

DESCRIPCIÓN DEL APARATO REPRODUCTOR DE HEMBRAS DE *Phyllophaga vetula* HORN, 1887 (COLEOPTERA: MELOLONTHIDAE) Y DE LAS ESTRUCTURAS RELACIONADAS CON EL “LLAMADO SEXUAL”

Alice Nelly Fernández-Campos¹✉, Imelda Martínez-Morales², Angel Alonso Romero-López¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, Boulevard Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio 1 BIO 1, Col. Jardines de San Manuel, C. P. 72570. Puebla, México.

²Instituto de Ecología A.C. Carretera antigua a Coatepec 351 El Haya, Xalapa, Veracruz, C.P. 91170, México.

✉ Autor de correspondencia: alicenelly18@gmail.com

RESUMEN. *Phyllophaga vetula* Horn, 1887 forma parte de los “ensambles gallina ciega” de México. Existen datos del comportamiento precopulatorio de adultos de esta especie en campo, aunque aún se requiere de observaciones en laboratorio y de obtener información sobre la morfología de las estructuras involucradas en la liberación de feromonas sexuales. En este estudio se describe el aparato reproductor de hembras de esta especie y los patrones de comportamiento que forman parte del “llamado sexual”. El aparato reproductor está formado por dos ovarios, dos oviductos laterales, un oviducto común, una espermateca con su glándula, una *bursa copulatrix*, dos pares de glándulas accesorias y una cámara genital. Esto cumple con el modelo general observado en otros géneros de Melolonthidae, manteniendo mayor similitud estructural con el de hembras del género *Phyllophaga*. En el comportamiento precopulatorio de *P. vetula*, bajo condiciones de laboratorio, es evidente la exposición de la cámara genital por parte de las hembras al momento del llamado, siendo la culminación de una serie de movimientos corporales, actos y desplazamientos que atraen al macho para la cópula. Estas observaciones coinciden con lo registrado para la especie en su entorno natural y es similar al llamado de otras especies de *Phyllophaga*.

Palabras clave: *Phyllophaga*, cámara genital, glándulas accesorias, comportamiento precopulatorio.

Description of the female reproductive system of *Phyllophaga vetula* Horn, 1887 (Coleoptera: Melolonthidae) and the structures related to the calling

ABSTRACT. *Phyllophaga vetula* Horn, 1887 is part of the white grub guilds of Mexico. There are data about chemical ecology during its precopulatory behavior in field conditions. However, it is necessary to supplement with laboratory observations and obtain information about the morphology of the structures involved in the release of sex pheromones. This study describes the female reproductive system of this species and the behavior patterns that are part of the calling. The reproductive system is formed by two ovaries, two lateral oviducts, a common oviduct, a spermatheca with its gland, a *bursa copulatrix*, two pairs of accessory glands and a genital chamber. This is consistent with the general model observed in other Melolonthidae, maintaining structural similarity with females of *Phyllophaga*. In this species, under laboratory conditions, the genital chamber is involved in attraction of males. The exhibition of this during the calling is the culmination of a series of body movements, acts and displacements that cause the attraction of the male for mating. This behavior is similar to known in the same species in field conditions, and similar to known in other *Phyllophaga*.

Keywords: *Phyllophaga*, genital chamber, accessory glands, precopulatory behavior.

INTRODUCCIÓN

Los coleópteros Melolonthidae son un grupo de insectos de importancia ecológica y agrícola. En México se encuentran 110 géneros y 1179 especies, principalmente distribuidas en los estados de Chiapas, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Oaxaca, Puebla y Veracruz. Los géneros más abundantes del país pertenecen a la subfamilia Melolonthinae, siendo *Phyllophaga* y *Diplotaxis* los más representativos (Morón *et al.*, 2014). Para las hembras de Melolonthidae se han efectuado descripciones sobre la anatomía del aparato reproductor, mismo que sigue la organización general de

estructuras y órganos de hembras del orden Coleoptera, aunque en Melolonthidae se han encontrado diferencias en la forma y tamaño de la espermateca y su glándula, de las glándulas accesorias y de las placas genitales entre las diferentes especies de los géneros *Costelytra*, *Hoplia*, *Phyllophaga*, *Plusiotis* y *Macroductylus* (Stringer, 1988; Carrillo Ruiz *et al.*, 2008; Romero-López *et al.*, 2010, 2011; Benítez-Herrera *et al.*, 2015; Martínez-M. y Morón, 2015). Además, en la última década se han relacionado las glándulas accesorias y la cámara genital con aspectos de comunicación química sexual del grupo, específicamente con la producción y liberación de feromonas sexuales (Romero-López, 2016). Tal es el caso de algunas especies del género *Phyllophaga*, para las cuales se han llevado a cabo descripciones anatómicas del aparato reproductor y del comportamiento precopulatorio, como en *Phyllophaga opaca* Moser, 1918; *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, 1850; *Phyllophaga testaceipennis* Blanchard, 1850; *Phyllophaga latipes* Bates, 1888; *Phyllophaga pruinosa* Blanchard, 1851; *Phyllophaga rugipennis* Poppius, 1858; *Phyllophaga setifera* Burmeister, 1855; *Phyllophaga subrugosa* Moser, 1924 y *Phyllophaga tenuipilis* Bates, 1888. Todas estas especies se distribuyen en México y la anatomía general del aparato reproductor coincide con el de otras especies de Melolonthidae (Romero-López *et al.*, 2010, Romero-López *et al.*, 2011, Martínez-M. y Morón, 2015).

Se sabe que el comportamiento precopulatorio inicia cuando los machos emergen del suelo, vuelan hacia un punto elevado para posarse y localizar a las hembras, las cuales liberan sustancias químicas que los atraen, promueven su acercamiento y la cópula (Morón, 1986 y Romero-López, 2016). El comportamiento precopulatorio en campo se ha descrito en *P. obsoleta*, *Phyllophaga ravidata* Blanchard, 1850, *Phyllophaga macrocera* Bates, 1887 (Romero-López *et al.*, 2007), *P. opaca* (Romero-López *et al.*, 2010, 2016) y *Phyllophaga cristagalli* Arrow, 1933 (Romero-López *et al.*, 2016). En general, se ha observado que, después de la emergencia, las hembras y machos permanecen en el suelo o se posan en las ramas y hojas de árboles. Inmediatamente, las hembras llevan a cabo el "llamado sexual", que consiste en la protrusión de la cámara genital y la realización de movimientos del abdomen y los metatarsos, marcando el inicio del apareamiento. A su vez, los machos son atraídos, se acercan y posan en la parte posterior del cuerpo de la hembra para intentar copular. Al concluir la cópula, los machos retiran el saco interno y se alejan volando, para enterrarse en el suelo (Romero-López *et al.*, 2007, 2016).

Phyllophaga vetula es una especie catalogada dentro de los "ensambles gallina ciega" (Romero-López, 2012). Existen datos sobre su ecología química durante el comportamiento precopulatorio y el "llamado sexual" en condiciones de campo (Romero-López *et al.*, 2007); se ha citado que los primeros en emerger son los machos que se aglomeran al ras del suelo en espera de que emerjan las hembras para copular (Aragón-García *et al.*, 2005; Romero-López *et al.*, 2007). A pesar de contar con esta información, no existen registros del comportamiento precopulatorio en condiciones de laboratorio, ni de su anatomía reproductiva.

En este estudio se describe el aparato reproductor de las hembras de *P. vetula* para obtener información sobre las estructuras anatómicas involucradas en el comportamiento precopulatorio en el laboratorio, relacionándolo con la exposición de la cámara y glándulas accesorias al momento del llamado, con la finalidad de complementar el conocimiento sobre la comunicación química de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODO

Se recolectaron ejemplares adultos de *P. vetula* de manera directa en las zonas verdes de Ciudad Universitaria de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), que fueron llevados al Laboratorio de Infoquímicos y Otros Productos Bióticos, para la determinación taxonómica con

base a las claves de Morón (1986), separación por sexos y acondicionamiento en el laboratorio.

Para el estudio anatómico, se seleccionaron doce hembras recién emergidas del suelo. Posteriormente se extrajo el aparato reproductor en solución Ringer, se fijó en AFATD y se almacenó en alcohol al 96 %. Cada aparato reproductor fue teñido ligeramente con solución alcohólica de verde luz al 0.05 % y después sólo la región de la cámara genital fue teñida con la técnica de negro de clorazol para observar claramente las estructuras cuticulares (Martínez-M. 2002). Finalmente, se obtuvieron dibujos a escala utilizando un microscopio estereoscópico con cámara clara (Stemi SV11 de Zeiss, Alemania). En la descripción anatómica se utilizaron los términos de Snodgrass (1993) y Matsuda (1976).

En el caso de los registros de comportamiento, se seleccionaron adultos de esta especie con apariencia corporal externa saludable (cuerpo completo y movimiento de antenas, patas y alas). En el caso de las hembras, se consideraron aquellas recién emergidas del suelo que no presentaron huevos en su región abdominal. En cada sesión de observación se empleó un terrario de vidrio 30x30x30 cm y en su interior dos hembras y tres machos de esta especie. En el fondo del recipiente se agregó una capa de suelo de aproximadamente 2 cm y pasto traído del sitio de recolecta, con el fin de simular algunas de las condiciones naturales en las cuales se desenvuelven estos insectos en el momento de su actividad sexual. Se llevaron a cabo quince sesiones de observación ($n=15$), las cuales se efectuaron entre las 19:30 y las 20:30 hrs, a 22 ± 2 °C, con una humedad relativa de 65 ± 5 %, condiciones ya establecidas en el cuarto de cría que forma parte de la infraestructura del Laboratorio de Infoquímicos. A partir de las descripciones, se definieron los patrones de comportamiento que precedían a la cópula y los que formaban parte del llamado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aparato reproductor de las hembras de *P. vetula* está formado por dos ovarios, dos oviductos laterales, un oviducto común, una espermateca y su glándula, una *bursa copulatrix*, dos pares de glándulas accesorias y una cámara genital (Figura 1). Cada ovario tiene seis ovariolas, cada una de ellas con un filamento terminal, germario, vitelario con ovocitos en desarrollo y el pedicelo. Cada pedicelo desemboca en su respectivo oviducto lateral y éstos a su vez en el oviducto común. La espermateca es una estructura delgada, pequeña de forma tubular, con la punta redondeada, mientras que su glándula es muy alargada y casi cuatro veces mayor que ella. La *bursa copulatrix* es una estructura grande voluminosa y redondeada en la punta, con un conducto grueso casi del mismo tamaño. La cámara genital es una estructura pequeña de forma redondeada a la que desembocan, en la parte dorsal anterior el oviducto común, en la parte dorsal media el conducto de la espermateca que en su base es excesivamente ensanchado, y dorsal posterior, el conducto de la *bursa copulatrix*. Lateralmente desembocan dos pares de glándulas accesorias, las tipo I de forma ovalada y las tipo II, más pequeñas de forma arriñonada que desembocan hacia la parte anterior de cada glándula tipo I.

En esta especie, el aparato reproductor sigue el mismo modelo anatómico general reportado para otras hembras de Melolonthidae (Stringer, 1988; Carrillo Ruiz *et al.*, 2008; Benítez-Herrera *et al.*, 2015; Martínez-M. y Morón, 2015), sin embargo mantiene mayor similitud con el de las especies del género *Phyllophaga* (Martínez-M y Morón, 2015; Romero-López *et al.*, 2010, 2011) aunque difiere con las especies *P. latipes*, *P. opaca*, *P. pruinosa*, *P. setifera* y *P. subrugosa* en cuanto al número de glándulas accesorias, ya que estas especies presentan solamente un par (Martínez-M y Morón, 2015; Romero-López *et al.*, 2010). Además, es probable que la cámara genital y las glándulas accesorias de esta especie estén relacionadas con la producción y liberación de feromonas sexuales (Romero-López *et al.*, 2007), como en el caso de *P. obsoleta* (Romero-López *et al.*, 2011).

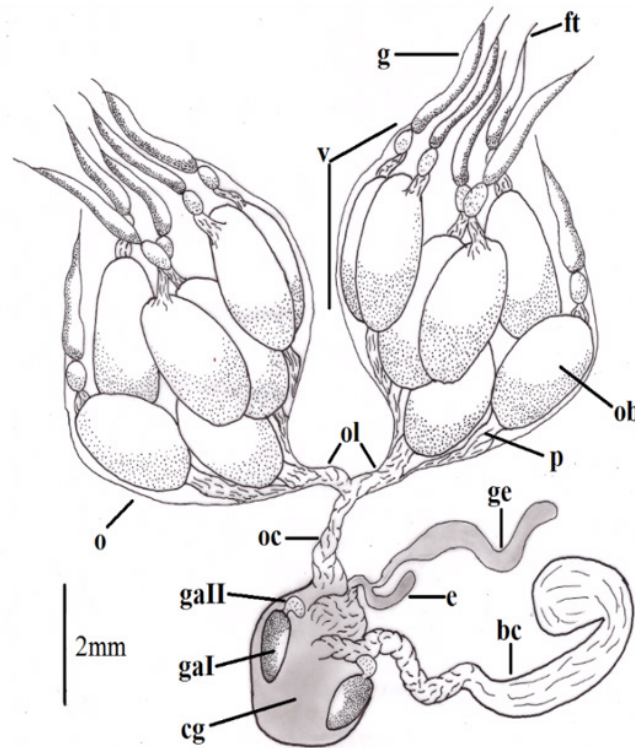


Figura 1. Esquema del aparato reproductor de *Phyllophaga vetula*. **b**, bursa copulatrix. **ce**, conducto de la espermateca. **cg**, cámara genital. **e**, espermateca. **ft**, filamento terminal. **gal**, glándulas accesorias tipo I. **gall**, glándulas accesorias tipo II. **ge**, glándula de la espermateca. **g**, germario. **o**, ovario. **ob**, ovocito basal. **oc**, oviducto común, **ol**, oviducto lateral. **p**, pedicelo. **v**, vitelario).

En los registros de comportamiento en laboratorio, en promedio, las hembras fueron las primeras en emerger del suelo a las 20:04 hrs y los machos a las 20:06 hrs. Las hembras después de algunos vuelos cortos y desplazamientos sobre el suelo, enterraron la parte anterior de su cuerpo, dejando expuesta la región abdominal. Después de ello, comenzaron a levantar su abdomen en un ángulo de 45°, moviéndolo en círculos y levantando sus patas posteriores en un ángulo similar. Al final de dicha secuencia se observó la protrusión de la cámara genital, siendo visibles también las glándulas accesorias y, en algunos casos, las placas genitales (Figura 2). Los machos se acercaron inmediatamente y se presentó la cópula. Desde la inclinación del abdomen por parte de la hembra, pasando por la exposición de las estructuras mencionadas y el primer acercamiento del macho, esta serie de actos integran el llamado sexual, patrón de comportamiento citado ya en estudios en campo para *P. vetula* (Romero-López *et al.*, 2007), con horario de emergencia y secuencia de patrones parecidos. Asimismo, en estudios previos en laboratorio, esta secuencia se ha reportado en otras especies del género, como *P. obsoleta* (Romero-López y Arzuffi, 2010), *P. opaca* (Romero-López *et al.*, 2010) y *P. cristagalli* (Romero-López *et al.*, 2016). Desde que se presentó la exposición de la cámara genital y glándulas accesorias hasta el acercamiento de los machos, en el 90 % de los registros de este comportamiento en *P. vetula*, se observaron movimientos circulares y de arriba a abajo de su abdomen, moviendo sus patas posteriores también de arriba a abajo. Además, en las

quince observaciones se observó que inmediatamente después del llamado de una hembra, los tres machos se acercaban a ella intentando copular, incluso después de que alguno de estos machos lograba la introducción del saco interno, los demás continuaban forcejeando con la pareja durante varios minutos. Esto coincide con los reportes en campo para esta especie, citándose que hasta tres machos pueden competir por una hembra (Romero-López *et al.*, 2007).

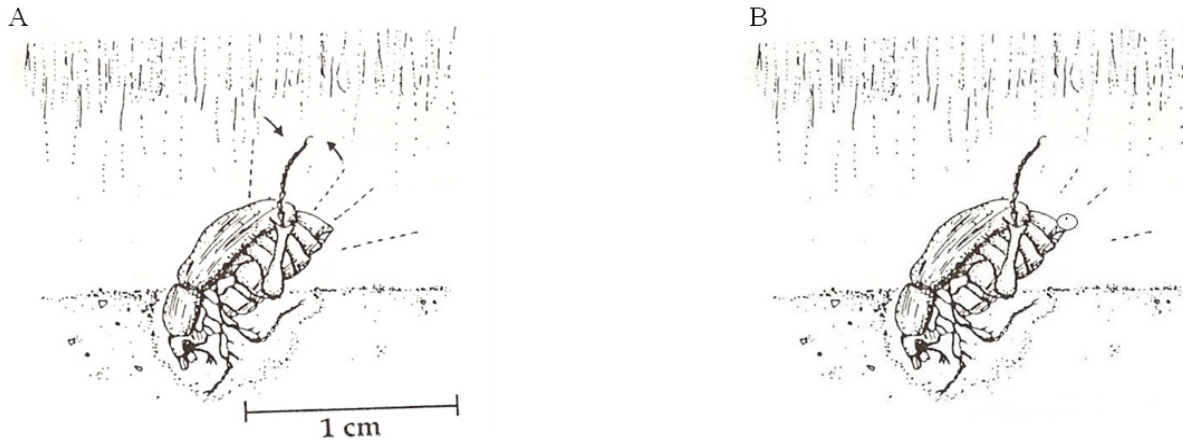


Figura 2. Llamado sexual de una hembra de *Phyllophaga vetula*. A. Inicio del llamado, en el cual la hembra inclina el cuerpo en un ángulo de 45° aproximadamente, quedando enterrada en el suelo la parte anterior y al descubierto la región abdominal. Es evidente el movimiento constante, de arriba abajo, de las patas posteriores. B. Momento de la protrusión de la cámara genital y glándulas accesorias (Modificado de Facundo *et al.*, 1999)

CONCLUSIONES

La anatomía del aparato reproductor de *P. vetula* es similar a lo observado en otras especies de *Phyllophaga*, destacando la forma y ubicación de la cámara genital, en conjunto con las de las glándulas accesorias. Ambas, relacionadas anatómicamente por lo que se les asocia directamente con los registros de comportamiento registrados previamente en campo y ahora en laboratorio, particularmente con el llamado sexual de las hembras al momento de la liberación de feromonas. De ahí que en esta especie se sugiere que la cámara genital y las glándulas accesorias podrían estar involucradas en la producción y liberación de estas sustancias, como se ha reportado para otras especies del género. Estudios en curso sobre microanatomía e histología podrían reforzar esta hipótesis.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ecología A. C. (INECOL) por su apoyo en el desarrollo y conclusión del trabajo anatómico.

LITERATURA CITADA

Aragón-García, A., Morón, M.Á., López-Olguín, J.F. y Cervantes-Peredo, L.M. 2005. Ciclo de vida y conducta de adultos de cinco especies de *Phyllophaga* Harris, 1827 (Coleoptera: Melolonthidae; Melolonthinae). *Acta Zoológica Mexicana*, 87-99. ISSN 2448-844

- Benítez-Herrera, L.N., Martínez-M., I. y Romero-López, A.A. 2015. Anatomía del aparato Reproductor de *Macroductylus mexicanus* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) y su posible participación en su comunicación química sexual. *Southwestern Entomologist*, 40(1): 189-198. DOI: 10.3958/059.040.0117
- Carrillo-Ruiz, H., I. Martínez-M., I. and Morón, M.Á. 2008. Comparative study of the reproductive system of two species of *Hoplia* (Coleoptera: Scarabaeidae: Hopliinae). *Proceedings Entomological Society of Washington*, 110: 778-788. DOI: 10.4289/07-052.1
- Martínez-M., I. (2002). Técnicas básicas de anatomía microscópica y de morfometría para estudiar los insectos. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 30, 187-195.
- Martínez-M., I. y Morón, M.Á. 2015. Los sistemas reproductivos en hembras de Melolonthinae, Rutelinae, y Dynastinae (Coleoptera: Scarabaeoidea, Melolonthidae). *Southwestern Entomologist*, 40(2), 369-386. DOI: 10.3958/059.040.0211
- Matsuda, R. 1976. *Morphology and Evolution of the Insect Abdomen*. Pergamon Press, Ontario, Canada. 230-256 pp. ISBN: 00801 87 536.
- Morón, M.Á. 1986. El género *Phyllophaga* en México. Morfología, distribución y sistemática supraespecífica (Insecta: Coleoptera). México: Instituto de Ecología.
- Morón, M.Á., Nogueira, G., Rojas-Gómez, C.V., y Arce-Pérez, R. (2014). Biodiversidad de Melolonthidae (Coleoptera) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, (85): 298-302. DOI: 10.7550/rmb.31834
- Romero-López, A.A. 2012. Uso de feromonas sexuales para el conocimiento y manejo de los ensambles "gallina ciega" en México. *Interciencia*, 37: 559-564. ISSN: 0378-1844
- Romero-López A.A., Aragón, A. y Arzuffi, R. 2007. Estudio comparativo del comportamiento sexual de cuatro especies de *Phyllophaga* (Coleoptera: Melolonthidae). *Entomología mexicana*. Vol. 6. 275- 281.
- Romero-López, A.A., Martínez-M., I. and Morón, M.A. 2010. Morphology of the genital chamber and accessory glands of *Phyllophaga opaca* Moser (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae) females. *World Journal of Zoology*, 5 (3): 210-216. ISSN: 1817-3098
- Romero-López, A.A., Arzuffi, R., Valdez, J., Sánchez-Espíndola, E. and Morón, M. A. 2011. Tissues involved in sex pheromone production in *Phyllophaga obsoleta* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 104(5): 960-965. DOI: 10.1603/AN10068
- Romero-López, A.A., Lugo-García, G.A. y Yanes-Gómez, G. 2016. Esquema de liberación y recepción de infoquímicos en dos "melolóntidos" (Coleoptera: Melolonthidae) de Sinaloa, México. En: *Diversidad, ecología y Manejo de plagas edafícolas*. Lugo-García, G.A., A. Aragón y A. Reyes-Olivas (Eds.). La UAS y La BUAP, México. pp. 117-133.
- Romero-López, A.A. y Arzuffi, R. 2010 Evidencias sobre la producción y liberación de compuestos bioactivos de la feromona sexual de un melolóntido mexicano. En: Rodríguez del Bosque, L.A. y Morón, M.A. (Eds.) *Ecología y Control de Plagas Edafícolas*. INECOL. Xalapa, México. pp. 204-222.
- Snodgrass, R. E. 1993. *Principles of Insect Morphology*. 1st New edition. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Stringer, I.A.N. 1988. The female reproductive system of *Costelytra zealandica* (White) (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthinae). *New Zealand Journal of Zoology*, 17(3): 323-339. DOI: 10.1080/03014223.1990.10422939