

Comportamiento de cópula y competición de esperma en *Tenebrio molitor*

J.J. Palomino¹, M. Rodríguez² & D. Cuerda³

Dpto. Biología Animal y Ecología, Fac. Ciencias, Univ. Granada, 18071 Granada, Spain.

² C/ Dr. Pareja Yébenes, nº 10, 18012 Granada, Spain.

³Urban. "El Puntal", c/ D-2, nº 88, 18640 Padul, Granada, Spain.

ABSTRACT. *Copulation behaviour and sperm competition in Tenebrio molitor.* - The strategy of larger males was to diminish the number of copulations of other males, instead of make higher number of copulations. The females which made more copulations received more guarding time per copulation. In groups with a sex ratio of 1:1, the males tended to spend more time guarding, whilst in groups with more females than males, competition among males tended to increase the number of copulation interruptions. In the group with more females than males, competition for males appeared, and males tended to control the other competitor. This tendency was reflected in less guarding time, and more copulation interruptions and aggressive interactions than in groups with a 1:1 sex ratio.

KEY WORDS. Copulation behaviour, Sperm competition, Mate guarding, *Tenebrio molitor*, Mealworm beetle

Introducción

El escarabajo de la harina *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), ha sido criado durante décadas en cautividad, con el fin de utilizar sus larvas como alimento vivo para pájaros de jaula. Por este motivo, aunque es originario de Europa, actualmente se encuentra extendido por todo el mundo (Harde & Severa, 1984). Esta especie presenta un ciclo vital de uno a dos años, siendo más rápido en lugares cálidos (Harde & Severa, 1984). Sobre esta especie se han realizado estudios bioquímicos (Yaginuma, 1988; Weaver, 1989) y fisiológicos (Constantinov,

1986; Tysnchenko, 1987; Varju, 1987; Punzo, 1989), pero la información sobre su biología reproductora es escasa.

En el caso de los insectos, la forma por la cual los machos compiten por aparearse va a depender de la dispersión de las hembras y de la competición de esperma. La competencia espermática incluye, la competencia existente entre machos por prevenir fecundaciones posteriores o desplazar fecundaciones anteriores mediante distintos comportamientos, como a) desplazar el esperma de machos anteriores antes de copular con la hembra, b) cerrar la cloaca de la hembra con una sustancia pegajosa después de la cópula, c) impregnar a la hembra de una sustancia

repelente que impida el acercamiento de otros machos, o más frecuentemente, d) guardarla hembra tras la cópula (Parker, 1970; Krebs & Davies, 1987). Este comportamiento de guarda de la hembra ha sido bien estudiado en *Scatophaga* (Parker, 1970c), en Odonata (ej., Jacobs, 1955; Waage, 1984) y en *Odontoloxozus* (Mangan, 1979).

Generalmente en el aparato genital de las hembras, cuando existen apareamientos múltiples, el eyaculado del último macho en copular fertiliza la mayoría de los huevos de la hembra, por lo que los machos competirán intentando ser los últimos en copular, y/o retardando todo lo posible la cópula del siguiente macho (Krebs & Davies, 1987).

Este estudio tiene dos objetivos básicos, a) Conocer el comportamiento reproductor de *Tenebrio molitor*, y b) Estudiar la selección sexual y la competencia de esperma.

Material y Métodos

Se aislaron 48 pupas de escarabajo de la harina de una población mantenida en cautividad, a las que se midió su longitud. Según el orden de eclosión, se distribuyeron los adultos en seis grupos de seis individuos y uno de 12. Todos ellos se marcaron con puntos de pintura de distintos colores en los élitros para su posterior reconocimiento. Los individuos de cada grupo se reunían unas tres veces por semana, y se observaba el comportamiento de cada individuo dentro de su grupo correspondiente durante una o dos horas, tras lo cual se les volvía a aislar en tubos con comida. Las observaciones se realizaron en superficies de 100 cm² y en ausencia de comida. Durante las 81.30 horas que los grupos estuvieron en observación, se realizaron un total de 244 cópulas. Estas observaciones se llevaron a cabo hasta que se produjo la muerte de los individuos. Después de que las hembras murieran se realizó un examen minucioso bajo lupa binocular del contenido

de cada tubo. Sin embargo no se consiguió encontrar los huevos, seguramente porque su superficie es pegajosa y son depositados sobre el sustrato del que se alimentan, quedando adheridas las distintas partículas (Harde & Severa, 1984).

Ante el desconocimiento de caracteres morfológicos que diferenciaran machos de hembras, el establecimiento del sexo de cada individuo se realizó a través de la observación del comportamiento reproductor, no considerándose definitivo hasta comprobar su papel en una cópula. La composición de los grupos con los que se trabajó fue la siguiente: en tres de ellos había tres machos y tres hembras, en dos, cinco machos y una hembra, en uno, dos machos y cuatro hembras, y, el de 12 individuos estaba formado por seis machos y seis hembras.

Durante las observaciones se registraron los siguientes parámetros:

(1) Intentos de cópula (macho sube sobre la hembra), distinguiendo entre los que terminaron en cópula o exitosos (cuya duración se anotaba) y los no exitosos. (2) Tiempo que el macho permanecía sobre la hembra tras la cópula, al que llamamos tiempo de guarda. (3) Intentos de interrupciones de cópula de cada uno de los individuos, diferenciando entre exitosos y no exitosos. Se consideraba como tal cuando un individuo se metía debajo de la pareja que copulaba intentando darles la vuelta. (4) Número de interacciones agresivas (cuando ninguno de los individuos inmersos en la interacción estaba implicado en cópula), distinguiendo entre vencedor (quedaba en el lugar de la interacción) y vencido (huía del lugar de la interacción). Se diferenciaron las que tenían lugar entre machos de las que tenían lugar entre hembras. Cada uno de estos datos se anotaron individualmente para cada adulto, recogiendo igualmente su tiempo de vida, tiempo de observación, longitud total y longitud del élitro.

Se eligió como dato representativo del tamaño la longitud del élitro debido a que su obtención suponía un menor error que la longitud total.

$r=0.44$; $p=0.02$; $n=28$
 $y=-0.96+0.13x$

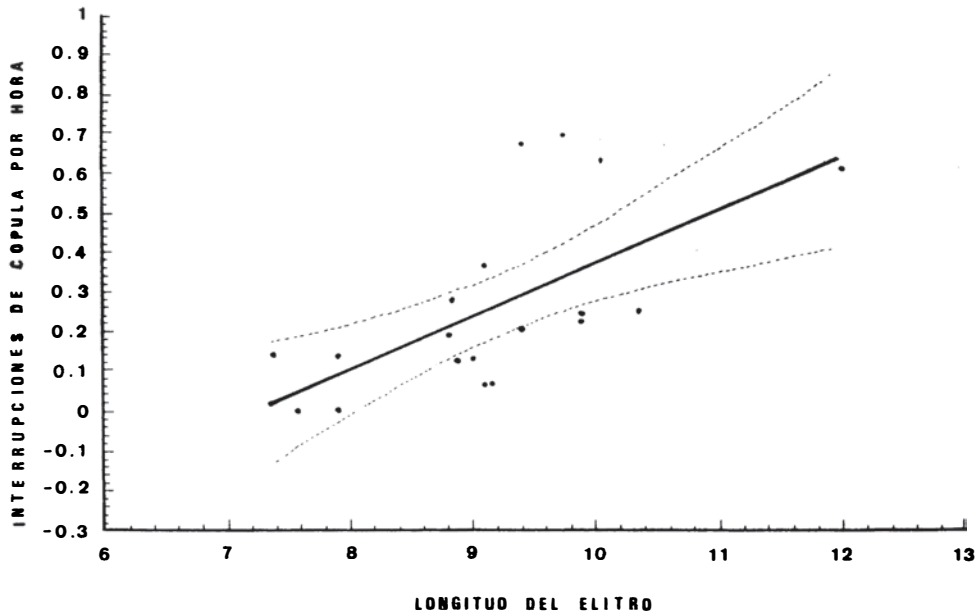


FIGURA 1. Relación entre tamaño del macho (longitud del élitro) y número de interrupciones de cópula producidas por hora.

[Relationship between male size (elytron length) and number of copulation interruptions provoked per hour.]

Resultados

A) Comportamiento copulatorio

Las interacciones entre dos individuos comenzaban con un contacto con las antenas. Si eran de distinto sexo, el macho subía sobre la hembra, realizando un tamborileo con sus antenas sobre el pronoto de ésta. En el 48% de los casos en los que el macho subió sobre la hembra ($n=508$), se produjo cópula, durante la cual se seguía produciendo el tamborileo, cuya cadencia era sensiblemente más baja. Al finalizar la cópula, se recuperaba la velocidad de tamborileo, y el macho tendía a permanecer sobre la hembra, con lo que evitaría la cópula de otros machos (guarda de la hembra).

Las interacciones entre dos machos comenzaban del mismo modo, y a veces terminaban en luchas.

que consistían en intentar morder las tibias y artejos del tarso del otro macho, o introducir la cabeza bajo el cuerpo del otro individuo para intentar volcarlo.

También se produjeron interacciones entre un individuo y una pareja que estaba copulando o en tiempo de guarda. Los machos produjeron la separación de una pareja que estaba copulando, empujando con la cabeza en 62 ocasiones (25.4% de las cópulas, $n=244$) de un total de 85 intentos, y de una pareja en tiempo de guarda en 95 ocasiones (42.0% de las guardas, $n=226$) de un total de 120 intentos. El número de interrupciones de guarda es significativamente mayor que el número de interrupciones de cópula ($\chi^2=14.58$; $p<0.0001$; g.l.=1), al igual que el número de intentos de interrupción de guardas frente al de cópulas ($\chi^2=13.64$; $p<0.0002$; g.l.=1), lo cual es explicado por la evidente ventaja que obtiene el macho que produce la interrupción si copula después con la hembra. Este mismo comportamiento fue observado

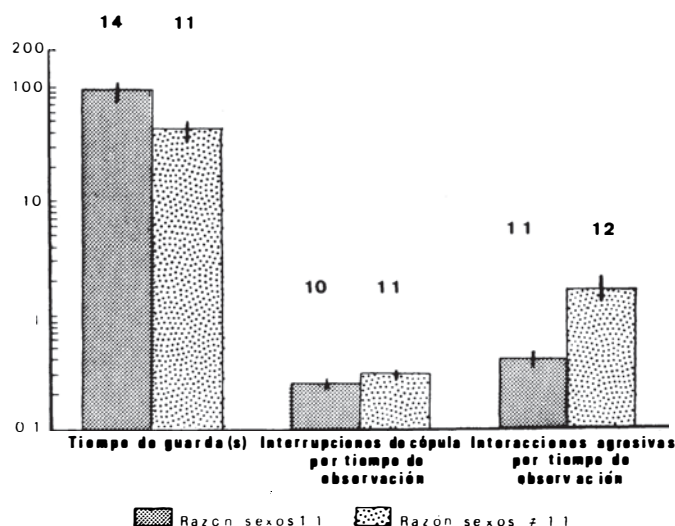


FIGURA 2. Valores medios (\pm SE) de los parámetros: tiempo de guarda, número de interrupciones de cópula por hora y número de peleas ganadas por hora, para machos incluidos en grupos con razón de sexos 1:1 y en grupos con razón de sexos distinta de 1:1. Las cifras sobre las barras indican el tamaño de muestra.

[Mean values (\pm SE) of guarding time, number of copulation interruptions per hour and number of fights won per hour for males included in groups with a sex ratio of 1:1 and in groups with different number of males and females. Numbers at the top of the bars are sample sizes.]

en las hembras en 11 (4.5%, n=244) y dos (0.9%, n=226) casos respectivamente, todos ellos en el mismo grupo, que estaba compuesto por dos machos y cuatro hembras.

El número de cópulas realizadas por cada macho no está significativamente correlacionado con el tamaño ($r= 0.32$, $p<0.126$, $n=24$). No obstante, conforme aumenta el tamaño provocan más interrupciones de cópula (fig. 1).

La duración de las cópulas fue variable, registrándose un tiempo medio de cópula de 83.93 seg. (SE= 4.11, n=25) para los machos, y de 81.15 seg. (SE= 3.82, n=21) para las hembras. Tras la cópula, el macho permanecía sobre la hembra durante un tiempo que es el que hemos llamado tiempo de guarda, cuya duración fue variable, con un

promedio de 76.04 seg. (SE= 15.29, n=23). Las interacciones agresivas entre machos fueron observadas en todos los grupos, (en un total de 182 casos), mientras que entre hembras sólo fueron observadas en el grupo formado por dos machos y cuatro hembras en diez ocasiones.

El tiempo de guarda por cópula que recibe una hembra aumenta significativamente con el número de cópulas por hora que realiza ($r=0.63$; $p=0.03$; $n=20$).

B) Influencia de la composición del grupo

Los distintos parámetros, como tiempo medio de cópula por hora, tiempo medio de guarda por cópula,

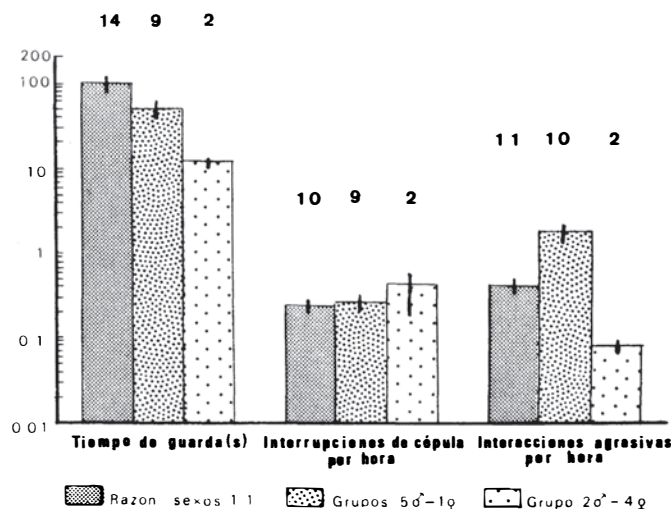


FIGURA 3. Valores medios (\pm SE) de los parámetros: tiempo de guarda, número de interrupciones de cópula por hora y número de peleas ganadas por hora para machos incluidos en grupos con razón de sexos 1:1, grupos con mayor número de machos que de hembras y grupos con mayor número de hembras que de machos. Las cifras sobre las barras indican el tamaño de muestra.

[Mean values (\pm SE) of guarding time, number of copulation interruptions per hour and number of fights won per hour for males included in groups with a sex ratio of 1:1, groups with more males than females and groups with more females than males. Numbers at the top of the bars are sample sizes.]

número de interrupciones de cópula por hora y número de interacciones agresivas por hora, fueron analizados en base a la distinta razón de sexos que presentaron los distintos grupos, exponiéndose los resultados en las figuras 2 y 3. Al comparar los grupos con razón de sexos 1:1 con el resto (fig. 2), se observa que el tiempo de guarda por cópula de los machos tiende a ser mayor que en los grupos con razón de sexos distinta de 1:1 ($z=1.56$; $p=0.12$). En el caso de grupos con mayor número de machos que de hembras (fig. 3), destaca una tendencia hacia un mayor número de interacciones agresivas entre machos ($z=1.06$; $p=0.29$) y menores tiempos de guarda por cópula ($z=1.17$; $p=0.24$), frente a grupos con razón de sexos 1:1. Por último, al comparar grupos con menor número de machos que de hembras frente a grupos con razón de sexos 1:1 (fig. 3), parece que la estrategia reproductiva óptima

de los machos se basaría en el control del otro macho, lo cual se ve reflejado en la tendencia hacia un tiempo de guarda menor ($z=1.59$; $p=0.11$), y un número de interrupciones de cópula por hora mayor ($z=1.78$; $p=0.08$). Aunque los resultados obtenidos no son significativos, debido probablemente al bajo número de datos disponibles, y por ello no permiten realizar rotundas afirmaciones, las tendencias reflejadas en las comparaciones citadas anteriormente resultan bastante claras.

Discusión

Generalmente, el último macho que copula fecunda la mayor parte de los huevos que pone la hembra (Parker, 1970; Birkhead & Møller, 1992).

En el escarabajo de la harina no se ha realizado ningún estudio al respecto, sin embargo, en otros tenebriónidos se ha encontrado que, de acuerdo con la norma general, el segundo macho en copular fecunda más del 80% de los huevos (Schlager, 1960; Boorman & Parker, 1976; Valdell & Brower, 1978). En el caso concreto de la especie que nos ocupa, el porcentaje de huevos fecundados por el segundo macho seguramente es muy elevado ya que como recientemente se ha descubierto (Gage, 1992), el órgano copulador de los machos del escarabajo de la harina posee unas espinas quitinosas con las que el macho retira el esperma de cópulas previas. Gage (1992) demostró la existencia de una correlación inversa entre el tiempo transcurrido desde que la hembra había sido inseminada y el porcentaje de espinas del segundo macho en copular impregnadas de esperma.

Por lo mencionado anteriormente podemos destacar que (1) el comportamiento de guarda de la hembra tras la cópula por parte del macho disminuye las posibilidades de que su esperma sea retirado por otro macho, y por tanto, el valor adaptativo de este comportamiento es evidente, (2) la estrategia seguida por los machos de mayor tamaño de interrumpir las cópulas (fig. 1) de los otros machos, sería más rentable que dedicarse a aumentar indefinidamente su número de cópulas. Al descender el número de cópulas de otros machos o hacerlas menos efectivas, (a través de interrupciones de cópula), consiguen hacer más efectivas las previamente realizadas por ellos puesto que disminuyen el riesgo de que su esperma sea desplazado o retirado y (3), el hecho de que los machos realicen mayor número de cópulas con determinadas hembras, y que además, dediquen mayor cantidad de tiempo a guardar a esa hembra (a pesar del costo que supone, ya que está perdiendo un tiempo que podría dedicar a buscar otras hembras con las que copular, lo cual indica una selección de las hembras de mayor calidad por parte de los machos, ya que éstos invierten más en copular y guardar a determinadas hembras), indica que la competencia de

esperma tiene gran importancia en esta especie, haciendo necesaria una estrategia de uso del tiempo mixta en la que reparten su actividad reproductora entre copular, guardar la hembra y disminuir el número y la eficacia de las cópulas de los otros machos.

Influencia de la composición del grupo

La influencia de la composición del grupo en base a la razón de sexos es muy importante. Al comparar los grupos con razón de sexos 1:1 con el resto de grupos (fig. 2), se puede deducir que la estrategia óptima para machos incluidos en grupos con razón de sexos 1:1 es incrementar el tiempo de guarda por cópula, para disminuir las posibilidades de que su esperma sea retirado o desplazado por cópulas de otros machos.

El mayor número de interacciones agresivas entre machos en grupos con mayor número de éstos que de hembras (fig. 3), frente a grupos con razón de sexos 1:1, es explicado por la gran competencia existente en éstos grupos por las hembras, ya que al haber una única hembra disponible, cuando ésta empareja con un macho, los restantes cuatro machos quedan sin una hembra a la que cortejar, desarrollándose una gran competencia por ésta, lo cual provoca que los machos no consigan tiempos de guarda elevados (fig. 3).

La estrategia seguida por los machos incluidos en grupos con mayor número de hembras que de machos, basada en el control del otro individuo, es beneficiosa para cada uno de ellos, debido a que al disminuir el número o efectividad de las cópulas del otro competidor (provocan mayor número de interrupciones de cópula y mantenimiento de menores tiempos de guarda del competidor (fig. 3) frente a grupos con razón de sexos 1:1), aumentan la efectividad de las suyas, al disminuir el riesgo de que su esperma sea desplazado o retirado por cópulas del otro macho. Este es el único grupo en el que se observaron interacciones agresivas entre hembras e

interrupciones de cópula producidas por éstas, lo cual supone competencia de las hembras por los machos en el caso de una clara desviación de la razón de sexos 1:1 en favor del número de hembras. Esto es lógico considerando que copular es costoso para los machos, ya que después de una cópula permanecían casi inmóviles, no reiniciando su actividad de cortejo hasta, aproximadamente, 76.04 seg. (SE=15.29) más tarde. Por tanto, en esas condiciones, el macho pasa a ser el recurso escaso y no es de extrañar que las hembras compitan por ellos.

Agradecimientos

Este estudio fue realizado como una práctica dentro de la asignatura de Etología (curso 1991-92). El trabajo se ha podido preparar gracias a la generosa cesión de sus datos por parte del resto de nuestros compañeros. Manuel Soler dirigió la realización de la práctica y revisó sucesivas versiones del manuscrito, aportando sugerencias que contribuyeron a mejorar este trabajo. Juan José Soler y Juan Gabriel Martínez ayudaron en varias ocasiones resolviendo problemas informáticos. El grupo de investigación "Comportamiento y ecología animal" de la Universidad de Granada nos permitió utilizar todo su material, desde ordenadores a bibliografía. A todos ellos nuestro más sincero agradecimiento.

Summary

Copulation behaviour and sperm competition in Tenebrio molitor.

The reproductive behaviour of the mealworm beetle (*Tenebrio molitor*) has been studied. Forty-eight individuals, isolated in the pupa phase, were separated, according to emergence order, into six

groups of six individuals and one group of twelve. Individuals were marked on the elytra with different-coloured spots. The individuals of each group were placed together two or three times a week, and their behaviour was observed for about one or two hours each time. After each period of observation, the beetles were isolated again. The following parameters were recorded for each individual: number of copulation attempts, number of effective copulations, time invested by males in guarding females after copulation, number of copulation interruptions and number of aggressive interactions. Also were recorded for each individual, life time, time of observation and morphology.

The strategy of larger males was to reduce the number of copulations of other males (they interrupted more copulations; fig. 1), instead of making a significantly higher number of copulations. Thus, larger males increased the effectiveness of their copulations by reducing the risk of their sperm being displaced by other males.

The sex ratio in each group proved to be very important. In groups with a sex ratio of 1:1, the males tended to spend more time guarding than in groups with more males than females (fig. 3). Sexual competition among males tended to increase the number of copulation interruptions and decreased guarding time per copulation (fig. 3). In groups with more females than males, competition between females for males appeared (aggressive interactions among females and copulation interruptions caused by females). In these situations, the males tended to control the other male, spending less time guarding and provoking more copulation interruptions and aggressive interactions than in groups with a 1:1 sex ratio (fig. 3).

Referencias

Birkhead, T.R. & Møller, A.P., 1992. *Sperm*

- competition in birds*. London: Academic Press.
- Boorman, E. & Parker, G.A., 1976. Sperm (ejaculate) competition in *Drosophila melanogaster*, and the reproductive value of females to males in relation to female age and mating status. *Ecol. Entomol.*, 1:145-155.
- Constantinov, C., et al., 1986. Supercooling in the various instars of the mealworm beetle *Tenebrio molitor* L. *Journal Nat. Hist.*, 20:649-651.
- Gage, M.J.G., 1992. Removal of rival sperm during copulation in a beetle, *Tenebrio molitor*. *Anim. Behav.*, 44:587-589.
- Harde, K.W. & Severa, F., 1984. *Guía de campo de los coleópteros de Europa*. Barcelona: Ed. Omega.
- Jacobs, S., 1955. Studies on territorialism and sexual selection in dragonflies. *Ecology*, 36:566-586.
- Krebs, J.R. & Davies, N.B., 1987. *An introduction to behavioral ecology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Mangan, R.L., 1979. Reproductive behaviour of the cactus fly, *Odontoloxozus longicornis*, male territoriality and female guarding as adaptive strategies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 4:265-278.
- Parker, G.A., 1970. The reproductive behaviour and the nature of sexual selection in *Scatophaga stercoraria* L. (Diptera: Scatophagidae):VII. The origin and evolution of the passive phase. *Evolution*, 24:774-788.
- Parker, G.A., 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol. Rev.*, 45:525-567.
- Punzo, F. & Huff, G., 1989. Comparative temperature and water relations and the effects of thermal acclimatation on *Tenebrio molitor* and *T. obscurus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.*, 93:527-533.
- Schlager, G., 1960. Sperm precedence in the fertilization of eggs in *Tenebrio castaneum*. *Annals of the Entomological Society of America*, 53:557-560.
- Tyshchenko, V.P. & Amadu Sheik Ba, 1987. Photoperiodic reaction of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Zool. Zh.*, 66:51-59.
- Vardell, H.H. & Brower, J.H., 1978. Sperm precedence in *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Kans. Entomol. Soc.*, 51: 187-190.
- Varju, D., 1987. The interaction between visual edge fixation and shototaxis in the mealworm beetle *Tenebrio molitor*. *J. Comp. Physiol. A Sens. Neural Behav. Physiol.*, 160:543-551.
- Waage, J.K., 1984. Sperm competition and the evolution of Odonate mating systems. In: *Sperm competition and the evolution of animal mating systems: 251-290* (R.L. Smith, Ed.). London: Academic Press.
- Weaver, D.K., McFarlane, J.E. & Alli, I., 1989. Aggregation in yellow mealworms, *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. I. Individual and group attraction to frass and isolation of an aggregant. *J. Chem. Ecol.*, 15:1605-1615.
- Yaginuma, T. & Happ, G.M., 1988. Trehalase from the bean-shaped accessory glands and the spermatophore of the male mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.*, 157:765-770.

Recibido: marzo, 1993