ginocromas pierden fecundidad cuanto llegan a presentar menos parásitos (Willink & Svensson, 2017).

Varios estudios odonatos del género *Ischnura* demuestran que el acoso puede tener efectos en la adecuación de las hembras en términos de fecundidad (Takahashi & Watanabe, 2010; Sánchez-Guillén et al., 2017). Nuestro trabajo deja claro que hay diferencias entre hembras androcromas y ginocromas, en su conducta y condición fisiológica e inmunológica, pero hace falta conocer cómo es que esto afecta la adecuación de cada morfo en términos de fecundidad.

En resumen, nuestras hipótesis sugieren que podrían existir diferencias en la condición fisiológica e inmunológica y que los patrones conductuales podrían tener relación con estas. Comprobamos que las hembras androcromas están invirtiendo recursos energéticos de forma similar a los machos, por lo que es probable que repercuta en su condición inmunológica teniendo incluso mayor abundancia y prevalencia de ácaros que los machos. En cuanto a los patrones conductuales, las hembras androcromas y machos realizan enfrentamientos frecuentemente (Fig. 11), además de que las hembras androcromas están invirtiendo mayor tiempo de vuelo que machos y hembras ginocromas (Fig. 15), lo cual indica que las hembras androcromas tienen mayor actividad y que están invirtiendo más recursos energéticos que las hembras ginocromas. Finalmente, podemos concluir que la condición fisiológica e inmunológica son similares entre machos y hembras androcromas, pero diferentes a las hembras ginocromas; además, encontramos que la conducta probablemente tiene un efecto importante en la condición fisiológica de cada grupo de *I. denticollis*. Próximos estudios podrían evaluar la resistencia y tolerancia de cada grupo a parásitos, así como la fecundidad de hembras androcromas y ginocromas en *I. denticollis*.

Conclusiones

- La condición fisiológica de hembras androcromas y machos fue similar y menor a la de las hembras ginocromas, que presentaron una mayor concentración de glucógeno y lípidos.
- Las hembras androcromas presentaron significativamente mayor abundancia de ácaros que hembras ginocromas, pero abundancia similar a la de los machos.
- Las hembras androcromas presentaron significativamente mayor prevalencia de ácaros que hembras ginocromas y machos, siendo las hembras ginocromas el grupo con menor prevalencia.
- Las hembras androcromas mostraron una frecuencia similar a los machos en enfrentamientos y mayor duración del vuelo que machos y hembras ginocromas, lo cual corresponde con su baja condición fisiológica.}

Literatura citada

Andersson M (1994). *Sexual Selection*. Princeton University Press.

Andersson M & Simmons LW (2006). Sexual selection and mate choice. *Trends in ecology & evolution*, 21(6), 296-302.

Andrés JA, Sanchez-Guillén RA, & Cordero-Rivera A (2002). Evolution of female colour polymorphism in damselflies: testing the hypothesis. *Animal Behaviour*, 63(4), 677-685.

Arrese EL & Soulages JL (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual review of entomology*, 55, 207-225.

Best A, White A & Boots M (2008). Maintenance of host variation in tolerance to pathogens and parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(52), 20786-20791.

Brockmann HJ (2008). *Alternative reproductive tactics in insects. Alternative reproductive tactics: an integrative approach*. Cambridge University Press, Cambridge, 177-223.

Castaños CE, Córdoba-Aguilar A & Munguía-Steyer R (2017). Physiological condition and wing pigmentation expression in a damselfly with seasonal polyphenism. *Physiological Entomology*, 42(4), 346-354.

Chavaría-Yañez A (2018). Interacciones agonísticas entre machos de la libélula *Hetaerina titia* (Odonata, Calopterygidae). Tesis de Licenciatura. UNAM.

Contreras-Garduño J, Canales-Lazcano J & Córdoba-Aguilar A (2006). Wing pigmentation, immune ability, fat reserves and territorial status in males of the rubyspot damselfly, *Hetaerina americana*. *Journal of Ethology*, 24(2), 165-173.

Cordero A (1990). The inheritance of female polymorphism in the damselfly *Ischnura graellsii* (Rambur) (Odonata: Coenagrionidae). *Heredity*, 64(3), 341.

Cordero A & Andrés JA (1996). Colour polymorphism in odonates: females that mimic males. *Journal of the British Dragonfly Society*, 12(2), 50-61.

Córdoba-Aguilar A (1993). Population structure in *Ischnura denticollis* (Burmeister) (Zygoptera: Coenagrionidae). *Odonatologica*, 22(4), 455-464.

Córdoba-Aguilar A (2008). Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research. Oxford University Press, 219-229.

Córdoba-Aguilar A & González-Tokman DM (2014). The behavioral and physiological ecology of adult rubyspot damselflies (Hetaerina, Calopterygidae, Odonata). In *Advances in the Study of Behavior*, 46, 311-341.

Córdoba-Aguilar A & Munguía-Steyer R (2013). The Sicker Sex: Understanding Male Biases in Parasitic Infection, Resource Allocation and Fitness. *PLoS One*, 8(10), e76246.

Craig JK & Foote CJ (2001). Countergradient variation and secondary sexual color: phenotypic convergence promotes genetic divergence in carotenoid use between sympatric anadromous and nonanadromous morphs of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Evolution*, 55(2), 380-391.

Emlen DJ (2008). The Evolution of Animal Weapons. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39, 387–413.

Folstad I & Karter AJ (1992). Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist*, 139(3), 603-622.

Foray V, Pelisson PF, Bel-Venner MC, Desouhant E, Venner S, Menu F, Giron D & Minreyla B (2012). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. *Physiological entomology*, 37(3), 295-302.

Friard O & Gamba M (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1325-1330.

Futahashi R (2016). Color vision and color formation in dragonflies. *Current Opinion in Insect Science*, 17, 32-39.

Galeotti P, Sacchi R, Pellitteri-Rosa D, Bellati A, Cocca W, Gentili A & Fasola M (2013). Colour polymorphism and alternative breeding strategies: effects of parent's colour morph on fitness traits in the common wall lizard. *Evolutionary Biology*, 40(3), 385-394.

Gering EJ (2017). Male-mimicking females increase male-male interactions and decrease male survival and condition in a female-polymorphic damselfly. *Evolution*, 71(5), 1390-1396.

Gilbert R, Karp RD & Uetz GW (2016). Effects of juvenile infection on adult immunity and secondary sexual characters in a wolf spider. *Behavioral Ecology*, 27(3), 946-954.

Hahn DA (2003). Rules of nutrient allocation to storage: A critical component of insect life histories. Disertación doctoral. The University of Arizona.

Ilvonen JJ, Kaunisto KM & Suhonen J (2016). Are sexes equally parasitized in damselflies and dragonflies?. *Oikos*, 125(3), 315-325.

Johnson JB & Omland KS (2004). Model selection in ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution*, 19(2), 101-108.

Koskimäki J, Rantala MJ, Taskinen J, Tynkkynen K & Suhonen J (2004). Immunocompetence and resource holding potential in the damselfly, *Calopteryx virgo* L. *Behavioral Ecology*, 15(1), 169-173.

Kunte K (2009). Female-limited mimetic polymorphism: a review of theories and a critique of sexual selection as balancing selection. *Animal Behaviour*, 78(5), 1029-1036.

Lehner PN (1987). Design and Execution of Animal Behavior Research: An Overview 1. *Journal of Animal Science*, 65(5), 1213-1219.

Marden JH & Rollins RA (1994). Assessment of energy reserves by damselflies engaged in aerial contests for mating territories. *Animal Behaviour*, 48(5), 1023-1030.

Martínez-Zamilpa SM (2012). Parasitismo diferencial por *Arrenurus* sp. (Acari: Hydrachnidia) entre machos y morfos femeninos en *Ischnura denticollis* (Odonata: Zygoptera). Tesis de licenciatura. UNAM.

McKinnon JS & Pierotti ME (2010). Colour polymorphism and correlated characters: genetic mechanisms and evolution. *Molecular Ecology*, 19(23), 5101-5125.

Mendes AM, Schlegelmilch T, Cohuet A, Awono-Ambene P, De Iorio M, Fontenille D & Vlachou D (2008). Conserved mosquito/parasite interactions affect

development of *Plasmodium falciparum* in Africa. *PLoS Pathogens*, 4(5), e1000069.

Nielsen MG & Watt WB (2000). Interference competition and sexual selection promote polymorphism in *Colias* (Lepidoptera, Pieridae). *Functional Ecology*, 14(6), 718-730.

Oliveira RF, Taborsky M & Brockmann HJ (2008). *Alternative reproductive tactics: an integrative approach*. Cambridge University Press.

Outomuro D, Söderquist L, Nilsson-Örtman V, Cortázar-Chinarro M, Lundgren C, & Johansson F (2016). Antagonistic natural and sexual selection on wing shape in a scrambling damselfly. *Evolution*, 70(7), 1582-1595.

Plaistow S & Siva-Jothy MT (1996). Energetic constraints and male mate-securing tactics in the damselfly *Calopteryx splendens xanthostoma* (Charpentier). *Proceedings of the Royal Society of London B*, 263(1374), 1233-1239.

Rivero A, Magaud A, Nicot A & Vézilier J (2011). Energetic cost of insecticide resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Journal of medical entomology*, 48(3), 694-700.

Robertson HM (1985). Female dimorphism and mating behaviour in a damselfly, *Ischnura ramburii*: females mimicking males. *Animal Behaviour*, 33(3), 805-809.

Roulin A (2016). Condition-dependence, pleiotropy and the handicap principle of sexual selection in melanin-based colouration. *Biological Reviews*, 91(2), 328-348.

Sánchez-Guillén RA, Cordero-Rivera A, Rivas-Torres A, Wellenreuther M, Bybee S, Hansson B, Velasquez-Vélez MI, Realpe E, Chávez-Ríos JR, Villalobos F & Dumont H (2018). The evolutionary history of colour polymorphism in *Ischnura* damselflies. *Journal of Evolutionary Biology*.

Sánchez-Guillén RA, Martínez-Zamilpa SMJ, Jiménez-Cortés, Forbes MRL, Córdoba-Aguilar A (2013). Maintenance of polymorphic females: do parasites play a role?. *Oecologia*, 171(1), 105-113.

Sánchez-Guillén RA, Van Gossum H, & Cordero Rivera A (2005). Hybridization and the inheritance of female colour polymorphism in two ischnurid damselflies (Odonata: Coenagrionidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(4), 471-481.

Sánchez-Guillén RA, Wellenreuther M, Chávez-Ríos JR, Beatty CD, Rivas-Torres A, Velasquez-Velez M & Cordero-Rivera A (2017). Alternative reproductive strategies and the maintenance of female color polymorphism in damselflies. *Ecology and Evolution*, 7(15), 5592-5602.

Schneider CA, Rasband WS & Eliceiri KW (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671.

Sinervo B & Lively CM (1996). The rock-paper-scissors game and the evolution of alternative male strategies. *Nature*, 380(6571), 240-243.

Sirot LK & Brockmann HJ (2001). Costs of sexual interactions to females in Rambur's forktail damselfly, *Ischnura ramburi* (Zygoptera: Coenagrionidae). *Animal Behaviour*, 61(2), 415-424.

Sirot, L. K., Brockmann, H. J., Marnis, C., & Muschett, G. (2003). Maintenance of a female-limited polymorphism in *Ischnura ramburi* (Zygoptera: Coenagrionidae). *Animal Behaviour*, 66(4), 763-775.

Suarez RK, Darveau CA, Welch KC, O'Brien DM, Roubik DW & Hochachka PW (2005). Energy metabolism in orchid bee flight muscles: carbohydrate fuels all. *Journal of Experimental Biology*, 208(18), 3573-3579.

Svensson EI, Abbott J & Härdling R (2005). Female polymorphism, frequency dependence, and rapid evolutionary dynamics in natural populations. *The American Naturalist*, 165(5), 567-576.

Takahashi Y & Watanabe M (2010) Female reproductive success is affected by selective male harassment in the damselfly *Ischnura senegalensis*. *Animal Behaviour*, 79(1), 211-216.

Taborsky M & Brockmann HJ (2010). Alternative reproductive tactics and life history phenotypes. In *Animal Behaviour: Evolution and Mechanisms*. Springer, 537-586.

Turlure C, Legrand D, Schtickzelle N, & Baguette M (2016). Male disguised females: costs and benefits of female-limited dimorphism in a butterfly. *Ecological entomology*, 41(5), 572-581.

Van Gossum H, Stoks R & De Bruyn L (2001). Frequency-dependent male mate harassment and intra-specific variation in its avoidance by females of the damselfly *Ischnura elegans*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 51(1), 69-75.

Verhoeven KJ, Simonsen KL & McIntyre LM; 2005; Implementing false discovery rate control: increasing your power. Oikos, 108(3), 643-647.

Willink B & Svensson EI (2017). Intra-and intersexual differences in parasite resistance and female fitness tolerance in a polymorphic insect. Proceedings of the Royal Society B, 284(1847), 20162407.

Wilson K & Grenfell BT (1997). Generalized linear modelling for parasitologists. Parasitology Today, 13(1), 33-38.

Zuk M (2009). The Sicker Sex. PLoS Pathogens, 5(1), e1000267.