

EDAD Y CONDUCTA SEXUAL EN *Triatoma pallidipennis* Stal (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Iris Morales-Ortiz¹, José Lino Zumaquero-Ríos¹✉, Edwin Jovanni Hernández-López¹, Cesar Sandoval-Ruíz¹ y Gabriel Manrique²

¹Laboratorio de Parásitos y vectores. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla. Calle 4 Sur, No. 104, Col. Centro, C. P. 5013, Puebla, Pue.

²Laboratorio de Fisiología de Insectos, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, IBBEA, CONICET-UBA. Buenos Aires, Argentina,

✉Autor de correspondencia: linozuma@hotmail.com

RESUMEN. La conducta sexual de varias especies de triatominos ha sido estudiada. Estos tienen una gran relevancia por los aportes potenciales que podrían brindar para el control de las poblaciones de estos vectores. *Triatoma pallidipennis* es la especie más abundante en México y poco se conoce sobre el comportamiento sexual. Se utilizaron cinco grupos de ejemplares de *T. pallidipennis*, con tres repeticiones del experimento para cada grupo, en los que se evaluó la ocurrencia de cópula de 1 hembra y 3 machos ambos con distinta edad y estados nutricionales. Se observó la cópula de 10 hembras de un total de 15. Los machos viejos con ingesta de sangre o sin alimentar fueron los seleccionados por las hembras, lo cual demuestra que las hembras eligen sus parejas por la edad del macho. Se observaron rechazos ante los intentos de cópula del macho en esta especie. Las hembras copularon una vez, aunque en pocos casos, finalizada esta con los machos viejos, la mantuvieron con un macho joven, no pudiéndose comprobar competencia espermática. Las hembras de *T. pallidipennis* aceptan a los machos más viejos para la cópula la cual ocurre de manera general una sola vez, no evidenciando un sistema poliándrico en este estudio.

Palabras clave: Triatominos, cópula, hembras, machos.

Age and sexual behavior in *Triatoma pallidipennis* Stal (Hemiptera: Reduviidae) in laboratory conditions

ABSTRACT. The sexual behavior of several triatomine species has been studied. These studies have a great relevance for their contributions for the control of the populations of these vectors. *Triatoma pallidipennis* is the most abundant species in Mexico and little is known about the sexual behavior. Five groups of *T. pallidipennis* were used, with 3 replicates of the experiment for each group, in which copula occurrence of 1 female and 3 males both with distinct age and nutritional status were evaluated. Copulation of 10 females out of a total of 15 was observed. Old males with or without feeding were selected by females; supporting that it is the male's age that influences with selection by the female. In some cases the display of rejection behaviors by the female in response to male copulatory attempts were observed. Mainly only one copula was observed, however in some cases it was verified that the females once copulated with the older males later accepted a young male, although spermatic competition could not be verified. In conclusion, the female of *T. pallidipennis* accept the older males for copulation which occurs generally only once, supporting the absence of polyandry for this species under laboratory conditions.

Keywords: Biological control, egg-parasitoid, specificity tests.

INTRODUCCIÓN

Los primeros reportes sobre el cortejo y la conducta sexual de varias especies de triatominos fueron notificados por Hase (1932), sin embargo, a pesar de las 33 especies reportadas para México, escasos estudios se han llevado a cabo hasta el momento aunque el análisis de los etogramas realizados en *Triatoma phyllosoma* (Burmeister), *Triatoma pallidipennis* (Stal) y *Triatoma mazzottii* (Usinger) abrió un camino a la comprensión de varios aspectos del comportamiento sexual de estas especies (Rojas *et al.*, 1990, Rojas y Cruz –López, 1992); En estos trabajos se describieron y caracterizaron los comportamientos sucesivos que expresa el macho en presencia de

una hembra, aunque el papel de estas no recibió la atención suficiente. Las hembras de otras especies de Triatominae pueden responder con aceptación o rechazo, desarrollando distintos comportamientos ante los intentos de cópula del macho (Manrique y Lazzari 1994, Pires *et al.*, 2004, Vitta y Lorenzo 2009, Pompilio *et al.*, 2016). Esta conducta de la hembra puede prevenir o retrasar el contacto físico con el macho dificultando su correcta posición para alcanzar la *genitalia* de la hembra. Factores como la edad y el estado nutricional también influyen en la cópula de triatominos (Regis *et al.*, 1985, en *T. infestans*; Malo *et al.*, 1993, en *T. mazzottii*). El objetivo de este trabajo es comprender la relación entre la edad y el estado nutricional y la ocurrencia de cópula en *Triatoma pallidipennis*. Adicionalmente, se realizaron observaciones preliminares intentando evaluar la posible existencia de comportamiento de agregación de machos en torno a una pareja en cópula, conducta que ha sido descrita en otras especies de triatominos. El poder comprender aspectos de la reproducción de esta especie podría impactar sobre las poblaciones de este insecto.

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron cinco grupos de ejemplares de *Triatoma pallidipennis* de una colonia establecida en el laboratorio de parásitos y vectores de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los insectos fueron separados desde el cuarto estadio ninfal para prevenir la cópula luego de la ecdisis imaginal. Cada organismo se alimentó y colocó de manera individual en contenedores cilíndricos plásticos (6.8 cm de base; 8.1 cm de altura) oscuros y se les reguló el ciclo circadiano de manera que los experimentos se realizaron durante el momento de máxima actividad locomotora reportada para triatominos (Lazzari, 1992). Cada ensayo fue llevado a cabo utilizando una caja de Petri (16.8 cm de diámetro) como arena experimental, la que fue colocada en una incubadora a temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y humedad relativa de $70 \pm 5\%$. En la incubadora se ubicó una cámara de video giratoria (CCTV-212 Steren) conectada a una CPU que permitió registrar y monitorear la conducta de los grupos establecidos durante 12 horas.

En la arena experimental se colocó una hembra, con distinta edad (i.e., recién emergida o de 25 días de edad postecdisis) y diferente estado nutricional (i.e., sin alimentar o alimentada 25 días posteriores a la emergencia) y tres machos de distinta edad y con diferentes estados nutricionales (i.e., sin alimentar o con 25 o 60 días de ayuno postecdisis).

Se aplicó una prueba de “*t*” de Student para determinar los valores de aceptación de las hembras hacia los machos. Se realizaron tres repeticiones del experimento para cada grupo experimental. Los grupos experimentales se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Grupos trabajados en el experimento.

Grupo 1	
Una hembra recién emergida sin alimentar	HRESA
Dos machos recién emergidos sin alimentar	MRESA
Un macho con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia	MEA
Grupo 2	
Una hembra con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia	HEA
Dos machos con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia	MEA
Un macho recién emergido sin alimentar	MRESA
Grupo 3	
Una hembra recién emergida sin alimentar	HRESA
Dos machos con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia	MEA
Un macho recién emergido sin alimentar	MRESA

Cuadro 1. Continuación.

Grupo 4	
Una hembra recién emergida alimentada	HREA
Dos machos de ± 60 días de edad, con ayuno superior a 15 días	MVSA
Un macho viejo ± 60 días de edad, alimentado	MVA
Grupo 5	
Una hembra con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia	HEA
Un macho de ± 60 días de edad, con ayuno superior a 15 días	MVSA
Un macho con ayuno superior a los 25 días posterior a la emergencia	MEA
Un macho viejo ± 60 días de edad, alimentado	MVA

Se seleccionaron machos con ayuno superior a los 25 días (MVA) y machos con una edad promedio de ± 60 días de edad como un grupo de machos viejos, tomando en cuenta que los que fueron seleccionados como jóvenes fueron aquellos de 2 a 4 días de haber emergido como adultos (Machos recién emergidos sin alimentar).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron las cópulas de 10 hembras de un total de al menos 15 posibles (Cuadro 2). Un análisis general muestra que la mayoría de las cópulas (7/10) fueron efectivizadas con un macho con ayuno superior a los 25 días posteriores a la emergencia (MEA). De estas 7 cópulas la mayoría (5) fueron realizadas con una hembra recién emergida sin alimentar (HRESA). Una vez terminada la cópula en 7 de 10 ocasiones las hembras son las que se alejan de los machos, creando un espacio después de la cópula y en el que ella permanece estática, en las tres restantes son los machos los que se alejan.

Cuadro 2. Correspondencia de hembras con el macho de *Triatoma pallidipennis* que elige para copular.

Grupo 1			Grupo 2		
Hembras	Machos		Hembras	Machos	
	MRESA	MEA		MRESA	MEA
HRESA		X	HEA		X
HRESA		X	HEA		X
HRESA		X			
	Grupo 3		Grupo 4		
	MRESA	MEA		MVSA	MVA
HRESA		X	HREA	X	
HRESA		X	HREA		X
	Grupo 5				
	MVSA	MEA	MVA		
HEA	X				

Pires *et al.*, (2004) señalan que la ingesta de sangre interfiere en la selección del macho, aspecto que aquí no se hace evidente pues los machos “viejos” con ingesta de sangre o sin alimentar fueron mayoritariamente seleccionados por las hembras, lo cual parece evidenciar que lo que interfiere en la selección es la edad del macho. Sin embargo no se comprobó que las hembras “viejas no copularan”. Los grupos dos y cinco son los que muestran la cópula de estas. Es necesario añadir que dos ejemplares de hembras jóvenes recién emergidas y tres ejemplares de hembras viejas, alimentadas y sin alimentar rechazaron la cópula desplegando una serie de conductas evasivas ante el macho rechazado, como alejarse de él (evasión) y en los casos en que el macho lograba acercarse

y montarse en un intento de cópula, la hembra realizó movimientos corporales de lado a lado (movimientos abdominales) para desplazarlo incluso dando pequeños saltos que llevaron a que el macho desista del intento de cópula (Cuadro 2).

En el grupo cuatro ambos machos tuvieron éxito de cópula con su correspondiente hembra recién emergida, sugiriendo que para el momento de la cópula es indistinto el que los machos estén o no alimentados, de igual forma en este grupo se pudo observar que la hembra accedió a la cópula, no evidenciando comportamientos de rechazo.

En el grupo cinco sólo uno de los cuartetos logró la cópula, en las réplicas donde no hubo cópula, se registraron intentos de apareamiento, aunque las hembras desplegaron comportamientos de rechazo como evasión o con movimientos de lado a lado y pequeños saltos no permitiendo la transferencia del espermatozoido.

Las diez hembras que copularon al menos en una ocasión tuvieron cópula exitosa. Se ha registrado como una cópula exitosa aquella que supera los 5 minutos, debido a que la hembra lo permite, esto se corrobora con los huevos fértiles que ovipone posteriormente. García-Perez *et al.* (1997) señalan para *Triatoma gerstaeckeri* Stal un tiempo de cópula exitosa con $\bar{X} = 15 \pm 5$ min, en el presente trabajo el promedio de duración de una cópula exitosa se presenta con $\bar{X} = 11.5 \pm 1.3$ min. En el cuadro 3 se muestran los tiempos de inicio de cópula, y de final de cópula, así como la duración de la misma.

Cuadro 3. Hora de inicio de la cópula, hora del fin de la cópula y duración de cada una de las cópulas.

Hora de inicio de cópula	Hora de fin de cópula	Duración de cópula
10:39:23	10:50:54	00:11:31
09:12:47	09:26:19	00:14:12
09:02:26	09:15:53	00:13:27
10:00:45	10:07:52	00:07:07
10:10:47	10:19:50	00:09:03
10:06:52	10:19:23	00:13:11
08:40:53	08:52:43	00:11:50
10:00:02	10:13:52	00:13:50
09:10:39	09:21:29	00:11:10
10:02:46	10:11:51	00:09:05

A diferencia de lo observado en el etograma descrito por Rojas y Cruz-López (1992) quienes señalan una aproximación de los machos hacia la hembra similar en todos los apareamientos y para los cuales esta rechaza a los ejemplares más longevos, en este experimento se pudo comprobar, que existe aceptación por parte de las hembras, prefiriendo a los machos viejos y que es indistinta para aquellos alimentados y sin alimentar (prueba “*t*” de Student con valor de: 0.925 ($P < 0.05$)).

Manrique y Lazzari (1995), Vitta y Lorenzo (2009) y Pontes y Lorenzo (2012) reportaron la existencia de una conducta de agregación de machos en torno a la pareja en cópula en *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis* y *Rhodnius prolixus*, respectivamente, En estos trabajos se ha observado que los machos agregados copulan sucesivamente con la hembra, manifestándose un sistema de fecundación poliándrico en estas especies. Pires *et al.* (2004) refieren para *Panstrongylus megistus* la ausencia de agregación de machos y que aparentemente las parejas se aparean una vez. Los machos de *T. pallidipennis* parecen agregarse alrededor de la pareja en cópula, aunque pareciera ser que ocurre mayoritariamente una única cópula, al menos en las condiciones experimentales aquí utilizadas (Fig. 1). En pocos casos se pudo comprobar que las hembras una vez que copularon con los machos viejos posteriormente aceptaron un macho joven, no pudiéndose verificar la

existencia o no de competencia espermática en estos casos. Crespo y Manrique (2007) analizaron el papel de las glándulas metasternales y de Brindley's en el comportamiento sexual de *T. infestans*, determinando que las glándulas metasternales son las involucradas en la ocurrencia de la cópula, situación que no se evaluó en este experimento pues no se taparon las glándulas metasternales en ninguno de los casos.



Figura 1. Conducta de agregación de los machos rechazados en torno a la pareja en cópula

CONCLUSIÓN

Las hembras de *Triatoma pallidipennis* aceptan para la cópula con mayor frecuencia a los machos más viejos, evento de duración muy corta, la cual ocurre, de forma general, una sola vez. No se comprueba un sistema poliándrico para esta especie en condiciones de laboratorio. Las hembras de *T. pallidipennis* muestran comportamientos de rechazo a la cópula tras los intentos del macho.

Agradecimientos

A la Vicerrectoría de investigación y estudios de posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo recibido, para la estancia del Dr Gabriel Manrique de IBBEA, CONICET, Universidad de Buenos Aires.

Literatura Citada

- Hase, A. 1932. Beobachtungen an venezolanischen *Triatoma*-Arten, sowie zur allgemeinen Kenntnis der Familie der Triatomidae (Hemipt.-Heteropt.). *Z. Parasitenkunde*, 4: 585–652.
- Pompilio, L., González Franco, M., Chisari, L. B. and G. Manrique. 2016 Female choosiness and mating opportunities in the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*. *Behaviour*, 153(15): 1863–1878.
- Pires, H. H., Lorenzo, M. G., Lazzari, C. R., Diotaiuti, L. and G. Manrique G. 2004. The sexual behaviour of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): an experimental study. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 99(3): 295–300.
- Vitta, A. C., R. and M. G. Lorenzo. 2009. Copulation and mate guarding behavior in *Triatoma brasiliensis*. *Journal of Medical Entomology*. 46: 789–795.
- Lazzari, C. R. 1992. Circadian organization of locomotion activity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *Journal of Insect Physiology*, 38(1): 895–903.
- Regis, L., de M. Gomes, Y. and F. A. Furtado. 1985. Factors influencing male accessory gland activity and first mating in *Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae). *Insect Science and its Application*, 6: 579–583.
- Rojas, J. C and L. Cruz-López. 1992. Sexual behavior in two species of *Triatoma phyllosoma* complex (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Journal of Medical Entomology*, 29(1): 13–18.

- Rojas, J. C., Malo, E. A., Gutierrez-Martinez, A. and R. N. Ondarza. Mating behavior of *Triatoma mazzottii* Usinger (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 598–602.
- Manrique, G. and C. R. Lazzari. 1994. Sexual behaviour and stridulation during mating in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89(4): 629–633.
- Manrique, G. and C. R. Lazzari. 1995. Existence of a sex pheromone in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae): I. Behavioral evidence. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(5): 645–648.
- Crespo, J. G. and G. Manrique. 2007. Mating behavior of the hematophagous bug *Triatoma infestans*: role of Brindley's and metasternal glands. *Journal of Insect Physiology*, 53(7): 708–714.
- Malo, E. A., Ramírez-Rovelo, A., Cruz-López, L. and J. C. 1993. Life cycle and influence of age and feeding on the first mating of *Triatoma mazzottii* (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 203–206.
- García-Pérez J., Blanco-Piñon, A. y E. Blanco-Fernandez. 1997. Comportamiento sexual de *Triatoma gerstaeckeri* Stal Hemiptera: Reduviidae). *Acta zoológica Mexicana (n. s.)*, 70: 55–63.
- Pontes, G. B and M. G. Lorenzo. 2012. Female metasternal gland odorus mediate male aggregation in *Rhodnius prolixus*, a triatomid bug. *Medical and veterinary Entomology*, 26(1): 33–36.