

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

Presentes nupciais em *Paratrechalea ornata* Carico, 2005 (Araneae,
Trechaleidae): Quais os canais de sinalização reconhecidos pelas fêmeas no
contexto pré-copulatório?

Pedro Erê Disconzi Brum

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito
para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Aldo Mellender de Araújo

Co-Orientador: Luiz Ernesto Costa Schmidt

Porto Alegre
março de 2011

INSTITUIÇÃO EXECUTORA:

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Departamento de Genética e Biologia Molecular

Laboratório de Genética Ecológica

Núcleo de Aracnologia

INSTITUIÇÕES COLABORADORAS:

Universidade de São Paulo

Departamento de Ecologia

Laboratório de Comportamento e Evolução de Artrópodos

Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Montevideo, Uruguay)

Laboratorio de Ecología, Etología y Evolución

AGENTE FINANCIADOR:

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ

Agradecimentos

Inicio fazendo um agradecimento geral a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para meu desenvolvimento no âmbito acadêmico e pessoal, do(a) funcionário(a) que trabalha para manter um ambiente adequado de estudo aos colegas, professores, amigos “extra-classe” ou mesmo desconhecidos com quem tive a oportunidade de trocar e formar ideias. Enfim, a todos que de alguma maneira tenham influenciado essa caminhada que percorri e sigo trilhando pelos caminhos fascinantes, repletos de curvas e bifurcações, do fazer científico.

Não poderia deixar de citar algumas pessoas que tiveram uma participação especial, direta ou indireta, no desenvolvimento da minha pesquisa, que culminou na elaboração desta dissertação.

Um agradecimento muito especial provavelmente seria pouco para resumir tudo o que eu gostaria de exprimir para três “personas muy especiales”: minha mãe Bete, meu pai Júlio e minha irmã Maíra, cada um deles com seu jeito tão especial de ser. Dizer que são os meus “exemplos de vida” seria incompleto, pois na verdade para mim são referências através das quais pude moldar muito do que sou e do que penso hoje. A eles meu carinho e admiração.

À minha grande companheira Marina, pelo amor, confiança e pelos momentos únicos que vivemos juntos nestes últimos anos. Certamente cresci muito neste convívio onde partilhamos nossas alegrias, tristezas e visões de mundo. A ela agradeço enormemente por todo o apoio, carinho e companheirismo.

Aos grandes amigos Martin, Caco, Nascimento, Póti, Fischer, Jonas, Romy, Pilau, Iana e Anna, por fazerem parte da minha historia e pela amizade verdadeira que teima em resistir ao tempo.

Aos “Apóstrofes” Lucas e Marcelo por fazerem da música e da poesia um ponto de convergência da onde florescem novas amizades.

À Cida e ao Sérgio pelo acolhimento e bons momentos de convívio.

Ao meu orientador Aldo Mellender de Araújo, pela orientação, disponibilidade, por acreditar no projeto e ter a mente sempre aberta para discutir novas ideias.

Ao co-orientador e amigo, Luiz Ernesto Costa Schmidt, uma pessoa que sempre me contagiou com seu fascínio e dedicação pela linha de pesquisa e com a qual aprendi muito. Sem seu incentivo e participação ativa, a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao amigo e ex-colega Lucas Caetano Tieppo da Silveira, que foi essencial para meu ingresso tanto no Núcleo de Aracnologia como no mestrado da Genética. Uma pessoa aberta à discussão e troca de ideias.

Aos colegas “borboletólogos” do laboratório de Genética Ecológica: André, Janaína, Ana, Mariana, Bruna, Marcelo e Michelle por ajudarem a construir um ambiente de trabalho descontraído e pela parceria dentro e fora “das paredes do laboratório”.

Ao Elmo Cardoso e à Ellen Mezzeck, pelo profissionalismo e competência atuando na secretaria do PPG – Genética e Biologia Molecular / UFRGS e pela disponibilidade em ajudar sempre que possível, tornando mais tranquilos estes dois anos de desenvolvimento do projeto.

Aos colegas pesquisadores do *Laboratorio de Etología, Ecología e Evolución* do Instituto de *Investigaciones Biológicas Clemente Estable* (Montevideo) pelo acolhimento caloroso, em especial a Fernando Costa e Luciana Baruffaldi pelas oportunidades de aprendizado.

Aos colegas do Laboratório de Comportamento e Evolução de Artrópodos do Departamento de Ecologia da USP, em especial ao professor Glauco Machado, pelas valiosas sugestões feitas ao trabalho.

Por fim, gostaria de agradecer a comunidade de Barra do Ouro, em especial a “Dona” Leonira e ao “Seu” Mathias, pela acolhida, que certamente fazem das idas a campo um evento mais prazeroso.

Sumário

RESUMO	7
ABSTRACT	8
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO GERAL	9
1.1 SISTEMA DE ESTUDO.....	9
1.2 PRESENTES NUPCIAIS.....	11
1.3 CANAIS DE SINALIZAÇÃO ATUANTES NO CONTEXTO REPRODUTIVO.....	12
1.4 OBJETIVOS.....	13
CAPÍTULO 2. IT IS ALL ABOUT TASTE: NUPTIAL GIFT ACCEPTANCE IS MEDIATED BY CHEMICAL SIGNALS IN <i>PARATRECHALEA ORNATA</i> (ARANEAE, TRECHALEIDAE)	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUCTION.....	16
MATERIAL AND METHODS.....	17
<i>Experimental procedures</i>	18
<i>First experiment: visual identification of artificial gifts</i>	18
<i>Second experiment: silk manipulation using artificial gifts</i>	18
<i>Third experiment: modulation of NG chemical signal</i>	19
<i>Fourth experiment: chemical signal transferring to inedible items</i>	20
RESULTS.....	21
<i>First experiment: visual identification of artificial gifts</i>	21
<i>Second experiment: silk manipulation using artificial gifts</i>	21
<i>Third experiment: modulation of NG chemical signal</i>	21
<i>Fourth experiment: chemical signal transferring to inedible items</i>	22
DISCUSSION.....	22
<i>Influence of visual and tactile channel over female grasping behavior</i>	22
<i>Location within nuptial gift and first suggestion of chemical signalling</i>	22
<i>Apolar nature of chemical signal and relation with <i>Paratrechelea ornata</i> life habits</i>	23
<i>Evidence for attractive chemical signal within nuptial gift silk</i>	23
<i>Concluding remarks</i>	24
ACKNOWLEDGMENTS.....	25
REFERENCES.....	25
FIGURES.....	27
CAPÍTULO 3. DISCUSSÃO GERAL	30
3.1 ASPECTOS COMPORTAMENTAIS E EVOLUTIVOS ENVOLVIDOS NA SINALIZAÇÃO DO PRESENTE NUPCIAL EM <i>PARATRECHALEA ORNATA</i>	30

<i>Comunicação multimodal</i>	30
<i>Hipótese da doação simbólica</i>	31
<i>Reconhecimento interespecífico através de sinais químicos contidos no presente nupcial</i>	33
<i>Avaliação da qualidade de potenciais parceiros através de sinais químicos contidos no PN</i>	33
<i>Exploração sensorial da motivação de forrageamento</i>	34
3.2 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

Resumo

A Ordem Araneae é notória por conter uma grande variedade de formas e hábitos, dentre os quais destaco as aranhas semi-aquáticas do gênero *Paratrechalea* Carico, 2005, cujo macho confecciona, a partir de uma presa capturada e envolta em seda, um presente nupcial que é apresentado à fêmea durante o cortejo pré-couplatório. Estudos recentes indicam que este comportamento, em aranhas, representa um esforço de acasalamento por parte do macho, possivelmente atuando através do mecanismo de motivação de forrageamento. Entretanto pouca atenção foi dada à natureza dos estímulos responsáveis por influenciar a aceitação das fêmeas. No presente estudo, os canais de atuação visual, táctil e químicos foram isolados em uma série de experimentos independentes através da manipulação de diversos aspectos do presente nupcial, utilizando a aranha *P. ornata* (Mello-Leitão, 1943) como modelo de estudo. Os sinais visuais e tácteis, quando testados isoladamente, não parecem induzir a aceitação do presente nupcial por parte das fêmeas, enquanto que sinais químicos influenciaram de maneira significativa a decisão das mesmas. Experimentos comparando a aceitação de presentes artificiais envoltos em seda obtida diretamente dos presentes nupciais ou com seda retirada das fiandeiras de machos anestesiados nos permitiu identificar a seda como componente do presente que contém o sinal atrativo. Através do teste da influência de diferentes solventes sobre a atratividade do presente nupcial foi possível evidenciar a natureza apolar do sinal químico atrativo. A partir dos resultados apresentados são discutidas hipóteses evolutivas e comportamentais relacionadas à atuação do canal de sinalização químico atuante nos presentes nupciais.

Abstract

The Order Araneae is widely known for having a great variety both in terms of morphology and behavior, from which I highlight the genus *Paratrechalea* Carico, 2005, whose males construct a nuptial gift from a prey wrapped in silk that is offered to the female during courtship. Recent studies indicate that this gift-giving behavior in spiders represents a male mating effort, possibly acting through a mechanism of foraging motivation. However, little attention was given to the nature of the stimuli responsible for inducing female acceptance. In the present work, visual, tactile and chemical channels were isolated in a series of independent experiments through manipulation of different aspects of the nuptial gift, using *P. ornata* (Mello-Leitão, 1943) as a study model. The visual and tactile signal alone do not induced female acceptance while chemical signals did influenced female decision. Experiments comparing the acceptance of artificial gifts wrapped with nuptial gift silk or with silk obtained from anesthetized males allowed us to identify the silk portion as the specific location of the attractive signal. Testing the influence of different solvents over the attractiveness of the nuptial gift we showed that the chemical signal have an apolar nature. The results presented here are discussed under an evolutionary and behavioral framework related to the action of chemical signaling within the nuptial gift.

Capítulo 1

Introdução Geral

A ordem Araneae constitui um grupo megadiverso, composto por 42.055 espécies descritas, distribuídas em 3.821 gêneros (Platnick 2010). Esta alta diversidade acaba por se refletir na presença de uma grande variedade de estratégias adaptativas, moldadas a partir de um hábito predador terrestre. Dentro da ordem podemos encontrar desde espécies solitárias, que não exibem cuidado parental, até espécies com hábitos sociais (quasisociais) que criam sua prole em ninhos comunais, otimizando gastos energéticos com cuidado parental e captura de presas (Aviles, 1997). Dentro da fauna riograndense, destaco as aranhas de hábitos semi-aquáticos pertencentes ao gênero *Paratrechalea*.

Segundo Gaskett (2007), as aranhas e seus sistemas de acasalamento são objetos de estudos muito úteis para se investigar questões de interesse amplo como seleção sexual, escolha de parceiro pré e pós-copulatória, estratégias de acasalamento, conflito sexual, entre outras, de tal forma que conclusões retiradas destes estudos podem ser extrapoladas para outros grupos, mas dependem de um entendimento preciso das interações sexuais das espécies utilizadas como modelo.

1.1 Sistema de estudo

Paratrechalea ornata é uma espécie de aranha de hábitos semi-aquáticos, que vive associada a cursos d'água (Fig. 1), ocupando diferencialmente os micro-habitats nele contidos (vegetação ripária, seixos na beira e dentro do rio) de acordo com o estágio de vida em que se encontra (Carico, 2005).

Uma característica notória desta espécie reside no fato dos machos oferecerem um presente nupcial às fêmeas como estratégia reprodutiva. Para muitas populações o oferecimento do presente nupcial durante o cortejo pré-copulatório é determinante para o aceite das fêmeas (Costa-Schmidt *et al.* 2008), muito embora este não seja um padrão intrínseco para a espécie (Albo *et al.* 2009). O papel do presente nupcial parece estar diretamente associado ao controle do macho sobre o processo copulatório (Albo & Costa 2010), além de servir como um potencial veículo de comunicação sísmica intersexual (Costa-Schmidt *et al.* 2008).

O processo de construção do presente nupcial em *Paratrechalea* é bastante estereotipado. O macho confecciona o presente a partir de uma presa capturada, que é



Fig. 1. Habitat típico de ocorrência de *Paratrechalea ornata* na região nordeste do estado do Rio Grande de Sul (Maquiné, RS). Foto: Luiz Ernesto Costa Schmidt.

enrolada em seda, formando um pacote de dimensões aproximadamente esféricas, que é carregado nas quelíceras enquanto o macho realiza atividade de deslocamento à procura de fêmeas (Fig. 2). O contato com fêmeas ou com a seda por elas produzidas é um estímulo determinante para o macho decidir se uma presa capturada deverá ser ingerida ou destinada à confecção do presente nupcial (Albo *et al.* 2009).



Fig. 2. Macho de *Paratrechalea* segurando presente nupcial nas quelícera. Foto: Luiz Ernesto Costa Schmidt.

1.2 Presentes nupciais

Presentes Nupciais (PN) podem ser definidos como doações materiais transferidas de machos para fêmeas durante o cortejo reprodutivo (Gwynne, 2008). É uma estratégia reprodutiva bastante difundida e também uma importante fonte de estudo para seleção sexual em artrópodos. Existem várias hipóteses não excludentes que visam explicar o surgimento e manutenção do comportamento de doação de presentes, como esforço de acasalamento, investimento paterno e exploração sensorial (veja Vahed, 1998, 2007 e Gwynne 2008 para revisões sobre o assunto). Para aranhas, os registros melhor documentados e analisados são referentes a duas famílias filogeneticamente próximas, Trechaleidae e Pisauridae (Austad & Thornhill 1986; Nitzsche 1988; Costa-Schmidt *et al.* 2008; Lapinski & Tschapka 2009; Silva & Lise 2009), com alguns registros para outras famílias (Pholcidae: Huber 1997; Lycosidae: Aisenberg *et al.* 2007; Theridiidae: Uetz *et al.* 2010; Cobbold and Su 2010).

Dentro do contexto do papel da seleção sexual sobre a evolução dos PN em aranhas, várias hipóteses já foram investigadas, como a influência dos benefícios diretos deste oferecimento na prole (Lang 1996), até algumas hipóteses relacionadas ao mecanismo de ação dos PN sobre a receptividade das fêmeas, das quais podem ser destacadas a exploração sensorial do instinto materno (Stalhandske 2002) e a motivação

de forrageamento (Bilde *et al.* 2007), entretanto pouca atenção foi dada a natureza do estímulo responsável por desencadear a aceitação por parte das fêmeas.

1.3 Canais de sinalização atuantes no contexto reprodutivo

Animais se comunicam utilizando todos os recursos que possuem e percebem sinais com todas as suas faculdades disponíveis (visão, audição, quimiorrecepção, etc.) Para melhor entendermos a comunicação entre indivíduos devemos averiguar quais os canais de sinalização atuantes em diferentes contextos (Partan & Marler 2005).

Dentro do contexto reprodutivo existe uma forte seleção sobre a emissão, recepção e tradução destes diferentes sinais, pois problemas em qualquer uma destas etapas podem comprometer a eficiência do processo, que pode estar relacionada à localização, atração e avaliação de potenciais parceiros (Gaskett, 2007). Um macho, por exemplo, deve ter sucesso não somente em localizar e identificar uma fêmea pertencente à mesma espécie como também avaliar a sua receptividade, pois os gastos em energia e tempo requeridos para o cortejo de uma fêmea heteroespecífica ou “não-receptiva” podem afetar profundamente a aptidão do indivíduo. A sinalização intra-específica também possibilita que a fêmea acesse características de interesse nos machos, através das quais ela possa orientar sua decisão de escolha de parceiros. O surgimento e a manutenção de tais preferências fazem com que exista uma forte seleção sexual atuando sobre os caracteres envolvidos na sinalização em contexto reprodutivo.

Diferentes canais de sinalização podem ser responsáveis pelo desencadeamento de respostas comportamentais/fisiológicas específicas, havendo uma pressão seletiva para a co-evolução entre emissor (indivíduo que produz e emite o sinal) e receptor (indivíduo que percebe e traduz o sinal) (Maynard-Smith & Harper, 2003). Em aranhas, vários canais de comunicação já se mostraram importantes no contexto reprodutivo, entre eles destaque o canal tátil/vibratório (Hovner & Barth 1981; Scheffer *et al.* 1996; Hebets 2008); visual (Scheffer *et al.* 1996; Hebets & Uetz 1999) e químico (Searcy *et al.* 1999; Roberts & Uetz 2004; Paralampadas *et al.* 2008).

A sinalização multimodal, quando vários canais de sinalização são atuantes em determinado contexto, (ver Hebets e Papaj 2005 e Partan & Marler 2005 para revisões sobre o assunto) é bastante difundida no grupo (provavelmente constituindo-se como

regra e não exceção), apresentando diversos casos onde dois ou mais canais são importantes no processo de cortejo e decisão da fêmea (Hovner & Barth 1981; Scheffer *et al.* 1996; Rypstra *et al.* 2009). Com relação ao oferecimento de PN em aranhas, são escassos os estudos que buscaram averiguar quais os canais de sinalização que influenciam a resposta da fêmea frente à oferta do PN. Apenas um trabalho para a espécie *Pisaura mirabilis* (Pisauridae) (Stalhandske 2002) relaciona uma possível influência do canal visual sobre a escolha das fêmeas, porém um trabalho posterior não corrobora esta hipótese (Andersen *et al.* 2008).

No presente trabalho foi testada a hipótese de que a decisão da fêmea em aceitar o PN é mediada por sinais visuais, táteis e/ou químicos presentes no PN usando *Paratrechalea ornata* (Mello-Leitão, 1943) (Araneae, Trechaleidae) como modelo de estudo. Para tal, foram decompostos e testados em experimentos independentes alguns canais de sinalização possivelmente atuantes no processo. Uma predição para testar tal hipótese é de que sinais efetivamente envolvidos na decisão da fêmea devem resultar em índices mais altos de aceitação.

1.4 Objetivos

Explorar do ponto vista experimental e descritivo a influência dos canais de sinalização visual, tátil e químico dos presentes nupciais de machos de *Paratrechalea ornata* sobre a escolha das fêmeas.

Capítulo 2

It is all about taste: nuptial gift acceptance is mediated by chemical signals in *Paratrechalea ornata* (Araneae, Trechaleidae)

Pedro Erê Disconzi Brum¹; Luiz Ernesto Costa Schmidt²; Aldo Mellender de Araújo¹

¹ Núcleo de Aracnologia, Departamento de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43323, Salas 205 e 215, CEP 91501-970, Porto Alegre/RS, Brasil.

² Laboratório de Comportamento e Evolução de Atrópodos, Departamento de Ecologia, Universidade de São Paulo – Rua do Matão, Travessa 14, 321, Sala 339, CEP 05508-090, São Paulo/SP, Brasil.

Behavioral Ecology

(em preparação)

Abstract

Nuptial gift (NG) offering is a courtship trait found among several insect orders and some spider families. Recent studies indicate that this gift-giving behavior in spiders represents the male mating effort acting over female receptivity through a mechanism of foraging motivation, however little attention was given to the sensory channels that are influencing female acceptance. In order to understand the role of these sensory channels over female perception of a NG, we decomposed the main channels found within the NG of *Paratrechalea ornata* (Araneae, Trechaleidae) and observed the female reaction in several independent experiments. The NG of this species is composed by a prey wrapped in silk, and several evidences suggest a probable multichannel composition. Each main sensory channel was isolated by using mimetic NG (artificial items) or manipulated real NG. Isolated visual and tactile signals were not responsible for female acceptance, while chemical signals found within the NG silk layer induces female acceptance. Our findings clearly indicate that a chemical signal located in the silk of the NG is the main attractive channel, acting as a releaser pheromone that triggers female grasping behavior. The consequences of such signaling over NG female acceptance are discussed under the light of the foraging exploitation hypothesis.

Key words: nuptial gift; foraging exploitation; chemical signaling; *Paratrechalea*

Introduction

Nuptial gifts (NG) can be defined as material donations that are transferred from males to females during the courtship (Gwynne 2008). It is a common reproductive strategy and also an important source for sexual selection in arthropods (Vahed 1998, 2007; Stalhandske 2001). There are many non-exclusive hypotheses related to the evolution of gift giving behavior, like paternal investment, mating effort, and sensorial exploitation (see Vahed 1998, 2007 and Gwynne 2008 for reviews). For spiders, the best known records of NG are restricted to the phylogenetic related families Trechaleidae and Pisauridae (Austad and Thornhill 1986; Nitzsche 1988; Costa-Schmidt *et al.* 2008; Lapinski and Tschapka 2009; Silva and Lise 2009), with few other examples from other families (Lycosidae: Aisenberg *et al.* 2007; Theridiidae: Uetz *et al.* 2010; Cobbold and Su 2010).

Only two spider species have been the target for studies regarding the adaptive hypothesis for NG maintenance, *Pisaura mirabilis* (Pisauridae) and *Paratrechalea ornata* (Trechaleidae). For both species, mating effort has been the most supported hypothesis for the evolution and/or maintenance of this behavior (Lang 1996; Bilde *et al.* 2007; Albo and Costa 2010). Nuptial gifts of trechaleids and pisaurids are composed by a prey wrapped in silk by the male, which offers it to the female during pre-copulatory courtship (see Costa-Schmidt *et al.* 2008 for a detailed description of the reproductive process of *P. ornata*). For these species the NG has a white color and rounded shape, and is carried within the male's chelicerae during mate search and courtship. The offering of a NG have great influence in *P. ornata* males' success to obtain copulation (Costa-Schmidt *et al.* 2008), since NG acceptance by the female will allow males to start further courtship steps.

As to the mechanisms of action of NG over female receptivity, sensory exploitation of foraging motivation has strong support by empirical/experimental data (Bilde *et al.* 2007; Warwick *et al.* 2009). However, little attention was given to the stimulus that triggers female acceptance of the NG. Several evidences related to a multimodal signal emission through this specific kind of NG can be raised. First, a visual component may be acting during the male courtship step called hyperflexion (Costa-Schmidt *et al.* 2008). At this particular moment the male exposes the round and white NG in his reddish chelicerae by folding the two first leg pairs above the

cephalothorax. Female does not have contact with the NG, and its decision to accept or not the courting male may be a mix of the cuticular information transmitted during the first contact with the male and by a visual perception of the presence of a NG within his chelicerae. Second, the silk layer covering the NG may contain tactile properties that stimulates female acceptance. Third, the same NG silk layer could have attractive chemical signals deposited by the male to induce female acceptance. These three possibilities do not exclude one another and they could act synergistically.

Here we tested the hypothesis that female decision to accept a NG is mediated by visual, tactile and/or chemical signals present in the NG, using *Paratrechalea ornata* (Mello-Leitão, 1943) (Araneae, Trechaleidae) as a study model. To achieve such goal we decompose possible NG signaling channels and test them in a series of independent experiments. A simple prediction for this hypothesis is that any signal involved in female decision should result in higher rates of female acceptance along the trials.

Material and methods

Paratrechalea ornata is a semi-aquatic spider that can be found in northern Argentina, Paraguay, Uruguay and southern Brazil (Carico 2005), usually inhabiting the riparian vegetation and rocks along the course of streams and rivers. As described above, *P. ornata* NG consists in a captured prey wrapped in silk (Costa-Schmidt *et al.* 2008), which is carried by the male while searching for a female. Once finding a partner, NG offering takes place as the first step of the courtship process in this species.

Juvenile *P. ornata* males and females were collected from a single population located at Pedra de Amolar River in Maquiné Municipality (Rio Grande do Sul State, Brazil - 29°32'20.52''S, 50°14'46.83''W). Each specimen was raised until adulthood in an individual vessel (200 ml) with 1 cm of water at the bottom, following a feeding regime consisting of one domestic fly (*Musca domestica*) twice a week. Only virgin spiders were used in the experiments and not before one week after their final molt. Females were fed 12h before each trial in order to control for possible effects of starvation.

Experimental procedures

The information contained in the NG was investigated by four independent experiments, each one exploring a different aspect of spiders' sensory channels. The first two experiments were designed and executed during November and December 2006. Given the results obtained (see results), two other experiments were designed and executed between October 2010 and January 2011.

All experiments had the same operational procedure consisting in the offer of an item to the female by using a metal forceps, which was slowly approximated in front of the female. Details on the nature of the items offered and sample sizes for each experiment are presented below. Female grasping behavior was categorized in one of two categories: acceptance (A) and refusal (R). An item was accepted when the female grasp it with its chelicerae, even if the female grasped and right after release it. Refusal was registered when the female simply ignored the item after two consecutive offers. The first three experiments had similar but independent control groups consisting in NG obtained from virgin males. These males were used no more than twice during the experiments. The control group of the fourth experiment is described below.

First experiment: visual identification of artificial gifts

The goal of the first experiment was to verify if the female is able to distinguish an artificial gift (AG) from a NG based on visual stimulus. Twenty females were consecutively presented to an AG (treatment group) and to a NG (control group). The artificial gift was composed by a rounded piece of cotton with the same shape and color of a NG. The order of the treatments was defined by chance in each trial. If NG has a visual signal component that influences females grasping behavior we expect similar frequency of acceptance between the AG and the NG. Otherwise, tactile and/or chemical stimulus could be acting as the main communication channel for female grasping decision.

Second experiment: silk manipulation using artificial gifts

The second experiment investigates the female ability to distinguish chemical and/or tactile signals differences between a male "ordinary silk" and a NG silk. We assume the following premises: a) the silk that recover a NG have the same overall

texture than the ordinary silk used by males for other purposes (e.g. draglines), even though we recognize that they may show different ultra-structural properties; b) the main silk differences will be found in chemical components deposited over the silk fibers.

Eighteen females were randomly presented to two silk types treatments. Both groups have the same AG core, consisting in a rounded piece of polystyrene with similar dimensions of a NG. In the first treatment we used a silk extracted from CO₂ anesthetized *P. ornata* males by simply holding the male under a stereomicroscope and gently touching the AG into the spinnerets. This process stimulates silk release by the male, and was executed until the AG has been covered with a layer of what we called “ordinary silk” (AG + silk). The second treatment was composed by the silk layer removed from a NG that was carefully dissected under a stereomicroscope and used to cover the AG core (AG + NG silk).

In the absence of differences in chemical composition between silk types we expect that females will present the same frequency of grasping behavior for both silks. In case of difference in grasping frequency, we assumed that chemical signals found within those silks types are affecting the female grasping behavior.

Third experiment: modulation of NG chemical signal

The third experiment evaluates the nature of chemical signals within the NG silk. Two groups of NGs were treated with one of two solvents with different polarities (polar: distilled water; apolar: ether). The observed patterns of female grasping behavior within the treatments were directly compared with the control group composed by untreated NGs. Twenty five females were tested in all three groups.

For the solvent treatments, NGs were immersed in the respective solvent bath for two minutes and were left to air dry for three minutes before each trial. Given the possibility that traces of ether could remain within the treated NG and thus affecting the female reaction, we conducted a control experiment using domestic flies. Those preys were treated in the same manner as the NGs throughout solvent baths and the female response was compared with the offering of an untreated prey.

Our prediction for this experiment was that one of the solvents would attenuate the NG chemical signal, decreasing female grasping acceptance. Based on the semi-

aquatic habit of *P. ornata*, we also predict that the apolar treatment (ether) would be the one to attenuate NG chemical signal. In case of no differentiation in grasping frequency between the groups, chemical signaling does not influence female NG acceptance, compromising our interpretation about the second experiment.

Fourth experiment: chemical signal transferring to inedible items

This last experiment was designed to demonstrate that the chemical signal found within NG silk layer do affect female grasping reaction. Eighteen females were tested in the presence of two groups of inedible items, which consisted in a rectangular piece of filter paper (9 mm x 3 mm), treated with one of three solutions: NG solution, NG silk solution, and prey solution. We called these procedures as “signal donors”.

The solutions containing the chemical information of each of the signal donors were obtained after a 15 min ether bath (solvent) inside a 0.5 ml tube with 0.3 ml of solvent. Solvent choice was made after the results obtained from the previous experiment (see results). For chemical signal transferring, the inedible item was placed for another 15 min inside the tube containing the solution after the removal of the signal donor. After this period, the item was left to dry out in the air during five minutes and then offered to the female. The control group was composed by an inedible item treated with ether following the same protocol described above.

In order to test whether an eventual contamination of the NG silk layer by its inner content could influence female grasping behavior in the NG silk solution, we conducted an independent experiment ($n = 15$) where only part of the inner content of NGs were treated following the above protocol. Since only one female accepted this inner content treatment, we assumed that NG silk results were strictly related to the chemical information present within this layer and not influenced by a possible contamination of its inner content.

Our prediction for this experiment was that NG solution and NG silk solution would induce the females to grasp the inedible item, while both the prey solution and control group would result in no reaction.

Results

First experiment: visual identification of artificial gifts

We found a significant difference in acceptance between NG and AG treatments, indicating that visual signals were not responsible for inducing female grasping behavior (McNemar chi-squared test: $\chi^2 = 8.1$, d.f. = 1, $P = 0.004$). All females that did grasp the AG also grasped the NG, while four females did not grasp any offered item. The remaining 10 females only grasped the NG, rejecting the AG.

Second experiment: silk manipulation using artificial gifts

There is a chemical component within NG silk layer that is influencing female grasping behavior. Artificial gifts wrapped with ordinary silk showed lower female grasping frequency among the tested groups (figure 1) (Cochran's Q test: $Q = 8.6$, d.f. = 2, $P = 0.014$). Female reaction to the NG and to the AG+NG silk was almost identical, except by a single female that grasped the AG+NG silk and rejected the NG. From the 18 trials, eight females showed the same reaction for all three groups (five acceptations, three rejections). Eight females rejected only the AG+silk, and those two that accepted it rejected both NG and AG+NG silk or NG only.

Third experiment: modulation of NG chemical signal

Attractive chemical signals within the NG silk were successfully attenuated by the apolar solvent (ether treatment group), resulting in a lower rate of acceptance of this treatment group by the females (figure 2) (Cochran's Q test: $Q = 8.93$, d.f. = 2, $P = 0.011$). From the 25 trials, nine females accepted all three treatments and a single female rejected all of them. Three other females that rejected the control group accepted at least one of the other two groups, where one of them accepted only the NG+ether. Female reaction between NG and NG+H₂O differed in five trials (three NG acceptance and two NG+H₂O acceptance). All females ($n = 14$) but one accepted both ether treated and untreated preys at, indicating that possible traces of the solvent found in the NG treated with ether do not influence female response.

Fourth experiment: chemical signal transferring to inedible items

All treatments proved to induce females to a positive reaction in a similar frequency, except for the control group where only three females accepted the inedible item (figure 3) (Cochran's Q test: $Q = 14.89$, d.f. = 3, $P = 0.0019$). Seven out of 18 females accepted the NG, Silk (NG) and Prey treatments, while no clear pattern of acceptance appeared among the other 11 trials. Those three females that accepted the control item rejected one of the other treatments (one case for each treatment).

Discussion

We showed here that chemical components found within NG silk induce female grasping behavior, acting as a releaser pheromone (Wyatt 2003). Our experiments elucidate an important aspect of reproductive behavior of this gift giving spider species by suggesting a causal function for NG in inducing females to assume a courtship position (Costa-Schmidt *et al.* 2008).

The hypothesis of the existence of a visual component inducing female *P. ornata* grasping behavior receives little support from our data, given the low acceptance of AG compared to NG in our first experiment. However, these results not necessarily exclude that the experimental procedures of NG offering may have affected female reaction, since NG shape and color could be only recognized when contrasting against the sexually dimorphic male's chelicerae. Costa-Schmidt & Araújo (2008) investigated possible driven selective forces that could explain why *Paratrechalea* male's chelicerae are darker and bigger than females, and concluded that a trade-off between natural and sexual selection would be responsible for this pattern. Sexual selection would be acting over male's chelicerae by amplifying the visual information contained in the NG through morphological modifications of this structure. Since our aim was to investigate the effects of the NG signals in isolation over female reaction, we can discard visual communication as the main channel of communication.

From the second experiment we demonstrated that the main attractive signal of the NG is located in the silk that recovers it, and strongly suggests that it also has a chemical nature. We found no support for the hypothesis that female reaction was associated to a tactile stimulus, given the clear difference in acceptance between the silk taken from a NG and the silk used for other purposes (ordinary silk). Assuming that

both silk types have the same texture, differences in chemical properties remains as the source of information for female decision to grasp the NG.

Two hypotheses can be raised in order to explain the mechanistic process for such differential signal deposition by males into NG silk layer. First, the signal makes part of the NG silk composition, being the product of specific silk glands connected to specific regions of the spinnerets that are used during NG wrapping (Foelix 1996). Since we had no control over which spinnerets were being stimulated during ordinary silk acquisition, it is possible that we accidentally added this NG specialized silk to some of the AG produced for this experiment, which could be responsible for some of the acceptances observed in the AG + silk treatment. Second, besides its speculative nature, the addition of the attractive signal could be the result of an independent gland not related to silk production and only active during NG construction. This would allow males to actively add the attractive signal while it wrapped the prey with silk.

The evidence of the apolar nature of the attractive chemical signal in the third experiment confirms the predictions based on the natural history/habit of the species. Given that the males wander in a wet environment during mate search when they already holds a NG within their chelicerae, it would be a surprise to find a polar attractive chemical in the silk of NG, since it would be removed in contact with the water. Even showing a significant reduction of female acceptance rate, 48% of the tested females in the NG + ether treatment still grasp these gifts. There are some non-mutually excluding factors that could explain this result. First, our ether treatment could not be capable of removing all the chemical components involved in the attractiveness of the NG for the females. Second, other signaling components could account for a part of the attractive signal, or could act synergistically with the chemical signal to promote an enhanced response (see Partan and Marler 2005; Hebbets and Papaj 2005 for examples).

Confirming our predictions and corroborating the data from the previous experiments, the transmission of the attractive signal from NG and NG silk to an inedible item provides evidence that the main attractive signal present on the NG silk is chemical. Contrary to our expectations, the prey item treatment resulted in similar acceptance compared to the NG related treatments, indicating that chemical components found within the prey cuticula are also transferred using the same solvent (ether) and

showing similar results. This observation brings important considerations about the mechanisms of action of this gift-giving behavior of *P. ornata*, suggesting that sensory exploitation could be involved. Sensory exploitation of female's foraging motivation is a hypothesis already proposed for *P. mirabilis* (Bilde *et al.* 2007), and have some support for insects (Warwick *et al.* 2009) and other arachnids in the context of copulatory courtship (Huber 1997).

One may ask why wrap the prey in silk with an attractive signal, in a process which demands an investment of energy and time, while the male could simply offer the prey without any silk. There are at least two possible and non-mutually excluding hypothesis to explain this. The first one corroborates with the hypothesis raised by Albo & Costa (2010) that the wrapping of the NG represent a male mating effort that increases male control over mating allowing the male to retain control prior and during the copulation. Second, the male can offer "symbolic" donations which are constituted by the carrion of an already digested prey (Pedro E. D. Brum, personal observations) and even inedible items like a seed (see Albo and Costa, 2010) wrapped in silk. The carrion of digested prey without silk cover is not grasped by the female when offered with a steel forceps (Pedro E. D. Brum, unpublished data) a fact that is reinforced by the almost absent grasping behavior in our treatment using portion of the inner content of NG as signal donor (see Methods). According to this symbolic donation hypothesis the male could minimize the net energy costs of the construction of a wrapped NG by feeding on the prey before wrapping it while maintaining an attractive signal in the NG (the chemicals in the silk).

To our knowledge the present report is the first one which shows evidence for the existence of a chemical signal acting as the main attractive factor in the female's acceptance of NG's in spiders. The chemical characterization of the NG's attractive signal is a straightforward step that will allow further descriptive and experimental investigations in order to corroborate or refute the sensory exploitation hypothesis. For example, once the signal is chemically characterized it is possible to compare its properties with those found within the prey cuticula. Actually we are currently involved in this task.

Acknowledgments

We would like to thank Lucas Caetano Silveira for field assistance. The present study was supported by a grant from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – Brazil), awarded to P.E.B., and by a grant from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (2009/52791-6) and from CNPq awarded to L.E.C.S. All animal collections comply with the current laws of the Brazil government, represented by IBAMA, which issued all the collection permits.

References

- Aisenberg A, Vieira C, Costa, C. 2007. Daring females, devoted males, and reversed sexual size dimorphism in the sand-dwelling spider *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Trechaleidae). *Behav Ecol Sociobiol.* 62: 29-35.
- Albo MJ, Costa FG. 2010. Nuptial gift-giving behaviour and male mating effort in the Neotropical spider *Paratrechalea ornata* (Trechaleidae). *Anim Behav.* 79: 1031-1036.
- Austad SN, Thornhill R. 1986. Female reproductive variation in a nuptial- feeding spider, *Pisaura mirabilis*. *Bull Br Arachnol Soc.* 7:48–52.
- Bilde T, Tuni C, Elsayed R, Pekar S, Toft S. 2007. Nuptial gifts of male spiders: sensory exploitation of the female's maternal care instinct or foraging motivation? *Anim Behav.* 73:267-273.
- Carico JE. 2005. Descriptions of two new spider genera of Trechaleidae (Araneae, Lycosoidea) from South America. *J Arachnol.* 33:797-812.
- Cobbold SM, Su Y. 2010. The host becomes dinner: possible use of *Cyclosa* as a nuptial gift by *Argyrodes* in a colonial web. *J Arachnol.* 38:132-134.
- Costa-Schmidt LE, Araújo AM. 2008. Sexual dimorphism in chelicerae size in three species of nuptial gift spiders: a discussion of possible functions and driving selective forces. *J Zool.* 275:307-313.
- Costa-Schmidt LE, Carico JE, Araújo AM. 2008. Nuptial gifts and sexual behaviour in two species of spider (Araneae, Trechaleidae, Paratrechalea). *Naturwissenschaften.* 95: 731-739.
- Foelix RF. 1996. *Biology of Spiders.* New York, New York: Oxford University Press.

- Gwynne, DT. 2008. Sexual conflict over nuptial gift in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 53:83–101.
- Hebets EA, Papaj DR. 2005. Complex signal function: developing a framework of testable hypotheses. *Behav Ecol Sociobiol.* 57:197–214.
- Huber BA. 1997. Evidence for gustatorial courtship in a haplogyne spider (*Hedypsylus culicinus*: Pholcidae: Araneae). *Neth J Zool.* 47:95–98.
- Lang A. 1996. Silk investment in gifts by males of the nuptial feeding spider *Pisaura mirabilis* (Araneae: Pisauridae). *Behaviour.* 133:697–716.
- Lapinski Von W, Tschapka M. 2009. Erstnachweis von brautgeschenken bei *Trachalea sp.* (Trechaleidae, Araneae) in Costa Rica. *Arachne.* 14:4–13.
- Nitzsche ROM. 1988. “Brautgeschenk” und umspinnen der beute bei *Pisaura mirabilis*, *Dolomedes fimbriatus* und *Thaumasia uncata* (Arachnida, Araneida, Pisauridae). *Verh naturwiss Ver Hamburg* 30:353–393.
- Partan SR, Marler P. 2005. Issues in the classification of multimodal communication signals. *Am Nat.* 166: 231–245.
- Silva ELC, Lise AA. 2009. New record of nuptial gift observed in *Trechalea amazonica* (Araneae, Lycosoidea, Trechaleidae). *Rev Peru Biol.* 16:119–120.
- Stalhandske P. 2001. Nuptial gift in the spider *Pisaura mirabilis* maintained by sexual selection. *Behav. Ecol.* 12:691–697.
- Uetz GW, McCrate A, Hieber CS. 2010. Stealing for love? Apparent nuptial gift behavior in a kleptoparasitic spider. *J Arachnol.* 38:128–131.
- Vahed K. 1998. The function of nuptial feeding in insects : a review of empirical studies. *Biol. Rev.* 73:43–78.
- Vahed K. 2007. All that glitters is not gold: sensory bias, sexual conflict and nuptial feeding in insects and spiders. *Ethology.* 113:105–127.
- Warwick S, Vahed K, Raubenheimer D, Simpson SJ. 2009. Free amino acids as phagostimulants in cricket nuptial gifts: support for the 'Candymaker' hypothesis. *Biol Lett.* 5:194–196.
- Wyatt T. 2003. Pheromones and animal behavior: communication by smell and taste. Cambridge University Press, Cambridge, UK. Pages: 1 -22.

Figure 1.

Number of acceptance (solid bars) and refusal (open bars) of items offered to *Paratrechalea ornata* females for each treatment of the second experiment. Control (NG): untreated nuptial gift; AG + NG silk: artificial gift covered with the silk obtained from a NG; AG + silk: artificial gift covered with ordinary male silk.

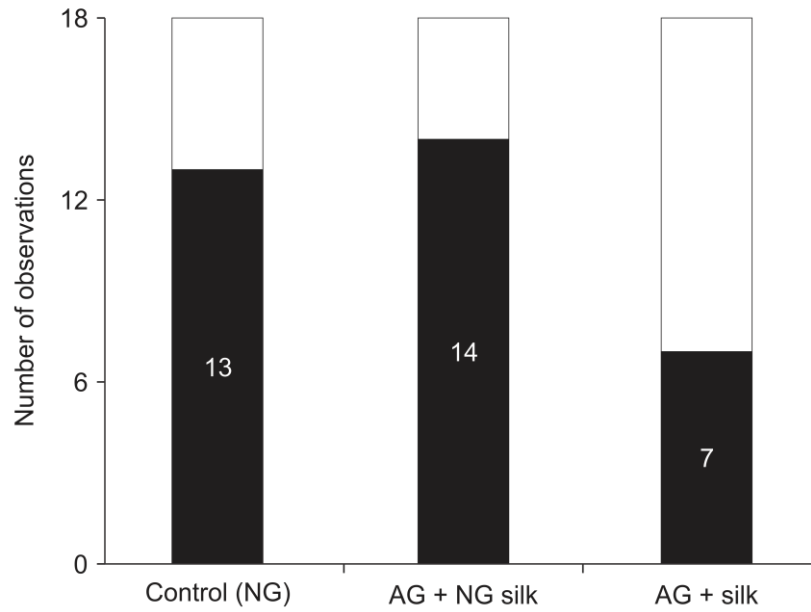


Figure 2.

Number of acceptance (solid bars) and refusal (open bars) of items offered to *Paratrechalea ornata* females for each treatment in the third experiment. Control (NG): untreated nuptial gift; NG+H₂O: nuptial gift treated with water; NG+ether: nuptial gift treated with ether

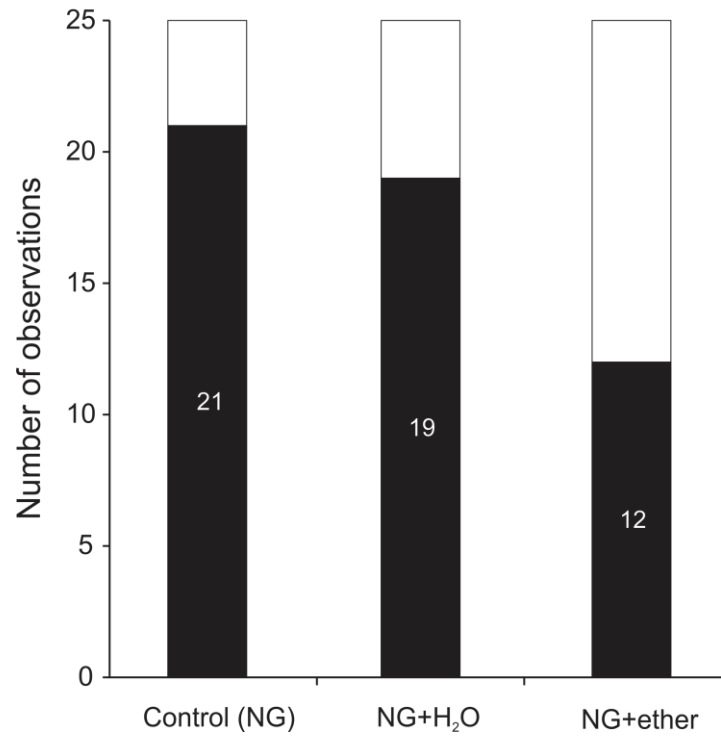
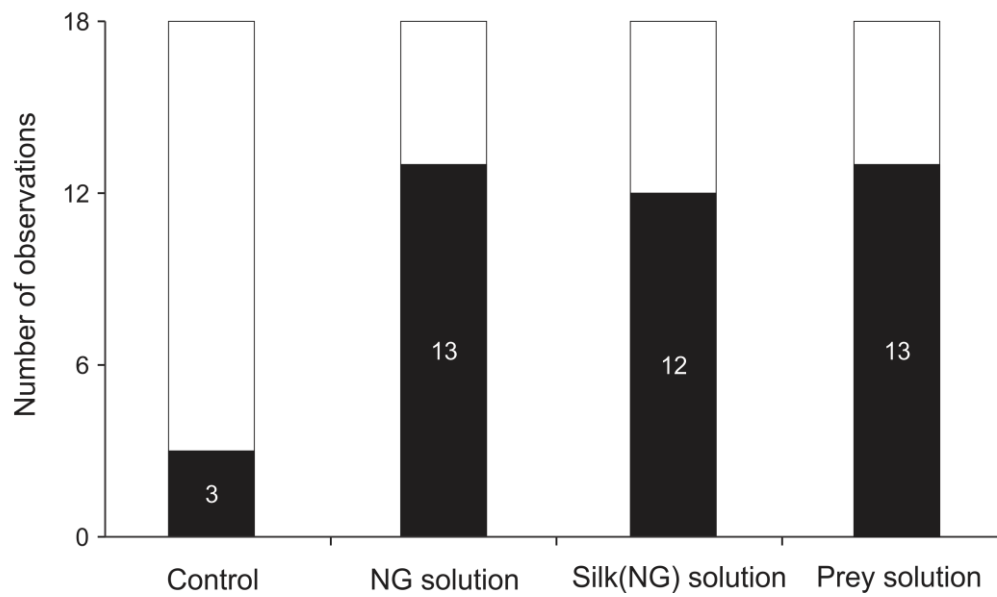


Figure 3.

Number of acceptance (solid bars) and refusal (open bars) of items offered to *Paratrechalea ornata* females for each treatment in the fourth experiment. All items were composed by an inedible item treated with solvent (ether) extraction, varying the signal donor used in each treatment. Control: signal donor absent; NG solution: nuptial gift used as signal donor; Silk (NG) solution: only the external silk layer of nuptial gift used as signal donor; Prey Solution: domestic fly used as signal donor.



Capítulo 3

Discussão Geral

Neste trabalho foram apresentadas evidências experimentais que destacam a influência de componentes químicos atrativos existentes na seda do PN confeccionado por machos de *Paratrechalea ornata* sobre a aceitação das fêmeas. De meu conhecimento, tal fato representa a primeira evidência empírica de um sinal químico atrativo em presentes nupciais em aranhas, atuando como um *releaser pheromone* (*sensu* Wyatt, 2003) e induzindo uma resposta comportamental de “agarrar” quando percebido pelas fêmeas. A descoberta deste sinal químico presente na seda também elucida um aspecto importante do comportamento reprodutivo da espécie, na medida em que sugere um estímulo causal através do qual o PN induziria a fêmea a assumir a postura de cortejo (Costa-Schmidt *et al.* 2008).

O valioso método investigativo na qual a produção científica se baseia muitas vezes acaba por impor algumas restrições tácitas aos limites do que pode ser discutido e das interpretações possíveis de serem feitas a partir dos dados obtidos, o que por vezes pode resultar na supressão da discussão de ideias interessantes, ideias estas que podem inclusive tornarem-se questões motivadoras de novas pesquisas. Por este motivo, deste ponto em diante, pretendo ampliar a discussão até agora apresentada, lançando sobre ela um olhar mais abrangente, ainda embasado e fundamentado pelo arcabouço teórico, porém sem tanto apego a forma e objetivando ir um pouco além das evidências empíricas.

3.1 Aspectos comportamentais e evolutivos envolvidos na sinalização do presente nupcial em *Paratrechalea ornata*

Analisando os resultados deste trabalho fica clara a influência do canal de sinalização químico atuando sobre a decisão das fêmeas em agarrar o PN. Os dados obtidos parecem indicar que não existe uma influência importante dos canais tátil e visual sobre o comportamento das fêmeas, porém uma análise mais abrangente se faz pertinente.

Primeiramente é importante lembrar que cada um dos canais foi testado de maneira isolada, o que não exclui a possibilidade dos elementos visuais e/ou tácteis atuarem em conjunto com o canal químico promovendo, por exemplo, uma ampliação

do sinal principal (enhancement *sensu* Partan & Marler 2005), no caso o componente químico, através do reforço promovido por sinais redundantes (que transmitem a mesma informação) de menor intensidade. Uma segunda possibilidade é que características visuais e tácteis do PN influenciem a velocidade com que a fêmea percebe e reage à sinalização química, corroborando com a *alerting hypothesis* proposta por Hebets e Papaj (2005), ou seja, mesmo que apenas o sinal químico seja responsável pela indução de uma resposta propriamente dita, a presença de outro(s) canal (is) de sinalização facilitaria a detecção do primeiro, através, por exemplo, da diminuição do tempo de reação do receptor do sinal (no caso, a fêmea).

Não se pode descartar que aspectos como forma e coloração do PN possam exercer influência apenas em contextos específicos como, por exemplo, quando contrastados contra as quelíceras vermelhas (característica dimórfica entre os sexos) do macho durante a etapa de hiperflexão (ver Costa-Schmidt *et al.* 2008 para detalhes do processo) onde o PN é colocado em evidência para a fêmea. Neste contexto, é possível que a sinalização química seja necessária para que uma subsequente sinalização visual (com importância para uma etapa seguinte do cortejo) ocorra de forma efetiva, como demonstrado para *Alpheus heterochaelis*, uma espécie de camarão (Hughes 1996).

Ao analisarmos os resultados do segundo experimento (ver capítulo 2) chegamos à conclusão de que a seda que envolve o PN difere de sedas utilizadas para outras finalidades, tendo o macho um papel ativo (no sentido de definir quando será confeccionada a seda utilizada no PN) na sua síntese. Algumas vezes machos de *P. ornata* podem oferecer como PN presas que não foram envoltas em seda. Albo & Costa (2010) não encontraram diferença significativa de sucesso em obtenção de cópula entre machos com presas “nuas” ou “embaladas”. Este resultado nos remete a algumas questões que tentarei discutir a seguir, mas antes gostaria de salientar minha opinião (compartilhada pelos autores do trabalho) de que esta ausência de diferença significativa pode se dever ao reduzido número amostral utilizado no referido estudo para comparar os dois grupos. Apenas como ilustração e a fim de facilitar a análise do leitor reproduzo aqui os números apresentados no artigo: seis machos com presentes embalados cortejaram fêmeas e, destes, cinco obtiveram cópula; nove machos cortejaram com presentes “não-embalados” em seda, sendo que apenas três obtiveram sucesso de cópula (teste exato de Fischer $P = 0.12$).

Feita esta ressalva gostaria de me ater a algumas hipóteses interessantes e não mutuamente exclusivas. A primeira delas deriva de um questionamento: se machos obtêm sucesso de cópula similar oferecendo PN não envoltos em seda, o que poderia explicar a ocorrência tão freqüente (presentes embalados representam o padrão mais comumente observado) de um comportamento que representa um custo energético para o macho (Costa-Schmidt & Machado artigo em preparação)? Uma primeira resposta a esta questão é dada no próprio artigo de Albo & Costa (2010): o fato de o presente estar embalado parece aumentar o controle do macho sobre o processo, representando então um esforço reprodutivo por parte do macho que poderia, por exemplo, maximizar sua transferência de esperma durante a cópula. Este maior controle pode ser traduzido em um posicionamento mais eficiente da fêmea (Costa-Schmidt *et al.* 2008) e aumento da duração da cópula (Albo & Costa 2010).

Quando um macho captura uma presa ele teoricamente deve decidir entre alimentar-se ou construir um PN, decisão esta que pode ser influenciada por fatores como estado nutricional do macho (Costa-Schmidt & Machado artigo em preparação), presença de sinais indutores de construção de PN, como seda de rastro de fêmeas ou contato direto com as mesmas (Albo *et al.* 2009). Porém, não raras vezes os machos constroem o PN com restos de uma presa já digerida (P. E. D. Brum observação pessoal) ou mesmos itens não comestíveis, como uma semente (veja Albo & Costa 2010). Estes “restos”, não são percebidos pelas fêmeas como alimento, e são geralmente ignorados pelas mesmas quando oferecidos com uma pinça (P. E. D. Brum dados não publicados) fato que é reforçado pela baixa atratividade do tratamento controle obtido a partir do extrato de restos de presa (veja metodologia no Capítulo 2). Tal constatação se faz muito interessante no sentido que ajuda a compreender não somente o gasto energético para embalar o PN com seda, como também o investimento em sintetizar um sinal atrativo para a fêmea. Desta maneira o macho poderia, por exemplo, se alimentar de uma presa capturada (transformando o conteúdo interno do PN de uma presa atrativa para a fêmea em “restos de presa” não atrativos), porém mantendo um sinal atraente no PN, reduzindo (ou talvez revertendo) assim o “gasto líquido” envolvido na síntese da seda e dos compostos químicos sinalizadores. Em uma primeira análise, esta hipótese parece especialmente válida em um contexto onde a disponibilidade de presas seja baixa, o que pode ser verdadeiro apenas para alguns períodos restritos do ano na região

estudada (P. E. D. Brum observações pessoais). Porém, mesmo em situações de abundância de presas, o macho ainda sim estaria otimizando seu tempo na busca por parceiras, pois não precisaria alimentar-se primeiro para depois buscar uma presa a ser utilizada no PN.

Nas populações estudadas, *P. ornata* ocorre em simpatria com espécies crípticas (a diferenciação pode ser feita apenas através da análise da genitália em laboratório) do mesmo gênero, *P. azul* e *P. galianoae*, e são geralmente encontradas ocupando um mesmo micro-habitat (especialmente *P. ornata* e *P. azul*). Neste contexto, talvez a sinalização química também possua (ou venha a adquirir) um papel no reconhecimento interespecífico por parte das fêmeas, atuando como um mecanismo de isolamento reprodutivo pré-copulatório. Esta diferenciação poderia se dar com base na utilização de substâncias químicas distintas ou simplesmente diferentes concentrações nos componentes que constituem o sinal atrativo, o que por si só já pode representar um sinal altamente espécie-específico (Simons & Elgar, 2007). Pessoalmente não sou simpático a ideia de que o reconhecimento específico por parte da fêmea dependa exclusivamente de sinais associados ao PN, mas é possível que estes atuem em conjunto com sinais tácteis e cuticulares, no contexto pré-copulatório, ou que sejam importantes em uma etapa específica do reconhecimento. Entretanto, não tenho como negar esta possibilidade visto que, pelo menos nas populações estudadas, o oferecimento do PN é uma etapa obrigatória para que o macho obtenha cópula. Desta maneira, é possível que somente através da identificação de sinais contidos no PN a fêmea seja capaz de identificar um macho coespecífico.

Não raras vezes a fêmea interrompe o processo de cópula prematuramente e se afasta, geralmente com o PN nas quelíceras (P. E. D. Brum observação pessoal). Uma suposição que pode ser feita é de que alguma “falha” durante a etapa de sinais de comunicação (ver Costa-Schmidt *et. al.* 2008 Para detalhes sobre as fases do processo copulatório) faça com que a fêmea interrompa a cópula. Outra possibilidade é que a sinalização contida no PN poderia constituir um dos critérios utilizados pela fêmea para avaliar a qualidade de um potencial parceiro. Esta hipótese pressupõe que existem variações na preferência das fêmeas com relação à qualidade ou quantidade do sinal contido no PN confeccionado por diferentes machos ou até por um mesmo indivíduo em

situações fisiológicas distintas. Neste caso a decisão prematura de finalizar a cópula seria motivada pela escolha da fêmea a partir da percepção dos sinais químicos contidos no PN.

A síntese da seda atrativa provavelmente demanda um gasto energético considerável, visto que machos em regime de restrição alimentar geralmente não constroem PN (ou o fazem com uma quantidade pequena de seda) quando capturam uma presa (P. E. D. Brum, observação pessoal; Costa-Schmidt comunicação pessoal). Sendo assim, a presença de grande quantidade de sinal atrativo por si pode ser interpretado pela fêmea como um sinal honesto da qualidade do macho (hipótese quantitativa), o que poderia representar, por exemplo, alta eficiência em encontrar e capturar presas. Outra alternativa é que existam variações no sinal entre indivíduos que são selecionadas de acordo com a preferência da fêmea em questão (hipótese qualitativa). Obviamente as duas hipóteses não são mutuamente excludentes.

É possível que a seda do PN tenha um valor nutricional importante, pois a ingestão de seda visando um reaproveitamento energético é um fato comum em aranhas (Foelix 1996). Lang (1996) argumenta que, na aranha *Pisaura mirabilis*, o macho investe muito pouco (relativo à sua massa corporal) na seda do PN quando comparado a outros táxons (algumas espécies de grilo, por exemplo), o que na minha opinião, não significa necessariamente que a seda não representa uma fonte de alimento importante, visto que são necessárias informações sobre o potencial energético nela contido e o aproveitamento obtido pelas fêmeas.

Os resultados do experimento de transferência de sinalização (capítulo 2) levantam a possibilidade de que o PN possa estar atuando como veículo de exploração sensorial da motivação de forrageamento das fêmeas. Em outras palavras, o macho estaria adicionando sinais químicos que são interpretados pela fêmea como alimento, mesmo que não possuam valor nutricional significativo. Para *P. mirabilis* o estado de saciedade parece influenciar a decisão das fêmeas em aceitar ou não o PN (Bilde *et al.* 2007) fato que, se confirmado também para *P. ornata*, poderia sugerir fortes indícios da ocorrência de exploração sensorial através do mecanismo citado. Uma posterior análise comparativa dos compostos atrativos presentes na seda do PN e na cutícula de presas se

faz necessária para confirmar que o mesmo mecanismo envolvido no reconhecimento de presas esteja influenciando também a aceitação do PN.

Caso confirmada a exploração sensorial através da motivação de forrageamento uma nova questão pode ser levantada: quais as vantagens em valer-se de tal mecanismo em um cenário onde existe abundância de alimento (pelo menos em boa parte do ano), não parece haver elevada pressão de predação e onde as fêmeas são tão eficientes na captura de presas quanto os machos? Em primeira análise, não parece muito adaptativo que o sucesso reprodutivo dos machos dependa de um mecanismo cuja eficiência está diretamente relacionada com o estado de saciedade das fêmeas, visto que as condições acima citadas são as observadas nas populações da área de estudo. Neste caso um conhecimento ainda mais profundo da história natural desta espécie e evolução do comportamento de oferecimento de PN provavelmente seria necessário para elucidar questões como essa.

3.2 Considerações finais

Como já citado, meu objetivo neste último capítulo foi expandir a argumentação apresentada no capítulo 2 desta dissertação, associando a ela algumas novas hipóteses e expandindo a interpretação de algumas evidências. Dei-me o direito de comentar alguns pontos em princípio bastante especulativos e gostaria novamente de deixar claro que meu intuito com isto não é propor novas “verdades científicas”, mas sim, através de questionamentos e uma análise crítica dos resultados, fornecer novas questões de estudo que venham a colaborar para a evolução do conhecimento científico, em especial das áreas de evolução e comportamento animal.

Acredito que os resultados aqui apresentados promoverão o desenvolvimento progressivo de uma linha de evidência ainda pouco explorada para presentes nupciais em aranhas, a sinalização química que, somada aos conhecimentos já existentes nos permitirão compreender com mais exatidão questões relacionadas à evolução deste comportamento peculiar.

Referências Bibliográficas

- Aisenberg A, Vieira C and Costa, C (2007) Daring females, devoted males, and reversed sexual size dimorphism in the sand-dwelling spider *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Trechaleidae). *Behav Ecol Sociobiol.* 62: 29-35.
- Andersen T, Bollerup K, Toft S and Bilde T (2008) Why do males of the spider *Pisaura mirabilis* wrap their nuptial gifts in silk: female preference or male control? *Ethology.* 114: 775–781.
- Albo MJ and Costa FG (2010) Nuptial gift-giving behaviour and male mating effort in the Neotropical spider *Paratrechalea ornata* (Trechaleidae). *Anim Behav.* 79: 1031-1036.
- Austad SN and Thornhill R (1986) Female reproductive variation in a nuptial- feeding spider, *Pisaura mirabilis*. *Bull Br Arachnol Soc.* 7:48–52.
- Aviles L (1997) Causes and consequences of cooperation and permanent-sociality in spiders. In: Choe, B J and Crespi J B (edits) *Social Behavior in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, New York, pp. 476-498.
- Bilde T, Tuni C, Elsayed R, Pekar S and Toft S (2007) Nuptial gifts of male spiders: sensory exploitation of the female's maternal care instinct or foraging motivation? *Anim Behav.* 73:267-273.
- Carico JE (2005) Descriptions of two new spider genera of Trechaleidae (Araneae, Lycosoidea) from South America. *J Arachnol.* 33:797-812.
- Cobbold SM and Su Y (2010) The host becomes dinner: possible use of *Cyclosa* as a nuptial gift by *Argyrodes* in a colonial web. *J Arachnol.* 38:132-134.
- Costa-Schmidt LE and Araújo AM (2008) Sexual dimorphism in chelicerae size in three species of nuptial gift spiders: a discussion of possible functions and driving selective forces. *J Zool.* 275:307-313.

- Costa-Schmidt LE, Carico JE and Araújo AM (2008) Nuptial gifts and sexual behaviour in two species of spider (Araneae, Trechaleidae, Paratrechalea). *Naturwissenschaften*. 95: 731-739.
- Foelix RF (1996) *Biology of Spiders*. Oxford University Press, New York, New York, 332 pp.
- Gwynne DT (2008) Sexual conflict over nuptial gift in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 53:83–101.
- Hebets EA (2008) Seismic signal dominance in the multimodal courtship display of the wolf spider *Schizocosa stridulans* Stratton 1991. *Behav Ecol.* 19: 1250-1259.
- Hebets EA and Papaj DR (2005) Complex signal function: developing a framework of testable hypotheses. *Behav Ecol Sociobiol.* 57:197-214.
- Hebets EA and Uetz GW (1999) Female responses to isolated signals from multimodal male courtship displays in the wolf spider genus *Schizocosa* (Araneae : Lycosidae). *Anim Behav* 57:865–872
- Huber BA (1997) Evidence for gustatorial courtship in a haplogyne spider (*Hedypsylus culicinus*: Pholcidae: Araneae). *Neth J Zool.* 47:95-98.
- Lang A (1996) Silk investment in gifts by males of the nuptial feeding spider *Pisaura mirabilis* (Araneae: Pisauridae). *Behaviour.* 133:697-716.
- Lapinski Von W and Tschapka M (2009) Erstnachweis von brautgeschenken bei *Trachalea* sp. (Trechaleidae, Araneae) in Costa Rica. *Arachne.* 14:4-13.
- Maynard-Smith J and Harper D (2003) *Animal Signals*. Oxford University Press, New York, 166 pp.
- Nitzsche ROM (1988) “Brautgeschenk” und umspinnen der beute bei *Pisaura mirabilis*, *Dolomedes fimbriatus* und *Thaumasia uncata* (Arachnida, Araneida, Pisauridae). *Verh naturwiss Ver Hamburg* 30:353–393.

- Perampaladas K, Stoltz JA and MCB Andrade (2008) Mated Redback Spider Females Re-Advertise Receptivity Months after Mating. *Ethology* 114: 589–598.
- Partan SR and Marler P (2005) Issues in the classification of multimodal communication signals. *Am Nat.* 166: 231–245.
- Platnick NI (2010) The world spider catalog, version 9.5. American Museum of Natural History, online at <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>.
- Roberts JA and Uetz GW (2004) Chemical signaling in a wolf spider: a test of ethospecies discrimination. *J Chem Ecol.* 30:1271-1284.
- Rovner JS and Barth FG (1981) Vibratory communication through living plants by a tropical wandering spider. *Science.* 214: 464-466.
- Rypstra AL, Schlosser AN, Sutton PL and Persons MH (2009) Multimodal signalling: the relative importance of chemical and visual cues from females to the behaviour of male wolf spiders (Lycosidae). *Anim Behav.* 77: 937-947.
- Scheffer SJ, Uetz GW and Stratton GE (1996) Sexual selection, male morphology, and the efficacy of courtship signalling in two wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Behav Ecol Sociobiol.* 38:17–23.
- Searcy LE, Rypstra AL and Persons MH (1999) Airborne chemical communication in the wolf spider *Pardosa milvina*. *J Chem Ecol.* 25: 2527-2533.
- Silva ELC and Lise AA (2009) New record of nuptial gift observed in *Trechalea amazonica* (Araneae, Lycosoidea, Trechaleidae). *Rev Peru Biol.* 16:119-120.
- Stålhandske P (2001) Nuptial gift in the spider *Pisaura mirabilis* maintained by sexual selection. *Behav. Ecol.* 12:691-697.
- Stålhandske P (2002) Nuptial gifts of male spiders function as sensory traps. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 269: 905–908.
- Uetz GW, McCrate A and Hieber CS (2010) Stealing for love? Apparent nuptial gift behavior in a kleptoparasitic spider. *J Arachnol.* 38:128-131.

Vahed K (1998) The function of nuptial feeding in insects : a review of empirical studies. *Biol. Rev.* 73:43-78.

Vahed K (2007) All that glisters is not gold: sensory bias, sexual conflict and nuptial feeding in insects and spiders. *Ethology.* 113:105-127.

Warwick S, Vahed K, Raubenheimer D and Simpson SJ (2009) Free amino acids as phagostimulants in cricket nuptial gifts: support for the 'Candymaker' hypothesis. *Biol Lett.* 5:194-196.

Wyatt T (2003) *Pheromones and animal behavior: communication by smell and taste.* Cambridge University Press, Cambridge, UK, 383 pp.