

Informe de Pasantía
Licenciatura en Ciencias Biológicas
Opción Etología

Orientador: Dr. Gabriel Francescoli

Co-Orientador: Inv. Carlos A. Toscano-Gadea

COMPORTAMIENTO SEXUAL Y ESTRATEGIAS REPRODUCTORAS EN *Pachyloides thorellii* (OPILIONES, GONYLEPTIDAE)



Estefanía Stanley
Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

Contenido

1. Introducción	3
2. Objetivos	12
3. Materiales y métodos	13
4. Resultados	17
4.1. Descripción del comportamiento sexual de <i>P. thorellii</i>	17
4.2. Sistema de apareamiento (Etapas 2 y 3)	23
4.3. Enfrentamientos entre machos	24
4.1. Relaciones entre morfología y comportamiento.....	29
5. Discusión	30
5.1. Descripción del comportamiento sexual	30
5.2. Sistema de apareamiento	37
5.3. Enfrentamientos entre machos	39
5.4. Relaciones morfológicas entre sexos.....	41
6. Conclusiones.....	44
7. Agradecimientos	46
8. Bibliografía	47

1. Introducción

Tanto Darwin como Wallace sugirieron que la selección natural favorece a los organismos mejor adaptados. Es decir, organismos que presentan características que aumentan la eficacia en la fertilización y/o la supervivencia de sus descendientes (Darwin 1871; Ghiselin 2010). Pero Darwin se encontró con algunas características tan elaboradas y llamativas que parecían ir en contra de la selección natural, ya que exponían a los individuos que las poseían a gastos energéticos y riesgos de predación mayores a lo esperado por selección natural. Estas características eran encontradas principalmente en los machos, siendo las hembras, dentro de la misma especie, mucho menos llamativas. Por ello Darwin (1871) propuso que características como el cortejo, los colores intensos o brillantes, cantos, cuernos, astas, mandíbulas y espinas, eran utilizadas por los machos para luchar entre ellos y/o atraer y sujetar a las hembras durante el apareamiento; siendo seleccionadas por su importancia en la competencia por parejas y no para lograr una mayor supervivencia (Ghiselin 2010). A este nuevo conjunto de fuerzas evolutivas lo llamó selección sexual.

Sin embargo, la selección sexual no actúa únicamente sobre los machos sino que actúa sobre los individuos de ambos sexos favoreciendo los rasgos que le permiten a cada uno obtener el mayor éxito reproductivo (Hunt et al. 2008). La materia prima necesaria para alcanzar ese éxito es la reproducción sexual, la que implica la presencia de machos y hembras (Andersson 1994, Costa y Gudynas 1995).

Los dos sexos están definidos por las diferencias en la morfología y comportamiento de los gametos producidos por cada uno (anisogamia; Leonard 2010). Los machos se definen como individuos cuyos gametos, los espermatozoides, son ilimitados, pequeños y móviles. Mientras que una hembra es un individuo con un número limitado de gametos, grandes e inmóviles denominados óvulos (Carranza, 1994). En este contexto, si bien el fin de ambos sexos es alcanzar el mayor éxito reproductivo posible, las presiones para hacerlo no son las mismas para machos y para hembras (Andersson, 1994). Trivers (1972) sostiene que cuando un sexo invierte más que el otro, los

miembros de este último competirán entre ellos para aparearse con los miembros del primero. En este caso, además de requerir mayor cantidad de recursos para su producción, las hembras tienen un número limitado de gametos, por lo que alcanzarán su mayor éxito reproductivo seleccionando cuidadosamente a su pareja, apareándose entonces con los mejores machos que puedan conseguir (Elgar, 1998). Así, buscan que sus descendientes sean lo suficientemente fuertes como para sobrevivir hasta la madurez sexual y lo suficientemente atractivos y/o competitivos como para obtener apareamientos. Los machos, en cambio, al no estar tan limitados por la cantidad de gametos ni el esfuerzo que deben realizar para producirlos, maximizarán su éxito reproductivo al conseguir la mayor cantidad de apareamientos posibles (Bateman, 1948). Una mayor cantidad de apareamientos se traduce en mayor probabilidad de dejar descendencia, que a su vez implica una mayor probabilidad de que alguno de ellos llegue a reproducirse (Elgar 1998). En conclusión, la selección sexual favorecerá en las hembras rasgos que les permiten seleccionar buenos machos (fuertes y atractivos) y en los machos, rasgos que aumenten su tasa de apareamientos (capacidad competitiva y/o su atractivo) (Trivers 1972; Krebs y Davis 1993).

Existen diferencias en cómo se dan estas presiones selectivas según los diferentes sistemas de apareamiento que encontramos entre las especies. La monogamia es un sistema en el cual machos y hembras se aparean únicamente con un miembro del sexo opuesto, al menos durante una estación reproductiva. Por otro lado, un sistema polígamo supone el apareamiento de un individuo con varios del sexo opuesto. Y por último la promiscuidad refiere a sistemas en los que cada individuo puede aparearse con varios del sexo opuesto (Carranza 1994). Dentro de las arañas existen varios ejemplos de apareamiento con distintos grados de monogamia (Riechert y Singer 1995) y poligamia (Austad 1984; Eberhard 1985, 1996; Elgar 1998).

Enmarcados en un sistema de apareamiento se encuentran los mecanismos a través de los cuales la selección sexual actúa sobre una especie. Estos mecanismos son la selección intrasexual (dos miembros de un mismo sexo compiten por individuos del sexo opuesto) y la selección intersexual o epigámica (un miembro de un sexo evalúa y elige a un individuo del sexo opuesto). Tradicionalmente

refieren a machos disputando, ya sea directamente una hembra o un recurso requerido por ella (alimento o un territorio donde encontrarlo, un territorio donde dejar descendencia, cuidado de las crías, etc) o poseer una característica que dentro de un conjunto de machos sea lo suficientemente atractiva como para llamar la atención de la hembra y obtener una cópula (Carranza 1994). Sin embargo, en la actualidad se plantea que estos mecanismos no están restringidos a la etapa del cortejo y previa a la cópula como postulaba Darwin, sino que pueden extenderse durante y después de la cópula. Parker (1970; 1984), plantea que en especies donde la hembra se aparea con varios machos la competencia intrasexual también se podría dar en forma de competencia espermática, donde el espermatozoides de distintos machos competirán por la fertilización de los óvulos dentro del tracto reproductivo de la hembra. Posteriormente, Wilson (1980) lista mecanismos de selección sexual durante y después de la cópula. Asimismo, Thornhill (1983) y Eberhard (1985, 1996) introducen el concepto de elección críptica femenina como la continuación de la selección intersexual luego de la cópula. Según ellos la hembra podría evaluar al macho durante el cortejo y la cópula, posiblemente considerando factores como la estimulación genital y el cortejo copulatorio (roces, tamborileos o vibraciones luego de iniciada la cópula) y así favorecer la paternidad de un macho afectando los procesos de transferencia, almacenamiento y utilización de espermatozoides (Eberhard 1996; Elgar 2005). El hecho de encontrar especies poliándricas o promiscuas favorece la aparición tanto de competencia espermática como de elección críptica ya que las hembras tienen la posibilidad de copular con varios machos llevando la selección intra e intersexual a otro terreno.

El apareamiento representa costos y beneficios para ambos sexos. Teniendo en cuenta la forma en que cada sexo logra su mayor éxito reproductivo no parece extraño que los machos tengan múltiples apareamientos. Sin embargo, la razón por la que una hembra aceptaría aparearse con más de un macho no es tan evidente (Eberhard 1985, 1996; Andersson 1994; Arqvist y Nilsson 2000; Huber 2005). Con el aumento del número de apareamientos de una hembra aumenta el costo de la producción de gametos, el riesgo de depredación, el riesgo de transmisión de enfermedades y de daños, aumenta también la pérdida de tiempo y energía y disminuye el tiempo de forrajeo propio

(Parker 1984). Dentro de los posible beneficios que una hembra puede obtener se encuentra un aumento en la tasa reproductiva (mayor fertilidad debido a mayor estimulación o transferencia de recursos), asegurar la cantidad de espermatozoides necesario para fertilizar sus óvulos, evitar las consecuencias de posible esterilidad de un macho o incompatibilidad genética, mantener el espermatozoides viable y disminuir el costo de su reserva, obtener mayor diversidad genética para producir genotipos variados en su descendencia o disminuir el alto costo energético del rechazo a un macho persistente (Austad 1984; Alcock 1993; Gomendio 1996; Arnqvist y Nilsson 2000; Elgar 2005; Simmons 2005).

Dentro de los arácnidos, las arañas se consideran modelos muy valiosos para estudiar los mecanismos antes mencionados. En Uruguay existe una larga tradición en el estudio de estos procesos, utilizando casi exclusivamente a las arañas como modelo (Costa 1975, 1979, 1998; Aisenberg 2002; Costa y Pérez-Miles 2002; Costa y Toscano-Gadea 2003; Aisenberg y Costa 2005; González, 2005; Aisenberg et al. 2007; Estramil y Costa 2007).

También dentro de los arácnidos se encuentra el orden Opiliones, el tercer orden más numeroso dentro de los arácnidos luego de Acari y Araneae, con 6400 especies (Kury 2003). Sistemáticamente, el Orden Opiliones Sundevall, 1883 se encuentra dividido en cuatro Sub Ordenes: Cyphophthalmi, Dyspnoi, Eupnoi y Laniatores (Shultz 2007). El 90% de las especies conocidas hasta el momento se encuentran dentro de los Sub Ordenes Eupnoi y Laniatores (Giribet et al. 1999, 2002; Shultz y Regier 2001).

Los estudios sobre comportamiento sexual, competencia, estrategias de apareamiento y cuidado de la descendencia en este orden son escasos y la información disponible al respecto consiste mayoritariamente en observaciones anecdóticas (Machado y Macías Ordóñez 2007). Sin embargo, presentan una serie de características que los hacen sujetos muy útiles, no solo para observar y poner a prueba los diferentes mecanismos dentro de la selección sexual, sino también para realizar estudios ecológicos, biogeográficos y evolutivos (Machado et al. 2007).

Morfológicamente el cuerpo de un opilión se divide en dos partes: el prosoma, donde se ubican los apéndices, y el opistosoma, que contiene los espiráculos y las aberturas genitales (Figura 1). No

poseen pedicelo, ni la capacidad de producir seda. A diferencia del resto de los arácnidos, no presentan glándulas de veneno y poseen un par de ojos simples ubicados en la parte dorsal del cuerpo (Machado et al. 2007). A los costados del cuerpo, poseen un par de glándulas denominadas glándulas repugnatorias a través de las que segregan sustancias químicas cuya función más importante sería la defensa contra depredadores (Gnaspini y Hara, 2007). Otra característica del grupo es la función del segundo par de patas, el cual no interviene en la locomoción sino que es principalmente sensitivo y la mayor parte del tiempo se encuentra en movimiento en el aire (Machado et al. 2007; Willemart y Chelini 2007).

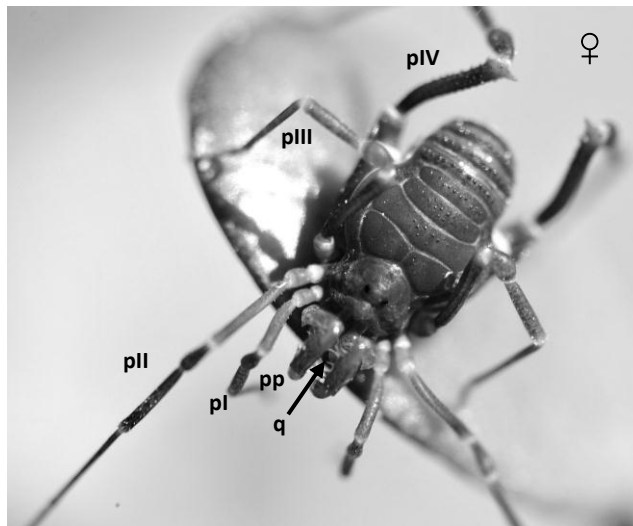


Figura 1. Apéndices de un opilión. (**q**) quelíceros (ambos ubicados bajo los pedipalpos); (**pp**) pedipalpo; (**pII**) pata dos. (**pI**) pata uno; (**pIII**) pata tres; (**pIV**) pata cuatro.

Los opiliones están presentes en todos los continentes excepto la Antártida. Sin embargo, factores como la temperatura y la humedad son muy importantes en su distribución ya que no son eficientes en evitar la pérdida de agua (Santos 2007). Por esto se los encuentra principalmente en ambientes frescos y oscuros y poseen hábitos nocturnos y crepusculares. Se mantienen refugiados durante el día bajo piedras, troncos, grietas en rocas, hojarasca, cavernas e incluso entre la vegetación. Durante la noche es cuando se encuentran más activos (Curtis y Machado 2007). Son omnívoros, si bien por lo general se alimentan de carroña, plantas y hongos, son capaces de atrapar

pequeños invertebrados (Acosta y Machado 2007). También pueden depredar sobre huevos y ninfas de otros opiliones.

A diferencia de otros grupos de arácnidos, muchas especies dentro del orden parecen ser muy tolerantes a la presencia de coespecíficos y son capaces de formar densas agregaciones durante el día. Dentro del suborden Eupnoi se han encontrado agregaciones de hasta 70.000 individuos y en el suborden Laniatores encontramos especies que forman agregaciones que van desde 3 a 200 individuos (Machado et al. 2007).

En cuanto a la biología reproductiva, a diferencia de lo que ocurre en otros arácnidos donde la transferencia de espermatozoides se da a través de pedipalpos o espermatóforos (Weygold 1988), en este grupo la transferencia espermática se realiza mayoritariamente en forma directa, con excepción del suborden Cyphophthalmi en el que los machos se reproducen a través de un espermatóforo, carácter ancestral del orden. Los machos del resto de los subórdenes poseen un órgano intromisor o pene. El pene presenta una estructura cilíndrica cubierta por músculos y con una alta diversidad y complejidad de ornamentaciones en el extremo. Ambos órganos reproductores, el del macho y el de la hembra, se ubican en el centro de la cara ventral del opistosoma. Los machos evierten el pene y lo introducen en el gonoporo de la hembra durante la cópula para luego llevar a cabo la transferencia espermática (Machado y Macías-Ordóñez 2007). Las hembras realizan la puesta de huevos utilizando un ovipositor, también con estructura cilíndrica pero sin tanta diversidad de ornamentos como el pene. Según el suborden encontramos diferentes tipos de ovipositores; dentro del suborden Eupnoi las hembras presentan ovipositores altamente sensitivos y largos, utilizados para seleccionar un lugar protegido y adecuado para depositar sus huevos (Edgar 1971). Mientras que en los subórdenes Dyspnoi y Laniatores las hembras presentan ovipositores cortos y con menor cantidad de órganos sensitivos, por lo que la oviposición se da en la superficie de troncos o rocas y los huevos son cubiertos por detritos para protegerlos (Machado y Macías-Ordóñez 2007).

En nuestro país el conocimiento sobre este Orden involucra principalmente trabajos sistemáticos y en menor medida, biológicos y biogeográficos (Capocasale y Bruno-Tressa 1954; Capocasale y

Gudynas 1993; Capocasale 2003; Toscano-Gadea y Simó 2004; Giuliani 2008). Capocasale (2003) cita para nuestro país dos subórdenes, Eupnoi y Laniatores, y cinco familias de opiliones, de las cuales Gonyleptidae es la más diversa, con 16 especies. Kury (2003) reduce el número de especies pertenecientes a la familia Gonyleptidae en nuestro país a 13. Recientemente Giuliani (2008) luego de revisar las colecciones de la Sección Entomología de la Facultad de Ciencias y el Museo Nacional de Historia Natural y Antropología, redujo lo señalado por Capocasale (2003) y Kury (2003), citando para el Uruguay 9 especies pertenecientes a esta familia.

Los integrantes del suborden Laniatores, y dentro de él los Gonyleptidae, son individuos robustos, que presentan pedipalpos largos y espinosos, así como conspicuos apéndices (generalmente en machos) en forma de gancho en patas IV (Pinto-da-Rocha y Giribet 2007). La familia Gonyleptidae (endémica de las Américas) es una de las de mayor diversidad a nivel específico con más de 820 especies conocidas (Kury 2003).

Dentro de la especies de Gonyleptidae presentes en Uruguay se encuentra *Pachyloides thorellii* Holmberg 1878 (Figura 2). Es una de las especies más comunes en nuestro país, posee una coloración castaña-rojiza uniforme en todo el cuerpo y su tamaño corporal no supera el centímetro. Su distribución abarca el sureste de nuestro país y parte de Argentina (Kury 2003). A diferencia de otros integrantes del grupo, presentan hábitos solitarios, no forman agregaciones y muestran marcada sinantropía (Ringuelet 1959; Toscano-Gadea comunicación personal). Presentan escaso dimorfismo sexual, tanto machos como hembras son de tamaño similar y poseen una espina en la coxa del cuarto par de patas. Se estima que el período reproductor ocurre entre febrero y junio y carecen de cuidado parental (Toscano-Gadea, comunicación personal). Las hembras realizan varias puestas, no mayores a 7 u 8 huevos, que son colocados en forma aislada y a diferencia de otros Gonyleptidae presentes en Uruguay, las hembras no adhieren detritos a su superficie. La puestas se realizan en zonas con abundante humedad (dentro de fisuras en troncos o bajo piedras) y son abandonadas luego de la oviposición (Stanley, 2011).



Figura 2. *Pachyloides thorellii*. Macho a la izquierda y hembra a la derecha.

Observaciones previas del comportamiento sexual de *P. thorellii* mostraron que existe una interacción entre macho y hembra antes, durante y luego de la cópula (Stanley et al. 2008). Si bien el cortejo copulatorio ha sido observado y descrito en otros Gonyleptidae (Machado y Macías-Ordoñez 2007), se observa un conspicuo cortejo pre-copulatorio por parte de machos de esta especie, por tanto sería interesante investigar qué características presenta la cópula en *P. thorellii* y la importancia del cortejo pre-copulatorio para esta especie. Por otro lado, se observó que tanto hembras como machos son capaces de copular en más de una oportunidad con un mismo individuo durante un mismo período reproductor (Toscano-Gadea y Stanley 2008). Sin embargo, ante la posibilidad de elegir, ¿serán capaces de reconocer al individuo con el que copularon? Y de ser así, ¿preferirán los individuos mantenerse con la misma pareja o copular con una distinta? Como se mencionó anteriormente Los opiliones son individuos que habitan ambientes muy estables, por lo que su dispersión es limitada (Acosta 2002; Curtis y Machado 2007); esto hace que la probabilidad de encontrarse con un mismo individuo en más de una oportunidad aumente. *P. thorellii* se encuentra con mucha frecuencia en cámaras sépticas, ambientes con características muy particulares y poco variables, donde las corrientes de aire son reducidas y la luminosidad es muy escasa (Toscano-Gadea comunicación personal). Además, se observó que los machos forcejean entre si utilizando las espinas ubicadas en coxas de las patas IV (Toscano-Gadea y Stanley 2008). En especies pertenecientes a la familia Gonyleptidae como *Pseudopucrolia sp.* los machos pelean por territorios preferidos luego por

las hembras para oviponer (Nazareth y Machado 2010) y en *Promitobates ornatus* los machos pelean por el acceso a las hembras (Machado y Macías-Ordoñez 2007). Por esto, este trabajo busca además de describir los comportamientos que se observan durante la pelea, testear si las peleas se dan directamente por el acceso a las hembras. La existencia de peleas entre machos puede llevar a la evolución de rasgos morfológicos que aumenten su competitividad (Andersson 1994; Shuster y Wade 2003). Si bien no se observa un dimorfismo sexual marcado en esta especie, se analizará si existen rasgos morfológicos que diferencien un sexo del otro y si esos rasgos se relacionan con características comportamentales en el contexto de la cópula y los enfrentamientos entre machos.

2. Objetivos

Con el fin de establecer una base en el estudio del comportamiento sexual en especies de opiliones sin cuidado parental se plantean los siguientes objetivos:

- Describir el comportamiento sexual de *Pachyloides thorellii* y realizar una descripción detallada del cortejo pre y post-copulatorio en la especie.
- Determinar cuál es la estrategia de apareamiento de *P. thorellii*, bajo la hipótesis de poligamia (hembras poliándricas y machos poligínicos).
- Describir los enfrentamientos entre machos de *P. thorellii* y determinar si estos compiten por el acceso a la hembra.
- Estudiar si existen diferencias entre características morfológicas de machos y hembras y si éstas se relacionan con los resultados comportamentales obtenidos.

3. Materiales y métodos

Los ejemplares de *P. thorellii* fueron colectados en Marindia (34°46'S; 55°49'W), Departamento de Canelones durante los meses de enero de 2008 y 2009. Posteriormente fueron trasladados al laboratorio donde fueron colocados en un recipiente de 20 cm de largo por 20 cm de ancho y 9,5 cm de altura, durante 15 días aproximadamente, alimentándolos *ad libitum* con trozos de manzana y larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera). El recipiente contenía arena como sustrato, troncos y piedras como refugios y algodón humedecido ubicado en dos recipientes circulares como bebederos y para mantener la humedad.

De los individuos capturados se tomaron al azar 16 machos y 16 hembras los cuales se trasladaron a cajas de Petri individuales de 9 cm de diámetro por 1,5 cm de alto, con arena como sustrato y algodón humedecido con agua. Las experiencias se realizaron durante los meses de marzo, abril y mayo de 2008 y 2009; con una temperatura promedio de $21 \pm 3,2^{\circ}\text{C}$ (media $\pm$ DE). Las observaciones se dividieron en cuatro etapas, de acuerdo a los objetivos planteados.

Etapas 1: Descripción del comportamiento sexual en P. thorellii

Se enfrentaron 16 parejas hasta obtener 6 cópulas por pareja. Entre 24 y 48 horas antes de las experiencias las hembras fueron colocadas en placas de Petri (de 14,5 cm de diámetro y 2,5 cm de alto, con arena como sustrato y un algodón humedecido) donde se mantuvieron aisladas hasta el momento de las experiencias. Inmediatamente antes de comenzar las observaciones el macho era colocado dentro de la placa. Para introducirlo, se lo tomó con una pinza por el cuarto par de patas y se lo depositó en el sector de la placa opuesto a la hembra. De obtenerse cópula en el primer encuentro, la pareja era mantenida durante el resto de las experiencias de esta etapa y en las tres etapas sucesivas. De lo contrario, se rearmaban las parejas con los individuos que aún no habían copulado. Una vez formadas las parejas, los encuentros se realizaron cada 48 horas si se obtenía una cópula o con un lapso de 24 horas si los integrantes de la pareja no copulaban. Esta etapa se llevó a cabo durante marzo de 2008 y 2009, a una temperatura promedio de $24 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$ (media $\pm$ DE).

Etapla 2: Sistema de apareamiento en *P. thorellii*

Una semana luego de finalizar la etapa previa a cada pareja formada durante la Etapa 1 se le sumó una hembra de otra pareja, conformando tríos (2 HH – 1 M). Se realizaron un total de tres experiencias por trío. En las mismas placas de Petri utilizadas en la Etapa 1, se colocaron las hembras de cada trío, 24 - 48 horas antes de la primera experiencia. Cada par de hembras fue colocada bajo un contenedor de vidrio para mantenerlas aisladas una de la otra y se mantuvieron de esa forma hasta el momento de las experiencias; el macho se colocó inmediatamente antes del inicio de las mismas. En este caso el macho se depositó a la misma distancia de ambas hembras y luego se procedió a quitar los contenedores de vidrio. Los sucesivos encuentros se realizaron cada 48 horas entre ellos. De no observarse cópula, el tiempo entre encuentros se reducía a 24 horas. Esta etapa se llevó a cabo durante abril de 2008 y 2009, a una temperatura promedio de $21 \pm 1,9^{\circ}\text{C}$ (media $\pm$ DE).

Etapla 3: Estrategias reproductivas en *P. thorellii*

Una semana luego de finalizar las experiencias de la Etapa 2 a cada una de las parejas formadas durante la Etapa 1 se le sumó un macho (denominado macho B) de otra pareja (2 MM - 1 H). Se realizaron tres encuentros por trío y, al igual que en la Etapa 1, cada hembra fue colocada en una placa de Petri, con las mismas medidas que las utilizadas en las etapas anteriores, 24 - 48 horas antes de la primera experiencia y se las mantuvo aisladas hasta el momento de los encuentros. Los machos se colocaron al mismo tiempo, en sectores opuestos de la placa e inmediatamente antes del inicio de las experiencias. Los sucesivos encuentros se realizaron cada 48 horas entre ellos. De no observarse cópula, el tiempo entre enfrentamientos se reducía a 24 horas. Esta etapa se llevó a cabo durante mayo de 2008 y 2009, a una temperatura promedio de $17,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (media $\pm$ DE).

Para las tres etapas las experiencias tuvieron una duración de 30 minutos o hasta la finalización de la cópula o los enfrentamientos entre machos. Todas las observaciones se realizaron bajo luz roja (ubicada a 50 cm de distancia), fueron filmadas utilizando una cámara filmadora SONY

DCR-SR40 y se tomaron notas de todas las interacciones. Posteriormente las filmaciones se analizaron con el programa JWatcher Versión 0.9 (Blumstein et al. 2000), para determinar el número de apariciones y la duración de cada unidad comportamental.

Se realizaron dos diagramas de flujo: uno para las cópulas y otro para los enfrentamientos entre machos. Para evitar réplicas o posibles alteraciones en el comportamiento de los individuos que pudiesen afectar el análisis de datos, se utilizaron únicamente los datos de la primera cópula de cada pareja y los datos del primer enfrentamiento entre machos observado durante la tercera etapa.

Los resultados fueron analizados con el programa PAST Versión 1.18 (Hammer et al. 2003) y con el programa STATISTICA Versión 8.0 (StatSoft. Inc. 2007). Se utilizó el test de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de los resultados y el test de Levene para verificar la homogeneidad de varianzas. Para muestras independientes, las variables que mostraron una distribución normal y homogeneidad de varianzas fueron analizadas con el test paramétrico de t de Student. Otras variables fueron analizadas con el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney. Para muestras dependientes, las variables que mostraron una distribución normal y homogeneidad de varianzas fueron analizadas con el test paramétrico t de Student para muestras pareadas. Otras variables fueron analizadas con el test no paramétrico de Wilcoxon también para muestras pareadas.

Etapla 4: Relación entre las características morfológicas de machos y hembras y el comportamiento reproductivo

Una vez finalizadas las experiencias los individuos fueron fijados y fotografiados bajo lupa para su posterior medición. Las fotografías se tomaron en la Sección Entomología de la Facultad de Ciencias y se utilizó una cámara Nikon Coolpix 5100 y una lupa estereoscópica marca Nikon de 10 aumentos. El análisis de las fotografías se utilizó el programa ImageTool Versión 3.0 (Wilcox et al. 1995) y se midió para ambos sexos: a) largo y ancho del escudo dorsal, y b) largo, ancho y apertura de la espina de la coxa de pata IV; y para los machos se midió además el largo de patas II (Figura 3).

Se utilizó como referencia del tamaño corporal del individuo el largo del escudo dorsal (Willemart et al. 2008). Se realizaron regresiones lineales para determinar si existen relaciones entre el tamaño del individuo y los diferentes rasgos corporales medidos. Se compararon las medidas entre sexos.

En cuanto a la relación de la morfología observada con los comportamientos registradas, para determinar si existe una relación entre el tamaño de los individuos y la duración de la cópula, se halló la relación entre el tamaño del cuerpo de los integrantes de la pareja (dividiendo largo del escudo dorsal del macho sobre largo del escudo dorsal de la hembra) y se realizó una regresión lineal comparándolo con la duración de la cópula de cada pareja. Debido a que las unidades de los valores a comparar eran distintas (centímetros vs minutos), todos los valores se pasaron a escala logarítmica en base 10. Se realizó el mismo procedimiento para los enfrentamientos entre machos evaluando todos los rasgos medidos frente al tiempo de pelea (nuevamente todos los valores en escala logarítmica en base 10).

El material estudiado fue depositado en la Colección Entomológica de la Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay.

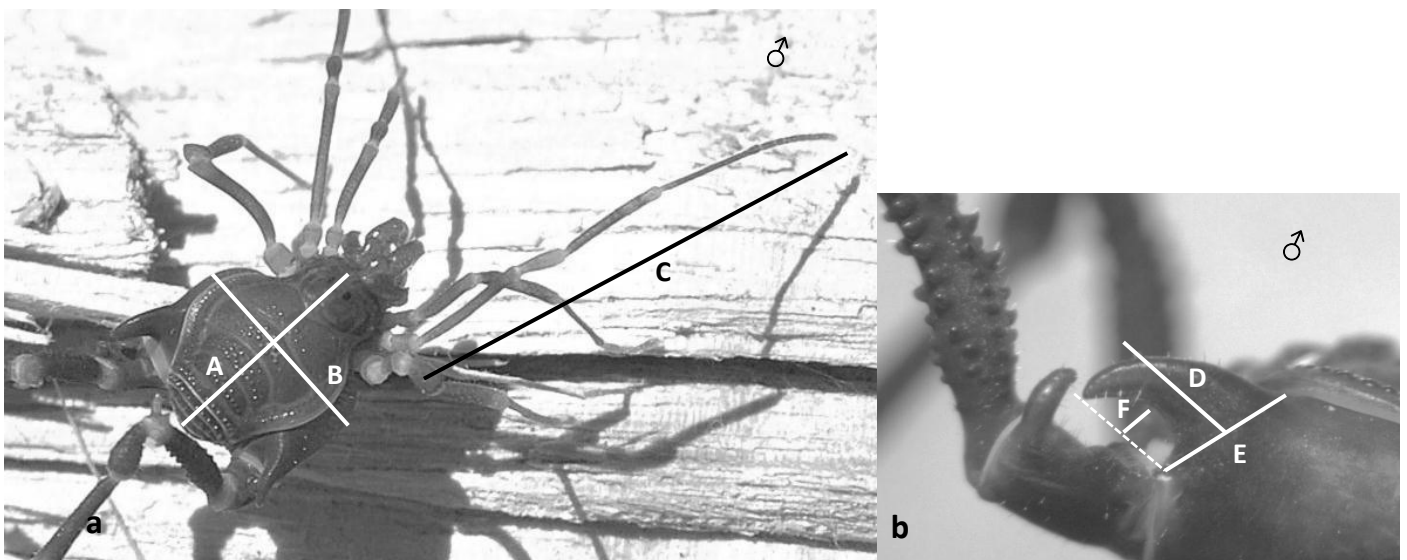


Figura 3. Medidas tomadas para individuos de *P. thorellii*. **a.** (A) Largo del escudo dorsal; (B) Ancho del escudo dorsal; (C) Largo de pata II. **b.** (D) Largo del a espina de la coxa de pata IV; (E) Ancho; (F) Apertura.

4. Resultados

4.1. Descripción del comportamiento sexual de *P. thorellii*

Se obtuvieron un total de 96 cópulas. Tres parejas fueron descartadas de esta primera etapa debido a que las hembras utilizadas eran vírgenes. Para la descripción del comportamiento sexual se utilizó la primera cópula de cada pareja ($n=13$). La primera cópula fue la de mayor duración en la primera etapa (promedio $10,21 \pm 2,64$ min; rango: 7,4 min - 15,9 min) y se observó una disminución en el tiempo de cópula a medida que aumentó el número de copulas por pareja (Figura 4).

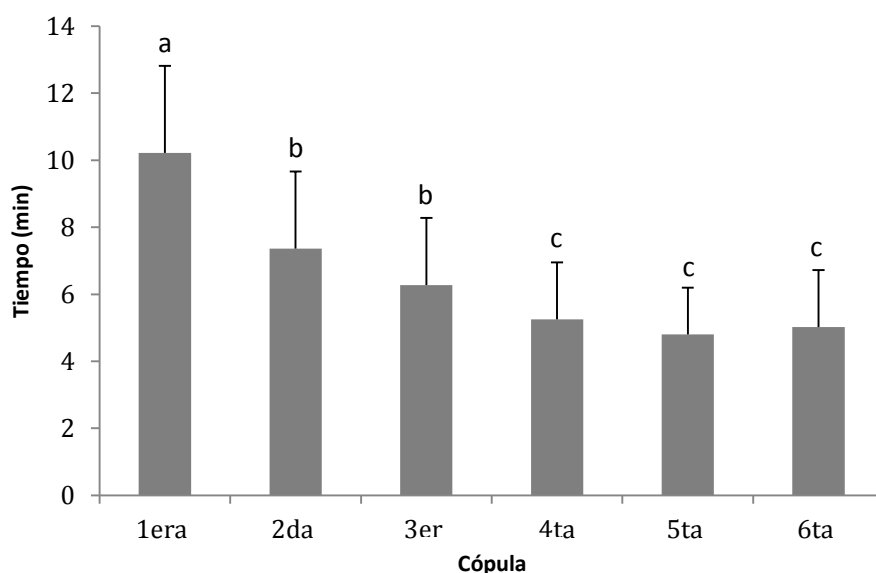


Figura 4. Duración (media $\pm$ DE) para cada cópula en la primera etapa. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tiempos de cópula (Tests pareados: Test de t o Wilcoxon).

Durante el comportamiento sexual de *P. thorellii* se observaron 14 unidades comportamentales las que se clasificaron en tres fases operativas Fase Inicial (FI), Fase Central (FC) y Fase Final (FF) , las unidades comportamentales se definen en la Tabla 1 y sus duraciones se muestran en la Figura 7.

En la Figura 6 se muestra el diagrama de flujo del comportamiento sexual en *P. thorellii*. La Fase Inicial (FI), comienza con la unidad *Toque con patas II*. En esta unidad tanto el macho como la

hembra se tocan mutuamente el dorso y costados del cuerpo y primeros tres pares de patas utilizando el tarso del segundo par de patas. Posteriormente, el macho sube al dorso de la hembra (*Salto*) y mientras los toques con patas II se aceleran, el macho golpea el dorso de la hembra con el primer par de patas y con sus pedipalpos. Al mismo tiempo el macho se va deslizando sobre el dorso de la hembra hasta colocarse frente a ella (*Macho sobre Hembra*). Durante esta unidad se observa que la hembra es capaz de rechazar al macho (Tabla 2). Los comportamientos de rechazo no se representan en el diagrama ya que ocurrieron en experiencias donde la cópula no se llevó a cabo. En ocasiones previo a la unidad *Salto* el macho, además de los toques con el segundo par de patas, toca a la hembra de forma más acelerada con el primer par de patas (*Toque con pata I y II*). La última unidad de esta fase es la *Sujeción*, en la que el macho colocado frente a la hembra la sujeta con sus pedipalpos y quelíceros.

La Fase Central (FC), se inicia con la unidad *Elevación*. Sin dejar de golpear a la hembra con patas I y II el macho se apoya en el cuarto par de patas para elevar a la hembra formando finalmente un ángulo de 90° entre sí (Figura 5). Inmediatamente después de la elevación ocurre la penetración. El macho evierte su pene y lo introduce en el gonoporo de la hembra, acelerando aún más los golpes con patas I y II. Simultáneamente el macho eleva rápida y alternadamente el tercer par de patas. Este movimiento se detiene una vez que el segundo par de patas de la hembra queda debajo del tercer par de patas del macho. Luego que ocurre la penetración, los golpes con las patas I y II disminuyen su intensidad. Sin detenerse el macho continúa golpeando en el dorso de la hembra con el primer par de patas, mientras el segundo lo mantiene en el aire alternando entre una y otra pata para tocar suavemente los costados del cuerpo de la hembra (*Cortejo copulatorio*). Esta unidad se extiende hasta que la pareja se separa. Luego de la sujeción y hasta el momento de la separación la hembra permanece prácticamente inmóvil, sólo se observan sobre el inicio y/o final de esta fase *Tirones* hacia atrás por parte de la hembra y en menor medida, lentos *Movimientos con patas II*. Hacia el final de la cópula la hembra flexiona las patas bajando el cuerpo (*Baja cuerpo*), el macho suelta tanto los pedipalpos como los quelíceros de la hembra y esta fase finaliza con la *Separación* de la pareja.

Por último, en la Fase Final (FF), tanto macho como hembra se mantienen juntos (a menos de 1 cm) inmediatamente luego de la separación tocándose ocasionalmente (patas o cuerpo) con el segundo par de patas (*Toque con patas II*). Al mismo tiempo, el macho se limpia las patas (*Limpieza de patas*), mientras que la hembra lleva en repetidas oportunidades, los pedipalpos hacia la parte ventral de su cuerpo y con las uñas toca el opérculo para luego llevárselos a la boca (*Limpieza de opérculo*). En varias ocasiones el macho se alejó durante la unidad *Limpieza de opérculo* y solo en una ocasión permaneció junto a ella hasta que la hembra realizó *Limpieza de patas*. Esta fase finaliza cuando uno de los integrantes de la pareja (o ambos) se aleja del otro. No se observó limpieza de pene por parte del macho.

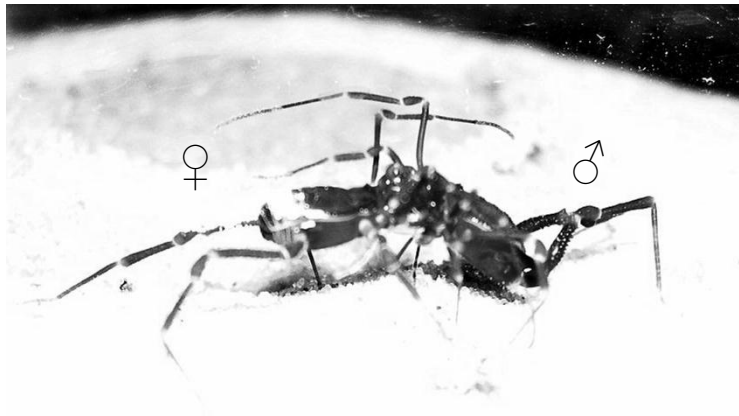


Figura 5. Cópula en *P.thorellii*. Macho y hembra en posición copulatoria desarrollando la unidad *Cortejo Copulatorio*.

Tabla 1. Descripción de las unidades comportamentales observadas durante la cópula de *P. thorellii*. Para cada una se indica la Fase en que ocurre.

Unidad Comportamental	Fase	Descripción
Toque con pata II	FI y FF	Toques mutuos con el tarso del segundo par de patas. Los individuos están quietos sobre el sustrato y tocan el dorso, costados y/o primeros tres pares de patas del otro individuo.
Toque con pata I y II	FI	El macho toca aceleradamente el dorso de la hembra con el tarso del primer par de patas, mientras al mismo tiempo, continúan los toques con el segundo par de patas.
Salto	FI	El macho extiende sus pedipalpos y se impulsa con el cuarto par de patas para aproximarse rápidamente sobre la hembra.
Macho sobre Hembra	FI	El macho sube sobre el dorso de la hembra y se va deslizando sobre él hasta colocarse frente a ella, mientras continua realizando la unidad "Toques con patas I y II" extiende sus pedipalpos y raspa el dorso de la hembra.
Sujeción	FI	Ubicado frente a la hembra el macho utiliza la uña de sus pedipalpos para sujetar la coxa del primer par de patas de la hembra y con sus quelíceros toma los quelíceros de la hembra. Simultáneamente realiza la unidad "Toques con patas I y II".
Elevación	FC	El macho se apoya en el cuarto par de patas para elevar la parte anterior de su cuerpo y con ello la parte anterior del cuerpo de la hembra formando un ángulo de aproximadamente 90° entre sí.
Cortejo Copulatorio	FC	El macho apoya los tarsos de ambas patas I en el dorso del cuerpo de la hembra e inmediatamente los desliza hacia los costados del cuerpo de la hembra. Al mismo tiempo mantiene el segundo par de patas en el aire alternando entre una y otra pata para tocar suavemente los costados del cuerpo y patas de la hembra.
Tirones	FC	La hembra se apoya en el cuarto y tercer par de patas tirando hacia atrás.
Movimiento de patas II	FC	La hembra mueve lentamente el segundo par de patas.
Baja cuerpo	FC	La hembra flexiona las patas bajando el cuerpo.
Separación	FC	El macho suelta tanto los pedipalpos como los quelíceros de la hembra y la pareja se separa.
Limpieza de opérculo	FF	La hembra lleva, en repetidas oportunidades, los pedipalpos hacia la parte ventral de su cuerpo y con las uñas toca el opérculo para luego llevárselas a la boca.
Limpieza de patas	FF	Tanto macho como hembra deslizan los extremos de sus patas (I, II y III) entre los quelíceros.
Alejamiento	FF	Uno de los integrantes de la pareja (o ambos) se aleja del otro.

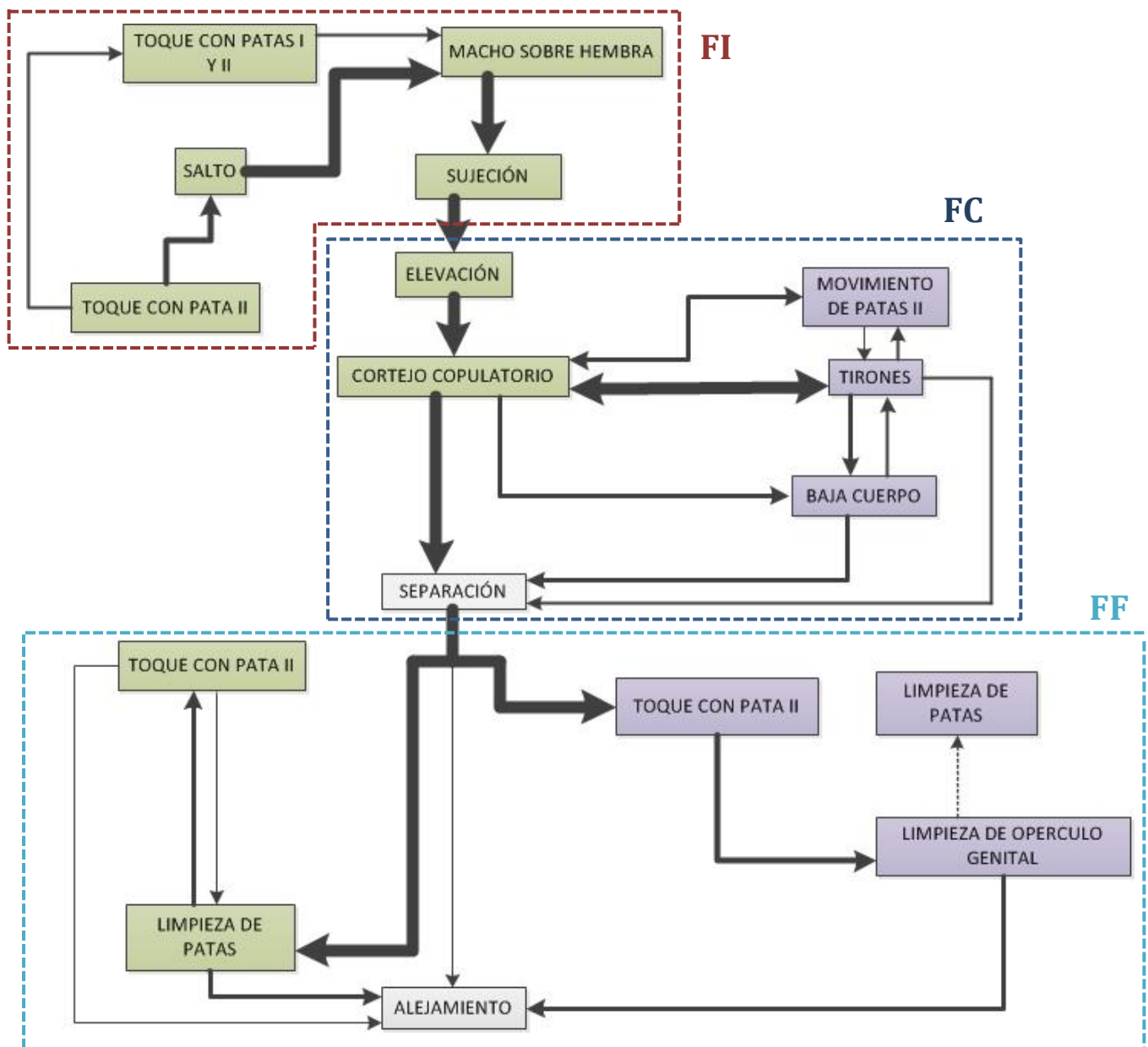


Figura 6. Diagrama de flujo del comportamiento sexual de *P. thorellii*. El grosor de las flechas representa el número de transiciones. En verde se encuentran las unidades comportamentales realizadas exclusivamente por el macho; en violeta se encuentran las unidades comportamentales realizadas exclusivamente por la hembra y en gris las unidades comportamentales que puede realizar uno, otro o ambos individuos. Líneas punteadas: roja corresponde a FI, azul corresponde a FC y celeste corresponde a FF.

La Fase Central (FC) presentó la mayor duración dentro de la cópula (Figura 7) con una media de 9,08 minutos frente a 0,32 y 0,8 minutos de la FI y FF respectivamente (FI-FC: $U=0$, $p<0,0001$; FC-FF: $U=0$, $p<0,0001$). La duración de FC coincide casi completamente con la duración de

la unidad *Cortejo Copulatorio*, la cual presentó la mayor duración entre las unidades observadas (Figura 8).

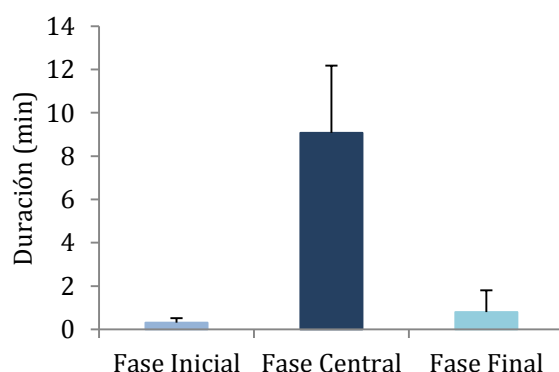


Figura 7. Duración (media $\pm$ DE) para cada fase del comportamiento sexual.

Tabla 2. Descripción de los comportamientos por los cuales las hembras rechazaron o detuvieron el comportamiento sexual del macho. Todos ellos se observaron en la Fase Inicial, principalmente durante la unidad de **Macho sobre Hembra**.

Unidad Comportamental	Descripción
Huida	La hembra se aleja rápidamente del macho.
Inclinación 45°	La hembra retrae patas I y pedipalpos mientras eleva el abdomen y apoya su cefalotórax en el sustrato, impidiendo que el macho la sujete.
Golpe con pata IV	La hembra se coloca de costado o con su cefalotórax en dirección opuesta al macho y extiende rápidamente una de sus patas IV golpeando al macho con ella.

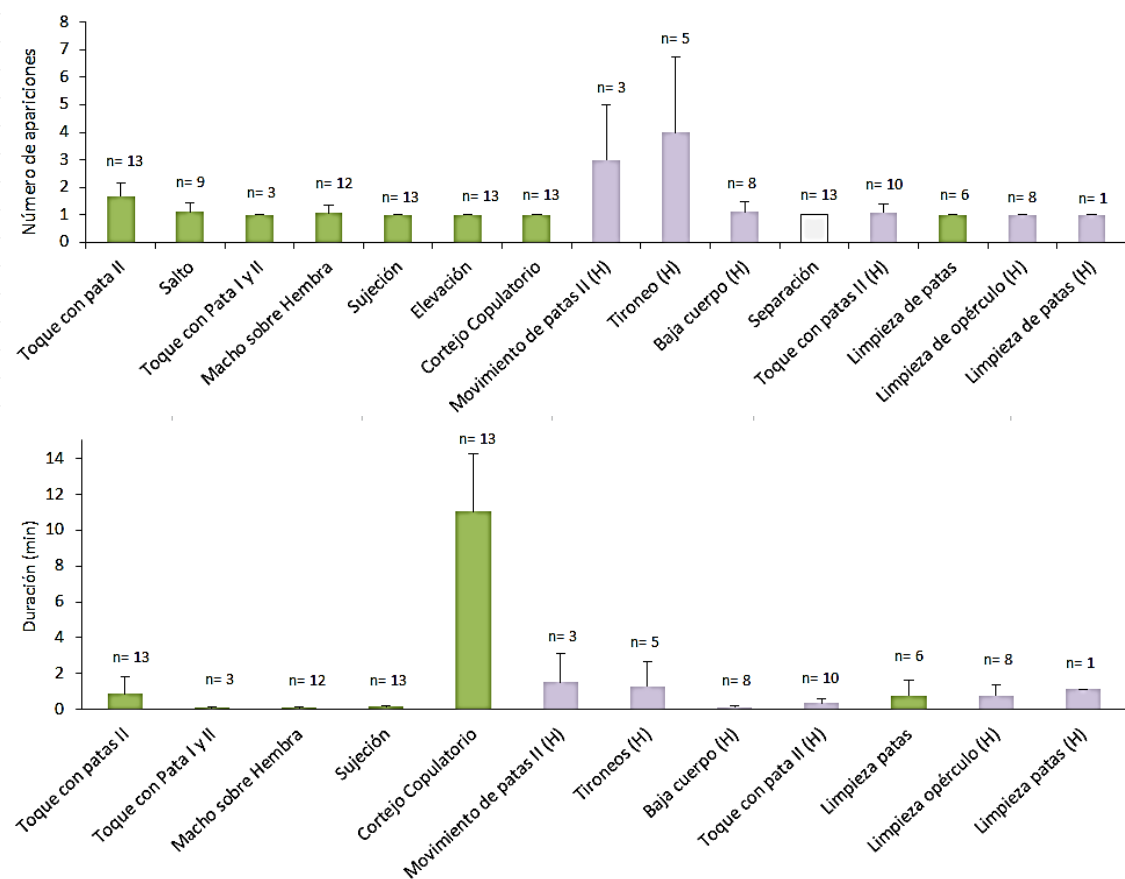


Figura 8. Número de apariciones y duración de cada unidad comportamental definida para la cópula. Las unidades *Salto*, *Elevación* y *Separación* no se consideran en el gráfico de duración por ser instantáneas.

4.2. Sistema de apareamiento (Etapas 2 y 3)

No se observó preferencia por parte de machos (Etapa 2) o hembras (Etapa 3) por copular con su pareja inicial o con el nuevo individuo que se adicionó. Tampoco se observaron diferencias en los tiempos de cópula entre las diferentes etapas, excepto en el tiempo de cópula entre el macho y la segunda hembra en la segunda etapa (Tabla 3). Al comparar los tiempos de cópula no se encontraron diferencias significativas, dentro de la misma etapa, entre los individuos que cambiaron de pareja frente a los que mantuvieron la pareja.

Tabla 3. Diferencia entre la duración (media $\pm$ DE) de las cópulas: entre la Etapa 1 y las dos etapas restantes para individuos que mantuvieron o cambiaron su pareja, y dentro de la misma etapa (Tests pareados: test de t o Wilcoxon).

Etapa		Cópulas		Tests	
		Media $\pm$ DE	N	Frente a Etapa 1	Dentro de Etapa
Etapa 1 (σvsσ)		10,21 $\pm$ 2,64	15		
Etapa 2 (σvs2σ)	Mantiene σ	9,76 $\pm$ 2,44	8	t=1,44 p=0,2	t=2,07 p=0,07
	Cambia σ	7,6 $\pm$ 1,31	7	W=21 p=0,027	
Etapa 3 (2σvsσ)	Mantiene σ	12,5 $\pm$ 3,63	7	t=0,4 p=0,7	t=2,12 p=0,06
	Cambia σ	8,46 $\pm$ 3,31	6	t=1,1 p=0,35	

4.3. Enfrentamientos entre machos

En los 16 enfrentamientos se observaron 14 peleas y se identificaron 14 unidades comportamentales (Tabla 4). Estas unidades se clasificaron en tres niveles de interacción según el grado de contacto observado entre los individuos. En la Figura 9 se pueden observar las unidades coloreadas de manera diferente a medida que avanzamos de nivel. En la Figuras 9 y 10 se observa que las unidades de Nivel 1 (por ejemplo: *Toque con patas II*, *Posición de Lucha* y *Posición Defensiva*) aparecen más frecuentemente y en un mayor número de enfrentamientos que las unidades del Nivel 2 (ej: *Ataque* y *Latigazos*), que a su vez son más frecuentes que unidades del Nivel 3 (como *Intento de Enganche* y *Enganche simple o doble*) (Figura 11). En ningún enfrentamiento se observó la pérdida de patas ni la presencia de hemolinfa, ni ningún otro tipo de lesión en los individuos.

No se logró determinar cuál fue el macho ganador de cada pelea, ya que todos los comportamientos descriptos se observaron en ambos machos y las interacciones observadas con la hembra se dieron por parte de cualquiera de los machos y en cualquier momento durante las experiencias. Durante esta etapa se observaron nueve cópulas en experiencias donde hubo peleas. En tres casos la cópula ocurrió antes de la pelea, en cinco casos entre peleas y en el caso restante luego de la pelea. No se encontraron diferencias en el número ni en la duración de las unidades comportamentales observadas para cada macho que copuló frente al que no copuló, excepto en la

duración de la *Posición de Lucha* ($t=-2,93$, $p=0,041$) que para los machos que copularon fue en media $2,58 \pm 1$ min y para los machos que no copularon fue $4,25 \pm 0,5$ min.

Tabla 4. Descripción de las unidades comportamentales observadas durante las peleas en *P. thorellii*. Para cada una se indica el Nivel en la que ocurre.

Unidad Comportamental	Nivel	Descripción
Toques con patas II	N1	El macho toca suavemente el cuerpo y/o patas del otro macho con el segundo par de patas.
Posición defensiva	N1	El macho gira su cuerpo hasta colocarse con el abdomen frente al otro macho, estirando y abriendo el último par de patas eleva el abdomen.
Posición de lucha	N1	El macho se coloca a un lado del otro y flexiona las articulaciones fémur-patela y tibia-metatarso de la pata IV más cercana al contrincante. De esta forma, la parte interna de las espinas de dicha pata queda expuesta.
Giro	N1	El macho gira en su lugar hasta colocar su cefalotórax en dirección opuesta al otro macho.
Quietud	N1	El macho permanece inmóvil.
Latigazo	N2	Golpes rápidos, alternados o conjuntos, con el tarso del segundo par de patas sobre el cuerpo y patas del otro macho.
Ataque	N2	El macho extiende los pedipalpos manteniendo sus uñas erectas y golpea al otro con ambos. Puede llegar a sujetar la pata IV del contrincante.
Golpe con pata IV	N2	El macho se coloca de costado o con su cefalotórax en dirección opuesta al otro macho y extiende rápidamente una de sus patas IV golpeando al macho con ella.
Toque con pata I	N2	Toques con los tarsos de patas I.
Intento de Enganche	N3	Ambos machos en posición de lucha, orientan el cuerpo en direcciones opuestas y se disponen lado a lado. Flexionando la pata IV más cercana al contrincante intentan enganchar su espina. Simultáneamente se observan latigazos, ambos utilizando la pata correspondiente al lado sobre el que están intentando el enganche.
Enganche simple	N3	Quiebran y enganchan una de sus espinas mientras estiran la pata IV opuesta por encima del cuerpo del otro macho hasta golpear o enganchar, de la misma forma, la otra pata. Durante esta unidad se observan latigazos entre ambos utilizando la pata correspondiente al lado sobre el que están intentando el enganche.

Enganche doble

N3 Ambos machos enganchan ambas espinas de las coxas de patas IV, de esta forma, los machos quedan uno sobre otro con la parte dorsal de su prosoma en contacto.

Arrastra

N3 Luego del enganche doble uno de los machos arrastra al otro por el sustrato hasta que se desenganchan.

Retirada

Un macho se aleja del otro.

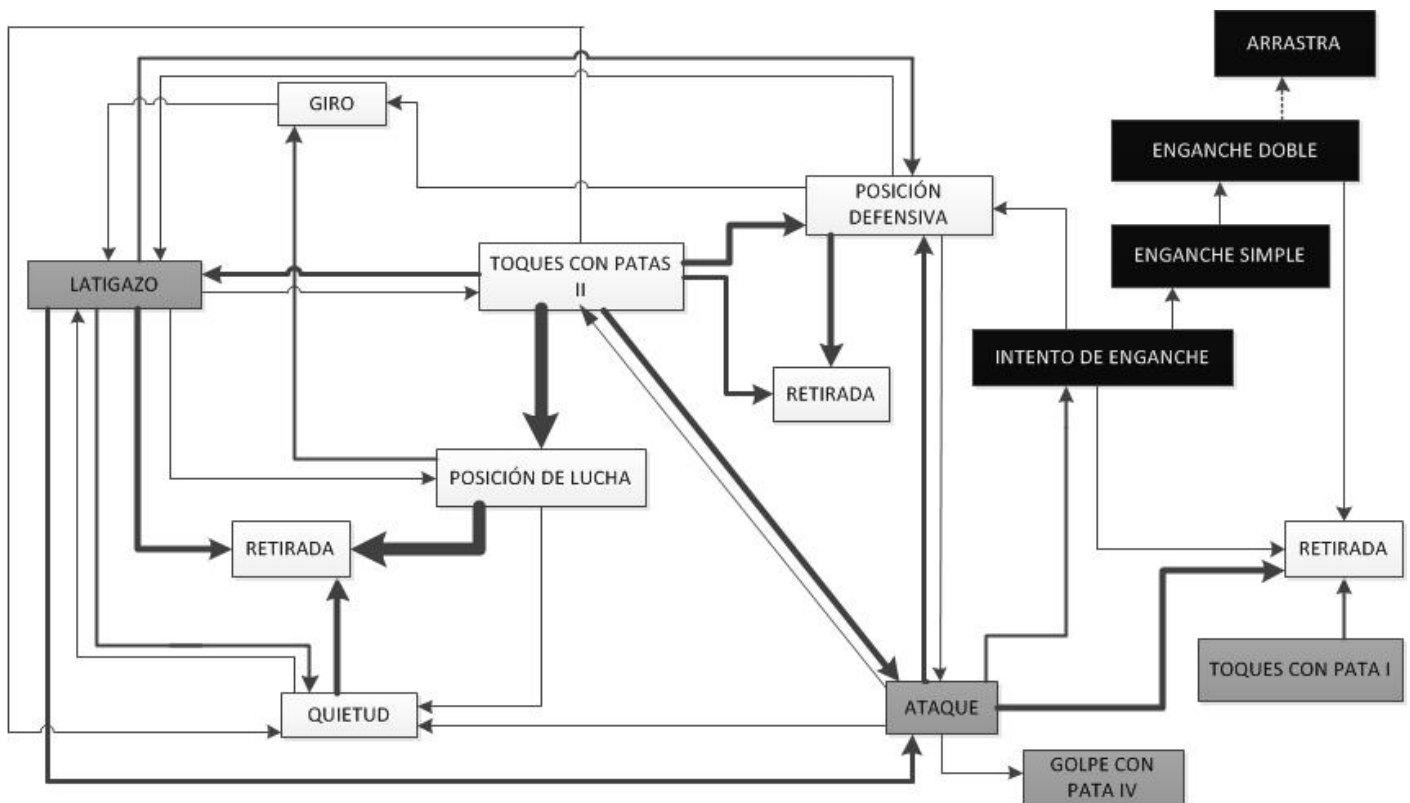


Figura 9. Diagrama de flujo del comportamiento agonístico entre machos de *P. thorellii*. No se consideraron la transiciones menores a $n=2$. Blanco corresponde a Nivel 1, Gris corresponde a Nivel 2 y Negro corresponde a Nivel 3.

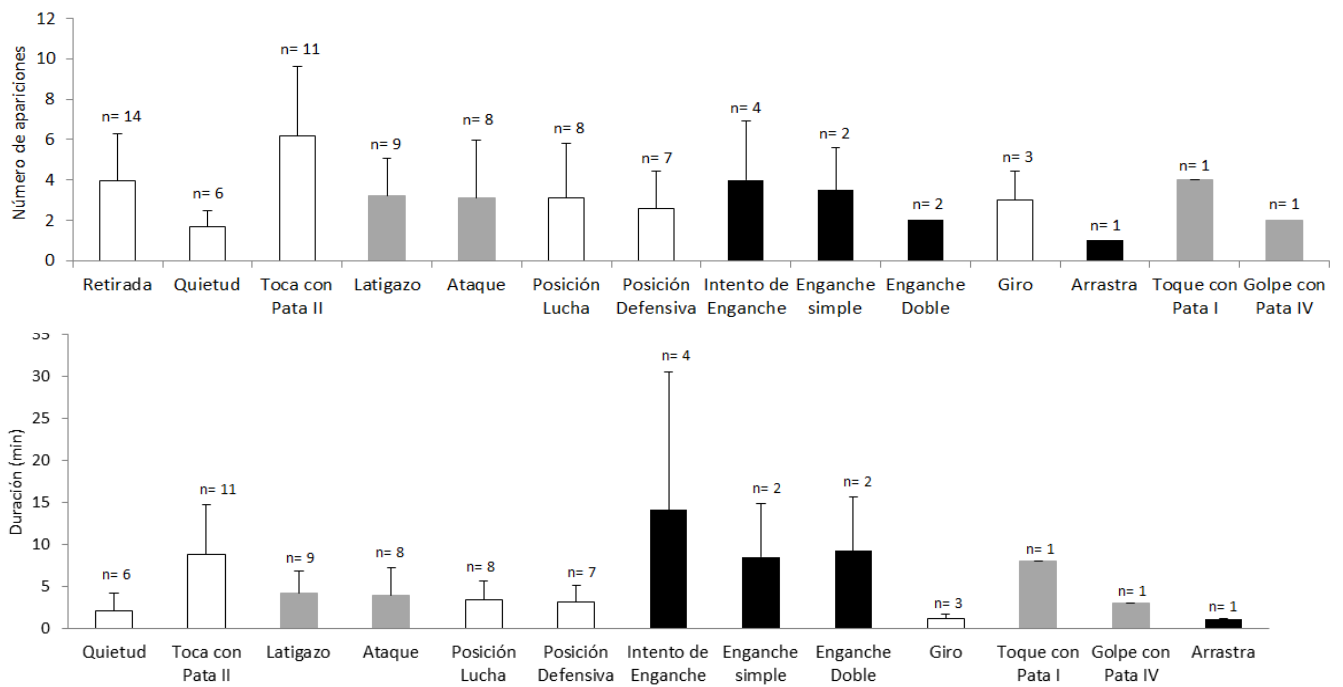


Figura 10. Número de apariciones y duración (expresada en minutos) de cada unidad comportamental definida para los enfrentamientos agonísticos. La unidad *Retirada* no se considera en el gráfico por su corta duración. Blanco corresponde a Nivel 1, Gris corresponde a Nivel 2 y Negro corresponde a Nivel 3.



Figura 11. Enfrentamiento entre machos de *P. thorellii*. Se observa unidad *Intento de Enganche*. Obsérvese la posición y flexión de las patas IV que enfrentan al oponente.

Tabla 5. Medias de las diferentes partes del cuerpo (medias y desvíos expresadas en centímetros), resultados de las comparaciones estadísticas entre sexos (Test de t o Mann-Whitney) y resultados de las regresiones lineales para cada sexo.

Medidas	Machos	Hembras	Comparación entre sexos	Machos	Hembras
	Media±DE(n)	Media±DE(n)		Regresión Lineal	Regresión Lineal
Largo escudo dorsal	0,69±0,036(18)	0,71±0,037(17)	t=1,79 p= 0,083	-	-
Ancho escudo dorsal	0,50±0,024(18)	0,46±0,035(17)	t= 3,848 p= 0,000633	R=0,63 F=10,55 b=0,41 p=0,005	R=0,68 F=12,75 b=0,65 p=0,0028
Largo espina coxa pata IV	0,19±0,023(18)	0,12±0,023(17)	U= 4 p<0,0001	R=0,52 F=5,96 b=0,20 p=0,0027	R=0,26 F=1,14 b=0,17 p=0,30
Ancho espina coxa pata IV	0,13±0,014(18)	0,078±0,0083(17)	U=0 p<0,0001	R=0,47 F=4,40 b=0,30 p=0,052	R=-0,32 F=1,66 b=-0,07 p=0,22
Apertura espina coxa pata IV	0,057±0,0084(18)	0,029±0,0083(17)	U=1 p<0,0001	R=0,36 F=2,46 b=0,084 p=0,14	R=0,41 F=2,98 b=0,091 p=0,10
Largo pata II	1,88±0,14(18)	-	-	R=0,28 F=1,31 b=1,07 p=0,27	-

4.1. Relaciones entre morfología y comportamiento

No se encontraron diferencias en el largo del escudo dorsal entre machos y hembras. Sin embargo, otras características como el ancho del escudo dorsal y el largo, ancho y apertura de la espina de la coxa de la pata IV fueron significativamente mayores para machos que para hembras (Figura 12 y Tabla 5).

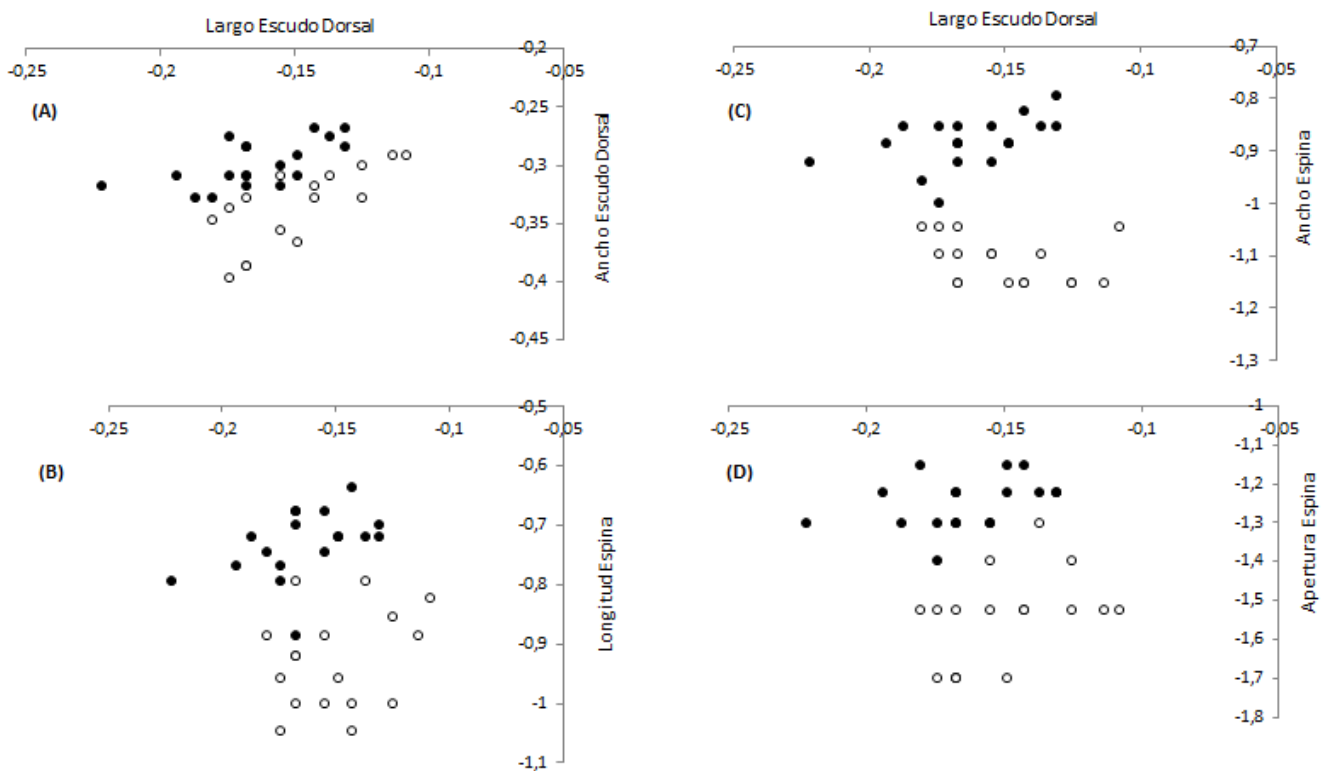


Figura 12. Relación entre el tamaño corporal ($\log_{10}$ largo del escudo dorsal) y las diferentes partes del cuerpo de *P. thorellii* (todas transformadas a $\log_{10}$): (A) Ancho del escudo dorsal; (B) Longitud de la espina de la coxa de pata IV; (C) Ancho de la espina de la coxa de pata IV; (D) Apertura de la espina de la coxa de pata IV. Los puntos negros representan los machos y los blancos a las hembras.

No se encontró relación entre las diferencias de tamaño (medido como largo del escudo dorsal del macho sobre largo del escudo dorsal de la hembra) de los integrantes de la pareja y el tiempo de cópula ($R=0,037$, $F=0,015$, $b=0,013$, $p=0,91$). Tampoco se encontró una relación entre las diferencias de tamaño entre machos (medido como largo del escudo dorsal del macho A sobre largo del escudo dorsal del macho B) y la duración de las peleas ($R=-0,043$, $F=0,022$, $b=-0,42$, $p=0,88$), ni

entre las diferentes características morfológicas de los machos y la duración de las peleas (Ancho del escudo dorsal: $R=-0,011$, $F=0,0014$, $b=-0,11$, $p=0,97$; Longitud espina: $R=0,34$, $F=1,5$, $b=1,4$, $p=0,24$; Ancho espina: $R=0,1$, $F=0,11$, $b=0,49$, $p=0,74$; Apertura espina: $R=-0,13$, $F=0,20$, $b=-0,51$, $p=0,66$; Largo pata II: $R=-0,11$, $F=0,16$, $b=-0,68$, $p=0,70$).

5. Discusión

5.1. Descripción del comportamiento sexual

Este es el primer trabajo en el que se describe detalladamente el comportamiento sexual en una especie perteneciente al suborden Laniatores sin cuidado parental. Hasta la fecha, el comportamiento sexual en dicho suborden involucra a especies que presentan algún tipo de cuidado parental (Machado y Raimundo 2001; Machado y Macías-Ordóñez 2007) y la mayoría de esas descripciones carecen de información detallada (Nazareth y Machado, 2009).

El comportamiento sexual de *Pachyloides thorellii* se inicia con el cortejo pre-copulatorio. Éste se da en de la Fase Inicial, principalmente durante la unidad *Macho sobre Hembra*, donde se observaron la mayor parte de los comportamientos de rechazo por parte de la hembra. Al igual que lo observado para otros Gonyleptidae el cortejo pre-copulatorio en *P.thorellii* no es muy extenso (Machado y Macías-Ordoñez 2007; Nazareth y Machado 2009; 2010). La corta duración del cortejo pre-copulatorio podría sugerir la existencia de coerción del macho hacia la hembra para que ésta acepte la cópula (Machado y Macías-Ordoñez 2007). De ser así, podría haber una relación entre la diferencia de tamaño entre los miembros de la pareja y el tiempo de cópula (machos de mayor tamaño que las hembras tendrían mayor fuerza para elevar a la hembra y retenerla hasta que acepte la cópula) y se observaría una gran variación en la duración de la FI en función de la diferencia de tamaño entre individuos. Por lo tanto, machos más grandes que las hembras podrían usar su fuerza para acceder a la cópula sin necesidad de cortejar previamente, mientras que machos más pequeños deberían utilizar

otros recursos (como cortejo pre-copulatorio) para acceder a la cópula. Sin embargo, los resultados obtenidos no muestran diferencias entre las relaciones de tamaño de los integrantes de la pareja y el tiempo de cortejo pre-copulatorio. Tampoco se han observado cópulas en *P. thorellii* sin cortejo pre-copulatorio y la variación de la FI es muy reducida. Sería interesante determinar si la capacidad de la hembra para rechazar efectivamente a un macho durante el cortejo pre-copulatorio afecta la duración o la intensidad del cortejo pre-copulatorio, copulatorio y post-copulatorio del macho en intentos de cópula posteriores.

Los sitios de sujeción en la hembra (coxa del primer par de patas y quelíceros), las estructuras que utiliza el macho para hacerlo (pedipalpos y quelíceros) y la posición copulatoria observada en *P. thorellii* (frente a frente y formando un ángulo de 90°) son comunes entre individuos del suborden Laniatores (ver tabla 12.1 en Machado y Macías-Ordóñez 2007). Sin embargo, hubo un comportamiento realizado por el macho simultáneo a la *Elevación* y el comienzo del *Cortejo Copulatorio* que no ha sido reportado para ninguna especie. El macho deja su tercer par de patas sobre el segundo par de patas de la hembra durante toda la cópula y se observó que la hembra mueve precisamente el segundo par de patas momentos antes de separarse la pareja. Éste, junto con otros comportamientos que se discutirán posteriormente, podría ser una forma que tiene la hembra de indicarle al macho que la cópula debe terminar (Eberhard 1998; Peretti y Eberhard 2009).

La duración del comportamiento sexual registrada para *P. thorellii* es la más larga encontrada actualmente para el suborden, alcanzando casi el doble (10,21 minutos) de lo reportado hasta el momento para Laniatores (duraciones menores a 5 minutos) (Matthiesen 1983; Elpino-Campos et al. 2001; Machado y Macías-Ordóñez 2007; Nazareth y Machado 2009, 2010). De la duración total del comportamiento sexual, más del 80% del tiempo es destinado al cortejo copulatorio (durante el cual el macho transfiere el esperma). La presencia de un cortejo copulatorio es común dentro del orden y los comportamientos observados resultaron similares a lo observado para otros miembros del suborden (Macías-Ordóñez et al.

2010). En Laniatores el cortejo copulatorio incluye golpes con los primeros pares de patas y frotamientos en el dorso de la hembra (Machado y Macías-Ordóñez 2007; Nazareth y Machado 2009). Además, el hecho de ser tan prolongado podría indicar la acción de la elección críptica femenina; el macho podría estimular a la hembra por más tiempo, lo que le permitiría pasar mayor cantidad de esperma y así obtener una mayor proporción en la descendencia (Eberhard 1998). Se sabe además que en Laniatores el esperma carece de flagelo, por lo que es inmóvil (Morrow 2004), esto indicaría que la hembra tiene el control del esperma una vez finalizada la cópula (Machado y Macías-Ordóñez 2007; Macías-Ordóñez et al. 2010). Otro elemento a considerar es que las hembras de *P. thorellii* son poliandricas ya que pueden copular en más de una oportunidad con el mismo macho o con uno diferente, por lo que tendría acceso a diversidad de esperma para elegir. Esta última posibilidad puede implicar además la acción de la competencia espermática en esta especie. Parte del tiempo de cópula podría ser utilizado por el macho para remover el esperma de machos anteriores y luego pasar el propio (Thomas y Zeh 1984; Eberhard 1996; Birkhead y Moller 1998) o transferir sustancias accesorias al esperma, reducir la receptividad de la hembra o simplemente evitar que otro macho la copule (Parker 1970; Simmons 2001). Entre los machos del suborden Laniatores existe una gran diversidad de espinas, pelos sensitivos y otras proyecciones muy desarrolladas en el extremo del pene. (Pinto-da-Rocha y Giribet 2007; Macías-Ordóñez et al. 2010). Este hecho apoya la existencia tanto de competencia espermática como de elección críptica femenina. Los machos pueden utilizar las ornamentaciones del pene para remover esperma y para estimular a la hembra (Eberhard 1998).

P. thorellii realiza una única intromisión. Hasta el momento se conoce qué miembros del suborden Eupnoi realizan múltiples intromisiones (Macías-Ordóñez et al. 2010), al igual que *Acutisoma proximum* (Gonyleptidae) en Laniatores (Machado y Macías-Ordóñez 2007). Sin embargo, el resto de los registros que se poseen para el suborden son muy escasos o requieren confirmación. Linn et al. (2007) encontraron que los machos de la araña *Nephila*

clavipes liberan su espermatozoides dentro de la hembra con una única intromisión. En situaciones en las que existe un riesgo de interrupción de cópula por otro macho, la presencia de una única intromisión y la rápida transferencia espermática podrían darle ventaja al macho que está copulando (Linn et al. 2007). Por un lado, la sujeción de la pareja se tornaría más resistente al anclar el pene en el interior del ovipositor donde se encuentran los receptáculos seminales en Laniatores (Macías-Ordóñez et al. 2010). Por otro lado, aseguraría el pasaje de espermatozoides antes de una potencial interrupción (Austad 1982). Durante la tercera etapa (MM-H) de las experiencias se observaron intentos de separación de la pareja por parte de los machos que no estaban copulando. Los machos en ocasiones atacaban dirigiéndose con pedipalpos extendidos al sitio de sujeción de la pareja, golpeaban con el segundo par de patas tanto al macho como a la hembra y golpeaban con el primer par de patas el dorso de la hembra. En ningún caso el segundo macho logró separar a la pareja, sugiriendo la estabilidad de la sujeción.

Estudios futuros podrían comparar el tiempo de cópula entre hembras vírgenes y copuladas para determinar eventuales diferencias en la duración del comportamiento sexual, de acuerdo con lo esperado en un escenario de elección críptica femenina. Asimismo, sería muy interesante manipular al macho evitando que pueda desarrollar cortejo copulatorio y ver qué efecto tiene esta modificación sobre las tasas de recópula y las puestas de la hembra. Por último, examinar fotografías de Microscopía Electrónica de Barrido del pene de *P. thorellii* permitiría determinar si existen estructuras en su extremo que permitan un anclaje dentro del aparato genital femenino.

En otra especie perteneciente a la familia Gonyleptidae, *Chavesincola inexplicabilis* las hembras no receptivas evitan que el macho las sujete acercando su cuerpo al sustrato, de forma similar a la inclinación 45° observada en este trabajo en *P. thorellii* y en otros opiliones por Machado y Macías-Ordóñez (2007). Machos del suborden Eupnoi, presentan un cortejo pre-copulatorio muy corto y se basan, más que nada, en sujetar fuertemente a la hembra

durante la cópula. Las hembras son capaces de rechazar a los machos apoyando su opérculo genital en el suelo y bloqueando su entrada (Edgard 1971; Macías-Ordoñez 1997; Macías-Ordoñez et al. 2010). Con esta estrategia de rechazo ellas podrían, además, determinar la finalización de la cópula y liberarse de la sujeción del macho (Nazareth y Machado, 2009). Los tirones realizados por la hembra de *P. thorellii*, podrían interpretarse como intentos para liberarse de la sujeción del macho. Sin embargo, en la totalidad de los casos el macho fue capaz de mantener la sujeción y continuar la cópula. También se observó este comportamiento al comienzo de la Fase Central por lo que, bajo la hipótesis de elección críptica femenina, tal vez sea una forma que tiene la hembra de evaluar la fortaleza y seguridad en la sujeción del macho. Sería necesario analizar si existe dimorfismo sexual entre las estructuras de sujeción que el macho utiliza (quelíceros y pedipalpos) durante la cópula para esclarecer este punto. De todas formas no debería descartarse que este comportamiento, al igual que los movimientos con el segundo par de patas mencionados anteriormente, pudiera ser el encargado de avisarle al macho de *P. thorellii* que la cópula debe terminar. En 8 de las 13 cópulas observadas, inmediatamente antes de que ocurriese la separación de la pareja, la hembra bajó el cuerpo. Teniendo en cuenta que la posición copulatoria es frente a frente y con un ángulo de 90° entre sí para permitir la penetración, esto obligaría al macho a retraer el pene y finalizar la cópula.

Una vez finalizada la cópula, macho y hembra se mantienen juntos y se tocan mutuamente con el primer y segundo par de patas, lo cual sugiere que la hembra puede continuar con la evaluación del macho luego de la cópula y/o la existencia de cortejo post-copulatorio por parte del macho en *P. thorellii*. En otros Laniatores (*Chavesincola inexplicabilis*, *Zygopachylus albomarginis*, *Acutisoma proximum*, *Pseudopucrolia* sp.) principalmente en los que presentan cuidado paternal, el cortejo post copulatorio es común, ya que la hembra ovipone inmediatamente luego de la cópula, de esta forma el macho se asegura la paternidad sobre la puesta. La hembra permanece en el territorio del macho, mientras este realiza una

serie de toques repetidos con patas I y II sobre ella antes y durante la oviposición (Mora 1990; Machado y Macías-Ordóñez 2007; Nazareth y Machado 2009; 2010). Sin embargo, en *P.thorellii* el macho aparentemente no defendería un territorio, no hay cuidado parental luego de la oviposición y las hembras no oviponen inmediatamente luego de la cópula (observación personal). En este contexto podría ocurrir que el cortejo post-copulatorio observado en este trabajo sea sólo una parte del total y que el macho permanezca junto a la hembra hasta el momento de la oviposición. Durante dicho período el macho copularía con la hembra en más de una oportunidad y se enfrentaría con otros machos para evitar que estos copulen con la hembra. Elgar et al (2003) sostienen que el aumento en la fertilización a través de cópulas repetidas solo sería una opción en especies donde los machos pueden mantener contacto con sus parejas. Como se mostró, *P. thorellii* tiene la capacidad de copular en repetidas oportunidades con el mismo macho; al mismo tiempo, las hembras aisladas luego de una única cópula, presentan un período de gestación de un mes aproximadamente (observación personal). Además, estudios a campo sólo encuentran machos en trampas, por lo que éstos serían el sexo móvil (Toscano-Gadea y Simó 2004). En la metodología empleada en el presente trabajo se aisló a los individuos luego de cada cópula, impidiendo cualquier comportamiento posterior a la duración de las experiencias. Por lo tanto, de existir una interacción entre macho y hembra hasta el momento de la oviposición, ésta no habría sido cuantificada.

Estudios futuros deberían comprobar si el macho permanece junto a la hembra hasta el momento de la oviposición y de ser así, investigar si el tiempo que las hembras tardan en oviponer se ve afectado por la permanencia del macho cerca de la hembra luego de finalizada la cópula.

Otro elemento a tener en cuenta dentro del cortejo post-copulatorio es el comportamiento observado en la hembra de *Limpieza de opérculo*. Inmediatamente después de finalizada la cópula, la hembra lleva varias veces los pedipalpos al opérculo genital y luego a la boca. Al tratarse de hembras de pasado reproductivo desconocido y teniendo en cuenta que

puede existir competencia espermática en esta especie, podríamos suponer que se trata de expulsión de esperma de cópulas anteriores, como ocurre en la araña *Physocyclus globosus* (Peretti y Eberhard 2009); o que simplemente los receptáculos seminales femeninos estén llenos y que la hembra se esté limpiando los excedentes de esperma. Ahora, ¿qué sucedería si estos excedentes fueran parte de la elección críptica femenina y la hembra se estuviera alimentando de ellos? . En la mosca carroñera *Prochyliza xanthosoma* las hembras prefieren a los machos que transfieren grandes cantidades de esperma, ya que, luego de la cópula ellas expulsan parte del eyaculado y lo comen (Bonduriansky y Rowe 2003; Bonduriansky et al. 2005). No se debe descartar la posibilidad de que no se trate de excedente de esperma sino de sustancias nutritivas asociadas transferidas por el macho inmediatamente antes de terminar la cópula. Este comportamiento de *Limpieza de opérculo* se ha observado también en cópulas con hembras vírgenes (obs. pers.), por lo que la expulsión de esperma de machos previos y el llenado de los receptáculos seminales podrían no ser las causas por las que las hembras realizan este comportamiento.

Sin embargo, el llenado de los receptáculos seminales podría ser una explicación para otros resultados obtenidos en este trabajo. Durante la primera etapa de las experiencias (M-H) se encontró que el tiempo de cópula disminuye a medida que aumenta el número de cópulas con la misma pareja. Esto podría indicar que los receptáculos seminales de la hembra estén llenos, estimándose que con tres cópulas es suficiente para completarlos (Machado comunicación personal), aumentando la probabilidad de que el esperma de ese macho sea el utilizado para fecundar los óvulos. La estabilidad observada en la duración de la cópula de las últimas experiencias de dicha etapa podría ser reflejo del beneficio que brindaría la cópula para ambos sexos. Beneficio para el macho, si con ello estimula a la hembra a posturas mayores y/o más rápidas y reduce la competencia espermática, y beneficio para la hembra ya que le permitiría mantener un stock de esperma siempre fresco y funcional (Eberhard 1996) y

obtener alimento, si las cópulas involucran el pasaje de sustancias nutritivas asociadas (Arqvist y Nilsson 2000; Elgar et al. 2003; Bonduriansky et al. 2005).

5.2. Sistema de apareamiento

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la estrategia reproductiva de *Pachyloides thorellii* es la promiscuidad. Efectivamente, tanto machos como hembras son capaces de copular con más de un individuo del sexo opuesto, lo que constituye una estrategia difundida dentro del orden (Macías-Ordóñez et al. 2010). Sin embargo, no se observaron diferencias en cuanto a las preferencias por copular con un individuo con el que ya han copulado anteriormente o con un individuo nuevo. Esto podría indicar que los individuos no tienen la capacidad de distinguir entre parejas, al menos luego de una semana de su última cópula. Zeh et al. (1998) encontraron que las hembras del pseudoescorpión *Cordylochernes scorpioides* luego de 1,5 hs de haber copulado aceptan otros machos pero rechazan a los machos con los que copularon inicialmente, mientras que 48hs luego de la cópula no son capaces de diferenciar entre machos con los que ya copularon y otros machos.

Las hembras de *P. thorellii* aceptan copular con el mismo macho 24 hs después de la cópula, sin embargo, el tiempo de cópula disminuye significativamente. Esto podría deberse a que, como se mencionó anteriormente, los receptáculos seminales de la hembra reciben cada vez menos esperma y eso reduce el tiempo de cópula. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias entre la duración de la primera cópula de la pareja y la cópula con el mismo u otro individuo en ninguna de las etapas siguientes. Por lo tanto debe haber otros factores afectando el tiempo de cópula.

Lo que puede estar ocurriendo es que con cada cópula las hembras o machos depositen sobre el otro individuo pistas químicas temporales que les permitan reconocer individuos con los que ya copularon y así variar el tiempo de cópula en función de ello,

reafirmando la marca con cada cópula (Zeh et al. 1998). Al aislarlos por tiempos mayores a 24 horas la señal química desaparecería y los individuos perderían la capacidad de reconocerse. Esta indiferencia se reflejaría también en la ausencia de preferencia por una u otra pareja durante la segunda (HH-M) y tercera (MM-H) etapa.

Como se mencionó anteriormente, la duración de la cópula no mostró diferencias estadísticamente significativas, con excepción de los machos que en la segunda etapa (HH-M) copularon con la hembra extraña. En este caso, el tiempo de cópula con la hembra extraña fue menor que la cópula en la primera etapa. El hecho de que la duración de la cópula no haya variado cuando existe otro individuo (macho o hembra) en contacto con la pareja es muy interesante. En un marco de competencia espermática y de acuerdo con lo que se viene discutiendo hasta ahora, ante la presencia de otro macho el tiempo de cópula debería aumentar para evitar que el segundo macho copule con la hembra (Parker 1970; Linn et al. 2006). Sin embargo, ante la presencia de otro macho y en un contexto de elección críptica femenina la hembra tendería a reducir el tiempo de cópula para copular con ambos (Eberhard 1998). Tal vez el resultado que se observa sea producto del conflicto de intereses entre los miembros de la pareja y de la acción opuesta de estas fuerzas de selección.

Además de no afectar la duración de la cópula, la presencia de un tercer individuo tampoco afectó el comportamiento sexual de los individuos, si bien, tanto los machos como las hembras que no estaban copulando interactuaron con la pareja. Esto puede deberse a que la presencia de más individuos durante la cópula sea un fenómeno frecuente en esta especie. Si tenemos en cuenta que los requerimientos ambientales, en cuanto a humedad, temperatura y luz de *P. thorellii* son muy específicos, la disponibilidad de refugios para esta especie se torna muy reducida. En este contexto, la presencia de más de un individuo en un mismo refugio no sería algo casual. Además, si bien se consideran individuos solitarios, en laboratorio se observa una alta tolerancia entre individuos, permaneciendo varios ejemplares en contacto bajo un mismo refugio (Toscano-Gadea comunicación personal; observación personal). El hecho de

que exista una alta probabilidad de encontrar otro individuo durante la cópula hace aún más probable e intensa la acción de la competencia espermática y la elección críptica femenina en esta especie.

5.3. Enfrentamientos entre machos

En el 87.5% de los casos se observaron enfrentamientos entre machos. Los enfrentamientos entre machos son comunes dentro del reino animal (Andersson 1994) y los arácnidos no son la excepción. Encontramos especies de arañas como *Frontinella pyramitela* y *Metellina mendei*, cuyos machos pelean por el acceso a las hembras (Austad 1983; Bridge et al 2000). Mientras que otras especies como *Nephila clavipes* y *Cupiennius getazi*, lo hacen por lugares específicos que les permitirán acceder a ellas (Chirstenson y Goist 1979; Schmitt et al. 1992). Dentro de Opiliones también encontramos peleas entre machos. *L. vittatum* es una especie de Eupnoi cuyas hembras oviponen en rajaduras de piedras y entre el musgo. Antes y durante la época reproductiva los machos pelean por estas rajaduras y esperan a las hembras en las rocas, las copulan y éstas oviponen en el lugar (Machado y Macías-Ordóñez 2007). En el suborden Laniatores existen especies que pelean tanto por la posesión de lugares preferidos por las hembras para oviponer (*Gonyleptes saprophilus*, *Neosadocus* sp. (Machado et al. 2004); *Longiperna concolor* (Zatz et al. 2010)), como por lugares donde alojar a las hembras (*Acutisoma proximum* (Buzzato y Machado 2008)). Durante los enfrentamientos de *Pachyloides thorellii* fue imposible detectar con exactitud al macho ganador, debido a que todos los comportamientos descritos, aún la *Retirada*, fueron observados en ambos machos por igual. Además, la interacción con la hembra tampoco pudo ser utilizada para determinar cuál fue el macho ganador ya que se observaron enfrentamientos antes (n=1), después (n=3) o tanto antes como después (n=5) de que uno de los machos haya copulado con la hembra. Estudios similares con una mayor cantidad de enfrentamientos son necesarios para esclarecer este punto.

Observaciones preliminares mostraron que los machos pueden pelear aún sin la presencia de la hembra (Costa, Toscano-Gadea comunicación personal; observación personal). Por ende, las hembras no serían el único desencadenante de las peleas; la presencia de otro macho podría desencadenar un enfrentamiento. Ante la potencial presencia de una hembra los machos podrían luchar para alejar al otro del lugar y, de encontrarse con una hembra, reducir la competencia por ella. Más estudios e investigaciones a campo son necesarios para esclarecer este punto.

En cuanto al comportamiento agonístico, se definieron tres niveles de intensidad según el grado de contacto entre individuos. Se observó que los comportamientos ubicados en el Nivel 1 (*Toques con patas II, Posición defensiva, Posición de lucha*) fueron los más frecuentes, seguidos por los comportamientos observados en el Nivel 2 (*Latigazos, Ataques*), siendo los menos frecuentes los comportamientos comprendidos en el Nivel 3 (*Intentos de Enganche, Enganches simples y dobles*). Esto podría indicar que los machos se evalúan en diferentes instancias durante la pelea intentando resolver el conflicto con el menor gasto energético y menor riesgo de daños posible (Carranza 1994; Eberhard 2002). Machos que presentan cuerpos o armas de tamaños muy distintos solucionarían sus enfrentamientos más rápidamente que machos con características similares, como ocurre en *Acutisoma proximum*, un opilión perteneciente a la familia Gonyleptidae (Buzzato y Machado 2008). En esta especie existen dos morfos de machos (Buzzato y Machado 2008), los machos que presentan un segundo par de patas largo pelean por territorios preferidos por las hembras para oviponer mientras que los machos que presentan un segundo par de patas corto nunca pelean (Machado et al. 2009). En el caso de *P. thorellii* no se encontró ninguna relación entre el tamaño corporal y el tamaño de las armas (patas II y espinas de las coxas de pata IV) con la duración del enfrentamiento, entre machos que pelearon. Estudios futuros deberían enfocarse en relacionar individualmente la frecuencia y duración de los comportamientos pertenecientes a cada nivel con las diferencias de tamaño entre los machos enfrentados.

Los comportamientos observados durante los enfrentamientos de *P. thorellii* han sido descritos para otras especies de la familia, sin embargo en ningún caso se encontraron todos ellos en la misma especie. *Neosadocus maximus* y *Longiperna concolor* pelean con las espinas del cuarto par de patas (Willemart et al. 2008; Zatz et al. 2010), mientras que *Acutisoma proximum* y *Serracutisoma proximum* lo hacen con el segundo par de patas (Machado y Macías-Ordóñez 2007). *P. thorellii* puede presentar todos estos comportamientos en un único enfrentamiento, lo cual lo transforma en un modelo muy interesante para estudiar los mecanismos involucrados en la toma de decisiones durante la competencia intersexual.

5.4. Relaciones morfológicas entre sexos

No se encontró diferencia significativa en el largo del escudo dorsal entre machos y hembras. Sin embargo, al comparar las medidas del ancho del escudo dorsal, así como las medidas de las espinas de las coxas del cuarto par de patas, se encuentra que los machos son más anchos y presentan espinas que miden prácticamente dos veces lo registrado para las hembras. Esto comprueba que existe un dimorfismo sexual en *P. thorellii*, al igual que sucede en otros Gonyleptidae. De todas maneras, este dimorfismo es menos conspicuo que lo observado en otros miembros de la familia, ya que a simple vista es muy difícil diferenciar un macho de una hembra.

En este contexto, no sería correcto hablar de “machos feminoides” como plantea Guliani (2008), debido a que todos los machos de *P. thorellii* presentan las mismas características morfológicas. En especies donde se pueden encontrar “machos feminoides”, como *Acutisoma proximum* (Zatz et al. 2010) o *Logiperna concolor* (Machado et al. 2009), existen dos morfos de machos, uno de ellos similar a las hembras y otro con llamativas espinas en los últimos pares de patas y mayor tamaño corporal. De todas formas, la ausencia de un conspicuo dimorfismo sexual en *P. thorellii* difiere del común denominador en la familia Gonyleptidae. Es común en especies pertenecientes a esta familia, como por ejemplo,

Acanthopachylus aculeatus, *Discocyrtus prospicius* o *Parampheres bimaculatus* (especies presentes en el Uruguay; ver Guliani, 2008), que los machos presenten tamaños corporales sensiblemente mayores a los de las hembras y una robusta y conspícua espinación, no solo en la coxa del cuarto par de patas sino en el femur y patela de la misma.

La similitud morfológica entre machos y hembras puede atribuirse a presiones de selección análogas para ambos sexos (West-Eberhard 1983; Trail 1990). Esto es común en especies que presentan inversiones parentales similares y cuya proporción sexual operacional es de 1:1 (Payne 1984; Trail 1990). *P. thorellii*, cumpliría con ambas premisas, ya que no existe cuidado parental post oviposición y la razón sexual es 1:1. Sin embargo, al momento de oviponer, la hembra debe buscar la ubicación adecuada para depositar los huevos, lo que implicaría un gasto energético de búsqueda, puesta, reducción en el tiempo de forrajeo y aumento del riesgo de depredación. Éstos, son elementos a tener en cuenta al momento de poner a prueba esta hipótesis y evaluar si realmente la inversión parental es igual para ambos sexos en esta especie.

Otra posibilidad es que la selección sexual a favor de un carácter sea muy débil frente a una fuerte selección natural actuando contra el mismo, por lo que aquel no evoluciona (Andersson 1994). Esto ocurre en especies en las que el aspecto de los adultos es similar al de los juveniles (Kleiman 1977), al igual que ocurre en *P. thorellii* (observación personal). Además, se ha observado que en muchas especies monomórficas el macho es más activo que la hembra al momento de buscar y defender un territorio, lo cual sugiere que los machos están sujetos a una mayor presión de selección, pero que las consecuencias serían comportamentales más que morfológicas (Andersson 1994). Sería interesante evaluar si los enfrentamientos entre machos observados en *P. thorellii* son una consecuencia comportamental derivada de estas presiones de selección, ya que los enfrentamientos se dan exclusivamente entre machos y su duración y resultado no parecen depender de caracteres morfológicos como el tamaño de los individuos o las estructuras involucradas en los encuentros.

La ausencia de un conspicuo dimorfismo sexual en *P. thorellii* es difícil de explicar con la información que se posee hasta el momento sobre la especie. Es necesario comparar más características morfológicas involucradas en los enfrentamientos (largo y ancho de femur de pata IV, largo de pata II, por ejemplo), así como características involucradas en las cópulas (como, largo y ancho de quelíceros y pedipalpos, espinación en pedipalpos, largo de pata I), e incluso abordar otras características comportamentales de ambos sexos para determinar si existen más diferencias entre machos y hembras en esta especie.

6. Conclusiones

- *Pachyloides thorellii* mostró una gran facilidad para copular en laboratorio, lo cual transforma a la especie en un muy buen modelo para estudiar la cópula y los procesos asociados a la misma en opiliones.
- El comportamiento sexual de *P. thorellii* es similar a lo registrado hasta el momento para otras especies pertenecientes al suborden Laniatores. Sin embargo, ésta es la primera descripción detallada del comportamiento sexual en una especie de Gonyleptidae sin cuidado parental.
- Tanto la competencia espermática como la elección críptica femenina parecen ser las hipótesis que mejor se ajustan a los comportamientos encontrados en esta especie, transformando a *P.thorellii* en un modelo muy interesante para poner a prueba estos procesos.
- La estrategia de apareamiento de *P. thorellii* (poliginandria) concuerda con la estrategia propuesta para la mayoría de los miembros del orden. Sin embargo, hacen falta más estudios en esta especie para descubrir claramente cómo los individuos llevan a cabo esta estrategia.
- Los enfrentamientos entre machos de *P. thorellii* mostraron ser muy ricos comportamentalmente e intentar resolver el conflicto a través del menor contacto posible, pero aumentando en el grado de contacto entre contrincantes de ser necesario. Este tipo de enfrentamientos nos permiten estudiar a través de qué mecanismos son usados, y qué elementos son tomados en cuenta, durante la evaluación de un contrincante.
- Tanto las duraciones de la cópula como la de los enfrentamientos no estuvieron relacionadas con la diferencia de tamaño entre individuos, ni (particularmente para los enfrentamientos) con el tamaño de las estructuras involucradas en ellos. Abordar

otras características comportamentales se torna imprescindible para explicar los efectos de la selección sexual (tanto intra como intersexual) en esta especie.

- Se encontró dimorfismo sexual en una de las estructuras involucradas en los enfrentamientos. Sin embargo, a simple vista este dimorfismo no es tan conspicuo como es característico de la familia. Presiones de selección diferentes a las del resto de la familia podrían ser las responsable de este fenómeno en *P. thorellii*.

En este el primer paso para descubrir y explicar la biología reproductiva de *Pachyloides thorellii* se abrieron una gran cantidad de caminos e interesantes propuestas a seguir. Es importante, como investigadores, en el afán de buscar respuestas no perder la capacidad de generar aún más preguntas.

7. Agradecimientos

Me gustaría agradecer principalmente a mi Co-Orientador y amigo Carlos A. Toscano-Gadea por el apoyo, la confianza y por la cantidad de horas que dedicó a acompañarme, escucharme, enseñarme y aconsejarme durante este proceso. Gracias por haber compartido y haberme mostrado el placer y valor de poder hacer lo que a uno más le gusta. A mi Tutor y Orientador Gabriel Francescoli por la paciencia, los consejos y las correcciones. A Anita Aisenberg por la gran ayuda con la estadística y el análisis de los datos. Al resto de mis compañeros del Laboratorio de Etología, Ecología y Evolución y de la Facultad de Ciencias por toda la ayuda y el apoyo, además de la paciencia, el interés, entusiasmo que demostraron todo el tiempo. Al jefe del laboratorio Fernando G. Costa por haberme abierto las puertas del laboratorio y permitido formarme allí dentro tanto como profesional como, como persona.

Le agradezco inmensamente a Matías Cogorno por haberme acompañado en cada etapa, en cada éxito y en cada fracaso, ayudándome a enfrentar los problemas y dificultades que surgieron durante este tiempo y a disfrutar de los logros y las metas cumplidas.

Agradezco enormemente a toda mi familia y a todos mis amigos sin quienes no sería ni estaría donde estoy. Les agradezco por el cariño y confianza en todo momento. A Valentina, Inés y Carolina, por ayudarme a crecer. A mis padres y a mi hermana por el amor que me mostraron, los valores que me enseñaron y el apoyo incondicional a cada paso. Les agradezco por darme todo lo que necesitaba para llegar hasta este momento y por seguir alentándome a seguir adelante. Finalmente me gustaría agradecer muy especialmente a mi abuelo Carlos A. Amado, quien despertó y cultivó lo necesario para que encontrara mi camino. Gracias por haber alentado mi curiosidad desde niña y haberme enseñado a ver y descubrir un mundo increíble en las cosas más simples.

Gracias a todos por compartir y disfrutar esta etapa conmigo.

8. Bibliografía

- Acosta, L. E. y Machado, G. 2007. Capítulo 8: Diet and Foraging en Harvestmen: The Biology of Opiliones. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.
- Aisenberg, A. 2002. Importancia de la historia reproductiva previa sobre la receptividad de las hembras de *Schizocosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae). Trabajo para pasantía de profundización en Etología, F. Ciencias. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo.
- Aisenberg, A. y Costa, F. G. 2005. Females mated without sperm transfer maintain high sexual receptivity in the wolf spider *Schizocosa malitiosa*. *Ethology* 111, 545-558.
- Aisenberg, A., Viera, C. y Costa F. G. 2007. Daring females, devoted males and reversed sexual size dimorphism in the sand-dwelling spider *Allocosa brasiliensis* (Araneae Lycosidae). *Behaviour Ecology and Sociobiology* 62: 29-35.
- Andersson, M.B. 1994. Sexual Selection. Princeton University Press. New Jersey, E.U.A.
- Arnqvist, G. y Nilsson, T. 2000. Review: The evolution of polyandry: Multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour*, 60: 145-164.
- Austad, S.N., 1982. First male sperm priority in the bowl and doily spider, *Frontinella pyramitella* (Walckenaer). *Evolution*, 36: 777-785.
- Austad, S.N., 1983. A game theoretical interpretation of male combat in the bowl and doily spider, *Frontinella pyramitella*. *Animal Behaviour*, 31: 59-73.
- Austad, S. N. 1984. Evolution of sperm priority patterns in spiders en Sperm competition and the evolution of mating systems. Harvard University Press, E. U. A.
- Bateman, A.J., 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, 2: 349-368.
- Birkhead, T. R. y Møller, A. P. 1998. Sperm competition and Sexual selection. Academic Press. E. U. A.
- Blumstein, D. T., Daniel, J.C. y Evans, C. S. 2000. JWatcher. version 0.9. Disponible en <http://www.jwatcher.ucla.edu/>
- Bonduriansky, R. y Rowe, L. 2003. Interactions among mechanisms of sexual selection on a male body size and head shape ina sexually dimorphic fly *Prochyliza xanthosoma*. *Evolution*. 57: 2046-2053.
- Bonduriansky, R., Wheeler, J. y Rowe, L. 2005. Ejaculate feeding expedites oviposition and increases female fecundity in the "waltzing fly" *Prochyliza xanthosoma* (Diptera: Piophilidae). *Animal Behaviour*. 69: 489-497.

- Bridge, A. P., Elwood, R. W. y Dick, J. T. A. 2000. Imperfect assessment and limited information preclude optimal strategies in male–male fights in the orb-weaving spider *Metellina menzei*. *Proceedings of the Royal Society of London*, 267: 273–279.
- Buzzato, B. A. y Machado, G. 2008. Resource defence polygyny shifts to female defense polygyny over the course of the reproductive season of a Neotropical harvestman. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63: 85-94.
- Capocasale, R. M. 2003. Diversidad de la Biota Uruguaya. Museo Nacional de História Natural y Antropología, Montevideo. 2ª Serie, Vol 10, Nº2.
- Capocasale, R. M y Gudynas, E. 1993. La fauna de opiniones (Arachnida) del criptozoos de Sierra de las Animas (Uruguay). *Aracnología*. 19: 1-15.
- Carranza, J. 1994. Capítulo 15: Sistemas de apareamiento y selección sexual en Etología: Introducción a la Ciencia del Comportamiento. Publicaciones de la Universidad de Extremadura. Cáceres, España.
- Christenson, T. E. y Goist, K. C. 1979. Costs and benefits of male-male competition in the orbweaving spider *Nephila clavipes*. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 5: 87–92.
- Costa, F. G. 1975. El comportamiento precopulatorio de *Lycosa malitiosa* Tulleren (Araneae, Lycosidae). *Revista Brasileira de Biología*, 35:359-368.
- Costa, F. G. 1979. Analisis de la cópula y de la actividad postcopulatoria de *Lycosa malitiosa* (Tullgren) (Araneae, Lycosidae). *Revista Brasileira de Biología*, 39:361-376.
- Costa, F. G. 1998. Copulatory pattern and fertilization success in male wolf spiders without pre-or post-copulatory sperm induction. *The journal of Arachnology*, 26: 106-112.
- Costa, F.G. y Gudynas, E. 1995. Sexo y Cortejo: una mirada al comportamiento sexual de animales y humanos. Ed. Fin de Siglo. Montevideo, Uruguay.
- Costa, F. G. y Pérez-Miles, F. 2002. Reproductive biology of Uruguayan theraphosids (Araneae, Mygalomorphae). *The journal of Arachnology*, 30: 571-587.
- Costa, F. G. y Toscano-Gadea, C. A. 2003. Experimental interruption and re-initiation of mating in a wolf spider: an analysis of behavioural patterns and resultant progeny. *Ethology, Ecology and Evolution*, 15: 1-14.
- Curtis, D. J. y Machado, G. 2007. Capítulo 7: Ecology en Harvestmen en *The Biology of Opiliones*. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.
- Eberhard, W. G. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

- Eberhard, W. G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Eberhard, W.G. 1998. Importancia de la elección femenina críptica para la etología. *Etología*, 6: 1-8.
- Eberhard, W. G. 2002. Physical Restraint or Stimulation? The Function(s) of the Modified Front Legs of Male *Archiseptis diversiformis* (Diptera, Sepsidae). *Journal of Insect Behavior*, Vol. 15, No. 6.
- Edgar, A. L. 1971. Studies in the biology and ecology of Michigan Phalangida (Opiliones). *Misc. Pub. Mus. Zool.*, 144: 1-64.
- Elgar, M.A. 1998. Capítulo 9: Sperm competition and sexual selection in spiders and other arachnids en *Sperm competition and sexual selection*. Academic Press, San Diego, E.U.A.
- Elgar, M.A. 2005. Capítulo 12: Polyandry, sperm competition and sexual conflict en *The Behavior of animals. Mechanisms, function and evolution*. Blackwell Publishing Ltd., E.U.A.
- Elgar, M. A., Champion de Crespigny, F. E. y Ramamurthy, S. 2003. Male copulation behaviour and the risk of sperm competition. *Animal Behaviour*, 66: 211-216.
- Elpino-Campos, A., Pereira, W., Del-Claro, K., y Machado, G. 2001. Behavioural repertory and notes on natural history of the Neotropical harvestman *Discocyrtus oliverioi* (Opiliones: Gonyleptidae). *Bulletin of the British Arachnological Society*, 12: 144-150.
- Estramil, N. y Costa F. G. 2007. Female sexual receptivity after partial copulations in the wolf spider (*Schizocosa malitiosa*). *Journal of Zoology* 271: 148-153.
- Ghiselin, M. T. 2010. Capítulo 2: The distinction between primary and secondary sexual characters en *The evolution of primary sexual characters in animals*. Oxford University Press, E.U.A.
- Giribet, G., Edgecombe, G. D., Wheeler, W. C. y Babbitt, C. 2002. Phylogeny and systematic position of Opiliones: a combined analysis of chelicerate relationships using morphological and molecular data. *Cladistics*, 18: 5-70.
- Giribet, G., Rambla M., Carranza, S. Riutort, M., Baguña, J. y Ribera, C. 1999. Phylogeny of the arachnid order Opiliones (Arthropoda) inferred from a combined approach of complete 18S, partial 28S ribosomal DNA sequences and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 11: 296-307.
- Giuliani, L. 2008. Tesina: La familia Gonyleptidae en el Uruguay (Arachnida, Opiliones). Licenciatura en Ciencias Biológicas, Montevideo. 13315, 41pp.
- Gnaspini, P. y Hara, M. R. 2007. Capítulo 10: Defense Mechanisms en *Harvestmen: The Biology of Opiliones*. Harvard University Press. Massachusetts, E. U.A.

Hammer, O., Harper, D. A. T. y Ryan, P. D. 2003. Past Palaeontological, version 1.18 [Internet]. Disponible en <http://foly.uio.no/ohammer/past>

Huber, B. A. 2005. Sexual selection research on spiders: progress and biases. *Biological Reviews*, 80: 363-385.

Hunt, J., Breuker, C.J., Sadowski J.A. y Moore, A. J. 2009. Male-male competition, female mate choice and their interaction: determining total sexual selection. *Journal of Evolutionary Biology*, 22: 13-26.

Kleiman, D. 1977. Monogamy in mammals. *Q. Rev. Biol.* 52: 39-69.

Krebs, J. R. y Davis, N. B. 1993. *An Introduction to behavioural ecology*. 3^{ra} Edición. Blackwell Science Ltd, E. U. A.

Kury A. B. 2003. Annotated catalogue of the Laniatores of the New World (Arachnida, Opiliones). *Revista Ibérica de Aracnología*, Volúmen especial monográfico 1, 335p.

Leonard, J. L. 2010. Capítulo 3: The evolution of sexes, anisogamy and sexual systems en *The evolution of primary sexual characters in animals*. Oxford University Press, E.U.A.

Linn, C. D., Molina, Y., Difatta, J. y Christenson T.E. 2007. The adaptive advantage of prolonged mating: a test of an alternative hypothesis. *Animal Behaviour*, 74: 481-485.

Machado, G. y Macías-Ordoñez, R. 2007. Capítulo 12: Reproduction en *Harvestmen: The Biology of Opiliones*. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.

Machado, G., Pinto-de-Rocha, R. y Giribet, G. 2007. Capítulo 1: What are Harvestmen? en *Harvestmen: The Biology of Opiliones*. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.

Machado, G. y Raimundo, R. L. G. 2001 Parental investment and the evolution of subsocial behaviour in harvestmen (Arachnida: Opiliones). *Ethology, Ecology and Evolution*, 13: 133-150.

Machado, G.; Requena, G. S. y Buzatto, B. A. 2009. Comportamento reprodutivo de Opiliões (Arachnida): Sistemnas de acasalamento e cuidado parental. *Oecologia Brasiliensis*, 13(1): 58-79.

Machado, G.; Requena, G. S., Buzatto, B. A., Osses, F. y Rossetto L. M. 2004. Few new cases of paternal care in harvestmen (Arachnida: Opiliones): implications for the evolution of male guarding in the Neotropical family Gonyleptidae. *Sociobiology*, 44: 577-598.

Macías-Ordóñez, R. 1997. The mating system of *Leiobunum vittatum* Say 1821 (Arachnida: Opiliones: Palpatores) resource defense polygyny in the striped harvestman. PhD Thesis. Lehigh University Bethlehem. PA.

Macías-Ordóñez, R., Machado, G., Perez-González, A. y Shultz, J. W. 2010. Capítulo 13: Genitalic Evolution in Opiliones en *The Evolution of Primary Sexual Characters in Animals*. Oxford University Press. E. U. A.

Matthiesen, F. A. 1983. Comportamento sexual de um opilião brasileiro *Discocyrtus pectinifemur* Mello Leitão, 1937 (Opiliones, Gonyleptidae). *Ciência e Cultura*, 35: 1339-1341.

Mora, G. 1990. Parental Care in a neotropical harvestman, *Zygopachylus albomarginis* (Arachnida, Opiliones: Gonyleptidae). *Animal Behaviour*. 39:582-593.

Morrow, E. H. 2004. How the sperm lost its tale: the evolution of anagellate sperm. *Biological Reviews*, 79: 795-814.

Nazareth, T. M. y Machado, G. 2009. Reproductive behavior of *Chavesincola inexplicabilis* (Opiliones, Gonyleptidae) with description of a new and independently evolved case of paternal care in harvestmen. *Journal of Arachnology*, 37: 127-134

Nazareth, T. M. y Machado, G. 2010. Mating system and exclusive postzygotic paternal care in a Neotropical harvestman (Arachnida: Opiliones). *Animal Behaviour*, 79: 547-554

Parker, G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences. *Biological Reviews*, 45: 525-567.

Parker, G. A. 1984. Sperm competition and the evolution of animal mating strategies en Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems. Academic Press. San Diego, E.U.A.

Payne, R. B. 1984. Sexulas selection, lek and arena behaviour, and sexual size dimorphism in birds. *Orn. Monogr.* 33: 1-53.

Peretti, A. V. y Eberhard, W. G. 2009. Cryptic female choice via sperm dumping favours male copulatory courtship in a spider. *Journal of Evolutionary Biology*, 23: 271-281

Pinto da Rocha, R. y Giribet, G. 2007. Capítulo 4: Taxonomy en Harvestmen: The Biology of Opiliones. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.

Riechert, S. E. y Singer, F. D. 1995. Investigation of potential male mate choice in a monogamous spider. *Animal Behaviour*. 49: 715-723.

Santos, F. H. 2007. Capítulo 14: Ecophysiology en Harvestmen: The Biology of Opiliones. Harvard University Press. Massachusetts, E.U.A.

Schmitt, A., M. Schuster y Barth, F. G. 1992. Male competition in a wandering spider (*Cupiennius getazi*, Ctenidae). *Ethology*, 90 :293–306.

Shultz, J. W. 2007. A phylogenetic analysis of the arachnid orders based on morphological characters. *Zoological Journal of Arachnology*, 26: 257-272.

Shultz, J. W. y Reigier, J. C. 2001. Phylogenetic analysis of Phalangida (Arachnida, Opiliones) using two nuclear protein-encoding genes supports monophyly of Palpatores. *Journal of Arachnology*, 29: 189-200.

- Shuster, S. M. y Wade, M. J. 2003. Mating systems and Strategies. Princeton University Press. New Jersey, E.U.A.
- Simmons, L. W. 2001. Sperm Competition and its Evolutionary Consequences in the Insects. Princeton University Press. E. U. A.
- Simmons, L. W. 2005. The evolution of polyandry: sperm competition, sperm selection and offspring viability. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 36: 125-146.
- Stanley, E. 2011. Egg hiding in four harvestmen species from Uruguay. *Journal of Arachnology*, 39: 495-496.
- Stanley, E., Costa, F. G. y Toscano-Gadea, C. A. 2008. Comportamiento sexual del opilión solitario *Pachyloides thorellii* Holmberg, 1878 (Gonyleptidae). II Congreso Latinoamericano de Aracnología y VI Encuentro de Aracnólogos del Cono Sur, p. 121. Salta, Argentina.
- StatSoft. Inc. 2007. STATISTICA (data analysis software system). version 8.0 www.statsoft.com.
- Thomas, R. H. y Zeh, D. W. 1984. Capítulo 6: Sperm transfer and utilization strategies in arachnids: ecological and morphological constraints en Sperm competition and the Evolution of Mating Systems. Academic Press. Londres, Inglaterra.
- Thornhill, R. 1983. Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly *Harpobittacus nigriceps*. *American Naturalist*, 122, 765-788.
- Toscano-Gadea, C. A. y Simó M. 2004. La fauna de opiliones en un área costera del Río de la Plata (Uruguay). *Revista Ibérica de Aracnología*, Zaragoza. 10: 157-162.
- Toscano-Gadea, C. A. y Stanley, E. 2008. Preferencias sexuales y luchas ritualizadas en el opilión *Pachyloides thorellii*: datos preliminares. II Congreso Latinoamericano de Aracnología y VI Encuentro de Aracnólogos del Cono Sur, p. 127. Salta, Argentina.
- Trail, P. W. 1990. Why should lek-breeders be monomorphic? *Evolution*. 44: 1837-1852.
- Trivers, R. L. 1972. Capítulo 7: Parental Investment and Sexual Selection en Sexual selection and the descent of man. Aldine Publishing Company, E. U. A.
- West-Eberhard, M. J. 1983. Sexual selection, social competition, and speciation. *Q. Rev. Biol.* 58: 155-183.
- Weygoldt P. 1988. Arthropoda – Chelicerata: Sperm transfer en *Reproductive Biology of Invertebrates Volume IV, part B: Fertilization, Development and Parental Care*. Oxford & IBH Publishing Co. PVT Ltd.
- Wilcox, D., Dove, B., McDavid, D. y Greer, D. 1995. ImageTool. version 3.0. Disponible en <http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>

Willemart, R. H. y Chelini, M. C. 2007. Experimental demonstration of close-range olfaction and contact chemoreception in the Brazilian harvestman, *Iporangaia pustulosa*. *Entomología Experimentalis et Applicata*. 123: 73-79.

Willemart, R. H.; Farine, J.P; Peretti, A.V. y Gnaspini, P. 2006. Behavioral roles of the sexually dimorphic structures in the male harvestman, *Phalangium opilio* (Opiliones, Phalangidae). *Journal of Zoology*. NRC. 84: 1736-1774.

Willemart, R. H. y Gnaspini, P. 2004. Breeding biology of the cavericolous harvestman *Goniosoma albiscryptum* (Arachnida, Opiliones, Laniatores): sites of oviposition, egg batches characteristics and subsocial behavior. *Invertebrate Reproduction and Development*. 45: 15-28.

Willemart, R. H., Osses, F., Chelini, M. C., Macías-Ordóñez, R. y Machado, G. 2008. Sexually dimorphic legs in a neotropical harvestman (Arachnida, Opiliones): Ornament or weapon? *Behavioural Processes*, 80: 51-59.

Zatz, C., Werneck, R. M., Macías-Ordóñez, R. y Machado, G. 2010. Alternative mating tactics in dimorphic males of the harvestman *Longiperna concolor* (Arachnida: Opiliones). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65: 995-1005.

Zeh, J. A., Newcomer, S. D. y Zeh, D.W. 1998. Polyandrous females discriminate against previous mates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 13732-13736.

