

# Comportamento sexual de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1785 (Insecta, Coleoptera)

Mônyka M. Wanto<sup>1</sup>, Marta Luciane Fischer<sup>2</sup>

Sexual Behavior of *Tenebrio molitor* LINNAEUS, 1785 (INSECTA, COLEOPTERA)

**ABSTRACT:** The *Tenebrio molitor* L., 1785 species has been studied as model for understanding of the polyandry mechanisms and spermatic competition. In this context it is fundamental the study of the movements patterns shown in the behaviors exhibited during the sexual interactions. The present work was carried out in the NEC/PUCPR, during May 2003 to March 2004. We made six experiments using different combinations of male and female reproductive status, always with thirty replicas. In the 180 interactions, totalizing 40 hours of observation, we registered 5210 acts grouped in 43 movements patterns, which had characterized 12 behaviors. In the present study, were recorded differences between males and females behaviors agree with reproductive status. So, the behaviors shown during sexual interactions can be used as subsidies to understanding of the evolutionary mechanisms as polyandry, spermatic competition and multiple mating.

**Key words:** multiple mating, spermatic competition, polyandry, *Gnathocerus cornutus*

## INTRODUÇÃO

O Coleoptera *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1785 ocorre frequentemente associado a grãos armazenados, onde o alimento em abundância e temperatura e umidade amenas favorecem a sua reprodução e proliferação (VARGAS, 1992). Nesses mesmos ambientes e também gerando danos econômicos ocorrem outros besouros como o cornudo da farinha, *Gnathocerus cornutus* Fabricius, 1798 (VARGAS, 1992).

O comportamento sexual de *T. molitor* tem sido utilizado como modelo para compreensão de aspectos como: comunicação química (HAPP, 1970; HAPP & WHEELER, 1969), poligamia (WORDEN & PARKER, 2000), monogamia (TRUMBO,

<sup>1</sup> Núcleo de Estudos do Comportamento animal (NEC-PUCPR). Pós-Graduação em Zoologia UFPR. wanfisc@hotmail.com

<sup>2</sup> PUCPR - Núcleo de Estudos do Comportamento Animal (NEC-PUCPR). R. Imaculada Conceição 1155, Curitiba, CEP: 80215-901. marta.fischer@pucpr.br, nephilla@terra.com.br

1994) e competição espermática (BAKER & BELLIS, 1988; GAGE, 1992; TAKAMI, 2002).

Teorias sugerem que o sucesso reprodutivo do macho é proporcional ao número de cópulas, enquanto que para fêmeas uma ou poucas cópulas são suficientes para maximizar seu sucesso reprodutivo. Contrariando esta predição, fêmeas da maioria das espécies de insetos copulam múltiplas vezes (ARNQVIST & NILSSON, 2000), caracterizando a poliandria (WORDEN & PARKER, 2000), a qual envolve a seleção espermática e avaliação da qualidade genética do macho (HELZER, 1989).

Em sistemas poliândricos, eventos ocorridos durante a cópula podem alterar o destino do esperma, exercendo pressão seletiva que resulta na evolução de diversos comportamentos reprodutivos, morfológicos e fisiológicos (QAZI, 2003). Segundo PAI & IAN (2002), cópulas múltiplas envolvem um alto custo para fêmea, uma vez que existe gasto de tempo e energia, risco de predação e parasitismo. Porém, além dos benefícios genéticos também podem trazer benefícios materiais (e.g. alimento nupcial) (WORDEN & PARKER, 2000), em que fêmeas podem destinar alguns espermatozóides para sua própria nutrição, esse processo é conhecido como seleção críptica feminina (QAZI, 2003).

Parte-se da premissa que apesar do comportamento copulatório de insetos ser tradicionalmente definido como estereotipado, as frequências em que os padrões motores são executados podem variar de acordo com o *status* reprodutivo do animal e a análise desses padrões poderá ser utilizada como ferramenta ou subsídio para compreensão dos mecanismos evolutivos como poliandria, competição espermática e cópulas múltiplas. Da mesma forma, tem-se como pressuposto que o comportamento sexual também é afetado pela presença de coleópteros hetero-específicos, comprometendo o potencial reprodutivo da espécie e diminuindo o número de indivíduos de uma população. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo qualificar e quantificar o comportamento sexual de *T. molitor*.

## MATERIAL E MÉTODOS

A qualificação e quantificação do comportamento sexual de *T. molitor* foi realizado no Núcleo de Estudo do Com-

portamento Animal (NEC-PUCPR) no período de maio de 2003 a março de 2004. Os besouros foram obtidos em criações de laboratório, comercial e particular, sendo substituídos ao longo do desenvolvimento do estudo. A utilização de indivíduos de diferentes fontes visou minimizar o cruzamento consanguíneo e automaticamente a influência deste fator no comportamento sexual.

A alimentação em laboratório constou de uma mistura de farinha de milho, leite em pó, fubá e quirera de milho. O alimento foi colocado em três caixas de madeira de 5,7 l (32 x 33,5 x 63 cm), preenchendo 4,5 cm<sup>3</sup>. Os animais foram mantidos submersos nessa mistura e na ausência de luz.

Os estudos foram conduzidos à temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade ambientes, registrados diariamente através de um termohigrômetro manual, sendo a temperatura média do período de estudo  $19,9 \pm 3,9^{\circ}\text{C}$  (N = 307; i.v. = 11,5–30) e a umidade de  $78.5 \pm 12,3\%$  (N = 307; i.v. = 47–91). As pupas foram retiradas à medida que emergiam e sexadas com auxílio de microscópio estereoscópio através do método proposto por BHATTACHARYA (1970). Após a sexagem, os indivíduos foram submetidos a dois tratamentos. No primeiro, os besouros foram individualizados em placas de petri de 80 x 12 mm e no segundo, mantidos em grupos homossexuais de 12 indivíduos por placa. Ambas as placas não apresentaram substrato e foram mantidas na ausência de luz, e como alimento foi fornecida farinha de milho em flocos. Durante os experimentos, foi fornecido como alimento dois flocos de farinha de milho de 2 cm<sup>2</sup>.

A formação dos casais utilizados nos experimentos foi aleatória. Foram analisados os padrões motores apresentados por machos e fêmeas, caracterizando-os como residente quando introduzido primeiro na placa e invasor quando foi o segundo a ser introduzido. A partir da introdução do macho na placa da fêmea foram registrados e cronometrados todos os atos comportamentais exibidos. Não ocorrendo a cópula no período de dez minutos, o teste foi finalizado, e considerado como negativo. No caso de haver cópula, era esperado a sua finalização para o término do teste. Após o teste os indivíduos foram separados retornando às suas placas de origem. Os besouros foram mantidos em repouso por três dias, antes de serem utilizados em experimentos con-

secutivos. O registro foi realizado através de anotação em caderneta, filmagem e fotografia.

Foram realizados seis experimentos. No primeiro foram determinadas as fases do comportamento sexual de *T. molitor*, descrevendo os padrões motores exibidos, servindo de controle para análise dos demais experimentos. Um macho virgem foi introduzido no recipiente onde uma fêmea virgem permaneceu por cerca de três dias. O segundo experimento visou determinar se o *status* reprodutivo da fêmea interfere nos padrões motores apresentados por *T. molitor* durante o comportamento sexual. Foram utilizadas fêmeas virgens e machos experientes, mantidos isolados antes do experimento. No terceiro experimento foi avaliado o comportamento sexual do macho frente à presença de duas fêmeas, e no quarto experimento, o comportamento da fêmea frente à presença de dois machos. Foram utilizados indivíduos experientes, mantidos em grupo. Após dez minutos da introdução do primeiro indivíduo, o segundo coespecífico era introduzido. O quinto experimento visou avaliar o comportamento de uma fêmea frente a presença de cinco machos coespecíficos, a fêmea foi introduzida na placa dos machos. O sexto experimento visou avaliar se a presença de indivíduos de *G. cornutus* inibe o comportamento sexual de *T. molitor*. O experimento consistiu em acrescentar à placa da fêmea, além do macho coespecífico, cinco larvas, cinco machos e cinco fêmeas adultos de *G. cornutus*.

Para as análises estatísticas, foi utilizado o teste qui-quadrado para o processamento de valores relativos às frequências de cada comportamento. Para as análises temporais (duração média do cortejo e cópula e número médio de atos comportamentais em cada comportamento), devido os dados não apresentarem distribuição normal mesmo com a transformação, foram utilizados os testes não paramétricos Mann-Whitney (teste U) e Kruskal-wallis (teste H).

## RESULTADOS

### Descrição qualitativa dos comportamentos

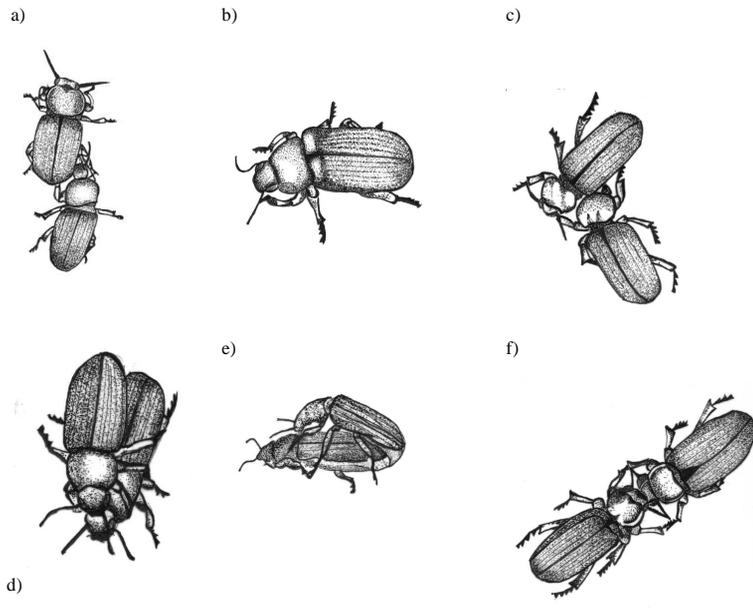
Nas 180 interações avaliadas, totalizando 40 horas de observação, foram registrados 5210 atos comportamentais agrupados em 43 padrões motores, os quais caracterizaram 12 comportamentos. Para descrição qualitativa dos comportamentos foram considerados os padrões motores exibidos tanto pelos machos quanto pelas fêmeas nos seis experimentos realizados.

#### a) COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO

O besouro (macho e fêmea) circulou a placa tocando alternadamente o substrato com extremidades das duas antenas. A cabeça era mantida inclinada aproximadamente a 45° do eixo do corpo. Este comportamento foi exibido, tanto pelo residente quanto pelo invasor, sempre nos primeiros minutos do experimento.

#### b) FUGA

Foram registrados sete padrões motores, exibidos tanto por machos quanto por fêmeas. Durante a fuga, o indivíduo apresentou quatro formas de *deslocamento*. No *deslocamento rápido*, percorreu a placa sem interrupção e todo percurso da circunferência foi realizado em menos de 10 segundos. No *deslocamento lento*, percorreu a placa com breves pausas, onde ocorreram movimentações das antenas, sem tocá-las no substrato ou no coespecífico. Registraram-se, ainda, variações quanto ao local de deslocamento (*lateral* ou *pelo meio*). No *toque acidental*, o besouro em deslocamento esbarrou no coespecífico, sendo registrado o contato de suas antenas em qualquer parte do corpo do coespecífico, este ato geralmente resultou na mudança de direção de ambos. Na *tentativa de escalada de paredes* o corpo foi mantido elevado verticalmente e apoiado sobre as pernas posteriores. Geralmente este ato foi seguido da *queda*, caracterizada pela perda de equilíbrio e posicionamento da parte dorsal do corpo em contato com o substrato e a parte ventral voltada para cima. As pernas eram movimentadas seguidas vezes, na tentativa de impulsionar o corpo lateralmente e retornar à posição inicial. O comportamento de fuga foi comum entre os indivíduos, ocorrendo em ambos os sexos e em todos os experimentos.



**Figura 1.** Padrões motores exibidos durante o comportamento sexual. a) Toque de antenas no dorso; b) Limpeza de antenas; c) Toque de cabeça; d) Agarrar; e) Cópula; f) Confronto.

### c) IDENTIFICAÇÃO

Este comportamento foi interpretado como tendo o intuito de trocar informações e conseqüentemente identificar o coespecífico. No *toque de antenas* houve o toque simultâneo de ambas as extremidades das antenas, onde os besouros mantinham as cabeças elevadas (menos de 15° em relação ao eixo do corpo), em encontros frontais ou perpendiculares. O *toque de antenas no dorso* constou do toque das extremidades das duas antenas, em movimentos simultâneos na região terminal do élitro do coespecífico (Fig. 1a). Também foi registrado o *passar por cima* e o *passar por baixo* do coespecífico.

### d) MANUTENÇÃO

Foram registradas duas atitudes comportamentais que tiveram como finalidade a manutenção do indivíduo. Na *limpeza de antenas* (Fig. 1b), o besouro apoiado nas pernas posteriores abaixava a cabeça cerca de 45° em relação ao

corpo, inclinava a cabeça para um dos lados, apoiava a antena no substrato, posicionava a primeira perna na região basal da antena e suspendendo a cabeça lentamente fazia com que toda a superfície da antena fosse atritada com a região ventral da perna. Ao finalizar a operação com uma antena, o mesmo padrão motor era repetido com a outra antena. A *alimentação* foi registrada através da ingestão do floco de farinha de milho. Apoiado nos dois pares de pernas medianos e posteriores, o besouro prendeu o floco de farinha de milho nas unhas do par anterior e direcionou o alimento para a região bucal, segurando o alimento até o término da ingestão.

#### e) CORTEJO

O cortejo foi caracterizado por três atos comportamentais. O *toque de cabeça* (Fig. 1c) consistiu em pressionar a cabeça inclinada para baixo (cerca de 15° em relação ao eixo corpo), em qualquer parte do corpo do coespecífico. A força exercida podia causar o seu deslocamento. Este ato podia ser repetido por diversas vezes durante a mesma interação. Esse padrão também foi observado em fêmeas durante o cortejo, parecendo estar relacionado com a sinalização de sua receptividade. O *agarrar ao contrário* foi realizado pelo macho ao subir sobre o dorso da fêmea, com a cabeça voltada para a parte posterior do seu corpo. As pernas anteriores, medianas e posteriores eram mantidas dobradas e em contato com a região ventral da fêmea. Durante o ato, a fêmea não entrou em acinesia. Já o padrão motor denominado de *agarrar* (Fig. 1d), constou do ato do besouro subir no dorso da fêmea, com o corpo posicionado para a mesma direção, permanecendo sobre ela. A região ventral de todas suas pernas (tíbia, metatarso e tarso) foram colocadas em contato com a região ventral do corpo da fêmea através do dobramento na região da patela. Este ato permitia ao besouro manter-se estável sobre a fêmea, uma vez que este posicionamento do corpo a impedia de se mover e motivou a entrada no estado de acinesia. Foi observado que em situações em que a fêmea estava mais agitada, aparentemente o macho exercia mais força no ato de agarrar. A duração média do cortejo foi de  $45,5 \pm 83,2$  seg ( $N = 121$ ; i.v. = 2 - 662), não diferindo nos experimentos avaliados. Nem todos os cortejos obtiveram êxito e culminaram em cópula.

#### f) PRÉ-CÓPULA

Foi registrado apenas um padrão motor durante a etapa que antecede a cópula. O *movimento rápido de antenas e pernas anteriores* foi realizado logo após o padrão motor agarrar. O macho sobre o dorso da fêmea, movimentou as antenas e as pernas anteriores alternadamente, por seguidas vezes, com a cabeça abaixada (cerca de 15° em relação ao eixo corpo), tocando-nas nas antenas, cabeça e tórax da fêmea. As pernas medianas e posteriores permaneciam dobradas em contato com a região ventral do corpo da fêmea. Após esse ato a fêmea entrava definitivamente no estado de acinesia.

#### g) CÓPULA

Durante a cópula, registrou-se três padrões motores exclusivos do macho. A cópula (Fig. 1e) iniciou com o macho curvando os últimos segmentos abdominais, expondo-os além do élitro e introduzindo o espermatóforo na região genital da fêmea. A transferência do espermatóforo durou em média 155,8 ± 200 seg (N = 102; i.v. = 2 - 1400), no entanto foi verificado que a duração difere de acordo com o *status* reprodutivo da fêmea e do macho e quanto à presença do heteroespecífico (H = 45,8; P < 0,001). Durante a transferência do espermatóforo a fêmea permanecia em acinesia enquanto o macho podia exibir o *movimento rápido de antenas e pernas anteriores* ou o *movimento lento de antenas*. Estando a fêmea em acinesia e o macho posicionado sobre o dorso, com a cabeça inclinada (cerca de 15° em relação ao eixo corpo), as antenas eram movimentadas alternadamente, porém com uma velocidade menor do que a registrada no movimento rápido de antenas e pernas anteriores. Nesse ato, as antenas tocavam a cabeça e/ou o tórax da fêmea.

#### h) PÓS-CÓPULA

Após o término da cópula foram registrados sete padrões motores. O *insistir*, em que o macho perseguia a fêmea pela placa, tentando agarrá-la, aparentemente com a finalidade de começar uma nova cópula, no entanto mais de uma cópula sequencial com um mesmo macho só foi registrada quando existiam dois machos na unidade experimental. A *movimentação* foi caracterizada por ambos circularem a placa em direções opo-

tas, sem contato físico. Foram registrados, ainda, o *toque de antenas no dorso*, *toque de antenas*, *toque de cabeça*, *alimentação* e *tentativa de escalada de parede*, todos registrados em comportamentos prévios, porém dentro de outros contextos.

#### i) AGONÍSTICO

O comportamento agonístico foi característico de interações de machos. Quando os machos encontravam-se distante da fêmea foi registrada a *simulação de cópula*. Neste padrão, o macho subiu sobre o dorso do invasor, exibindo os padrões motores *agarrar* e o *movimento rápido de antenas e pernas anteriores*, semelhantes como os registrados durante o cortejo e pré-cópula. Verificou-se, também, o ato de *agarrar intra-sexual* e o ato de *permanecer sobre o intra-sexual*, no qual o macho subiu sobre o dorso do invasor direcionando o corpo no mesmo sentido e permanecendo imóvel. Quando o invasor estava próximo à fêmea foi exibido o ato de se *aproximar do casal*, em que o macho caminhou na direção do casal e permaneceu próximo a eles, sem tocá-los. Na *interferência do cortejo*, o macho aproximou do invasor que estava exibindo padrões motores relativos ao cortejo e posicionou-se sob ele, estirando em seguida, as pernas simultaneamente, elevando o corpo e, conseqüentemente, deslocando-o e afastando-o da fêmea. Ao *subir sobre casal*, o macho subiu sobre o corpo do invasor, que por sua vez estava sobre a fêmea, durante a fase de pré-cópula ou de cópula e permaneceu sobre o mesmo interrompendo o ato que estava sendo executado. Ao *enfiar-se no meio do casal*, o macho se posicionou entre a fêmea e o macho invasor (em pré-cópula ou em cópula) deslocando-o. Em conseqüência desse ato, foi registrado o *levantar casal*, em que através da suspensão do corpo elevou o invasor afastando-o da fêmea. O *toque de cabeça no casal*, consistiu do ato de pressionar a cabeça na lateral do corpo do coespecífico na fase de pré-cópula ou de cópula (abaixada cerca de 15° em relação ao eixo do corpo). A força gerada podia causar o deslocamento do coespecífico e o ato podia ser repetido por diversas vezes, caso o macho não lograsse separar o casal. O ato de *derrubar casal* foi caracterizado pelo macho exercer pressão contra o casal (pré-cópula ou cópula) através do toque das pernas anteriores no corpo de um dos indivíduos ou

posicionando a cabeça e as pernas anteriores no corpo do invasor e exercendo força no sentido contrário, resultando na separação do casal e descida do invasor do dorso da fêmea. O *interromper cópula*, caracterizou-se pelo ato do macho através de qualquer um dos padrões anteriores interromper uma cópula que estava em andamento. O comportamento pós-cópula incluiu também a *proteção à fêmea*, caracterizado pelo ato do macho permanecer sobre a fêmea após o término da cópula, com a conotação de protegê-la do macho invasor. O *confronto* (Fig. 1f) entre os machos foi iniciado com encontro frontal dos machos seguido pelo contato da extremidade de ambas antenas, as quais eram movimentadas seqüencial e alternadamente e do toque das extremidades das pernas anteriores, as quais eram pressionadas umas contra as outras e cada macho exercendo força no sentido anterior, com a aparente conotação de medida de força. Neste padrão as cabeças permaneceram inclinadas (cerca de 15° em relação ao eixo do corpo). Este padrão foi realizado independente da distância que os machos estavam da fêmea sendo iniciada tanto pelo residente quanto pelo invasor.

#### j) AJUDA

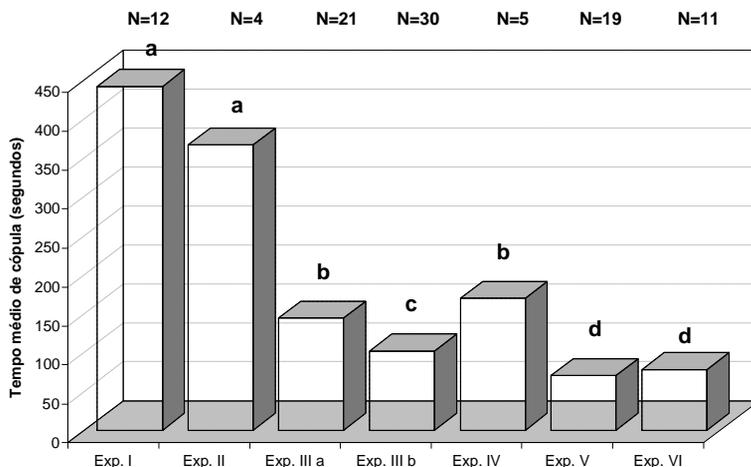
A *ajuda* foi um comportamento caracterizado por um padrão motor observado só nos machos. Caracterizou-se pelo ato de aproximar-se do indivíduo que se encontrava caído (virado com as pernas para cima apoiado nos élitros) em decorrência da tentativa de fuga, e com o auxílio das pernas anteriores exercer força sobre o corpo do coespecífico. O impulso permitiu ao besouro retornar à posição inicial. Este padrão foi exibido com intuito de auxiliar tanto fêmeas quanto machos a voltarem à posição original.

#### k) IMOBILIDADE

Padrão motor caracterizado pelo ato de permanecer imóvel por um determinado período não apresentando nenhuma interação com os demais indivíduos envolvidos. Pode estar inserido em vários comportamentos.

#### l) AGREGAÇÃO

Padrão motor exclusivo dos machos, no qual os indivíduos ficavam bem próximos, podendo inclusive a subir uns sobre os outros, permanecendo nesta posição por alguns minutos.



**Figura 2.** Duração média da cópula nos experimentos: I. Macho virgem com fêmea virgem; II. Macho experiente com fêmea virgem; III. Fêmea experiente com macho residente (a), fêmea experiente com macho invasor (b); IV. Macho experiente com duas fêmeas experientes; V. Macho e fêmea experiente na presença de *G. cornutus*; VI. Fêmea experiente na presença de cinco machos experientes. As médias foram comparadas através do teste Mann-Whitney, sendo as médias significativamente diferentes representadas por letras diferentes.

## ANÁLISE QUANTITATIVA DOS COMPORTAMENTOS

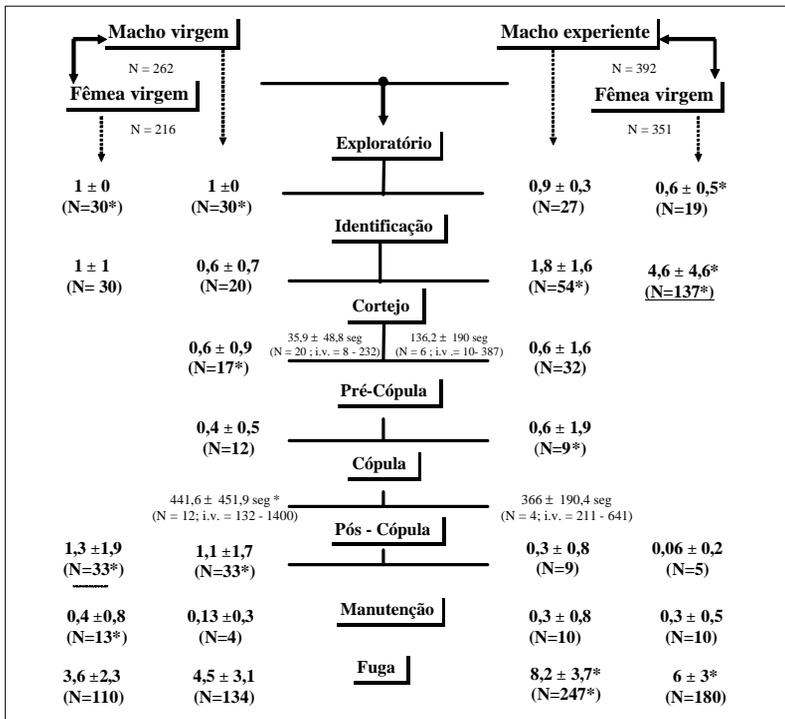
### Comparação entre machos e fêmeas

A frequência de exibição dos comportamentos não sexuais exploratório, manutenção, e fuga não foi representada por padrões predominantes ou exclusivos de cada sexo, estando os mesmos relacionados com as condições experimentais em que o casal foi submetido. Porém em todas as interações as fêmeas exibiram significativamente mais o comportamento de identificação do que os machos. A exibição de padrões motores durante o comportamento sexual (cortejo, pré-copulatório e cópula) e agonístico foram exclusivos ou predominantes (comportamento sexual) nos machos.

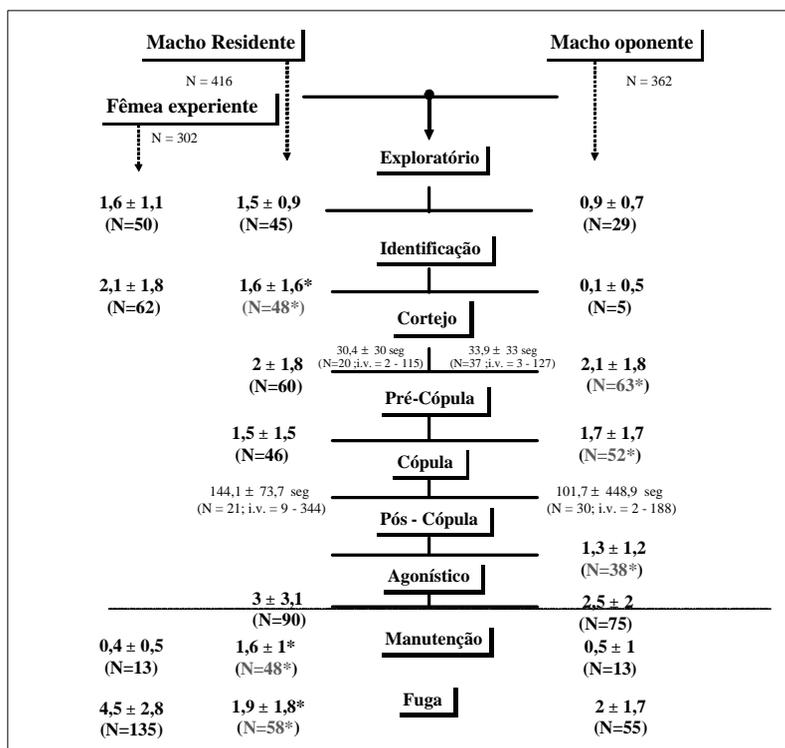
### Comparação entre fêmeas

A frequência de exibição dos comportamentos não sexuais das fêmeas virgens interagindo com machos virgens diferiu dos demais tratamentos, sendo característica a maior exi-

bição de padrões motores relacionados com a pós-cópula. Quando comparada com a fêmea virgem frente ao macho experiente ( $\chi^2_{(4)}=227$ ;  $P < 0,01$ ), exibiu também mais o comportamento exploratório e de manutenção, enquanto nesta prevaleceu a identificação (Figura 3). Para a fêmea experiente residente interagindo com macho experiente ( $\chi^2_{(4)}=161$ ;  $P < 0,01$ ), foi mais freqüente o comportamento exploratório, a fuga e a identificação (Figura 3 e 5) e para fêmea experiente invasora ( $\chi^2_{(4)}=79,2$ ;  $P < 0,01$ ) o exploratório, a identificação e a manutenção (Figura 3 e 5). A fêmea experiente frente a dois ( $\chi^2_{(4)}=478$ ;  $P < 0,01$ ) e cinco ( $\chi^2_{(4)}=64,2$ ;  $P < 0,01$ ) machos experientes exibiu mais o comportamento exploratório e a identificação (Fig. 3 e 4).



**Figura 3.** Freqüência dos comportamentos exibidos por machos e fêmeas em interações entre machos virgens e com fêmeas virgens (experimento I) e machos experientes com fêmeas virgens (Experimento II). Os valores representam o número total (N) de padrões motores registrados para cada sexo em cada interação e média ± desvio padrão (N = tamanho da amostra; i.v. = intervalo de variação). Tanto as médias quanto os valores absolutos foram comparados (entre machos e fêmeas) através do teste Mann-Whitney e qui-quadrado, respectivamente, sendo as maiores diferenças significativas acompanhadas do asterisco.

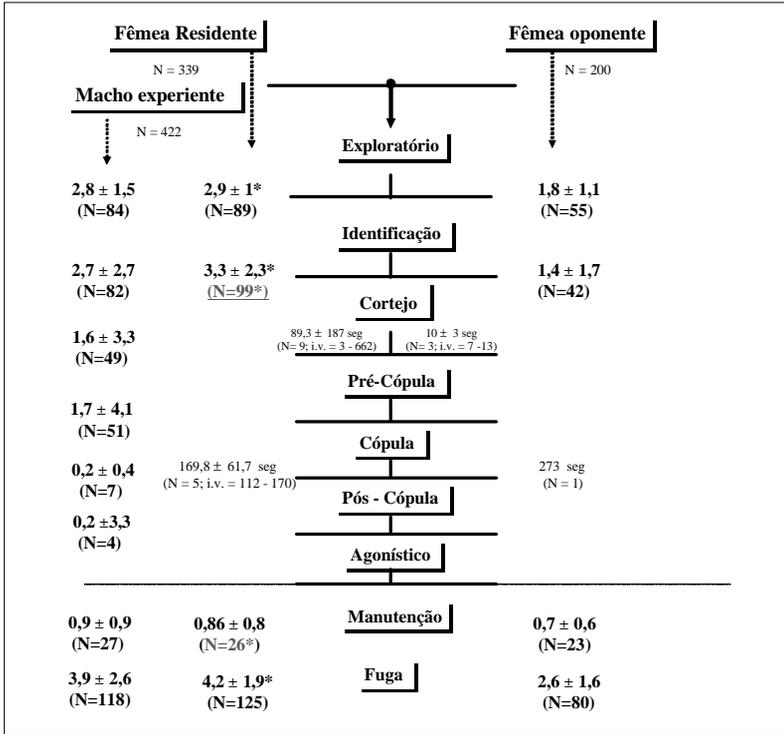


**Figura 4.** Frequência dos comportamentos exibidos por machos e fêmeas em interações entre fêmea experiente frente a dois machos (Experimento III). Os valores representam o número total (N) de padrões motores registrados para cada sexo em cada interação e média ± desvio padrão (N = tamanho da amostra; i.v. = intervalo de variação). Tanto as médias quanto os valores absolutos foram comparados (entre machos e fêmeas) através do teste Mann-Whitney e qui-quadrado, respectivamente, sendo as maiores diferenças significativas acompanhadas do asterisco.

O comportamento da fêmea também diferiu com o seu papel de residente ou invasora ( $\chi^2_{(4)} = 32,4$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 5), sendo o exploratório, a identificação e manutenção mais frequente na fêmea invasora enquanto a fuga prevaleceu na residente.

Não foi registrada diferença no comportamento exibido pela fêmea experiente interagindo com macho experiente na presença do *G. cornutus* e da fêmea virgem interagindo com macho virgem na ausência do *G. cornutus*. No entanto, houve diferenças no comportamento da fêmea experiente interagindo com macho experiente na ausência de *G. cornutus*

( $\chi^2_{(4)}=64,9$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 4 e 6), sendo neste caso mais frequente o exploratório e a identificação e na presença, os padrões motores exibidos na pós-cópula.

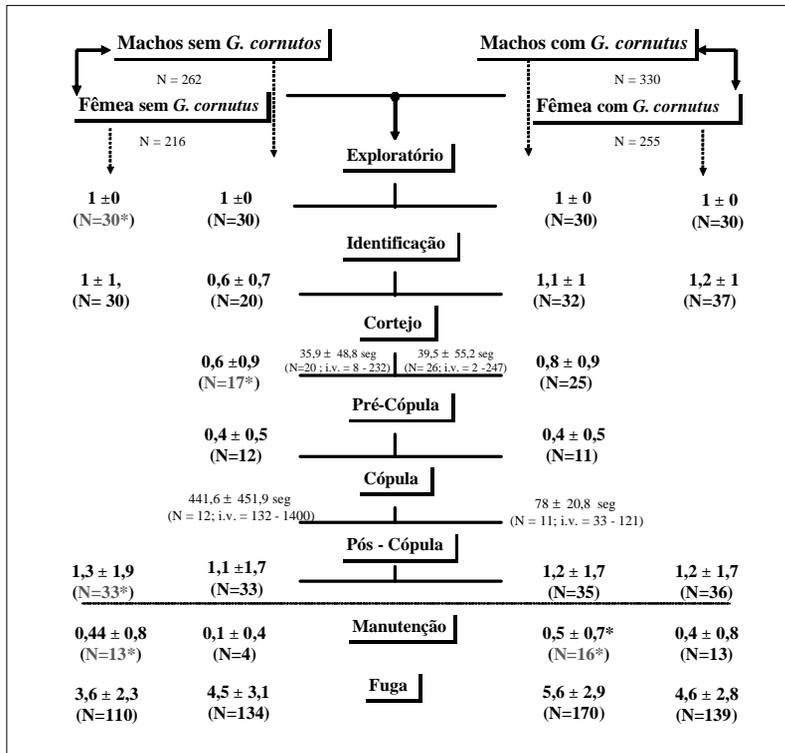


**Figura 5.** Frequência dos comportamentos exibidos por machos e fêmeas em interações entre macho experiente frente a duas fêmeas experientes (Experimento IV). Os valores representam o número total (N) de padrões motores registrados para cada sexo em cada interação e média ± desvio padrão (N = tamanho da amostra; i.v. = intervalo de variação). Tanto as médias quanto os valores absolutos foram comparados (entre machos e fêmeas) através do teste Mann-Whitney e qui-quadrado, respectivamente, sendo as maiores diferenças significativas acompanhadas do asterisco.

### Comparação entre machos

A frequência de exibição dos comportamentos sexuais e não sexuais dos machos virgens interagindo com fêmeas virgens diferiu dos demais experimentos, predominando a exibição dos padrões motores relativos a fase de pós-cópula, o comportamento de fuga e maior duração da cópula. A interação entre macho virgem e fêmea virgem ( $\chi^2_{(6)}=107$ ;  $P < 0,01$ ), resultou em maior

frequência do comportamento exploratório, pré-cópula, o número de cópulas e a pós-cópula do que machos experientes com fêmeas virgens, no qual prevaleceu a fuga e a identificação (Fig. 2). A duração da cópula não diferiu com o *status* reprodutivo do macho (Figura 6). O macho experiente com fêmea experiente ( $\chi^2_{(6)}=655$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 2-4), exibiu mais a identificação, manutenção e cortejo (Figura 6). Já o macho invasor ( $\chi^2_{(6)}=329,9$ ;  $P < 0,01$ ), exibiu mais a manutenção, o cortejo, o pós-copulatório e o número de cópulas. Nas interações entre macho experiente e duas fêmeas experientes ( $\chi^2_{(6)}=317,5$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 2 e 4),



**Figura 6.** Frequência dos comportamentos exibidos por machos e fêmeas em interações na presença e na ausência do hetero-específico (Experimento VI). Os valores representam o número total (N) de padrões motores registrados para cada sexo em cada interação e média ± desvio padrão (N = tamanho da amostra; i.v. = intervalo de variação). Tanto as médias quanto os valores absolutos foram comparados (entre machos e fêmeas) através do teste Mann-Whitney e qui-quadrado, respectivamente, sendo as maiores diferenças significativas acompanhadas do asterisco.

prevaleceu o comportamento exploratório, a identificação, a manutenção, cortejo e a pré-cópula. O macho experiente interagindo com fêmea experiente ( $\chi^2_{(6)}=597,3$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 2 e 4), exibiu mais o exploratório, manutenção, cortejo, pré-cópula e número de cópulas.

O comportamento do macho residente diferiu do comportamento do macho invasor ( $\chi^2_{(7)}=419,4$ ;  $P < 0,01$ ) sendo a identificação e manutenção mais frequentes no residente e a pré-cópula, números de cópulas e pós-copulatório mais frequentes no invasor (Fig. 3). Na presença de dois machos, a fêmea copulou com ambos 14 vezes (47%) e duas vezes com o mesmo macho (23%) ( $N = 7$ ). A duração média da primeira cópula da fêmea foi de  $124 \pm 73,5$  seg ( $N = 32$ ; i.v. = 9 – 344) e da segunda cópula foi de  $111,1 \pm 41,6$  seg ( $N = 8$ ; i.v. = 2 – 188). Essa diferença não foi significativa. Já a duração da primeira cópula do macho foi de  $74,8 \pm 62,2$  seg ( $N = 8$ ; i. v. = 2 – 174) e a segunda cópula durou  $116,5 \pm 75,6$  seg ( $N = 8$ ; i.v. = 2 – 273), essa diferença também não foi significativa.

Em situações favoráveis à poliandria (presença de mais de uma fêmea) ( $\chi^2_{(7)}=408$ ;  $P < 0,01$ ), foram registrados mais comportamento exploratório, identificação, cortejo e pós-copulatório do que nos machos virgens (presença de apenas uma fêmea). Porém o número de cópulas foi menor. A presença de cinco e dois machos também refletiu na frequência dos comportamentos ( $\chi^2_{(7)}=797$ ;  $P < 0,01$ ), prevalecendo exploratório, identificação, cortejo com cinco machos e fuga, manutenção, agonístico e pós-copulatório com dois machos.

O comportamento dos machos e fêmeas virgens na ausência do *G. cornutus* diferiu do comportamento dos machos e fêmeas experientes na presença do *G. cornutus* ( $\chi^2_{(6)}=29,6$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 5), sendo a manutenção mais frequente na presença do *G. cornutus*. O comportamento dos machos e fêmeas experientes na ausência do *G. cornutus* também diferiu do comportamento de machos experientes interagindo com fêmea experiente na presença do *G. cornutus* ( $\chi^2_{(6)}=364$ ;  $P < 0,01$ ) (Fig. 3 e 5), sendo o comportamento exploratório, de identificação, manutenção, cortejo e pré-cópula mais frequentes na ausência e a fuga e pós-copulatório na presença do hetero-específico. A duração da cópula foi significativamente maior na ausência do *G. cornutus* (Fig. 6).

## DISCUSSÃO

No presente estudo, foram constatadas diferenças entre os comportamentos exibidos por machos e fêmeas, de acordo com o *status* reprodutivo, número de animais e com ausência/ presença de coleópteros heteroespecíficos coexistentes, corroborando a premissa de que os comportamentos exibidos durante interações sexuais podem ser utilizados como ferramentas ou subsídios para compreensão dos mecanismos evolutivos como poliandria, competição espermática e cópulas múltiplas.

A maior frequência da identificação em fêmeas pode evidenciar que a sua presença prévia na placa e a entrada do macho desencadearam a exibição de comportamentos relacionados com a identificação do intruso, o qual poderia ou não, estimulá-la para a cópula, uma vez que esse comportamento predominou nas fêmeas tanto em interações com muitas quanto com poucas cópulas. CONNER (1989) registrou que em fêmeas de *Bolitotherus cornutus* Panzer, 1794 (Coleoptera; Tenebrionidae) a receptividade é primordial para a realização da cópula. Porém, para *T. molitor*, as cópulas foram registradas mesmo em fêmeas que apresentaram altas frequências do comportamento de fuga. Segundo WORDEN & PARKER (2000), fêmeas de *T. molitor* que copulam repetidas vezes com machos distintos produzem mais ovos do que aquelas que copulam repetidas vezes com o mesmo macho. Os dados do presente estudo corroboram esse mecanismo, evidenciando que as fêmeas estão mais receptivas às cópulas seguidas na presença de machos distintos, sendo nessa situação experimental, a cópula mais frequente com dois machos diferentes. Deve-se considerar que a fêmea apresenta um período de latência entre cópulas sucessivas, que pode ser fundamental para estimular a sua receptividade e o cortejo do macho. Segundo GAGE (1992), as fêmeas estão aptas a aceitar uma nova cópula após 30 min e WORDEN & PARKER (2000), em seus experimentos de cópulas múltiplas, formavam um novo casal somente após 1h. No entanto, nos experimentos do presente estudo, com mais de um macho, foram registradas cópulas sequenciais após poucos minutos do término da primeira cópula, evidenciando que a presença de dois machos é um estímulo mais relevante para realização da cópula do que o período de latência.

O sistema poligâmico e as cópulas múltiplas foram verificados nas interações em que a fêmea na presença de dois machos copulou com machos distintos em 47% das interações e com o mesmo macho em 23%. GAGE (1992) afirmou que as fêmeas de *T. molitor* são altamente poliândricas, e podem copular com outro par imediatamente após uma cópula. Além do inerente benefício de cópulas múltiplas relacionadas ao aumento de fecundidade tais como a redução da possibilidade de copular com um macho infértil (WORDEN & PARKER, 2000). Para ARNQVIST & NILSSON (2000), a cópula por si só possui custos ecológicos para as fêmeas como gasto de tempo e energia, risco de predação, injúria e infecção por parasitas. Entretanto, segundo os autores, as cópulas múltiplas são necessárias para estimular a produção de ovos, além de proporcionar os benefícios materiais, pois um grande número de substâncias acessórias são transferidas juntamente com a ejaculação, e estas substâncias produzem efeitos no comportamento reprodutivo das fêmeas, tornando-as mais férteis.

Comparando os comportamentos exibidos pelas fêmeas, observa-se que as fêmeas virgens apresentaram mais comportamentos relativos ao pós-copulatório. Por se tratar de fêmeas com no mínimo três dias de emergência, com altas taxas de liberação de feromônios, provavelmente houve o estímulo para a realização de novas cópulas. Uma vez que, HAPP & WHEELER (1969) observaram que a fêmea elimina pouco feromônio após a realização da muda de emergência, porém a emissão é intensificada após cinco dias, o que coincide com a idade das fêmeas utilizadas no presente estudo.

O fato do macho apresentar, na maioria das interações, maior frequência do comportamento exploratório do que a fêmea denota, provavelmente, que detectou a sua presença, mesmo antes do contato físico. A utilização de feromônios por essa espécie é tão forte que segundo HAPP (1970), a maturação do macho ocorre em paralelo com a da fêmea, regulada com sua emissão de feromônios. Segundo o autor, a cópula ocorre cerca de quatro dias depois da muda de emergência.

O fato do número de cópulas entre machos e fêmeas virgens (Experimento I) ser maior do que entre machos e fêmeas experientes (experimento IV) pode evidenciar que machos são mais atraídos pelas virgens. ARNAULD & HAUBRUGE

(1998) registraram que os machos do coleoptera *Tribolium castaneum* (Herbst) 1797, são hábeis em diferenciar fêmeas virgens de experientes, e preferem copular com as virgens. No entanto, deve-se considerar que no presente estudo apesar do número de cópulas ter sido maior com a fêmea virgem, o maior número de atos comportamentais referentes ao cortejo e pré-cópula foram exibidos para fêmea experiente.

A duração da cópula com a fêmea virgem, sendo significativamente maior do que com as experientes, levanta a suposição que o macho permaneça em postura de cópula durante um tempo maior assegurando a liberação do esperma do espermatóforo. Este período, segundo GAGE (1992) ocorre após 4 min, porém DRNEVICH (2003) registrou um período entre 7 e 10 minutos depois da cópula, sendo que o término da estocagem leva várias horas e a ejeção do espermatóforo vazio se dá apenas depois de 4h, podendo também ser absorvido pela fêmea. WORDEN & PARKER (2000) registram que a cópula dura de 45 seg a 2 min, logo, a duração máxima de até 23 min em postura de cópula registrada com fêmeas virgens contra até 5 min com fêmeas experientes, reforçam essa suposição.

Os resultados obtidos na comparação entre o comportamento de machos virgens e experientes, ambos frente a fêmeas virgens (Experimento I e II) evidenciaram que os machos possuem diferentes estratégias sexuais. Provavelmente, o macho virgem dependa de um certo número de cópulas para ajustar os comportamentos. Desta forma, apesar de ter suprimido algumas fases do comportamento sexual, como a identificação, obteve mais sucesso em relação ao número de cópulas. Entretanto, CONNER (1989), para *B. cornutus* relatou que fêmeas são mais receptivas a machos experientes, uma vez que machos recém emergidos podem ainda não ter o espermatóforo amadurecido.

Machos que foram expostos à presença de outro macho, apresentaram mais comportamentos pós-copulatórios, incluindo o padrão motor de proteção à fêmea. Este dado corrobora com GAGE (1992), que afirma que quando a densidade de machos é alta, normalmente o pós-copulatório é composto pela "guarda" da fêmea, no intuito de impedir uma nova cópula, e conseqüentemente a remoção de esperma precedente.

Os mesmos padrões do comportamento agonístico registrados para *T. molitor*, o qual foi caracterizado por três ti-

pos de interações: a proteção à fêmea, a interferência direta do cortejo ou cópula e o confronto físico entre os machos, foram também ressaltados por PALOMINO et al. (1994). Os autores registraram que em grupos onde o número de fêmeas de *T. molitor* é maior que o número de machos, ocorrem mais eventos de competição intra-sexual, em relação a grupos com razão sexual de 1:1. No entanto, no presente estudo, na presença de uma única fêmea e dois machos foi possível quantificar esses atos comportamentais (13 no residente e 10 no invasor) e verificar que quando a proteção e interrupção direta do cortejo e da cópula com entrada no meio do casal ou mesmo derrubando do casal não foi suficiente, houve o confronto. Nesse confronto, foi verificado que há um teste de força que pode ser importante na sequência da interação. GAGE (1992), registra que o pênis do *T. molitor* tem espinhos que servem tanto para permanecer aderido à fêmea durante a passagem do espermatóforo, quanto para retirada do esperma do macho precedente. Logo, o comportamento pós-copulatório está diretamente relacionado com a densidade populacional. Quando é baixa a probabilidade de um outro macho retirar o seu esperma, ele permanece pouco tempo sobre a fêmea e vai em procura de novas cópulas. Os dados do presente estudo evidenciam, ao contrário, que em baixas densidades, atos comportamentais agressivos de tentativas de interrupção de cópulas ocorreram em igual proporção entre machos residentes e invasores, embora o número de cópula tenha sido maior nos invasores. Deve-se considerar, que apesar da guarda da fêmea não ter sido eficaz, a duração da cópula foi maior no residente, reforçando a importância das tentativas de atrapalhar a cópula do invasor e assim permitir a absorção do seu esperma.

Nas interações que contaram com a presença de *G. cornutus* verificou-se uma diferença significativa no que diz respeito à duração das cópulas. Sendo que na presença do hetero-específico, a duração foi significativamente menor. Esse resultado leva a suposição de que a diminuição nas populações de *T. molitor* na presença de *G. cornutus* (obs. pes.) pode se dar tanto pelas relações tróficas quanto pela diminuição na duração da cópula, resultante do *stress* causado pela presença do hetero-específico. A duração da cópula pode comprometer o potencial reprodutivo, uma vez que pode haver falha na pas-

sagem de esperma pelo espermatóforo, ou passar uma quantidade inviável de esperma, ou ainda cópulas únicas podem, ocasionalmente, ser insuficientes para estimular as fêmeas a produzir ovos (WORDEN & PARKER, 2000). A análise comportamental evidencia que a presença do hetero-específico foi mais relevante para o macho, uma vez que ele apresentou mais padrões motores relacionados à fuga e ao pós-copulatório, podendo sugerir uma condição estresse.

A análise do comportamento sexual de *T. molitor* é uma importante ferramenta na interpretação dos aspectos evolutivos, em que principalmente a competição espermática tem representado a maior força na evolução da fisiologia reprodutiva, comportamento e morfologia deste animal (GAGE, 1992). Confirmando essa premissa foi verificado padrões motores diferenciais em machos e fêmeas e, ainda, de acordo com o *status* reprodutivo e densidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNAUD, L. & E. HAUBRUGE. 1998. Mating behavior and mate choice in *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae). **Behavior** **136**(1): 67-77.
- ARNQVIST, G. & T. NILSSON. 2000. The evolution of polyandry multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behavior**, **60**: 145-164.
- BAKER, R.R. & M.A. BELLIS. 1988. Number of sperm in human ejaculates varies in accordance with sperm competition theory. **Animal Behavior** **37**: 867-869.
- BHATTACHARYA, A.K. 1970. A method for sexing living pupal and adult Yellow Mealworms. **Annals of the Entomological Society of America** **63**(6): 1783.
- CONNER, J. 1989. Older males have higher insemination success in beetle. **Animal Behavior**, **38**: 503-509.
- DRNEVICH, J.M. 2003. Number of mating males and mating interval affect last male sperm precedence in *Tenebrio molitor* L. **Animal Behavior** **66**: 349-357.
- GAGE, M. J.G. 1992. Removal of rival sperm during copulation in a beetle, *Tenebrio molitor*. **Animal Behavior** **44**: 587-589.
- HAPP, G. M. 1970. Maturation of the response of male *Tenebrio molitor* to the female sex pheromone. **Annals of the Entomological Society of America** **63**(6): 1784.
- HAPP, G. M. & F.G. WHEELER. 1969. Multiple sex pheromones of the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. **Nature** **222**: 180- 181.
- HELZER, G. 1989. The good parent process of sexual selection. **Animal Behavior** **38**: 1067-1078.
- PAI, A. & G. IAN. 2002. Polyandry produces sexy sons at the cost of daughters in red flour beetles. **Proceedings of the Royal Society of London, - Series B: - Biological - Sciences** **269**(1489): 361-368.
- PALOMINO, J.; M. RODRIGUES, & D. CUERDA, 1994. Copulation behavior

and sperm competition in *Tenebrio molitor*. **Etologia** **4**: 19-26.

QAZI, M.C.B. 2003. A potential mechanism for cryptic female choice in a flour beetle. **Journal of Evolutionary Biology** **16**(1): 170-176.

TAKAMI, Y. 2002. Mating behavior, insemination and sperm transfer in the ground beetle *Carabus insulicola*. **Zoological Science** **19**: 1067-1073.

TRUMBO, S.T. 1994. Beyond monogamy: territory quality influences sexual advertisement in male burying beetles. **Animal Behavior**, **48**:1043-1047.

VARGAS, C.H.B. & A.A. ALMEIDA. 1992. Influencia da temperatura no desenvolvimento de *Gnathocerus cornutus* (Coleóptera, Tenebrionidae). I. Fases Imaturas. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba **21**:149-159.

WORDEN B.D. & P.G. PARKER. 2000. Polyandry in grain beetles, *Tenebrio molitor*, leads to greater reproductive success: material or genetic benefits? **Behavioral Ecology** **12**: 761-767.

Recebido: 22/06/04

Aceito: 31/03/05