



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**Condición fisiológica de machos de la especie *Abedus
dilatatus* (Hemiptera: Belostomatidae) asociada a la
temporada y tiempo de cuidado parental**

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 GONZÁLEZ GARCÍA



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA
STEYER**

**LOS REYES IZTACALA, TLANEPANTLA,
ESTADO DE MÉXICO, 2019**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A la UNAM, la máxima casa de estudios cuyos cimientos son el esfuerzo, el trabajo y la lucha diaria del pueblo mexicano. Agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por su gran esfuerzo al formar profesionistas competentes y biólogos de gran calidad.

Con gran aprecio para el Dr. Roberto Edmundo Munguía Steyer, quien con esfuerzo, dedicación y paciencia fue parte importante en esta gran etapa de formación profesional y personal. Agradeciéndole todo el invaluable conocimiento compartido y todos los buenos consejos brindados como amigo.

A los miembros de mi comité tutorial:

Dra. Leticia Ríos Casanova

Dra. Juanita Alba Luis Díaz

Dra. María Félix Ramos Ordóñez

Dr. Raúl Cueva del Castillo

A quienes con gran aprecio agradezco por su apoyo otorgado durante el tiempo de revisión y por los acertados comentarios.

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

Agradezco al Dr. Alejandro Córdoba Aguilar, por todo el apoyo que durante mi fase experimental. También, a su gran equipo de trabajo del Laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos.

A mis grandes colegas y grandes amigos del Laboratorio de Ecología Evolutiva de Artrópodos:

A Clari, por todos sus consejos de trabajo y por esos grandes momentos que como amiga compartimos.

A Martín, gracias por todos comentarios que siempre fueron de utilidad y sobre todo por todas esas charlas extensas que siempre serán inolvidables para mí.

A mi tocayo, gracias por toda la ayuda, paciencia y consejos brindados.

A Carla, Estefany y César. Quienes con poco tiempo han sido parte importante en durante esta etapa, gracias por los buenos momentos jugando canasta, por sus consejos y su ayuda en taxonomía.

A Fofó, Bruno, Ceci y David. Por su apreciada amistad, por todos los consejos y ayuda conferida.

A los adoptados, Lore, Bere, Xime, Met, Elisa, Luis, Kevin, Adrián y Alonso. Gracias por su amistad, por tantos buenos momentos que pasamos jugando canasta, fut y por todas esas charlas comunitarias.

Con gran amor, les agradezco a mis padres, María De los Ángeles y José Carlos, por todo su amor, esfuerzo, paciencia, consejos y compañía que siempre brindaron de forma incondicional para conseguir ser la persona en la que me convertí.

A mis amados hermanos, Natali, Israel y tu Astrid, por su gran amor, amistad, consejos, por sus palabras (según nata) y especialmente por su apoyo incondicional.

A toda la Familia Aguilar y González, por su gran apoyo y por tanto amor recibido, en especial a la señora Irene, Guadalupe y al señor José Carmen.

A Rosa, le agradezco por su gran cariño, confianza, amistad, admiración, por su incansable apoyo y en especial por todos los hermosos momentos que pasamos juntos.

A Jon y Edwin, por su gran amistad, buenos consejos y por las incontables aventuras que vivimos durante estos años.

A mi otra familia, Fer, Marco, Noemi, Dani, Rojo, Abuelo, Ximena. Por su apoyo y su comprensión en momentos difíciles.

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Objetivo General	17
Objetivos particulares.....	17
Hipótesis.....	17
Predicciones.....	18
Material y Métodos	19
Homogenización de tejidos con nitrógeno líquido	22
Cuantificación de reservas energéticas	22
Análisis Estadísticos.....	24
Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos	24
Análisis fisiológicos de reservas energéticas.....	25
Resultados	26
Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos	26
Reservas energéticas y condición fisiológica de los machos parentales	32
Discusión.....	42
Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos	42
Reservas energéticas y condición fisiológica de los machos parentales	47
Literatura citada.....	52

Resumen

El cuidado parental puede definirse como cualquier serie de conductas realizadas por los padres, con las cuales aumentan la supervivencia y/o el éxito reproductivo de las crías. De los millones de especies de insectos, en la familia Belostomatidae se encuentra el 99 % de las especies de insectos que realizan cuidado parental exclusivo. En el género *Abedus*, la hembra coloca los huevos en el dorso del macho y este los transporta, ventila y limpia hasta su eclosión en condiciones subacuáticas. Estas actividades tienen costos energéticos, como la actividad física al realizar los movimientos de ventilación asociados al cuidado parental. Por lo tanto, la condición del padre podría deteriorarse conforme avanza el tiempo de cuidado parental. El tiempo de cuidado parental puede ser modulado por condiciones ambientales como la temperatura. En ambientes acuáticos con temperaturas altas, la tasa de embriogénesis es más rápida, lo que redundaría en un menor tiempo de cuidado parental. Asimismo, la condición de los machos puede variar debido al tamaño de la puesta que portan y al esfuerzo parental que realicen, ya que este cambia conforme el grado de desarrollo de los huevos avanza. En este trabajo evalué la condición fisiológica de los machos parentales con cuidado reciente y prolongado mediante el análisis de sus reservas energéticas (lípidos, glucógeno y carbohidratos). Para ello, estimé el número de huevos portados por cada macho parental, el grado de desarrollo en el que se encontraban los huevos, y la longitud y peso de los padres. Comparé el contenido de reservas de machos colectados durante invierno y verano, así como entre grupos de machos con cuidado parental reciente (huevos recientemente puestos)

o prolongado (huevos próximos a la eclosión). A su vez, relacioné el contenido de reservas con el número de huevos, el grado de desarrollo, longitud y peso. Encontré que la condición de los machos difiere estacionalmente. Asimismo, los machos con un mayor número de huevos presentaron una mejor condición al inicio del cuidado parental que al final, sin embargo, los machos con puestas pequeñas mostraron mejor condición durante el final del cuidado parental. De esta manera, los machos colectados en verano tuvieron mayor contenido de lípidos, carbohidratos, puestas con más número de huevos y mayor tamaño. Además, la condición fisiológica de los machos podría ser deteriorada por el número de huevos portados, debido al aumento en el esfuerzo parental mientras los huevos están próximos a la eclosión. Por último, este trabajo sugiere que la condición de los machos parentales puede ser un aspecto asociado a la elección de pareja femenina, asunto que tendrá que ser evaluado de manera experimental en estudios posteriores.

Introducción

El cuidado parental puede definirse como una estrategia conductual en la cual los padres aumentan la probabilidad de supervivencia, calidad y éxito reproductivo de su progenie (Clutton-Brock, 1991; Kölliker *et al.*, 2012). El cuidado parental incluye conductas como la preparación de nidos o madrigueras, alimentación de las crías, y también conductas que aumentan la viabilidad de la progenie. Por ejemplo, la viabilidad de la progenie puede ser incrementada modificando las condiciones ambientales, como puede ser humectando la puesta y así evitar el riesgo de deshidratación, aumentar la oxigenación de los huevos (Smith, 1997; Klug y Bonsall, 2014), o bien mediante la protección contra depredadores, parásitos y parasitoides (Clutton-Brock, 1991; Davies *et al.*, 2014).

El cuidado parental ha surgido en diversos grupos animales como mamíferos, reptiles, aves, peces y artrópodos (Kölliker *et al.*, 2012), aunque no existe una tendencia filogenética directa que explique la evolución del cuidado parental (McKittrick, 1992; Reynolds *et al.*, 2002). Algunos autores han propuesto que la diversificación de estas conductas parentales puede ser explicada por los costos y beneficios en su adecuación. La teoría más aceptada para explicar el cuidado parental es la inversión parental, la cual, podemos decir que es cualquier gasto hecho por los padres (tiempo, energía u otro recurso) que permite aumentar la supervivencia y/o la reproducción de la progenie actual, pero reduce la habilidad de los padres de invertir en su progenie futura (Trivers, 1972).

La inversión parental varía dependiendo de las características de historia de vida de los organismos y el ambiente en el que se desarrollan, además de que

usualmente difiere entre los individuos de distinto sexo (Trivers, 1972; Clutton-Brock, 1991). Por ejemplo, en aves y artrópodos el gasto de recursos en la producción de gametos es distinta, ya que el óvulo es una célula que necesita una gran inversión de recursos por parte de la hembra para ser producida, pero el macho no requiere de muchos recursos para producir miles de espermatozoides (Clutton-Brock, 1991; Kölliker *et al.*, 2012). La inversión parental comprende desde el gasto en la producción de gametos hasta inversiones postcigóticas como las conductas asociadas al cuidado parental (Clutton-Brock, 1991). El cuidado parental se ha clasificado en tres diferentes tipos (Clutton-Brock, 1991; Requena *et al.*, 2014; Davies *et al.*, 2014); (1) el cuidado materno, que es común en mamíferos (Ridley, 1978), el gasto parental de la hembra en la gestación, la lactación y otras conductas es mucho mayor al proporcionado por el macho (Kölliker *et al.*, 2012; Davies *et al.*, 2014); (2) el cuidado biparental, el cual ha sido mayormente descrito en aves y se caracteriza por una inversión postcigótica por parte de ambos progenitores (Clutton-Brock, 1991); (3) el cuidado paterno, el más raro de todos, en este tipo de cuidado solo el macho se encuentra a cargo del cuidado de la progenie (Trivers, 1972; Smith, 1997; Klug y Bonsall, 2014).

Existen varias hipótesis que tratan de explicar el origen del cuidado parental exclusivo del macho. La primera de ellas relaciona el esfuerzo parental con la certidumbre de paternidad, ya que en especies poliándricas, en las cuales la hembra puede copular con más de un macho y la fertilización es interna, la maternidad de la hembra no está en duda. En comparación, la paternidad de macho puede encontrarse sesgada por la competencia espermática con otros

machos (Trivers, 1972; Tallamy, 2001; Munguía-Steyer, 2007). Por ejemplo, se ha observado que en el pez sol *Lepomis macrochirus*, en el cual existen machos satélites que buscan interceptar alguna cópula y cuando los machos presentan una mayor certidumbre de paternidad, el esfuerzo parental es mayor (Neff y Gross, 2001).

Por otro lado, la territorialidad se considera otra hipótesis que explica el cuidado paterno. Por ejemplo, en la mayoría de los peces teleósteos en los cuales la fertilización es externa, podemos encontrar comúnmente este tipo de cuidado ya que mantener un territorio puede ser benéfico para los machos, esto debido a que el apareamiento y la colocación de los huevos puede estar dentro de su propio territorio y ellos pueden evitar a otros machos oportunistas, competentes e incluso a depredadores. De esta forma, la territorialidad pudo convertirse indirectamente en cuidado de sus conespecíficos (Reynolds *et al.*, 2002; Munguía-Steyer, 2007; Davies *et al.*, 2014). Otra propuesta es la desarrollada por Bateman en 1948, en la cual teorizó que el macho puede tener potencialmente miles de descendientes debido a la gran producción de espermatozoides, mientras las hembras tienen que invertir más en un número limitado de gametos grandes y costosos (Trivers, 1972).

Los modelos teóricos propuestos para explicar la evolución, modulación y mantenimiento del cuidado parental tienen en cuenta explícita o implícitamente costos y beneficios asociados a este comportamiento (Requena *et al.*, 2014). Algunos de estos beneficios son el aumento de la probabilidad de la viabilidad, supervivencia y éxito reproductivo de las crías al brindarles protección ante depredadores y parásitos, recursos alimenticios o la modificación de las

condiciones ambientales que favorezcan su desarrollo (Klug y Bonsall, 2014; Requena *et al.*, 2014). Los costos asociados al cuidado parental se clasifican generalmente en tres categorías (Clutton-Brock, 1991):

1.- *Aumento en el riesgo de mortalidad.* Puede ocurrir debido a los ataques de depredadores, ya que los padres al mantener un nido o una puesta de huevos son conspicuos y lentos al escapar, además de volverse más susceptibles a infecciones por parásitos y parasitoides en el periodo de cuidado (Trivers 1972; Clutton-Brock, 1991; Klug y Bonsall, 2014; Requena *et al.*, 2014).

2.- *Deterioro de la condición fisiológica.* La condición puede verse afectada negativamente por un menor tiempo de alimentación y/o un aumento de la actividad física asociada a los comportamientos parentales. La condición fisiológica es un término que ha sido utilizado para entender la historia de vida de los organismos, así como el proceso de acumulación y asignación de los recursos que tienen disponibles los individuos (Rowe y Houle, 1996). La condición se ha definido tradicionalmente como el conjunto de recursos metabólicos adquiridos y disponibles por un individuo, los cuales pueden incidir en su adecuación (Rowe y Houle, 1996; Hunt *et al.*, 2004; Bonduriansky y Chenoweth, 2009).

Algunos ejemplos muestran como el cuidado parental puede deteriorar la condición fisiológica de los machos en distintos grupos animales (Jones y Reynolds, 1999). Por ejemplo, en el pez *Pomatoschistus microps*, la condición fisiológica del macho se midió al obtener la pérdida de peso (porcentaje de masa lipídica en el cuerpo) el cual disminuyó como consecuencia del esfuerzo parental realizado (Lissaker *et al.*, 2003; Gravel *et al.*, 2010).

3.- *Disminución en la tasa de apareamiento.* Ya que los machos que realizan cuidado parental pueden contar con menos tiempo dedicado a la búsqueda de parejas sexuales (Clutton-Block:1991; Klug y Bonsall, 2014; Requena *et al.*, 2014).

Sin embargo, los costos asociados al esfuerzo parental pueden reflejarse en el éxito reproductivo residual de los machos. Por ejemplo, en el pez *P. microps*, al aumentar el esfuerzo parental de manera experimental modificando el tamaño la puesta, la probabilidad de que los padres abandonaran su siguiente puesta fue mayor (Jones y Reynolds, 1999). En bobos de patas azules *Sula nebouxii*, la condición de las hembras y machos puede deteriorarse debido al aumento de crías en su nido, lo cual incidirá en una menor capacidad de inversión parental en eventos reproductivos posteriores (Velandy y Alonso-Alvarez, 2003).

No obstante, algunos modelos teóricos y datos experimentales han sugerido que el cuidado paterno no necesariamente conlleva conflicto entre el esfuerzo parental y el esfuerzo por conseguir pareja en todas las especies (Manica y Johnstone, 2004). La razón se debe a que el cuidado paterno puede ser sujeto a selección sexual (Ohba *et al.*, 2016). Recientemente, se ha demostrado que el cuidado paternal puede ser una señal honesta de la condición fisiológica (estatus corporal) de los machos, por lo cual, el cuidado ha podido mantenerse y evolucionar por selección sexual en algunos linajes evolutivos (Warren *et al.*, 2013; Requena *et al.*, 2014; Ohba *et al.*, 2016).

La presencia del cuidado parental en especies de artrópodos es sumamente inusual (Tallamy, 2001). De los millones de especies de artrópodos, se estima que el cuidado paterno ha evolucionado de manera independiente en 15 linajes

evolutivos, aunque en la actualidad este número puede aumentar en la medida que se conocen más sistemas animales que realizan cuidado paternal de manera exclusiva (Tallamy, 2001; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007; Requena *et al.*, 2012). El primer caso de cuidado paternal en artrópodos se encontró en las arañas de mar de la familia Picnogonidae (Tallamy, 2001). En estos organismos, los machos cargan a sus huevos durante casi 3 meses, ya que portan un par de apéndices especializados que incluso les permite cargar puestas de huevos de diferentes hembras (Tallamy, 2001; Requena *et al.*, 2014). Adicionalmente, en la subfamilia Belostomatinae describieron conductas parentales como el transporte de la puesta de huevos sobre el dorso de los machos y la ventilación de ésta en condiciones subacuáticas (Smith, 1974, 1976; Requena *et al.*, 2014). Posteriormente, se han reportado casos de cuidado paterno exclusivo en opiliones, miriápodos y en grupos de insectos como los tisanópteros, embiópteros, coleópteros, himenópteros, isópteros y hemípteros (Clutton-Brock, 1991; Tallamy, 2001; Requena *et al.*, 2014).

Algunos casos de cuidado paternal los podemos encontrar en opiliones, como el caso de *Zygopachylus albomarginis*, en la cual el macho construye un nido con un lodo especial, permitiendo que la hembra coloque los huevos sobre esta sustancia y así él permanecerá resguardando y protegiendo el nido hasta la eclosión de los huevos (Tallamy, 2001). Otro ejemplo es el caso de *Iporangaia pustulosa*, en esta especie las hembras ponen sus huevos sobre el envés de las hojas adhiriéndolos con una mucosa especial secretada por ellas, después de esto, la hembra

abandona los huevos y el macho es el encargado de cuidar y proteger el nido (Requena *et al.*, 2012).

Además de los opiliones, otros casos importantes de cuidado exclusivo del macho lo podemos encontrar en hemípteros como en *Plunentis yurupucu* y *Plunentis porosus* de la familia Coreidae (Tallamy, 2001), en chinches asesinas del género *Rhinocoris* (Ralston, 1977) y en chinches gigantes de agua de la familia Belostomatidae, en la cual, el macho es el encargado de la protección de la puesta de huevos (Smith, 1997). De los millones de especies de insectos, casi 150 especies realizan cuidado parental exclusivo y de este pequeño número, el 99% de especies pertenecen a la familia Belostomatidae (Smith, 1997). En esta familia el cuidado de la progenie consiste en conductas que modifican las condiciones abióticas, aumentando la viabilidad de los huevos a través de procesos que involucran, transporte, hidratación, aeración y protección frente a depredadores y parásitos (Smith, 1976,1997; Ichikawa, 1988; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007).

En la subfamilia Lethocerinae, las hembras ponen sus huevos sobre la vegetación emergente de los cuerpos de agua, permitiéndoles obtener oxígeno del aire atmosférico, por otro lado, el macho es el encargado del cuidado de la puesta de huevos, el cual se encarga de proteger de depredadores y evitar la desecación de los huevos (Ichikawa, 1988; Smith, 1997). En la subfamilia Belostomatinae, los individuos viven en ambientes subacuáticos la mayor parte del tiempo, las hembras se encargan de colocar los huevos en el escudo dorsal de los machos, los cuales son los encargados de transportarlos y realizar conductas de limpieza

(brood-stroking en inglés) y/o ventilación (brood-pumping en inglés). Los movimientos de limpieza consisten en frotar con sus apéndices traseros la puesta de huevos, y así evitar infecciones fúngicas. En caso de los movimientos de ventilación, los machos realizan una forma de flexiones repetidas con sus patas traseras, con lo cual genera una pequeña corriente debajo del agua y de esta manera pueden oxigenar la puesta de huevos de manera activa (Smith, 1976,1997; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007; Munguía-Steyer *et al.*, 2008).

La morfología y coloración de los huevos es un parámetro con el cual se puede aproximar el tiempo de cuidado parental que han realizado los padres, tal como se demuestra en algunos artrópodos (Dick *et al.*, 1998; Munguía-Steyer *et al.*, 2008). En la especie *Crangonyx pseudogracilis*, donde existe cuidado maternal, la ventilación de la puesta es crucial durante estadios de desarrollo primarios. Las etapas de desarrollo fueron determinadas utilizando las características morfológicas del huevo, los cuales son oscuros y ovalados durante sus 3 primeras etapas, tornándose naranjas durante la cuarta etapa y rojos en la última etapa de desarrollo (Dick *et al.*, 1998). En la subfamilia Belostomatinae, los huevos recién puestos por la hembra en el dorso del macho son esféricos y negros durante su primera etapa de desarrollo, que gradualmente se aclaran tornándose de un color gris claro, su forma es cilíndrica y son de mayor tamaño durante las siguientes etapas de desarrollo. Esto ocurre debido al aumento del tamaño del embrión y una mayor absorción de agua en el huevo (Madhavan, 1974; Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008).

Por otro lado, existen costos y beneficios específicos al cuidado parental exclusivo en esta familia. Algunos de estos beneficios son aumentar la viabilidad de la progenie mediante la ventilación, aeración y protección de la puesta de huevos (Smith, 1976). Recientemente se ha demostrado en algunas especies de este grupo, el cuidado parental está sujeto a elección femenina, como se reportó en machos del género *Appasus* y *Diplonycus*, en estas especies los machos que portaban una puesta de huevos previa tenían una mayor probabilidad de copular con las hembras en comparación con los machos no parentales (Ohba *et al.*, 2016, 2018).

Sin embargo, esta relación de costo-beneficio del cuidado parental en términos reproductivos puede ser dependiente de la frecuencia de cópulas y de acceso reproductivo a hembras, debido a que el espacio de oviposición en el dorso del macho puede ser un recurso limitante, ya que no podría aumentar el número de cópulas con diferentes hembras mientras no haya espacio en el dorso donde colocarlos (Kraus, 1989; Smith, 1997; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007). Además, pueden existir costos de supervivencia, generados por una exposición mayor de los padres a depredadores, ya que son lentos para huir y más conspicuos, aunque el único trabajo que ha evaluado costos de supervivencia relacionados al cuidado parental no encontró supervivencia diferencial entre machos parentales y no parentales (Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007). Adicionalmente, puede haber costos energéticos, como consecuencia de ventilar, hidratar y limpiar la puesta de huevos, lo cual puede resultar costoso y agotar las reservas energéticas de los machos, además los machos que cargan una puesta

pueden estar invirtiendo más tiempo y energía en forrajeo, debido a que son más lentos y son menos exitosos atrapando presas (Crowl y Alexander, 1989; Kight *et al.*, 1995).

También dentro de ambientes acuáticos, las condiciones ambientales como la temperatura y oxígeno disuelto pueden influir en el cuidado parental. Se ha demostrado que en animales ectotermos, tanto la temperatura como la concentración del oxígeno disuelto en el agua pueden incidir en la tasa de desarrollo y el nivel de esfuerzo parental realizado (Venkatesan, 1981; Jones y Reynolds, 1999; Gillooly *et al.*, 2001; Lissaker *et al.*, 2003; Munguía-Steyer *et al.*, 2008; Jara y Perotti, 2018). Por su parte, el oxígeno disuelto en el agua afecta la respiración embrionaria, por lo cual, existe una relación directa con el desarrollo de los huevos y su tasa respiratoria, ya que al aumentar el tamaño del embrión aumenta también la demanda de oxígeno (Gillooly *et al.*, 2001). Por lo cual, el esfuerzo parental puede aumentar cuando existe menor cantidad de oxígeno comparado con niveles de saturación normales (Gillooly *et al.*, 2001; Lissaker *et al.*, 2003).

Por otro lado, la temperatura juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo del embrión debido a un aumento en la tasa metabólica como ocurre en peces de la familia Gobiidae (Gillooly *et al.*, 2001; Lissaker *et al.*, 2003). A su vez, las fluctuaciones en la temperatura e hidroperíodo han sido asociadas a variaciones en el número de individuos adultos pertenecientes a cada sexo e individuos juveniles como ocurrió en una población de *Belostoma bifoveolatum*, probando que la temperatura en diferentes temporadas afecta directamente a la

supervivencia de estos organismos, permitiendo desarrollarse de manera rápida en verano, lo cual disminuye su vulnerabilidad a ser depredados durante su crecimiento (Jara y Perotti, 2018). Además, este factor ambiental puede afectar el tiempo de cuidado parental realizado por los machos de la especie *Belostoma flumineum*, en los cuales el lapso de días de cuidado parental es de 12 a 14 días en la temporada fría (20°C) y se reduce a 6 o 7 días cuando la temperatura alcanzó los 28°C en verano (Kruse, 1989). En algunos casos, los cambios de estacionalidad y/o fotoperiodo durante el año también pueden influir en el ciclo de vida de los insectos, especialmente el asociado a los eventos reproductivos (Tauber *et al.*, 1986; Wolda, 1998). En algunas especies del género *Aphodius*, la temporada reproductiva es estimulada debido a una mejora de la calidad y cantidad de alimento durante el verano (Hanski, 1980). También el fotoperiodo puede afectar el comportamiento de los insectos, como en *Chrysopa downesi*, en la cual la reproducción es estimulada debido a un aumento en la duración del día durante el verano, asimismo esto contribuye a la proliferación de otra especie (*Meleoma signoretti*) durante la misma temporada (Tauber *et al.*, 1986). Estudios en la familia Belostomatidae demuestran que durante la temporada de verano hubo una mayor abundancia de individuos adultos y a su vez un mayor porcentaje de machos con puesta de huevos y machos con puestas de diferentes hembras, lo cual es indicativo de un pico reproductivo estacional (Kruse, 1989; Ichikawa, 1989; Jara y Perotti, 2018).

La longitud y el peso son consideradas como variables importantes dentro de la historia de vida de los organismos, ya que están relacionadas con muchos rasgos

fisiológicos, de crecimiento, reproductivos y ecológicos (Chown y Gaston, 2010). Algunos trabajos estudiaron la relación de estas variables con los costos y beneficios del cuidado parental en diferentes grupos taxonómicos de animales (Trivers, 1972). Por ejemplo, en peces *Symphodus tinca*, en los cuales existe cuidado paternal, los machos pierden un aproximado de 20% de su peso corporal durante el periodo de cuidado (Van den Berghe, 1992). También en aves, el peso juega un papel importante durante el cuidado biparental realizado como lo encontrado en bobos de patas azules, en los cuales en ambos padres existe una disminución en su peso corporal (Velando y Alonso-Alvarez, 2003).

Asimismo, el tamaño de los individuos en etapa adulta suele estar vinculado a la condición de estos. En los escarabajos coprófagos del género *Onthophagus* los machos que obtuvieron menos recursos en fase larval resultan machos de menor tamaño y con una menor probabilidad de desarrollar cuernos y tornarse territoriales (Emlen, 2008). En las libélulas del género *Hetaerina*, machos menos alimentados adquieren menor talla, menor expresión de pigmentación alar, menor respuesta inmunológica y contienen menos reservas energéticas en su fase adulta (Jiménez-Cortés *et al.*, 2012; Castaños *et al.*, 2017). Por otro lado, el área del dorso (representante de la longitud) de los machos belostomatinos podría jugar un papel importante en el número de huevos que pueden cargar durante un periodo de cuidado parental (Smith, 1976; Kraus, 1989; Kruse, 1989; Munguía-Steyer *et al.*, 2008).

Además, algunos trabajos han evaluado la condición fisiológica de los padres al realizar cuidado parental, de los cuales cada uno utilizó medidas aproximadas de

condición como fue el tiempo de forrajeo o el tiempo de oxigenación de los huevos (Baeza y Fernández, 2002; Requena *et al.*, 2012). Por ejemplo, en el decápodo *Cancer setosus*, el cual esfuerzo parental fue evaluado utilizando la frecuencia de los movimientos de ventilación realizada por la madre comparado con la ventilación en ambientes acuáticos con distintas cantidades de oxígeno disuelto, de esta manera encontraron que la madre aumenta el esfuerzo parental cuando hay menor cantidad de oxígeno disuelto y los huevos están más desarrollados (Baeza y Fernández, 2002). También la tasa de forrajeo fue evaluada para medir el desgaste en opiliones de la especie *I. pustulosa*, en los cuales los machos a cargo de una puesta de huevos asignan menos tiempo al forrajeo e incluso posiblemente deterioran su condición (Requena *et al.*, 2012). Además, en aves el peso de los padres al inicio y después del cuidado parental como indicador de los costos del cuidado sobre la condición de los padres en la temporada de crianza (Velando, 2002; Velando y Alonso-Álvarez, 2003). De esta manera, el estudio de reservas energéticas ha sido utilizado para mejorar el entendimiento de los costos energéticos en modelos con cuidado parental.

Las principales reservas energéticas son almacenadas como lípidos, glucógeno y carbohidratos. De estas reservas, se considera que los lípidos funcionan como reservas a largo plazo ya que es más costoso químicamente la producción de energía a través de estas moléculas (Arrese y Soulages, 2010). Los carbohidratos por otro lado son la fuente principal de energía y utilizada casi de forma inmediata y pueden llegar a acumularse en forma de glucógeno (Arrese y Soulages, 2010). En insectos la acumulación de reservas energéticas depende de los recursos

disponibles que tenga el organismo y son de suma importancia para procesos como la diapausa, en la reproducción, fecundidad, actividad física como nado o vuelo, el crecimiento y en todos los procesos metabólicos vitales (Arrese y Soulages, 2010; Castaños *et al.*, 2017).

En este trabajo evalué el contenido de reservas energéticas de machos parentales de la especie *Abedus dilatatus*, en dos temporadas distintas del año y al principio y final del cuidado parental. Implementé el protocolo de Foray *et al* (2012), el cual permite evaluar los tres tipos de reservas energéticas antes descritas de una misma muestra de un individuo, de manera continua y más precisa que otros estudios que han implementado aproximaciones de los costos energéticos del cuidado parental y que los hechos por Van Handel, (1985a, 1985b), quien cuantificó el contenido de lípidos, glucógeno y azúcares en insectos. De esta manera, mi estudio contribuye al entendimiento de los costos fisiológicos a los cuales los machos se enfrentan durante diferentes estaciones del año (invierno y verano) y en el periodo de cuidado parental.

Objetivo General

- Determinar y comparar la condición fisiológica de machos con cuidado parental reciente y prolongado pertenecientes a la temporada de invierno y verano.

Objetivos particulares

- Comparar la longitud y peso de los machos con cuidado parental reciente y prolongado colectados en invierno y verano.
- Determinar el tamaño de la puesta de huevos (número de huevos) portados en machos parentales colectados en invierno y verano.
- Determinar y comparar el contenido de reservas energéticas en machos con cuidado parental reciente y prolongado.
- Determinar y comparar el contenido de reservas energéticas en machos parentales en invierno y verano.

Hipótesis

- La longitud y el peso de machos con cuidado reciente y prolongado será diferente entre temporadas, así como entre grupos de cuidado.

- Los machos parentales presentarán un tamaño de puesta diferente en la temporada de invierno y la de verano.
- Los machos parentales variarán en el contenido de las reservas energéticas respecto al tiempo de cuidado parental (reciente o prolongado)
- La condición fisiológica que los machos parentales será diferente entre la temporada de verano e invierno.

Predicciones

- La longitud de los machos parentales pertenecientes a la temporada de verano será de mayor a los machos colectados en invierno.
- El número de huevos portados en los machos parentales en verano será mayor que en la temporada de invierno.
- El contenido de lípidos, glucógeno y carbohidratos será mayor en machos del grupo de cuidado parental reciente.
- Los machos parentales colectados en la temporada de verano tendrán mayor contenido de reservas energéticas en comparación con los machos parentales colectados en invierno.

Material y Métodos

Realicé dos colectas de machos parentales del hemíptero *A. dilatatus*, en la localidad de Chignahuapan, Puebla, México. En el río Quetzalapan (19.859199° N, -97.993593° O) cercano a la carretera Zacatlán-Chignahuapan. Este sitio de estudio cuenta con clima semifrío subhúmedo con lluvias durante el verano, con una temperatura media anual de 5 a 12°C, mientras en invierno puede descender la temperatura hasta -3°C y en verano aumentar a 18°C. La vegetación es caracterizada por bosques de coníferas como asociaciones de pino y oyamel (INEGI, 2009).

Abedus dilatatus es un hemíptero de la subfamilia Belostomatinae, vive en ambientes subacuáticos principalmente en ríos, sobre todo en partes poco profundas y con una corriente lenta, utiliza aire atmosférico ya que su respiración es a través de espiráculos, los cuales son poros en el abdomen que permiten el intercambio gaseoso. Son depredadores generalistas, sus presas pueden ser otros insectos y peces pequeños, pueden capturar sus presas con el primer par de apéndices retráctiles. Se alimentan incrustando su probóscide en forma de aguja dentro de su presa, liberando enzimas proteolíticas las cuales le permiten digerir a su presa y después succionarla (Swart *et al.*, 2006; Ohba, 2018). Miden entre 25.5 a 34 mm, existe dimorfismo sexual en el cual las hembras son de mayor tamaño que los machos (Menkel, 1960). La fecundación es de forma interna, con cópulas intercaladas y repetidas, entre las cuales la hembra después de una cópula coloca sobre el dorso del macho de 2 a 3 huevos (Smith, 1976). La reproducción es prolongada y una hembra puede llegar a colocar hasta 50 huevos, lo cual

ocasiona que la reproducción dure varias horas. Los machos realizan cuidado parental, ya que cargan la puesta de huevos sobre su dorso hasta su eclosión (Smith, 1974; 1976). El cuidado parental consiste en una serie de movimientos de ventilación y de limpieza. El grado de desarrollo de los huevos puede ser indicativo del tiempo aproximado que los machos han realizado el cuidado parental (Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008). El grado de desarrollo de los huevos es definido por algunas de sus características morfológicas (forma y color). Los huevos recientemente colocados en el dorso del macho son negros y ovoides (figura 1, A y C), mientras que los que se encuentran próximos a eclosionar son de color gris claro y cilíndricos (figura 1, A) (Smith, 1976; Munguía-Steyer *et al.*, 2008).

Realicé la primera colecta durante el invierno (4 de febrero de 2017) y la segunda durante el verano (5 de agosto de 2017). Durante las dos visitas, capturé 74 machos parentales, de los cuales 38 machos fueron colectados en la temporada de invierno, y 36 en la temporada de verano. Agrupé los organismos de acuerdo al grado de desarrollo de los huevos que portaban y a la temporada de colecta, de manera obtuve un grupo con tiempo de cuidado reciente (CR) y tiempo de cuidado prolongado (CP), por cada temporada de colecta. De los cuales, en el grupo (CR) incluí a los machos que portaban huevos con menor grado de desarrollo y en el grupo CP, utilicé a los machos con huevos próximos a la eclosión como un indicador del tiempo de cuidado parental realizado. En invierno utilicé 18 organismos pertenecientes al grupo CR y 20 en el grupo CP y en verano capturé 16 machos CR y 20 machos CP.

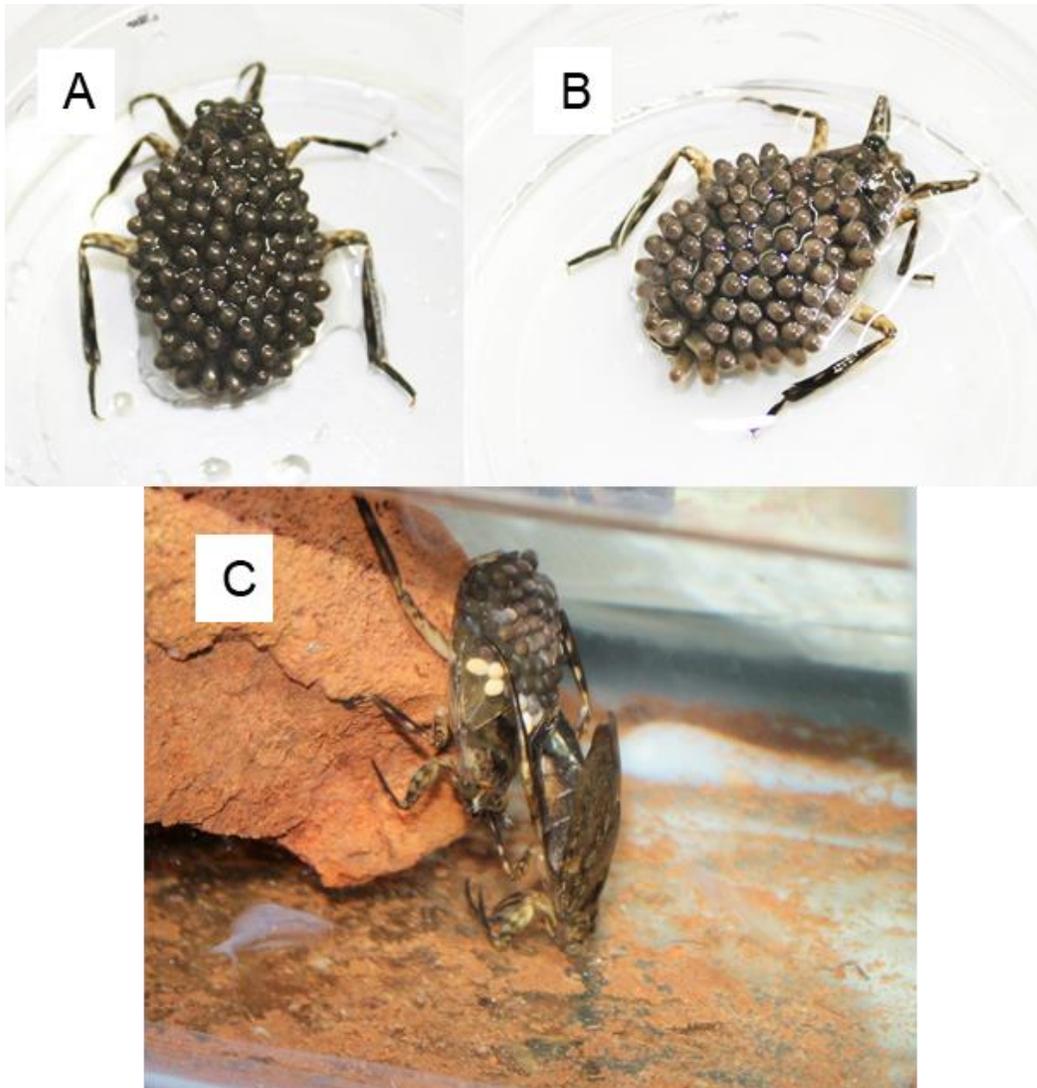


Figura 1. Fotografías de *A. dilatatus*. A) con puesta de huevos reciente (CR). B) con huevos próximos a la eclosión (CP). C) y durante un evento de cópula en laboratorio, mientras los huevos blancos fueron colocados unos minutos antes en el dorso del macho.

Los organismos colectados en las dos temporadas fueron llevados a laboratorio en tubos Falcon dentro de un contenedor con hielo y fotografié la puesta para contabilizar el número de huevos que portaba cada macho. En el laboratorio, medí

la longitud, desde el pronoto (placa dorsal del primer segmento del tórax) hasta el final del abdomen, con un vernier digital (103Y5 HTS Inc). También medí su peso parcial (sin apéndices, cabeza y alas) en fresco con una balanza semianalítica (Pw214 AEADAM). Finalmente, apliqué la técnica de homogenización de tejidos con nitrógeno líquido y cuantifiqué el contenido de reservas energéticas que presentaban.

Homogenización de tejidos con nitrógeno líquido

Para una mejor disolución de los tejidos de los individuos en la técnica de cuantificación de reservas energéticas, sumergí a cada individuo en un recipiente de unicel con nitrógeno líquido hasta congelación. Ya congelados los organismos, los trituré con un mortero y pistilo previamente enfriados con nitrógeno líquido, lo cual logré agregando nitrógeno líquido y dispersándolo igualmente sobre la superficie del mortero y el pistilo antes de comenzar el macerado. Posteriormente, recuperé los tejidos pulverizados con una espátula previamente enfriada (sumergida unos segundos en nitrógeno), transfiriendo el homogenizado a tubos Eppendorf de 2 ml.

Cuantificación de reservas energéticas

Para encontrar la concentración de reservas energéticas como lo son lípidos, glucógeno y carbohidratos, comencé por usar el pulverizado de cada organismo antes realizado y diluirlo en 1 ml de amortiguador de fosfatos (PBS). Estos tubos los sometí a una homogenización extra para fraccionar lo mejor posible el exoesqueleto del organismo en un homogenizador de tejidos (Tissue Lyser-II;

Qiagen) a 30 Hz durante 30 segundos. Coloqué 180 µl de la disolución ya preparada en tubos nuevos.

Carbohidratos: Para medir la concentración de carbohidratos, adicioné 1.5 ml de Cloroformo-metanol (1:2 v/v) y 20 µl de sulfato de sodio (Na_2SO_4) a las muestras originales de 180 µl anteriormente preparadas. Agité y después centrifugué a 180 G por 15 min a 4°C. Transferí todo el sobrenadante a tubos nuevos (el pellet se utilizó para cuantificación de glucógeno). Agregué 100 µl de las muestras por duplicado en microplacas de poliestireno (96 pozos), dejé evaporar el metanol-cloroformo hasta obtener un aproximado de 10 µl. Después, añadí 240 µl de antrona en cada pozo, cubrí seguidamente la microplaca y la incubé a 90°C por 15 minutos en baño maría, y finalmente transferí 100 µl a una nueva placa, medí su absorbancia en un espectrofotómetro (*Elx808 BioTek*) a una longitud de onda de 630 nm.

Glucógeno: Agregué al pellet 400 µl de metanol al 80% y agité vigorosamente. Centrifugué las muestras por 5 min a 16 G y retiré el sobrenadante. Repetí el proceso. Continué por añadir 1 ml de antrona al pellet e incubé a 90°C durante 15 min. Después los tubos los mantuve en hielo para detener la reacción y filtré por membranas de 0.45 µl, posteriormente transferí 100 µl del filtrado y leí la placa a 630 nm.

Lípidos: Para calcular el contenido de lípidos, coloqué en una microplaca 100 µl de la preparación de cloroformo-metanol realizada en el proceso de carbohidratos. Dejando incubar a 90°C por 15 min. Adicioné 10 µl de ácido sulfúrico al 98% y de nuevo incubé durante 2 min. Después agregué 190 µl de vainilina previamente

preparada y agregué 100 µl por repetido a una nueva placa. Al final leí a una absorbancia de 515 nm.

En cada paso de la cuantificación de reservas energéticas, preparé una curva patrón para cada reserva. En caso de la evaluación de glucógeno y carbohidratos, la realicé con diferentes concentraciones de glucosa, con las cuales seguí el mismo proceso de cuantificación de carbohidratos. Por otro lado, la curva patrón para estimar el contenido de lípidos, preparé diferentes concentraciones de una solución de 10 mg/ml de triolato con Cloroformo-metanol (1:2 v/v) y evalué su absorbancia con el mismo proceso descrito en la cuantificación de lípidos.

Análisis Estadísticos

Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos

Con el fin de determinar medidas indirectas de la condición fisiológica evalué la longitud y el peso de los machos parentales colectados en distintas temporadas. Por tal motivo, llevé a cabo análisis de covarianza (ANCOVA). En ambos casos consideré como variables predictoras la temporada (invierno y verano), el tiempo de cuidado parental (medido como el grado de desarrollo de la puesta) y la interacción entre ambas.

Para evaluar si existen diferencias en el tamaño de la puesta que los machos parentales portaban, realicé un ANCOVA que presentaba como variables predictoras la temporada del año en que fueron colectados, la longitud de los machos y la interacción entre ambas.

Análisis fisiológicos de reservas energéticas.

En los análisis fisiológicos realicé análisis multivariados de covarianza (MANCOVA) teniendo como variables de respuesta las reservas energéticas que presentaba cada individuo (lípidos, glucógeno y carbohidratos) y como variables predictoras, incluí la temporada de colecta, el desarrollo de los huevos como indicador del tiempo de cuidado parental, la longitud y el peso de los padres así como el tamaño de la puesta de huevos e interacciones entre ellas (temporada x tiempo de cuidado parental y tiempo x número de huevos). En el MANCOVA calculé el valor de significancia con la prueba de λ de Wilks.

Posteriormente, analicé individualmente las reservas energéticas con un análisis de covarianza (ANCOVA). Las variables predictoras fueron las mismas que en el análisis multivariado (lípidos, glucógeno y carbohidratos). En todos los modelos estadísticos el contenido de lípidos fue transformado a logaritmo para cumplir las condiciones de normalidad de los residuales. Cada modelo estadístico fue realizado con el programa R, versión 3.5.1 (Core Team R, 2018).

Resultados

Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos

Encontré diferencias significativas con respecto a la temporada de colecta de los machos ($F_{1,70} = 280.52$, $P < 0.001$, Tabla 1). Así, la longitud de los machos pertenecientes a la temporada de verano (media \pm DE, 25.08 ± 1.15 mm) fue mayor a la de los machos colectados en invierno (21.12 ± 0.86 mm, Figura 2).

Tabla 1. Análisis de covarianza de la longitud (mm) de los machos parentales con respecto a la temporada de colecta, el tiempo de cuidado y su interacción en segundo grado.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	289.805	289.805	280.526	<0.001
Tiempo de cuidado	1	1.950	1.950	1.888	0.173
Temporada x tiempo	1	0.0001	0.0001	0.00012	0.991
Residuales	70	72.315	1.033		

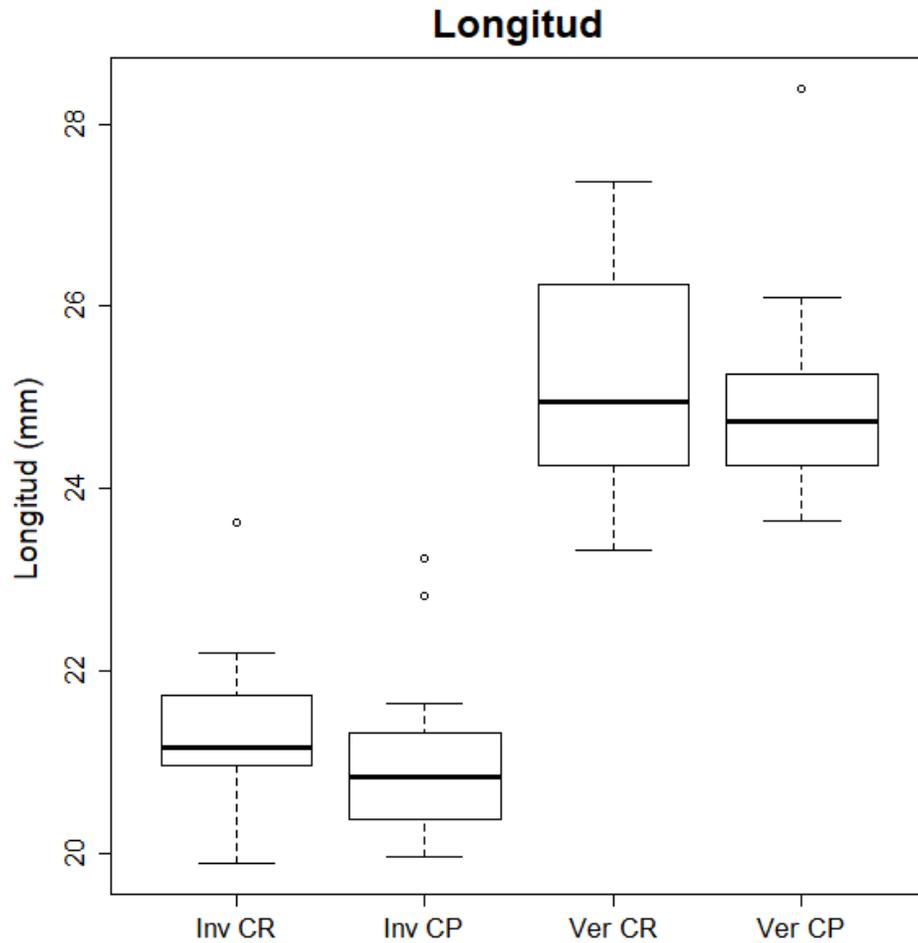


Figura 2. Longitud de machos parentales con tiempo de cuidado reciente (CR) y prolongado (CP) colectados en invierno (Inv) y verano (Ver).

Con relación al peso, no hubo diferencias significativas asociadas a la temporada de colecta ($F_{1,70} = 2.59$, $P = 0.112$, Tabla 2). De tal manera que los valores de peso son similares en la temporada de verano (509.44 ± 40.77 mg) y la temporada de invierno (490.56 ± 57.82 mg, Figura 3).

Tabla 2. Análisis de covarianza del peso (mg) de los machos parentales con respecto a la temporada de colecta, tiempo de cuidado parental y la interacción entre estas variables.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	6589	6588.7	2.591	0.112
Tiempo de cuidado	1	3752	3752.4	1.475	0.228
Temporada x tiempo	1	147	146.9	0.057	0.810
Residuales	70	177990	2542.7		

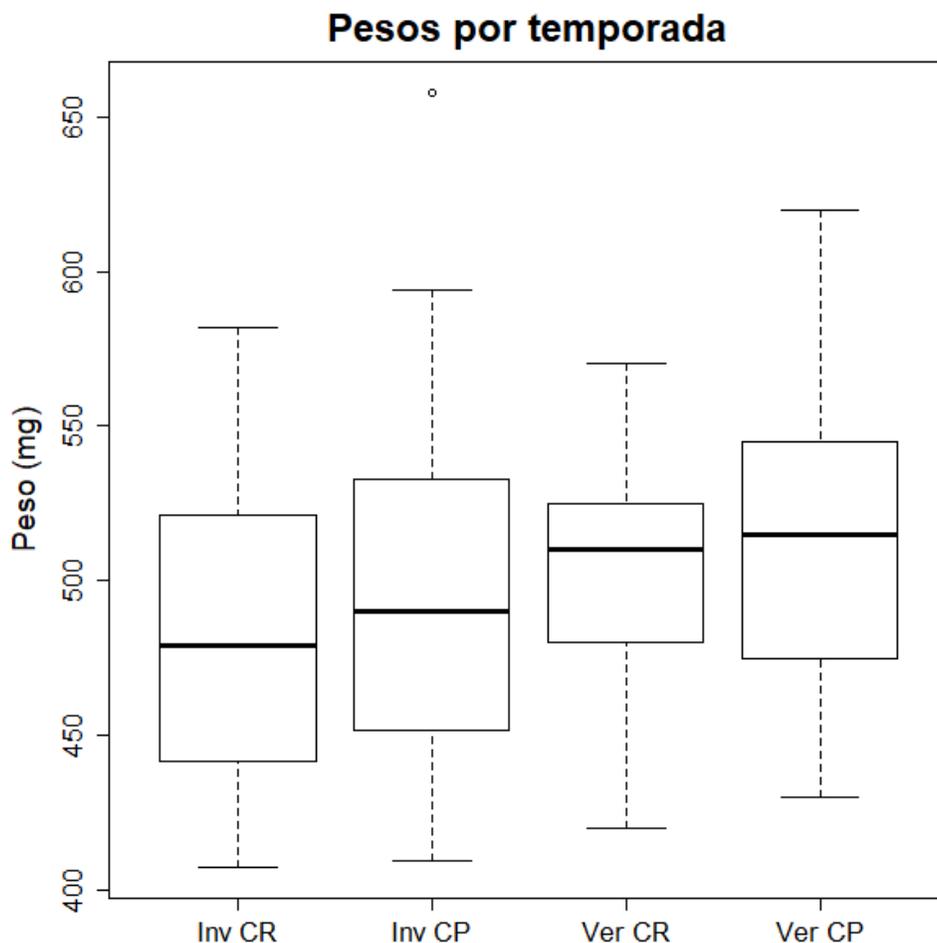


Figura 3. Pesos (mg) de los machos parentales con cuidado reciente (CR) y prolongado (CP) con respecto a la temporada de invierno (Inv) y verano (Ver).

Los machos presentaron un tamaño de puesta de huevos distinto de acuerdo con la temporada en la que fueron colectados ($F_{1,70} = 8.32$, $P = 0.005$, Tabla 3). Las puestas de los machos de la temporada de verano presentaban un mayor número de huevos (71.58 ± 14.79 huevos) comparado con las puestas de los machos colectados en invierno (62.42 ± 12.10 huevos, Figura 4).

Tabla 3. Análisis de covarianza para el número de huevos portados en el dorso de los machos con relación a la temporada, longitud y la interacción en segundo grado.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	1551.890	1551.892	8.325	0.005
Longitud	1	0.010	0.008	0.0004	0.994
Temporada x long	1	37.160	37.164	0.199	0.656
Residuales	70	13048.840	186.412		

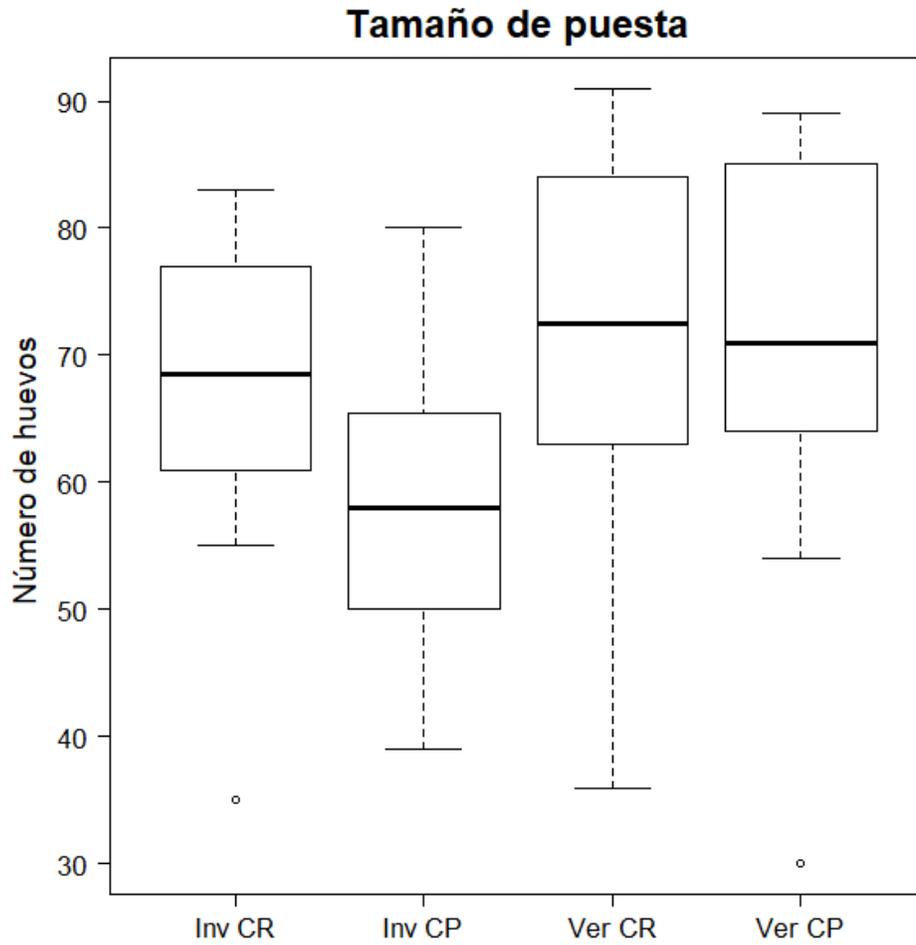


Figura 4. Número de huevos portados en los machos con cuidado reciente (CR) y prolongado (CP) con respecto a la temporada de invierno (Inv) y verano (Ver).

Reservas energéticas y condición fisiológica de los machos parentales

A) Análisis multivariado de la condición de los machos parentales

Al realizar el MANCOVA considerando las distintas reservas energéticas (lípidos, glucógeno y carbohidratos) como variables de respuesta encontré que los machos parentales difieren en su condición según la temporada en la que fueron colectados (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis multivariado de covarianza del contenido de lípidos, glucógeno y carbohidratos de acuerdo con la temporada, tiempo de cuidado, longitud, número de huevos y algunas interacciones.

	GL	λ Wilks	F	P
Temporada	1	0.087	224.56	<0.001
Tiempo de cuidado	1	0.987	0.268	0.848
Longitud	1	0.889	2.685	0.053
Número de huevos	1	0.969	0.690	0.561
Temporada x desarrollo	1	0.900	2.407	0.075
Desarrollo x huevos	1	0.949	1.146	0.337
Residuales	67			

B) Contenido de lípidos

Al analizar los lípidos como reservas de largo plazo encontramos que los machos parentales colectados en distintas temporadas presentan diferentes concentraciones de lípidos ($F_{1,67} = 785.88$, $P < 0.001$, Tabla 5). Así, los machos colectados en la temporada de verano tuvieron mayor contenido de lípidos (553.67 ± 112.69 mg) comparado a los organismos provenientes de la temporada de invierno (59.77 ± 24.38 mg, Figura 5).

Tabla 5. Análisis de covarianza con el contenido de lípidos con respecto a la temporada de colecta, tiempo de cuidado, longitud, número de huevos e interacciones en segundo grado.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	97.197	97.197	785.885	<0.001
Tiempo de cuidado	1	0.017	0.017	0.137	0.712
Longitud	1	0.006	0.006	0.051	0.820
Número de huevos	1	0.016	0.162	1.314	0.255
Temporada x tiempo	1	0.051	0.051	0.419	0.519
Tiempo x huevos	1	0.628	0.628	5.081	0.027
Residuales	67	8.286	0.123		

Los machos con cuidado parental reciente presentan mayor cantidad de lípidos cuando es mayor el número de huevos portados ($F_{1,67} = 5.08$, $P = 0.027$, Tabla 5). Por el contrario, en aquellos machos con un cuidado parental prolongado existe una tendencia a tener menor concentración de lípidos mientras más huevos contenía su puesta (Figura 6).

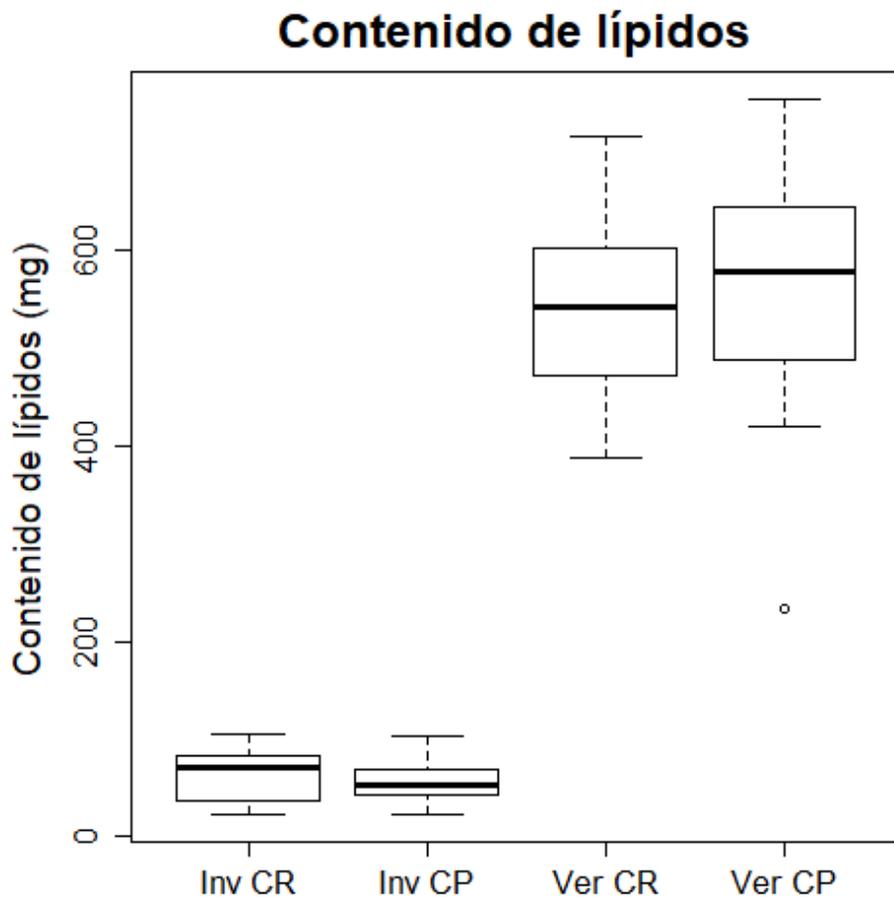


Figura 5. Contenido de lípidos en invierno (Inv) y verano (Ver) con respecto al grupo de cuidado parental reciente (CR) y prolongado (CP).

Contenido de lípidos

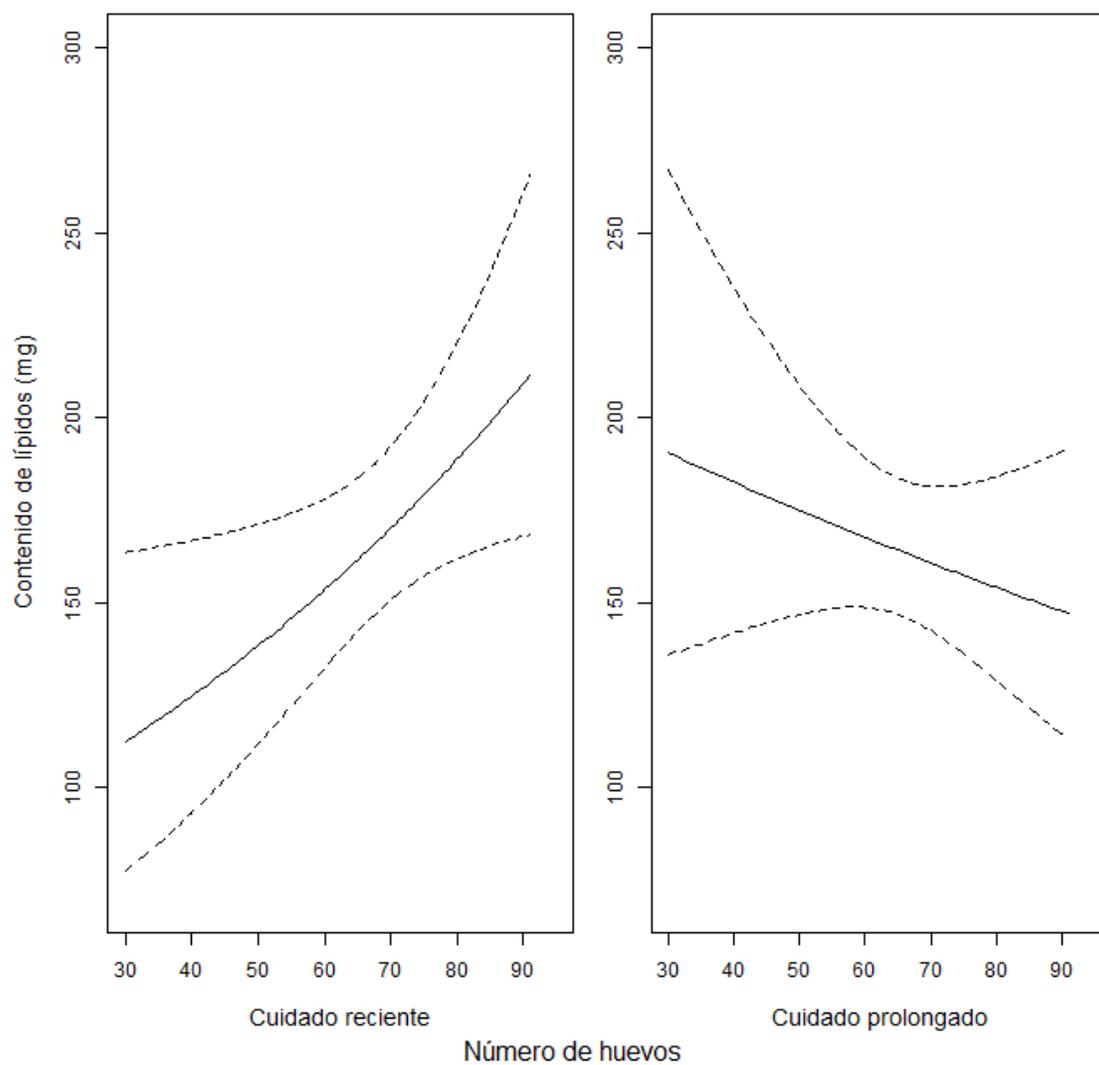


Figura 6. Relación entre el contenido de lípidos y el número de huevos que portaban los machos dependiendo del tiempo de cuidado parental reciente (CR) y prolongado (CP).

C) Contenido de glucógeno

Con el contenido de glucógeno calculado, no hallé diferencias significativas con la variable de temporada ($F_{1,67} = 0.074$, $P = 0.785$), ya que el contenido de glucógeno fue similar en verano e invierno (0.22 ± 0.09 mg, 0.21 ± 0.11 mg respectivamente, Figura 7). Tampoco existió relación con alguna otra variable (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de covarianza con el contenido de glucógeno con respecto a las variables de temporada, tiempo de cuidado, longitud, número de huevos y la interacción de temporada x tiempo y tiempo x número de huevos.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	0.0008	0.0008	0.074	0.785
Tiempo de cuidado	1	0.004	0.004	0.410	0.523
Longitud	1	0.001	0.001	0.135	0.713
Número de huevos	1	0.0004	0.0004	0.043	0.835
Temporada x tiempo	1	0.014	0.014	1.292	0.259
Tiempo x huevos	1	0.014	0.014	1.244	0.268
Residuales	67	0.767	0.011		

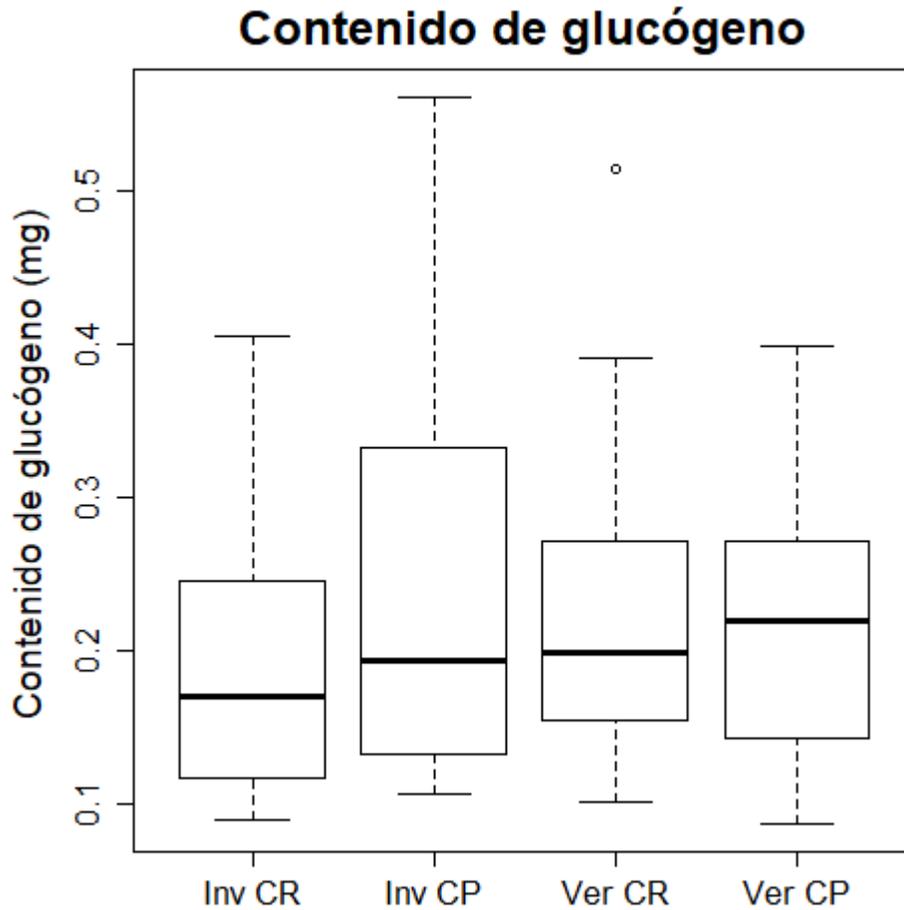


Figura 7. Contenido de glucógeno de los grupos de cuidado parental reciente (CR) y prolongado (CP) colectados en invierno (Inv) y verano (Ver).

D) Contenido de carbohidratos

El contenido de carbohidratos de los machos parentales presentó diferencias significativas entre las temporadas ($F_{1,67} = 63.67$, $P < 0.001$, Tabla 7), con lo cual, observé que en verano existe mayor concentración de carbohidratos (3.65 ± 1.62 mg) comparado con la temporada de invierno (1.36 ± 0.82 mg, Figura 8).

Tabla 7. Análisis de covarianza del contenido de carbohidratos con respecto a la temporada, tiempo de cuidado, longitud, número de huevos y la interacción temporada x tiempo y tiempo x huevos.

	GL	SC	CM	F	P
Temporada	1	96.374	96.374	63.670	<0.001
Tiempo de cuidado	1	0.105	0.105	0.069	0.792
Longitud	1	8.115	8.115	5.362	0.023
Número de huevos	1	0.429	0.429	0.283	0.596
Temporada x tiempo	1	7.207	7.207	4.762	0.032
Tiempo x huevos	1	0.091	0.091	0.060	0.806
Residuales	67	101.401	1.513		

Además, existió relación significativa entre contenido de carbohidratos con el tiempo de cuidado parental y con la temporada de colecta ($F_{1,67} = 4.76$, $P = 0.032$, Tabla 7). Además, el grupo de cuidado reciente en invierno tuvo menos contenido de carbohidratos (1.003 ± 0.67 mg) en comparación con el grupo CR de la temporada de verano (3.98 ± 1.65 mg). De igual manera sucedió con el grupo de cuidado prolongado (CP) en invierno y verano (1.70 ± 0.81 mg, 3.39 ± 1.60 mg respectivamente, Figura 9). Por otro lado, hubo relación del contenido de carbohidratos con la longitud de los machos parentales, observando que los machos de mayor longitud contenían más carbohidratos (Figura 10).

Contenido de carbohidratos

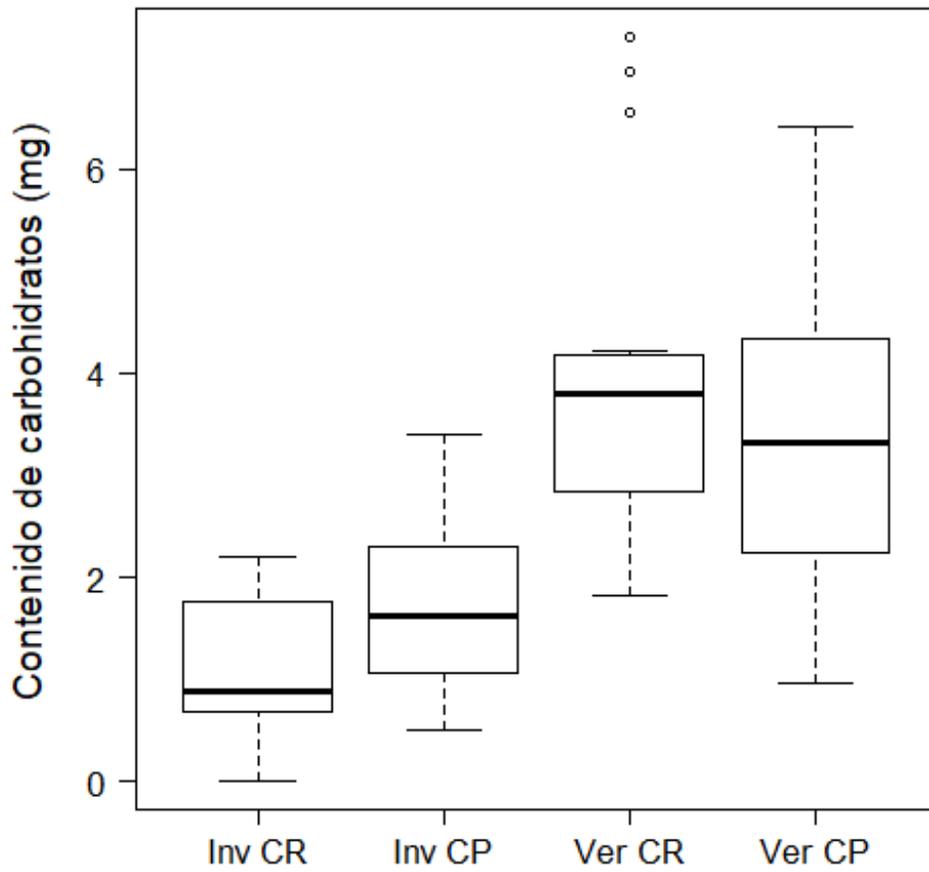


Figura 8. Contenido de carbohidratos en la temporada de invierno (Inv) y verano (Ver) con respecto al tiempo de cuida reciente (CR) y prolongado (CP).

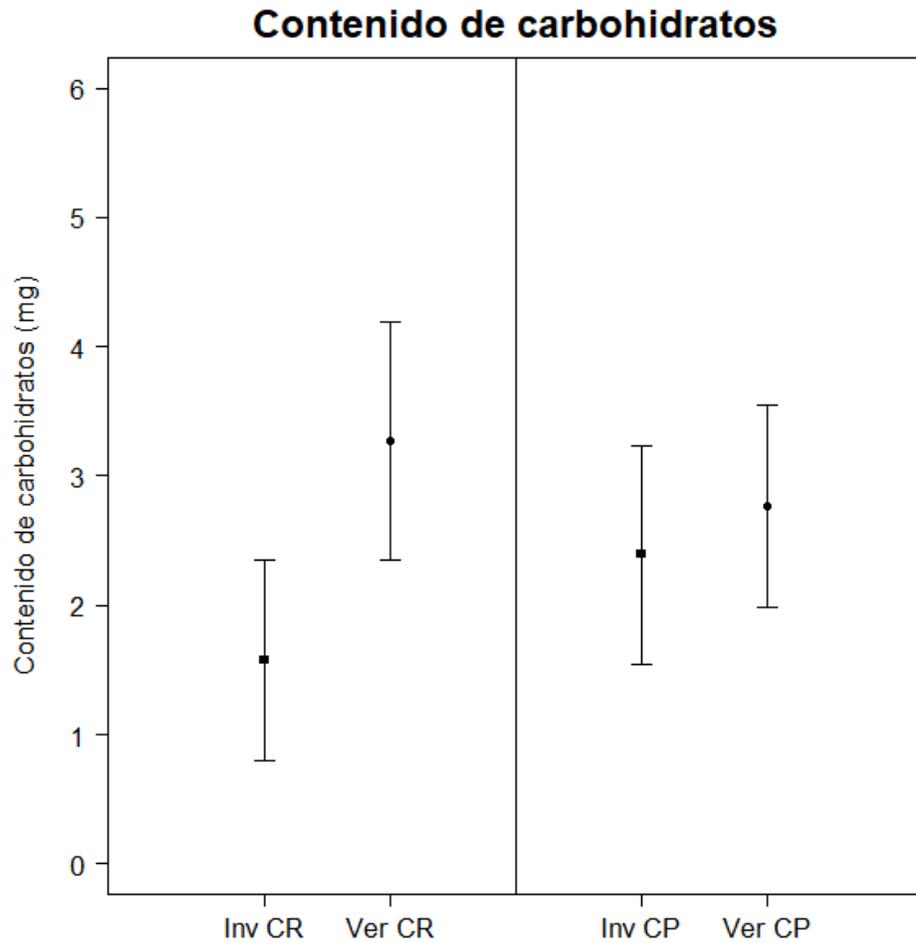


Figura 9. Contenido de carbohidratos en el grupo de cuidado (CR) en invierno (Inv) comparado con el tiempo de cuidado (CR) en verano (Ver) y machos con tiempo de cuidado prolongado (CP) en invierno contrastado los machos con un tiempo de cuidado prolongado (CP) en verano.

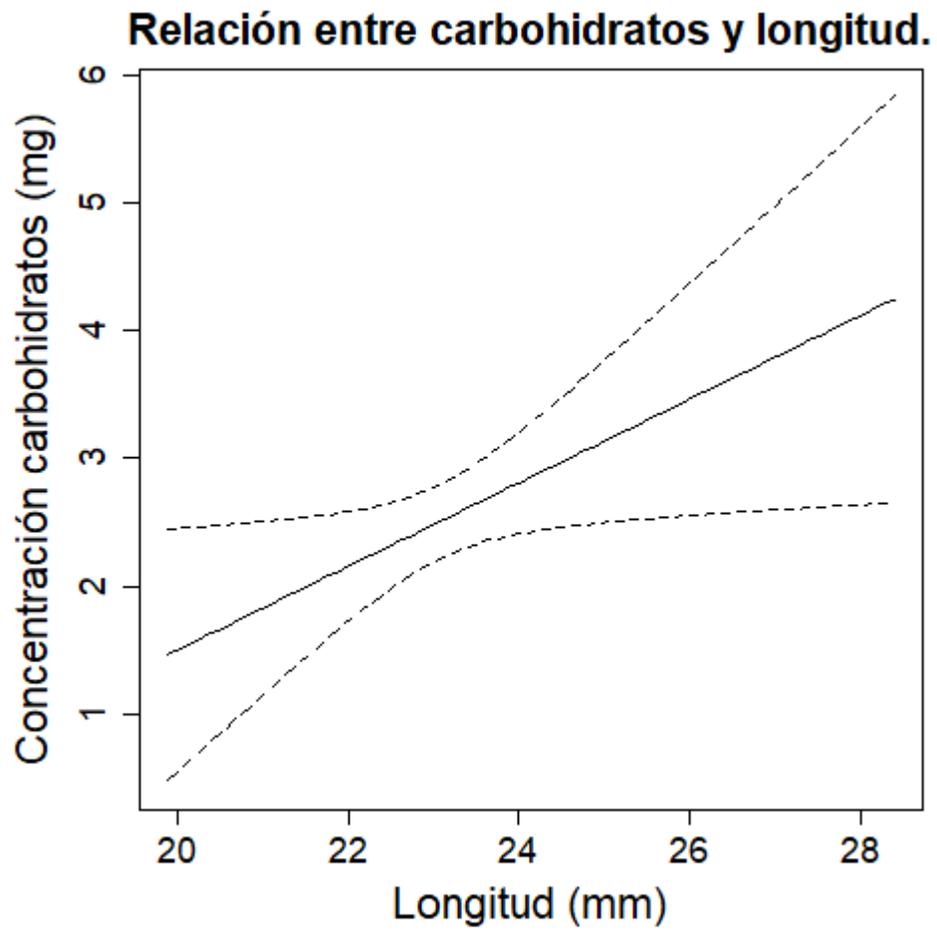


Figura 10. Relación del contenido de carbohidratos con la longitud de los machos parentales.

Discusión

Medidas morfológicas y tamaño de puesta de huevos

En este estudio, encontré que los machos parentales de distintas temporadas presentaron diferencias en el número de huevos, en su longitud y condición fisiológica. Los machos parentales colectados en verano fueron más grandes, presentaban un tamaño de puesta mayor y se encontraban en mejor condición fisiológica que los machos colectados en invierno. Por el contrario, el peso no fue significativo entre temporadas. Adicionalmente, la cantidad de lípidos en los machos con cuidado parental reciente y con más huevos en su dorso fue mayor en comparación con los que tenían una puesta de huevos menos numerosa y el mismo tiempo de cuidado. Por el contrario, cuando el cuidado es prolongado, el contenido de lípidos es menor en los machos con puestas más grandes, esto podría deberse a que el cuidar un mayor número de huevos implica un mayor esfuerzo parental al aumentar la frecuencia de los movimientos de ventilación (Olvera-Hernández *et al.*, 2018, datos sin publicar). Por otro lado, el contenido de carbohidratos fue mayor en verano y difirió entre grupos de cuidado y respecto a la temporada. Así, este trabajo nos ayuda a entender como la condición de los machos varía entre temporadas posiblemente por depender de los recursos alimenticios disponibles en cada temporada y al esfuerzo parental ocasionado por la actividad muscular consecuencia del cuidado parental (Klowden, 2013; Castaños *et al.*, 2018).

Por otro lado, en este modelo de estudio la longitud puede ser de suma importancia para el número de huevos que los machos pueden cargar durante el

periodo de cuidado parental, aunque los resultados en este estudio muestran que no existe relación entre estas variables. Una explicación podría ser que naturalmente el número de huevos portados y el tamaño de los organismos estén siendo regulados por lo costoso que es mantener una puesta más grande y/o una mayor talla (Ichikawa, 1988; Kraus, 1989; Smith, 1997; Ohba, 2018). Teóricamente, machos mas grandes podria cargar mas huevos y por lo tanto tener una mayor adecuación al portar a su progenie. Aunque, esta relación (área de dorso y número de huevos) en la mayoría de los casos no se cumple, ya que puestas que cubran totalmente el dorso del macho suelen ser episódicas y de corta duración (Kraus, 1989; Kruse, 1989). En este trabajo, los machos colectados en verano fueron más grandes que los machos pertenecientes a la temporada de invierno, lo cual podría estar relacionado con la cantidad de recursos que los organismos adquirieron durante su crecimiento, ya que como mencioné antes los recursos acumulados juegan un papel importante en el desarrollo de los insectos (Jiménez-Cortés *et al.*, 2012; Klowden, 2013).

Con los resultados obtenidos de peso, no encontré diferencias significativas en esta variable a pesar de que los machos parentales en verano presentaron mayor peso en promedio. Sin embargo, algunos estudios evaluaron los costos energéticos del cuidado parental usando el peso de los organismos, por ejemplo, en peces de la familia Gobiidae, compararon el peso de los machos al inicio del cuidado parental contra el peso final de los organismos (Jones y Reynolds, 1999; Lissaker *et al.*, 2003). En estos trabajos, Jones y Reynolds (1999) y Lissaker *et al.*, (2003) demuestran que existe un decremento en la masa del tejido graso y menor

peso debido al esfuerzo de los padres al aumentar los movimientos de oxigenación de los huevos. En aves, como en los bobos de patas azules *S. nebouxii*, existe una tendencia similar, ya que también el peso corporal fue utilizado como indicador de la condición fisiológica de los padres, el cual fue evaluado al inicio y al final de la temporada de crianza (Velandó, 2002; Velandó y Alonso-Álvarez, 2003).

En la temporada de verano encontré un mayor número de huevos en las puestas de los machos colectados, lo cual resulta interesante en términos de costos y beneficios del cuidado parental. En muchos sistemas animales con cuidado parental, existe un número estable de crías que pueden mantener los padres ya que un aumento en este número podría ser costoso a nivel de energía invertida de los adultos parentales y por lo tanto repercutir en su adecuación y éxito reproductivo en el futuro (Clutton-Brock, 1991). Algunos trabajos realizados en peces y aves demostraron que la condición de los adultos puede verse deteriorada debido al aumento del número de crías (Sargent, 1988; Clutton-Brock, 1991; Coleman y Fischer, 1991; Velandó y Alonso-Alvarez, 2003). Por ejemplo, en peces de la especie *Pimephales promelas*, los cuales presentan cuidado biparental, el aumento en el tamaño de la puesta ocasiona un incremento en el esfuerzo parental (Sargent, 1988). También en la especie *L. macrochirus*, el esfuerzo parental medido a través de la frecuencia de ventilación de los huevos incrementó cuando experimentalmente aumentaron el tamaño de la puesta (Coleman y Fischer, 1991). En los bobos de patas azules, en los cuales existe cuidado biparental, la condición de los padres evaluada con el peso corporal es menor

mientras experimentalmente crían a un número mayor de polluelos (Velandó y Alonso-Alvarez, 2003).

El aumento en el número de huevos en los belostomatidos, también puede representar un mayor gasto energético, debido al incremento en la frecuencia de las conductas parentales (Crowl y Alexander, 1989; Smith, 1997). Una puesta mayor podría representar mayor resistencia al desplazarse en condiciones subacuáticas, por lo cual, se hacen más lentos al moverse y en la captura de las presas son menos eficaces (Crowl y Alexander, 1989; Smith, 1997). Algo similar ocurre en el opilión *I. pustulosa*, en la cual, la tasa de forrajeo de los padres es menor cuando están a cargo de su puesta de huevos, invirtiendo más tiempo al cuidado de los huevos que a la alimentación (Requena *et al.*, 2012). Los machos belostomátidos también pueden estar desgastándose más con una puesta mayor debido al esfuerzo físico al realizar los movimientos de ventilación, los cuales son más frecuentes cuando aumenta el desarrollo embrionario y cuando la puesta de huevos es mayor (Smith, 1997; Olvera-Hernández *et al.*, 2018 datos sin publicar). De forma similar, el esfuerzo parental puede aumentar en crustáceos como *Amphiprion melanopus* y *C. setosus*. En dichas especies, el esfuerzo del cuidado parental evaluado a través de la frecuencia de ventilación de los huevos se incrementa en ambientes en los cuales la cantidad de oxígeno disuelto es menor, por factores como la temperatura y/o el aumento en el desarrollo del embrión (Baeza y Fernández, 2002; Green y McCormick, 2004).

El tamaño de la puesta de huevos también puede ser afectado por las características de historia de vida de estos organismos, debido a la existencia de

un pico reproductivo encontrado en la temporada de verano, como lo descrito en los géneros *Belostoma* y *Diplonychus*, en los cuales la reproducción puede durar de la primavera hasta una parte del verano, aunque también se reporta otro pico reproductivo con menos intensidad durante el otoño e invierno (Venkatesan, 1981; Jara y Perotti, 2018). El tamaño de la puesta de huevos en los insectos depende de la fecundidad de las hembras y está fuertemente vinculada a la cantidad de recursos disponibles (Wolda, 1998). Esto puede ser debido a una mayor cantidad de alimento en el ambiente durante la temporada de verano, parecido a lo que sucede en otros insectos como libélulas, en las cuales, se evaluó el contenido de reservas energéticas durante dos temporadas, y encontraron que la estacionalidad afecta la condición de los machos y la expresión de caracteres sexuales (Warren *et al.*, 2013; Castaños *et al.*, 2017).

Sin embargo, aunque el cuidado parental genera costos en términos de selección natural, este podría mantenerse por selección sexual (Requena y Machado, 2014). Lo cual podría ser benéfico para los machos parentales, por ejemplo, retomando el ejemplo de *I. pustulosa*, los machos que cuidan una puesta de huevos son más preferidos como parejas sexuales por las hembras, permitiendo a los machos incluso puedan cuidar múltiples puestas provenientes de diferentes hembras (Requena *et al.*, 2012; Requena y Machado, 2014). Además, datos obtenidos en belostomatinos, reportaron que los machos que portaban una puesta de huevos fueron preferidos por otras hembras para copular y colocar sus huevos (Ohba *et al.*, 2016, 2018). Tomando en cuenta lo anterior, podemos pensar que una hembra elige un machos en mejor condición, al evaluar frecuencia de los movimientos de

ventilación que realiza, lo cual podría resultar una señal de una mejor capacidad al realizar cuidado parental y, en consecuencia, presentar una mayor viabilidad en su progenie (Ohba *et al.*, 2016, 2018).

Reservas energéticas y condición fisiológica de los machos parentales

En los insectos, los lípidos son almacenados en su mayoría como triglicéridos que sirven como reserva energética en la reproducción, diapausa, periodos de vuelo o alguna otra actividad física prolongada como el nado y la locomoción (Schmidt-Nielsen, 1972; Arrese y Soulages, 2010). Además del almacenamiento de energía existen otras funciones importantes de los lípidos, estos pueden ser usados como componentes estructurales de la membrana celular, precursores de ceras, feromonas, secreciones defensivas y en biosíntesis de eicosanoides involucrados en la reproducción o ser parte de otra ruta metabólica (Arrese y Soulages, 2010; Gäde y Marco, 2013; Lavarías *et al.*, 2017). La movilización de los lípidos de los padres para obtener energía durante el periodo de cuidado de los huevos podría ocurrir de manera más lenta en invierno, ya que en esta temporada la tasa metabólica de los padres disminuye debido a las bajas temperaturas en el ambiente, la cual en la localidad de estudio puede llegar a ser de 5°C en el mes de febrero (Gillooly *et al.*, 2001; Munguía-Steyer y Macías-Ordóñez, 2007; INEGI, 2009).

Además, los altos valores de lípidos en machos con un tiempo de cuidado reciente y mayor número de huevos podría indicarnos que en la primera etapa de cuidado los machos con mejor condición pueden ser capaces de cuidar a un mayor

número de huevos y en consecuencia ser preferidos para el apareamiento (Ichikawa, 1988; Smith, 1997; Ohba *et al.*, 2016, 2018). Esto es complementario a lo reportado en machos con cuidado prolongado, ya que en esta última etapa el contenido de lípidos es menor mientras la puesta de huevos es mayor, lo cual podría ser un indicativo del costo energético del cuidado parental, el cual es representado por la actividad física del movimiento de ventilación mientras el desarrollo de los huevos y el tiempo de cuidado progresa (Baeza y Fernández, 2002; Green y McCormick, 2004; Olvera-Hernández *et al.*, 2018 datos sin publicar).

El glucógeno es una reserva importante de energía a mediano plazo en insectos, aunque se almacena en menor cantidad que los lípidos (Arrese y Soulages, 2010). Aunque no hubo diferencias significativas en el contenido de esta reserva, los resultados coinciden con análisis hechos en *Belostoma elegans* por Lavarías *et al.* (2017), quienes tampoco encontraron diferencias en el contenido de esta reserva. Probablemente encontré cambios en el contenido de glucógeno debido a un ambiente poco contaminado en la localidad estudiada, ya que existe evidencia de que el glucógeno puede ser utilizado como biomarcador en ambientes contaminados. El nivel de glucógeno es uno de los parámetros que puede mostrar el estado energético de los organismos, ya que esta reserva puede ser utilizada cuando están bajo estrés (Lavarías *et al.*, 2017). Se ha reportado que en larvas de dípteros *Chironomus anthracinus* (Hamburger *et al.*, 1995) y *C. ripario* (Choi *et al.*, 2001), la exposición a condiciones hipóxicas durante cortos períodos de tiempo mostró una disminución en el porcentaje de glucógeno debido al uso acelerado de

esta reserva energética. Siguiendo esta idea, resultaría interesante considerar cómo cambian los niveles de glucógeno en los machos parentales de *A. dilatatus* bajo factores de estrés ambiental o en condiciones experimentales. De esta forma, podríamos observar la dinámica de esta reserva y la variación en el contenido de los machos parentales, así como las repercusiones que puede tener sobre el cuidado parental en estos organismos.

Los carbohidratos son la principal fuente de energía metabólica inmediata de los animales (Arrese y Soulages, 2010). En insectos, los carbohidratos son utilizados como energía durante el vuelo, locomoción o el nado (Schmidt-Nielsen, 1972; Klowden, 2013). Además de que son usados como energía, estas moléculas pueden ser almacenados en forma de reservas energéticas como glucógeno o lípidos (triglicéridos) (Arrese y Soulages, 2010). Estudios en hembras de *Aedes aegypti*, encontraron que del total de glucosa contenida en la dieta de los organismos el 50 % fue destinada a la producción de lípidos, mientras el 35% fue utilizada en la síntesis de glucógeno (Zhou, 2004). Esto concuerda con el alto contenido de lípidos reportado en este trabajo comparado con el nivel de glucógeno (Klowden, 2013; Arrese y Soulages, 2010). Aunque el contenido de estas moléculas energéticas en machos con cuidado parental puede disminuir debido al esfuerzo parental realizado. También, pueden influir otros factores ambientales como la cantidad de recursos alimenticios disponibles y la temperatura como lo menciono arriba. Los machos pueden ser afectado debido a las temperaturas bajas, la cuales disminuyen la tasa metabólica de los adultos y la tasa de desarrollo de los embriones (Gillooly *et al.*, 2001; Castaños *et al.*, 2017).

Sin embargo, el contenido de carbohidratos es mayor durante el verano comparado con la temporada de invierno, lo cual podría representar una mejor condición de los machos debido a una mayor cantidad de recursos en el ambiente (Castaños *et al.*, 2017). Además, el contenido de carbohidratos también aumenta mientras los machos son de mayor tamaño, esto puede indicar una mayor cantidad de recursos disponibles de los cuales los machos podrían invertir más a su crecimiento (Klowden, 2013).

Por último, podemos inferir que la principal reserva energética utilizada en este modelo de estudio son los lípidos (como reservas a largo plazo), aunque nuestra cuantificación de lípidos abarca un amplio espectro de lípidos con la técnica de Foray *et al.* (2012). Estudios futuros podrían evaluar lípidos más específicos utilizados en la obtención de energía como los triglicéridos, los cuales pueden ser anexados en un paso más sobre el mismo protocolo utilizado para obtener el contenido de reservas (Foray *et al.*, 2012; Benowitz *et al.*, 2017). También, podrían realizar de manera experimental retos inmunológicos en los machos parentales y evaluar la condición fisiológica, demostrando como son invertidos los recursos energéticos en el cuidado parental o en el sistema inmune, así como las repercusiones a la adecuación de los organismos o a su progenie. Además, estudios etológicos experimentales, podrían complementar este trabajo evaluando si la condición fisiológica de los machos parentales incide en el éxito de apareamiento a través de la elección femenina.

Conclusiones

Los machos con cuidado parental durante la temporada de verano presentaron mejor condición fisiológica (contenido de lípidos y carbohidratos) comparado con machos en invierno, lo cual indica que en esta temporada los machos pueden estar invirtiendo más recursos en su crecimiento (tamaño y peso) y en el cuidado parental.

Los machos con cuidado parental reciente que se encuentran en mejor condición presentan un mayor número de huevos en su dorso. Asimismo, la condición fisiológica de los machos con una puesta mayor de huevos se encuentra más deteriorada al final del cuidado parental, comparada con machos con menor número de huevos, posiblemente porque el esfuerzo parental es mayor en machos con puestas grandes. Estos resultados sugieren que la elección femenina está asociada a la condición de los machos parentales, mismo que podrá ser puesto a prueba en estudios posteriores.

Literatura citada

- Arrese, EL y Soulages, JL. 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. Annual Review of Entomology, 55, 207-225 pp.
- Baeza, JA y Fernández, M. 2002. Active brood care in *Cancer setosus* (Crustacea: Decapoda): the relationship between female behaviour, embryo oxygen consumption and the cost of brooding. Functional Ecology, 16, 241-251 pp.
- Benowitz, KM., McKinney, EC., Roy-Zokan, EM., Cunningham, CB y Moore, AJ. 2017. The role of lipid metabolism during parental care in two species of burying beetle (*Nicrophorus* spp.). Animal Behaviour, 129, 143-149 pp.
- Bonduriansky, R y Chenoweth, SF. 2009. Intralocus sexual conflict. Trends in ecology y evolution, 24, 280-288 pp.
- Castañós, CE., Córdoba-Aguilar, A y Munguía-Steyer, R. 2017. Physiological condition and wing pigmentation expression in a damselfly with seasonal polyphenism. Physiological Entomology, 42, 346-354 pp.
- Choi, J., Roche, H y Caquet, T. 2001. Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 30, 11-17 pp.
- Chown, SL y Gaston, KJ. 2010. Body size variation in insects: a macroecological perspective. Biological Reviews, 85, 139-169 pp.
- Clutton-Brock, TH. 1991. The Evolution of Parental Care. Princeton University Press. NJ, USA. 352 p.

- Coleman, RM y Fischer, RU. 1991. Brood size, male fanning effort and the energetics of a nonshareable parental investment in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* (Teleostei: Centrarchidae). *Ethology*, 87, 177-188 pp.
- Core Team R. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria.
- Crowl, TA y Alexander, JE. 1989. Parental care and foraging ability in male waterbugs (*Belostoma flumineum*). *Canadian Journal of Zoology*, 67, 513-515 pp.
- Davies, NB., Krebs, JR y West, SA. 2014. An introduction to behavioural ecology. Blackwell Scientific. Cuarta edición. 506 p.
- Dick, JT., Faloon, SE y Elwood, RW. 1998. Active brood care in an amphipod: influences of embryonic development, temperature and oxygen. *Animal Behaviour*, 56, 663-672 pp.
- Emlen, DJ. 2008. The evolution of animal weapons. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39.
- Fairbanks, LA y McGuire, MT. 1986. Age, reproductive value, and dominance-related behaviour in vervet monkey females: cross-generational influences on social relationships and reproduction. *Animal Behaviour*, 34, 1710-1721 pp.
- Foray, V., Francois, PP., Bel, VMC., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., Gron, D y Rey, B. 2012. A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van handel's method (1985) revisited. *Physiological Entomology*, 37, 295-302 pp.
- Gäde, G y Marco, HG. 2013. The adipokinetic hormones of African water bugs of the Heteropteran families Nepidae and Belostomatidae. *Physiological entomology*, 38, 279-291 pp.

- Gillooly, JF., Charnov, EL., West, GB., Savage, VM y Brown, JH. 2001. Effects of size and temperature on developmental time. *Nature*, 417, 70-73 pp.
- Gravel, MA., Couture, P y Cooke, SJ. 2010. Comparative energetics and physiology of parental care in smallmouth bass *Micropterus dolomieu* across a latitudinal gradient. *Journal of fish biology*, 76, 280-300 pp.
- Green, BS y McCormick, MI. 2004. O₂ replenishment to fish nests: males adjust brood care to ambient conditions and brood development. *Behavioral Ecology*, 16, 389-397 pp.
- Hamburger, K., Dall, PC y Lindegaard, C. 1995. Effects of oxygen deficiency on survival and glycogen content of *Chironomus anthracinus* (Diptera, Chironomidae) under laboratory and field conditions. *Hydrobiologia*, 297, 187-200 pp.
- Hanski, I. 1980. Spatial variation in the timing of the seasonal occurrence in coprophagous beetles. *Oikos*, 311-321 pp.
- Hunt, J., Bussiere, LF., Jennions, MD y Brooks, R. 2004. What is genetic quality?. *Trends in ecology y evolution*, 19, 329-333 pp.
- Ichikawa, N. 1988. Male brooding behaviour of the giant water bug *Lethocerus deyrollei* Vuillefroy (Hemiptera: Belostomatidae). *Journal of Ethology*, 6, 121-127 pp.
- Ichikawa, N. 1989. Breeding strategy of the male brooding water bug, *Diplonychus major* esaki (Heteroptera: Belostomatidae): Is male back space limiting?. *Journal of Ethology*, 7, 133-140 pp.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 2009. Anuario Estadístico del Estado de Puebla. México.

- Jara, FG y Perotti, MG. 2018. The life cycle of the giant water bug of northwestern Patagonian wetlands: the effect of hydroperiod and temperature regime. *Invertebrate Biology*, 137, 105-115 pp.
- Jiménez-Cortés, JG., Serrano-Meneses, MA y Córdoba-Aguilar, A. 2012. The effects of food shortage during larval development on adult body size, body mass, physiology and developmental time in a tropical damselfly. *Journal of insect physiology*, 58, 318-326 pp.
- Jones, JC y Reynolds, JD. 1999. The influence of oxygen stress on female choice for male nest structure in the common goby. *Animal Behaviour*, 57, 189-196 pp.
- Kight, SL y Kruse, KC. 1992. Factors affecting the allocation of paternal care in waterbugs (*Belostoma flumineum* Say). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 30, 409-414 pp.
- Kight, SL., Sprague, J., Kruse, KC y Johnson, L. 1995. Are egg-bearing male water bugs, *Belostoma flumineum* Say (Hemiptera: Belostomatidae), impaired swimmers?. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 68, 468–70 pp.
- Klowden, MJ. 2013. *Physiological systems in insects*. Academic Press. 669 p.
- Klug, H y Bonsall, MB. 2014. What are the benefits of parental care? The importance of parental effects on developmental rate. *Ecology and Evolution*, 4, 2330-2351 pp.
- Kölliker, M., Royle, NJ y Smiseth, PT. 2012. *The Evolution of Parental Care*. Oxford University Press. Oxford. 285-303 pp.
- Kraus, WF. 1989. Is male back space limiting? An investigation into the reproductive demography of the giant water bug, *Abedus indentatus* (Heteroptera: Belostomatidae). *Journal of insect behavior*, 2, 623-648 pp.
- Kruse, KC. 1989. Male backspace availability in the giant waterbug (*Belostoma flumineum* Say). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 26, 281-289 pp.

- Lavariás, S., Ocon, C., Van Oosterom, VL., Laino, A., Medesani, DA., Fassiano, A., Garda, H., Donadelli, J., Rios de Molina, M y Rodrigues Capítulo, AR. 2017. Multibiomarker responses in aquatic insect *Belostoma elegans* (Hemiptera) to organic pollution in freshwater system. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 1322-1337 pp.
- Lissaker, M., Kvarnemo, C y Svensson, O. 2003. Effects of a low oxygen environment on parental effort and filial cannibalism in the male sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Behavioral Ecology*, 14, 374-381 pp.
- Manica, A y Johnstone, RA. 2004. The evolution of paternal care with overlapping broods. *American Naturalist*, 164, 517-530 pp.
- Madhavan, MM. 1974. Structure and function of the hypople of the egg of the bug, *Sphaerodema molestum*. *Journal of insect physiology*, 20, 1341-1349 pp.
- Masaki, S. 1980. Summer diapause. *Annual Review of Entomology*, 25, 1-25 pp.
- McKittrick, MC. 1992. Phylogenetic analysis of avian parental care. *The Auk*, 4, 828- 846 pp.
- Menke, AS. 1960 A taxonomic study of the genus *Abedus*. University of California Press. California, USA. 393 – 440 pp.
- Munguía-Steyer, R. 2007. Selección sexual y cuidado paterno en *Abedus breviceps* (HEMIPTERA: BELOSTOMATIDAE) (Tesis de doctorado). Instituto de Ecología. Veracruz, México. 142 p.
- Munguía-Steyer, R., Favila, EM., Macías-Ordóñez, R. 2008. Brood Pumping Modulation and the Benefits of Paternal Care in *Abedus breviceps* (Hemiptera: Belostomatidae). *Ethology*, 114, 693-700 pp.

- Munguía-Steyer, R y Macias-Ordóñez, R. 2007. Is it risky to be a father? Survival assessment depending on sex and parental status in the water bug *Abedus breviceps* using multistate modelling. *Canadian Journal of Zoology*, 85, 49-55 pp.
- Neff, BD y Gross, MR. 2001. Dynamic adjustment of parental care in response to perceived paternity. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 268, 1559-1565 pp.
- Ohba, SY., Okuda, N y Kudo, S. 2016. Sexual selection of male parental care in giant water bugs. *R. Royal Society Open Science*, 1-7 pp.
- Ohba, SY., Matsuo, S., Huynh, TTT y Kudo, SI. 2018. Female mate preference for egg-caring males in the giant water bug *Diplonychus rusticus* (Heteroptera: Belostomatidae). *Ethology Ecology and Evolution*, 1-8 pp.
- Ohba, SY. 2018. Ecology of giant water bugs (Hemiptera: Heteroptera: Belostomatidae). *Entomological Science*.
- Ralston, JS. 1977. Egg guarding by male assassin bugs of the genus *Zelus* (Hemiptera: Reduviidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 84, 103-107 pp.
- Requena, GS., Buzatto, AB., Martins, GE y Machado, G. 2012. Parental care decreases foraging activity and body condition but does not impose survival cost to caring males in a neotropical arachnid. *Plos Ones*, 7, 1-11 pp.
- Requena, GS y Machado, G. 2014. Mating behavior of a Neotropical arachnid with exclusive paternal care. *Acta Ethologica*, 17, 23-30 pp.
- Requena, GS., Munguía-Steyer, R y Machado, G. 2014. Parental care and sexual selection in arthropods. En Macedo, RH y Machado, G. (Ed) *Sexual selection: perspectives and models from the Neotropics*. Elsevier Academic Press. Nueva York. 201-222 pp.

- Reynolds, JD., Goodwin, NB y Freckleton, RP. 2002. Evolutionary transitions in parental care and live bearing in vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 357, 269-281 pp.
- Ridley, M. 1978. Paternal care. *Animal Behaviour*, 26, 904-932 pp.
- Rowe, L y Houle, D. 1996. The lek paradox and the capture of genetic variance by condition dependent traits. *Real Society of London*, 263, 1415-1421 pp.
- Schmidt-Nielsen, K. 1972. Locomotion: energy cost of swimming, flying, and running. *Science*, 177, 222-228 pp.
- Sargent, RC. 1988. Paternal care and egg survival both increase with clutch size in the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 23, 33-37 pp.
- Smith, RL. 1974. Life History of *Abedus Herberti* in Central Arizona (Hemiptera: Belostomatidae). *Journal of Entomology*, 81, 272-283 pp.
- Smith, RL. 1976. Male brooding behavior of the water bug *Abedus herbeteri* (Hemiptera: Belostomatidae). Department of Zoology. Arizona State University. Arizona, USA. 740-747 pp.
- Smith, RL. 1997. Evolution of paternal care in the giant water bug. (Hemiptera: Belostomatidae). Department of Zoology. Arizona State University. Arizona, USA. 116-149 pp.
- Tallamy, DW. 2001. Evolution of exclusive paternal care in arthropods. *Annual Review of Entomology*, 46, 139-165 pp.
- Tauber, MJ., Tauber, CA y Masaki, S. 1986. *Seasonal adaptations of insects*. Oxford University Press on Demand.
- Thrasher, P., Reyes, E y Klug, H. 2015. Parental care and mate choice in the giant water bug *Belostoma lutarium*. *Ethology*, 121, 1018-1029 pp.

- Trivers, RL. 1972. Parental investment and sexual selection. En Campbell, B (ed.) Selection and the Descent of Man. Chicago, USA. 53-92 pp.
- Van den Berghe, EP. 1992. Parental care and the cost of reproduction in a Mediterranean fish. Behavioral Ecology and Sociobiology, 30, 373-378 pp.
- Van Handel, E. 1985a. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association, 299-301 pp.
- Van Handel, E. 1985b. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association, 302-304 pp.
- Velando, A. 2002. Experimental manipulation of maternal effort produces differential effects in sons and daughters: implications for adaptive sex ratios in the blue-footed booby. Behavioral Ecology, 13, 443-449 pp.
- Velando, A y Alonso-Alvarez, C. 2003. Differential body condition regulation by males and females in response to experimental manipulations of brood size and parental effort in the blue-footed booby. Journal of Animal Ecology, 72, 846-856 pp.
- Venkatesan, P. 1981. Influence of temperature and salinity variations on an aquatic bug population in a tropical pond. Hydrobiologia, 79, 33–50 pp.
- Warren, IA., Gotoh, H y Dworkin, IM. 2013. A general mechanism for conditional expression of exaggerated sexually-selected traits. BioEssays, 35, 889–899 pp.
- Wolda, H. 1988. Insect seasonality: why?. Annual Review of Ecology and Systematics, 19, 1-18 pp.
- Zhou, G., Pennington, JE y Wells, MA. 2004. Utilization of pre-existing energy stores of female *Aedes aegypti* mosquitoes during the first gonotrophic cycle. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 34, 919-925 pp.