



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO
CLARO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

COMPORTAMENTO E CICLO CIRCADIANO EM ARANHAS DE ALÇAPÃO

Júlia Ayumi Ando Teixeira

Abril - 2020

A large, abstract graphic in the bottom right corner of the page, consisting of overlapping light blue and white geometric shapes that resemble a stylized spider web or a network of lines.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA)

COMPORTAMENTO E CICLO CIRCADIANO DE ARANHAS DE ALÇAPÃO

Júlia Ayumi Ando Teixeira

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientador: José Paulo Leite Guadanucci

Abril - 2020

T266c Teixeira, Júlia Ayumi Ando
 Comportamento e ciclo circadiano em aranhas de
 alçapão / Júlia Ayumi Ando Teixeira. -- Rio Claro, 2020
 93 p.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
 (Unesp), Instituto de Pesquisa em Bioenergia, Rio Claro
 Orientador: José Paulo Leite Guadanucci

 1. Aranhas de alçapão. 2. Comportamento. 3. Ciclo
 circadiano. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Pesquisa em Bioenergia, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

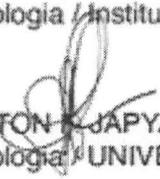
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: COMPORTAMENTO E CICLO CIRCADIANO DE ARANHAS DE ALÇAPÃO

AUTORA: JÚLIA AYUMI ANDO TEIXEIRA

ORIENTADOR: JOSE PAULO LEITE GUADANUCCI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. JOSE PAULO LEITE GUADANUCCI
Departamento de Zoologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP


Professor Doutor HILTON JAPYASSÚ
Departamento de Zoologia / UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Prof. Dr. CÉSAR CESTARI INBIO / UFU/Uberlândia (MG)

Rio Claro, 19 de junho de 2020



Agradecimentos

Agradeço primeiramente meu orientador, José Paulo, por sua orientação principalmente por se tratar de um trabalho fora da sua “zona de conforto”. Apesar de “não trabalhar com comportamento”, como ele mesmo gosta de lembrar, sua orientação foi imprescindível para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, José Carlos e Rosa, gostaria de agradecer por todo o apoio que me deram e por sempre me encorajarem a fazer o meu melhor. Aos meus avós, Keiji e Hiromi, que sempre se mantiveram interessados no meu trabalho e me encorajaram a estudar. A minha irmã, Nívea, gostaria de agradecer por seu apoio durante todo o período da minha vida acadêmica. Ao meu companheiro, Ronny, um grande agradecimento, pelo suporte, por me acompanhar para campo apesar de sua grande fobia de aranhas, por me acompanhar quando era necessário fazer experimentos a noite no laboratório.

Agradeço também o Dr. Rafael P. Indicatti e ao meu colega Rafael Fonseca Ferreira por me ajudarem na identificação dos indivíduos, assim como nas coletas e observações quanto a história natural. Gostaria de agradecer também meus colegas de laboratório que me auxiliaram nas coletas dos indivíduos, Arthur, Everton e Victor.

Gostaria de agradecer meus colegas de laboratório, Juliana, Vivian, Maria, Giulia, Arthur, Rafael, Everton, Wolf e Heloísa, pelo companheirismo e momentos de descontração no laboratório. A companhia de vocês fez dessa experiência muito mais valiosa do que eu esperava.

Agradeço também aos meus amigos, Gabriela K., Juliano, André, Lucas e Gabriela N., por seu apoio e por sempre estarem disponíveis quando eu precisei, para ir pra campo, fazer experimentos ou rodar estatística. Um agradecimento a Gabriela Klein por me acompanhar para os experimentos realizados durante a noite na UNESP e ao Lucas Augusto que me ajudou muito a lidar com R.

O presente trabalho foi realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil (CNPq) – Código de Financiamento 135930/2018-9

Abstract:

The order Araneae is diverse, being composed by 120 families. Finding different ways of life inside of the order isn't uncommon. In Mygalomorphae, trapdoor spiders are found, sedentary animals burried in underground burrows, usually covered by a lid. There are 12 families of trapdoor spiders inside the infraorder Mygalomorphae. Building trapdoor burrows has it's advantages, reducing the risk of predation and water loss. Besides the great amount of taxonomic studies for trapdoor spiders, very little is known about it's natural history. The main objective for the first chapter of this is study is to compare the repair behavior between two families of trapdoor spiders. Spiders kept in the lab had their burrows' lid removed, prompting the repair behavior. The results point out diferences in behavioral sequences between families and different behavior cycles. Living beings suffer the influence of biological clocks, that may or may not be regulated by enviromental factors. Spiders were documented to react to light and dark cycles, influencing in their behavior and development. Trapdoor spiders' pattern of activity and the influence of photoperiodism were analysed in chapter II. Inicially thought as nocturnal animals, trapdoor spiders were kept in a light regimen of LD12/12 and the pattern of activity was observed. Later, the phases of light and dark were inverted and the animals were observed, expecting behavioral chance acording to the light shifts. The animals were kept under different light regimens (LD16/8 and LL24) to observe if there was a shift in the activity pattern already established. The results point out to the presence of a circadian cycle sensible to light in trapdoor spiders. Spiders of the genus *Idiops* seems to be more sensible to light than *Actinopus* spiders.

Key words: *Behavior, circadian cycle, bulding, trapdoor-spider, Actinopus, Idiops.*

Resumo:

A ordem Araneae é diversa, sendo composta por 120 famílias. Não é incomum encontrar diferentes modos de vida dentro deste clado. Na infraordem Mygalomorphae, ocorrem as aranhas-de-alçapão, animais sedentários enterrados em tocas subterrâneas, recobertas internamente por teia e com a entrada coberta por um opérculo. São 12 famílias construtoras de alçapão dentre a infraordem. Foi verificado que o hábito de construir e habitar tocas de alçapão apresenta grandes vantagens, aumentando a proteção do animal contra predadores e reduzindo a perda de água. Apesar do extenso estudo taxonômico deste grupo, nós pouco entendemos sobre sua história natural. O objetivo do primeiro capítulo do presente trabalho busca descrever e comparar o comportamento de reparo da toca entre duas famílias. Os animais mantidos em laboratório tiveram os opérculos de suas tocas removidos, desta forma os estimulando a iniciar o comportamento de reparo. Os resultados apontam uma diferença nos padrões de comportamento de uma família para a outra, assim como ciclos distintos de comportamento. Os seres vivos são regidos por um relógio biológico que pode ou não ser regulado por fatores ambientais. Para as aranhas, já foi observado que as alterações na luminosidade podem influenciar o padrão de atividades, o comportamento e até o seu desenvolvimento. Os padrões de atividade e influência do fotoperíodo em aranhas de alçapão foram analisados no segundo capítulo deste trabalho. Inicialmente supostas como animais noturnos, as aranhas de alçapão foram mantidas em um regime de iluminação LD12/12 e o padrão de atividades foi observado. Em seguida, o período de luminosidade foi invertido e os animais foram observados, esperando que o comportamento se alterasse de acordo com os padrões de iluminação. Por fim os animais foram submetidos à regimes LD16/8 e LL (24 horas de luz), para se observar se há algum desvio do padrão previamente estabelecidos. Os resultados apontaram para a

existência de um ciclo circadiano. O ciclo circadiano de aranhas de alçapão aparenta ter a luz como um de seus reguladores. Os indivíduos do gênero *Idiops* aparentam possuir uma maior sensibilidade a variações de luz do que indivíduos do gênero *Actinopus*.

Palavras-chave: Comportamento, ciclo circadiano, construção, aranha de alçapão, *Actinopus*, *Idiops*.

Sumário

Introdução.....	5
Objetivos gerais.....	6
Referências.....	7
Capítulo I: As diferenças no comportamento de construção do opérculo entre os gêneros <i>Actinopus</i> , <i>Idiops</i> e <i>Neoctniza</i>	9
Introdução.....	10
Objetivos.....	18
Metodologia.....	18
i. Metodologia de coleta.....	18
ii. Aclimatação.....	20
iii. Condições laboratoriais.....	20
iv. Experimentos.....	20
v. Revisão bibliográfica.....	25
Resultados.....	25
Discussão.....	41
Conclusões.....	47
Referências.....	48
Anexos.....	53
i. Matriz de história natural.....	54
ii. Árvores de história de caracteres.....	58
Capítulo II: Ciclo circadiano e influência do fotoperíodo em aranhas de alçapão.....	62
Introdução.....	63
Objetivo Geral.....	67
Objetivos Específicos.....	67
Metodologia.....	67
i. Metodologia de coleta.....	67
ii. Aclimatação.....	68
iii. Condições laboratoriais.....	69
iv. Experimentos.....	69
v. Análises estatísticas.....	71
Resultados.....	72
i. Etograma.....	72
ii. Observação de atividade com apenas estímulos de luz.....	73

iii.	Inversão de luminosidade.....	76
iv.	Observação de predação.....	77
v.	Alteração de fotoperíodo.....	78
vi.	Supressão de ciclo.....	80
	Discussão.....	81
	Conclusões.....	85
	Referências.....	85
	Anexos.....	86
i.	Tabela de indivíduos.....	87
ii.	Tabela de experimentos.....	89

A) Introdução geral:

A ordem Araneae que compreende 120 famílias (WORLD SPIDER CATALOG, 2020), é a segunda mais diversa dentro dos aracnídeos, ficando atrás apenas dos ácaros (CODDINGTON, 2005). As aranhas são divididas em dois grandes clados: Mesothele e Opisthothele (FOELIX, 2011). As Opisthothele se dividem em duas infraordens: as Araneomorphae, muitas vezes chamadas de “aranhas verdadeiras”, e as Mygalomorphae, representadas por caranguejeiras, aranhas de alçapão e aranhas de teia de lençol (FOELIX, 2011).

As aranhas de alçapão constroem tocas subterrâneas revestidas por teia e recobertas por portas de alçapão, chamadas opérculos (TSO et al. 2003; GUPTA et al. 2015). As tocas de alçapão são responsáveis por reduzir o risco de predação e a perda de água nestes animais (MAIN, 2001). A construção de tocas de alçapão foi descrita para 12 famílias em Mygalomorphae e alguns dados comportamentais foram documentados, no entanto, nunca se utilizou de métodos além da simples observação empírica.

As tocas de alçapão são responsáveis pela proteção contra os predadores e redução significativa da perda de água em ambientes áridos (MANSON et al. 2013). As aranhas de alçapão possuem uma notável longevidade, sendo o indivíduo mais longevo uma fêmea da espécie *Gaius villosus* Rainbow 1914 de 43 anos (MANSON et al. 2018).

Softwares, como o EthoSeq (JAPYASSÚ et al. 2006), nos permitem embasar os dados de observação comportamental em algoritmos para determinar uma sequência de comportamento e facilitam a comparação entre grupos. Os grupos construtores de tocas de alçapão estão bem espalhados na filogenia de Mygalomorphae (OPATOVA et al. 2019) e uma grande variedade de formas para as tocas e os opérculos.

As aranhas, assim como a maioria dos seres vivos, sofrem a modulação de suas atividades pelo ciclo circadiano (SEYFARTH, 1980; SCHMITT et al. 1990; SUTER, 1993; YAMASHITA & NAKAMURA, 1999; ORTEGA-ESCOBAR, 2002; JONES et

al. 2007). Ciclos circadianos são definidos como ciclos de duração entre 20 e 28 horas (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). Os ritmos em livre curso são a expressão do relógio biológico endógeno e podem ser arrastados por fatores cíclicos ambientais, chamados *zeitgebers* (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). A luminosidade é um *zeitgeber* muito utilizado para a modulação dos ritmos, enquadrando o ciclo de claro e escuro como um ciclo circadiano. A regulação por fotoperíodo se baseia na modificação de regime de iluminação para causar alguma mudança comportamental ou metabólica em um organismo (PITTENDRIGH, 1972). Órgãos fotorreceptores são necessários para a regulação de claro e escuro em uma escala diária pelo sistema circadiano (TORK, 2018).

As aranhas de alçapão são consideradas animais noturnos apesar de não existirem estudos referentes à suas atividades diárias. A falta de dados de história natural para as aranhas de alçapão é evidente. Alguns estudos foram desenvolvidos quanto aos comportamentos de forrageamento e defesa (COYLE et al. 1992), mas eram constituídos apenas de observações pontuais.

Ao observar o comportamento de construção de aranhas de alçapão e em qual período estes animais se mantêm ativos, podemos investigar os hábitos destes animais e seus valores adaptativos.

B) Objetivos gerais:

- a. Utilizando o *software* EthoSeq: Comparar e descrever os comportamentos de construção de opérculo e reparo de toca para *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza*.
- b. Por meio de uma revisão dos artigos anteriores: discutir a evolução de características de história natural para todas as famílias de aranhas de alçapão de Mygalomorphae.
- c. Por meio de experimentos comportamentais: descrever as atividades diárias de aranhas de alçapão.

- d. Discutir a relação entre os ritmos de atividade de aranhas de alcapão e o ciclo de claro e escuro.

C) Referências:

CODDINGTON, J. A. Phylogeny and classification of spiders. Spiders of North America: an identification manual. **American Arachnological Society**, v. 377, p. 18-24, 2005.

FOELIX, R.. **Biology of spiders**. OUP USA, 2011.

GUPTA, N.; DAS, S. K.; SILIWAL, M.. Natural history of the trapdoor spider *Idiopis joida* (Araneae: Idiopidae) from the Western Ghats in India. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 38-42, 2015.

JAPYASSÚ, H. F.; ALBERTS, C. C.; IZAR, P.; SATO, T. EthoSeq: a tool for phylogenetic analysis and data mining in behavioral sequences. **Behavior research methods**, v. 38, n. 4, p. 549-556, 2006.

JONES, K. H.S.; ELLIS, J.; von SCHANTZ, M.; SKENE, D.; DIJK D.J.; ARCHER, S. N., Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities. **Journal of sleep research**, v. 16, n. 1, p. 12-16, 2007.

MASON, L. D.; TOMLINSON, S.; WITHERS, P.C.; MAIN, B. Y. Thermal and hygric physiology of Australian burrowing mygalomorph spiders (*Aganippe* spp.). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 183, n. 1, p. 71-82, 2013.

MASON, L. D.; WARDELL-JOHNSON, G.; MAIN, B. Y.. The longest-lived spider: mygalomorphs dig deep, and persevere. **Pacific Conservation Biology**, v. 24, n. 2, p. 203-206, 2018.

MAIN, B. Y. Historical ecology, responses to current ecological changes and conservation of Australian spiders. **Journal of Insect Conservation**, v. 5, n. 1, p. 9-25, 2001.

- MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L.. **Cronobiologia: Princípios e Aplicações (revista e ampliada) Vol. 12.** São Paulo: Edusp, 1997.
- MATSUMOTO, A. Genome-wide screenings for circadian clock genes in *Drosophila*. **Sleep and Biological Rhythms**, v. 4, n. 3, p. 248-254, 2006.
- OPATOVA, V.; HAMILTON, C.A.; HEDIN, M.; MONTES DE OCA, L.; KRAL, J.; BOND, J.E. Phylogenetic systematics and evolution of the spider infraorder Mygalomorphae using genomic scale data. **BioRxiv**, p. 531756, 2019.
- ORTEGA-ESCOBAR, J. Circadian rhythms of locomotor activity in *Lycosa tarentula* (Araneae, Lycosidae) and the pathways of ocular entrainment. **Biological rhythm research**, v. 33, n. 5, p. 561-576, 2002.
- PITTENDRIGH, C. S. Circadian surfaces and the diversity of possible roles of circadian organization in photoperiodic induction. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 69, n. 9, p. 2734-2737, 1972.
- SEYFARTH, E. Daily patterns of locomotor activity in a wandering spider. **Physiological Entomology**, v. 5, n. 2, p. 199-206, 1980.
- SUTER, R. B. Circadian rhythmicity and other patterns of spontaneous motor activity in *Frontinella pyramitela* (Linyphiidae) and *Argyrodes trigonum* (Theridiidae). **Journal of Arachnology**, p. 6-22, 1993.
- TORK, P. Temporal behaviour in jumping spiders (Araneae, Salticidae). 2018. Tese de Doutorado. University of Canterbury.
- TSO, I.-Min et al. "The trapdoor spider family Ctenizidae (Arachnida: Araneae) from Taiwan." **Raffles Bulletin of Zoology**, v. 51, n. 1, p. 25-34, 2003.
- YAMASHITA, S.; NAKAMURA, T.. Circadian oscillation of sensitivity of spider eyes: diurnal and nocturnal spiders. **Journal of experimental biology**, v. 202, n. 18, p. 2539-2542, 1999.
- WORLD SPIDER CATALOG (2017). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 18.0, accessed on {06 de Fevereiro de 2020}.

CAPÍTULO I: AS DIFERENÇAS NO
COMPORTAMENTO DE CONSTRUÇÃO
DO OPÉRCULO ENTRE OS GÊNEROS
ACTINOPUS, IDIOPS E NEOCTENIZA

A) Introdução

As aranhas são animais diversos quando nos referimos aos nichos ecológicos e modos de vida, conquistando uma enorme diversidade de nichos em ambientes terrestres (TURNBULLI, 1973). Pertencentes ao subfilo Chelicerata, o segundo mais diverso do planeta, a classe Arachnida possui 11 ordens, dentre elas a ordem Araneae, na qual se insere o grupo de interesse deste trabalho. A ordem Araneae se divide em Mesothele e Opisthothele. A subordem Mesothele é composta por apenas uma família atual, Liphistiidae, que se assemelha morfológicamente com fósseis encontrados no Carbonífero e vivem em tocas escavadas, recobertas por opérculos, que são portas de alçapão construídas de teia, camufladas por elementos do substrato (BRISTOWE, 1976).

A subordem Opisthothele é dividida em Araneomorphae, grupo mais diverso de aranhas e considerado previamente como “aranhas verdadeiras”, e Mygalomorphae, que inclui caranguejeiras, aranhas de alçapão e aranhas de teia de funil. Atualmente, a ordem Araneae possui 120 famílias aceitas (WSC, 2019). Raven (1985) havia estabelecido 15 famílias em seu trabalho de revisão da infraordem Mygalomorphae. Bond et al. (2012) elevou Euctenizidae, Raven 1985, de subfamília (anteriormente Euctenizinae) para família. Hedin et al. (2018) revisou a taxonomia de Hexathelidae, Simon 1892, e elevou três grupos ao nível de família: Atracidae, Hogg 1901, Macrothelidae, Simon 1892, e Porrhothelidae, Hedin & Bond 2018. Godwin et al. 2018 elevou Halonoproctidae, Pocock 1903, ao nível de família. Em 2019, foram descritas 10 novas famílias para Mygalomorphae (HEDIN et al. 2019, OPATOVA et al. 2020), somadas às famílias já descritas, resultando em 30 famílias no total.

As aranhas Mygalomorphaes são normalmente de natureza sedentária (RAVEN, 1985; BOND et al. 2012), os tipos de abrigo e modo de vida são diversificados no

grupo. Dentro da infraordem podemos observar abrigos como tocas de alçapão, *purse-web*, teias de funil, tocas abertas e tocas em torre. Indicada como a forma ancestral de construção de teia (OPATOVA et al. 2019), as aranhas de teia de funil tecem uma teia densa, na qual são construídos abrigos de teia tubulares. As chamadas *purse-web spiders* pertencem à família Atypidae Thorell 1870 e constroem teias tubulares, recobertas por substrato no exterior e anexadas em árvores (MCCOOK, 1888). Os chamados *collared burrows* são escavações subterrâneas recobertas por teia e não possuem um opérculo, mantendo a toca aberta (HENDRIXSON & BOND, 2005). As aranhas construtoras de tocas de torre ocorrem em mais de uma família, as torres são construídas a partir de folhas, substrato e teia (RIVERS, 1892). As tocas abertas são comuns para as caranguejeiras, normalmente embaixo de troncos e pedras e poucas aplicações de teia.

As tocas de alçapão nas aranhas Mygalomorphae estão dispersas dentre as 30 famílias descritas até 2019, ocorrendo diversas formas na arquitetura destas tocas. Segundo Main (2001), as aranhas obtêm grandes vantagens de seu hábito de construir alçapões. Dentre as vantagens, a proteção contra predadores proporciona uma longevidade fora do comum para estes animais, estimada para mais de 30 anos (MAIN, 2001). Em um estudo mais recente, concluiu-se que aranhas de alçapão apresentam uma baixa perda de água por evaporação, quando comparado a outros grupos de Mygalomorphae, neste caso a toca de alçapão foi considerada de extrema importância para a sobrevivência destes animais em climas áridos, mantendo de 80% a 100% da umidade (MANSON et al. 2013).

As tocas de alçapão são escavações subterrâneas recobertas por teia em sua face interior e recobertas por opérculos, tampas circulares ou semicirculares construídas por deposição de substrato e teia (TSO et al. 2003; GUPTA et al. 2015). O diâmetro da toca

de alçapão está diretamente ligado ao tamanho do animal, e, portanto, a idade e o desenvolvimento, do indivíduo que a ocupa (MAIN, 1978). Em circunstâncias normais, uma aranha vive sua vida inteira dentro de uma única toca, aumentando e alargando a construção de acordo com seu crescimento (MAIN, 1957). Quando estas modificações e aumento de diâmetro da toca ocorrem é possível encontrar pequenos montes de terra próximos a toca (MARPLES & MARPLES, 1972). A estrutura e as condições da toca são mantidas constantemente pelo animal, podendo em campo ser possível diferenciar tocas habitadas de tocas abandonadas (E. F. TROVA & J. A. ANDO-TEIXEIRA, comentários pessoais). O diâmetro das tocas de alçapão de aranhas juvenis é significativamente menor quando comparado ao de aranhas adultas. Para fêmeas que atingiram a maturidade sexual, o diâmetro do alçapão continua a aumentar por tempo limitado até que um aumento significativo não seja mais observado (MAIN, 1978).

A escavação da toca é realizada com auxílio das quelíceras, pedipalpos e pernas I e II. A presença de garras tarsais e cerdas e espinhos na coxa podem indicar uma adaptação para cavar (GRISWOLD, 1987). O processo de construção das tocas de alçapão, de uma forma generalizada, é bem similar dentre as espécies, apesar de suas diferentes formas e possíveis significados evolutivos (COYLE & ICENOGLE, 1994). As tocas de alçapão normalmente se encontram camufladas na serrapilheira. Algumas aranhas tecem fios de teia que se estendem da borda da entrada da toca ao meio externo, denominado *signal threads* e são encontrados principalmente em tocas de *Liphistius* Schiödte 1849 e possibilitam a percepção da aproximação de presas ou predadores.

As tocas das aranhas de alçapão possuem uma variedade de formas. Mogridge & Pickard-Cambridge (1873) diferencia os opérculos das tocas como *cork like* e *wafer like*. Os opérculos *cork like* são mais espessos e se assemelham com rolhas. Os opérculos *wafer-like* são mais finos e maleáveis. Main (1957) discutiu a presença de

opérculos *cork-like* nas áreas de planície alagadas da Austrália, sugeriu uma adaptação para prevenir a entrada de água nas tocas.

As fêmeas de aranhas de alçapão podem ser encontradas em pequenas populações em manchas de concentração, pois suas tocas se distribuem de forma agregada. A densidade da população pode sofrer alterações em razão da interferência humana (GUPTA et al. 2015), sendo mais densa em locais de alta interferência. Raramente deixando as tocas, as fêmeas são animais sedentários (MARPLES & MARPLES, 1972; TSO et al. 2003; FERRETI et al. 2010).

Main (1957,1976) observou que as fêmeas de *Anidiops villosus* (Idiopidae) possuem uma longevidade de até 43 anos e muitas vezes não se reproduzem sucessivamente, mas possuem períodos de acasalamento alternados, podendo ter um intervalo de mais de dois anos entre duas ninhadas. Estes estudos também demonstraram que é comum para uma fêmea se reproduzir mais de duas vezes ao longo da vida, mantendo um equilíbrio na população.

Antes da eclosão dos jovens e após a cópula, a fêmea pode selar a entrada do alçapão utilizando um opérculo de barro, que pode permanecer fechado por até 12 meses (MAIN, 1978). Fêmeas que não copularam ou que não botaram ovos não selam a entrada das tocas (MAIN, 1978). Os jovens, após a eclosão, habitam a mesma toca da fêmea, podendo permanecer por algumas semanas ou meses e então deixam e escavam a própria toca. Buchli (1969) observou que indivíduos jovens podem escavar as próprias tocas a partir de quatro mudas. Em laboratório foi possível observar que indivíduos jovens podem construir a própria toca antes de completarem as quatro mudas (TROVA, 2019).

Ao atingir a maturidade os machos abandonam as tocas, assumindo um modo de

vida errante (MAIN, 1978), buscando fêmeas, deixando de se alimentar, correndo o risco de morrer de exaustão ou por predação, em algumas ocasiões pela própria fêmea (BUCHLI, 1969). O macho possui adaptações exclusivas, algumas observadas nas pernas que são proporcionalmente mais compridas, com alterações no padrão de espinulação e posse de pseudoscopula (cerdas químiosensoriais).

As aranhas de alçapão são essenciais ao ecossistema no qual estão inseridas. São predadores vorazes, de acordo com observações em natureza, para os insetos, sendo que as presas mais comuns variam entre coleópteros, himenoptéros e isópodos (COYLE & ICENOGLE, 1994).

O hábito de construir tocas de alçapão ocorre em 12 famílias diferentes da infraordem Mygalomorphae (após OPATOVA et al. 2019). São estas, Ctenizidae, Euctenizidae, Actinopodidae, Barychelidae, Stasimopodidae, Halonoproctidae, Migidae, Idiopidae, Nemesiidae, Antrodiaetidae, Bemmeridae e Cyrtaucheniidae. As famílias construtoras de toca estão espalhadas de forma esparsa na mais recente filogenia (OPATOVA et al. 2019), muitas vezes possuindo grupos irmãos não construtores de toca.

As aranhas Mesothelae, as Liphistiomorphae, já apresentam tocas de alçapão e normalmente são utilizadas como grupo externo para as filogenias de Mygalomorphae. A família Antrodiaetidae Gertsch 1940 está na superfamília Atypoidea, que possui uma variedade de formas de toca, incluindo teia de lençol, tocas de alçapão, *collared burrows* e tocas em torre (OPATOVA et al. 2019). O grupo Atypoidea é irmão Avicularoidea, no qual estão contidas as demais famílias construtoras de alçapão.

O chamado *venom clade* é composto por duas famílias construtoras de alçapão e uma família construtora de teia de funil. Actinopodidae Simon 1892, que constrói tocas de alçapão, e Atracidae Hogg 1901, que constrói teias de funil, são suportadas como

grupos irmãos (HEDIN & BOND, 2006; AYUB et al. 2007; BOND et al. 2012; HAMILTON et al. 2016; HEDIN et al. 2018). Stasimopidae Opatova 2020, que também constrói tocas de alçapão, é colocado como grupo irmão de Actinopodidae + Atracidae, mas este relacionamento possui diferentes graus de suporte (OPATOVA et al. 2019). O *venom clade* foi considerado grupo irmão de Domiothelina por Opatova et al. (2019).

Domiothelina é um grupo monofilético (BOND et al. 2012) que é composto pelas famílias Ctenizidae Thorell 1887, Euctenizidae Raven 1885, Idiopidae Simon 1889, Migidae Simon 1889 e Halonoproctidae Pocock 1901. Todas as famílias presentes em Domiothelina são construtoras de tocas de alçapão, com exceção de algumas espécies (OPATOVA et al. 2019). Ctenizidae e Euctenizidae são grupos irmãos, Idiopidae é grupo irmão de Ctenizidae+ Euctenizidae e Migidae é grupo irmão de Ctenizidae+Euctenizidae+Idiopidae. Halonoproctidae é o grupo mais externo em Domiothelina (OPATOVA et al. 2019).

O grupo Theraphosoidina possui alguns taxa construtores de tocas de alçapão. As famílias que incluem aranhas construtoras de alçapão são Barychelidae Simon 1889, e Bemmeridae Opatova 2019 (OPATOVA et al. 2019). O grupo Nemesoidina é irmão de Theraphosoidina e inclui as seguintes famílias construtoras de alçapão: Nemesiidae Simon 1889, Cyrtaucheniidae Simon 1889. Nemesoidina e Theraphosoidina formam o grupo Crassitarsae. A relação entre os grupos Crassitarsae, *venom clade* e Domiothelina dentro de Avicularoidea ainda não é bem sustentada.

A família Actinopodidae Simon 1892 (Aranae: Mygalomorphae) possui representantes notórios por construírem tocas de alçapão, sendo 64% da diversidade deste grupo representada pelo gênero *Actinopus* Perty em 1883 (Aranae: Mygalomorphae) (MIGLIO, 2009). A família contém ainda mais dois gêneros, *Missulena* Walckenaer 1805 que são encontrados exclusivamente na Austrália, e

*Plesiolen*a Goloboff & Platnick 1987 cujas espécies pertencentes são exclusivamente chilenas (MIGLIO, 2009). Dentre outras famílias, os Actinopodidae se encontram na infraordem Mygalomorphae.

As aranhas do gênero *Actinopus* são muito abundantes e amplamente distribuídas no Brasil, porém de difícil coleta, devido a seus hábitos fossoriais (MIGLIO, 2009). O gênero atualmente conta com 53 espécies, todas em distribuição na região neotropical (TAMAYO & GOLOBOFF, 2018; MIGLIO, 2009).

A família de Idiopidae, Simon 1889, possui uma distribuição geográfica Gondwanica (PLATNICK, 2013) e é composta por aranhas construtoras de alçapão. Idiopidae, Simon 1889, com 22 gêneros e 400 espécies descritas até o momento (WSC, 2019), está atualmente dividida em três subfamílias, sendo Idiopinae Simon 1889, Arbanitinae Simon 1903 e Genysinae Simon 1903. Apesar de sua ampla distribuição, apenas dois gêneros ocorrem na América do Sul, sendo estes *Idiops* Perty 1833, pertencente a subfamília Idiopinae Simon 1889, e *Neocteniza* Pocock 1895, pertencente a subfamília Genysinae Simon 1903.

O gênero *Idiops* Perty 1833 foi inicialmente descrito no Brasil, para a espécie *Idiops fuscus* Perty 1833. Os *Idiops* podem ser identificados por apresentar olhos laterais anteriores deslocados para a borda anterior da carapaça, fileira ocular posterior procurva, carapaça estreita posteriormente, quelíceras apresentando duas fileiras de dentes nas margens prolateral e retrolateral e ausência de espinhos diminutos nas coxas (DIPPENAR-SCHOEMAN, 2002). Dentro do gênero foram descritas 94 espécies até o momento (WSC, 2019). O gênero *Idiops* possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde as Américas Central e do Sul até a Ásia e África (DIPPENAR-SCHOEMAN, 2002; GUPTA et al. 2015), mas provavelmente toda essa diversidade

está erroneamente reunida no mesmo gênero, que carece de uma revisão taxonômica recente.

O gênero *Neocteniza* Pocock, 1895, descrito pela primeira vez no Brasil em 2004 (FUKAMI et al. 2004), é composto por aranhas de alçapão pequenas (0,6-24mm) caracterizadas pela fóvea torácica recurva, olhos dispostos em duas filas ocupando toda a fronde e o lábio fundido e rastelo forte (PLATNICK & SHADAB, 1975). Inicialmente descrito como parte da família Actinopodidae, mas transferido para Idiopidae em 1985 (RAVEN, 1985). O gênero é constituído por 18 espécies atualmente (WSC, 2019). O gênero *Neocteniza* está distribuído amplamente, 12 espécies ocorrendo na América do Sul e seis espécies ocorrendo na América Central (MIRANDA et al. 2013).

Apesar da existência de alguns trabalhos de descrição de comportamento de construção e reparo de toca para aranhas de alçapão, nenhuma metodologia de análise de dados é proposta. Quando se trata da observação e descrição de comportamento, podem ser inclusas impressões do observador na descrição sobre o comportamento observado. A utilização da ferramenta EthoSeq (JAPYASSÚ et al. 2006) possibilita reduzir a interferência destas impressões nos relatos de comportamento, nos oferecendo resultados mais objetivos. Tratando-se de dados comportamentais para construção de toca de alçapão, esta abordagem metodológica nunca foi tomada. A comparação entre o comportamento de determinados gêneros e famílias de aranhas de alçapão também nunca fora analisada utilizando tal metodologia. As informações referentes à história natural de aranhas de alçapão são encontradas em poucos artigos e em notas presentes em descrições taxonômicas. Existe a necessidade de se coletar estes dados sobre estas aranhas; compreender seus hábitos, descrever seus comportamentos e comparar os mesmos dentre os diversos grupos construtores de toca de alçapão.

O comportamento de reconstrução de tocas de alçapão nos trás o entendimento por trás do valor adaptativo deste abrigo assim como informações relacionadas com a resiliência destes animais, que podem chegar até os 43 anos de idade. Entender como as tocas de alçapão evoluíram ao longo de Mygalomorphae nos trás respostas de como os abrigos tomaram as formas e funções que apresentam atualmente. A ausência de dados de história natural para estes animais apresenta desafios adicionais para pesquisadores que se propõe a trabalhar com o grupo, dificultando coletas e não oferecendo uma base de conhecimento para se apoiar novas hipóteses. Portanto, ao realizar estudos sobre alguns aspectos de aranha de alçapão podemos oferecer uma base para estudos futuros.

B) Objetivos

- a. Descrever e comparar o comportamento de reparo de toca e reconstrução de opérculo entre *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza*.
- b. Discutir a evolução dos caracteres de história natural para aranhas de alçapão dentro de um contexto filogenético.

C) Metodologia

- 1) Metodologia de coleta: Os animais pertencentes aos gêneros *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza* foram coletados em natureza, a partir da remoção do animal da toca de alçapão, o que pode resultar na destruição desta última. A coleta foi realizada em diversas localidades, sendo estas: a Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade, as áreas arborizadas de Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho, ambas em Rio Claro-SP, a Estação Ecológica de Itirapina, em Itirapina-SP, as áreas de cerrado da Universidade Federal de São Carlos, em São Carlos-SP, e em localidades na Serra do Cipó-MG, Blumenau-SC e Brejo do Amado de Deus-PE. Apenas as fêmeas e os

indivíduos jovens são de interesse para este estudo. Para detalhes referentes às espécies dos indivíduos, as localidades de coletas, as datas de coletas e os coletores, checar Tabela 2, em Anexos do Capítulo II. Todos os indivíduos foram dissecados de modo a identifica-los em nível de espécie. Para *Actinopus* foram identificadas cinco espécies diferentes, três das quais não ainda não foram descritas, para *Idiops* foram identificadas quatro espécies diferentes, três das quais não foram descritas. Todas as *Neocteniza* utilizadas nos experimentos foram identificadas como *Neocteniza toba*. Portanto quando a nomenclatura *Actinopus* ou *Idiops* for utilizada estaremos nos referindo a uma generalização para os gêneros.



Figura 1-4: Coletas realizadas na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade, Rio Claro, SP. Figura 4: Toca de *Actinopus* em campo.

- 2) **Aclimação:** Para todos os experimentos os animais foram aclimatados, colocados em terrários. O tamanho dos terrários variou de acordo com o tamanho do animal, as aranhas menores (de tocas de até 1 cm de diâmetro) foram colocadas em terrários redondos de plástico de 11 cm de diâmetro e 8 cm de altura. As aranhas maiores foram colocadas em terrários redondos de vidro de 25,5 cm de diâmetro e 10 cm de altura. Os terrários foram preenchidos com 5 cm de terra e uma camada fina de folhas e pequenos galhos. A maioria dos animais levados para o laboratório construíram tocas no período de 24 horas a 72 horas após a coleta. Os animais que não construíram tocas nos terrários muitas vezes foram encontrados mortos parasitados. Os terrários foram mantidos em uma sala sem janelas no primeiro andar do prédio do Instituto de Biociências, da UNESP-Câmpus de Rio Claro. Os animais foram deixados em condições naturais de fotoperíodo por uma semana, sendo estas LD 12/12 (12 horas de luz e 12 horas de escuro). As condições de luminosidade foram reproduzidas em laboratório utilizando lâmpadas fluorescentes tubulares de 32W e um temporizador analógico bivolt Foxlux® (modelo FX TBA).
- 3) **Condições laboratoriais:** O laboratório foi mantido sem alterações na temperatura, ocorrendo uma medição de temperatura antes do início de todo experimento. Durante o período de experimentos a temperatura foi monitorada com o auxílio de um termohigrômetro. A temperatura variou 26°C a 19°C, de acordo com as observações feitas ao longo do ano. Os animais receberam água sempre que necessário para manter o terrário úmido.
- 4) **Experimentos:**

Para a relação de quais indivíduos foram utilizados para os experimentos, checar a Tabela 3, em Anexos do Capítulo II.

- a. Experimento de descrição de comportamento: O opérculo é arrancado e uma câmera é colocada para monitorar o processo de reconstrução e reparo da toca. Após 24 horas a câmera foi desligada. Os vídeos foram analisados e a partir de uma análise primária um etograma é montado. O etograma foi composto por uma tabela de três colunas, que contém nome do comportamento, a descrição do comportamento e o símbolo que representa este comportamento nas anotações. Após a montagem do etograma, os vídeos foram analisados novamente e uma descrição minuciosa do comportamento foi feita. A análise do comportamento foi feita utilizando a metodologia de coleta de amostras *all occurrence sampling*, anotando toda vez que algum comportamento ocorria, sem especificar o momento ou a duração. Se tratando de aranhas, a metodologia aplicada foi apropriada tendo em vista os rápidos comportamentos e a curta duração das atividades, sem muitos intervalos. A partir desta descrição, uma matriz comportamental foi montada. Esta matriz é composta por categorias comportamentais nas suas colunas e linhas, de forma que a quantidade de vezes que um comportamento presente na linha sucede um comportamento presente na coluna é indicado na célula (Exemplo: Figura 5). Foi criada uma matriz para cada gênero e estas foram analisadas no EthoSeq 1.0 (JAPYASSÚ et al. 2006). O EthoSeq 1.0 foi desenvolvido especificamente para o estudo comparativo de comportamento entre táxons. O software utiliza o algoritmo MRDITREE de Sato (1984), que se baseia na Teoria dos

Grafos, descrita propriamente por König (1936). A Teoria dos Grafos foca na investigação das relações entre objetos de um mesmo conjunto. O algoritmo MRDITREE compõe sequências comportamentais que ocorrem acima do acaso, estabelecendo um padrão de funcionamento entre os comportamentos (JAPYASSÚ et. al. 2006). O EthoSeq produz uma listagem das sequências comportamentais mais prováveis. Sequências pequenas são analisadas independentemente, mesmo que componham sequências maiores. Utilizando esta listagem gerada pelo EthoSeq, os fluxogramas de cada gênero foram montados manualmente. Caso um comportamento ocorresse com menos 15% de frequência, o mesmo era descartado por não ser um dado significativo. Os fluxogramas foram elaborados utilizando a ferramenta online LucidChart©.

	E	F	Fix	P1	R	S	T
E	0	5	7	4	5	31	1
F	6	0	14	7	1	12	0
Fix	14	8	0	2	1	7	46
P1	3	2	9	0	0	2	1
R	5	12	31	2	0	0	0
S	3	12	3	2	43	0	0
T	24	3	6	2	1	8	0

Figura 5: Exemplo de matriz comportamental do Ethoseq. As categorias comportamentais nas colunas são sucedidas pelas categorias comportamentais nas linhas. Os números são referentes ao número vezes essa sucessão aconteceu. E: Posicionar na entrada da toca; F: fechar opérculo; Fix: Fixar materiais, P1: Sair do campo de visão, R: reunir materiais, S:sair da toca , T: aplicar teia. Exemplo: Na célula R;Fix, podemos observar que o comportamento reunir materiais foi sucedido pelo comportamento fixar materiais 31 vezes.

- b. Comparação de padrões de comportamento entre gêneros: Após a análise do EthoSeq, as frequências das sequências comportamentais foram colocadas uma matriz (Figura 6) para que fosse realizada uma análise de

cluster e posteriormente a construção de um dendrograma.

	ES	ERFix	ERP	ER	ERFixT	ESR	ESRFIX	ESRFixT	ESF	EF
ACT	60	0	0	0	0	42	27.39	16.58	12	0
IDIO	17.24	28.1	0	37.93	18.3	0	0	0	0	3.45
NEO	16	47.69	4.47	76	35.76	0	0	0	0	0

Figura 6: Exemplo de matriz utilizando as frequências resultantes do Ethoseq. Os gêneros *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza* estão representados nas colunas por ACT, IDIO e NEO respectivamente. Nas colunas estão representadas as sequências de comportamento geradas pelo EthoSeq e suas frequências para cada gênero.

A partir da análise do EthoSeq, o *output* é um arquivo de formato tgs. Para cada gênero, um arquivo tgs foi criado. O arquivo tgs armazena informações referentes às sequências de comportamento que ocorrem em determinado táxon. Ao analisar os arquivos tgs em conjunto, uma lista de sequências comportamentais é gerada, mostrando aquelas comuns a aranhas de distintos gêneros. Utilizando os dados desta lista, uma matriz de semelhanças compartilhadas foi montada. Esta matriz de semelhança foi analisada utilizando o software TNT 1.5 (GOLOBOFF *et. al.* 2008), que emprega o princípio da parcimônia para traçar as relações entre os terminais, para que as árvores de semelhança fossem construídas. Apesar de este software ser comumente utilizado para a obtenção e análise de árvores filogenéticas, é importante ressaltar que a topologia obtida neste caso não possuiu valor filogenético, por isso se caracteriza como árvore de semelhança e não como árvore filogenética.

Para que seja possível traçar esta relação de semelhança utilizando o TNT 1.5, é necessária a criação de um grupo externo hipotético. Para o grupo externo hipotético, todas as sequências estão ausentes, de modo a representar um grupo com os estados primitivos dos caracteres comportamentais, considerando, portanto cada presença de sequência

comportamental compartilhada uma sinapomorfia. A presença de sequencias comportamentais para um gênero é sinalizado pelo estado 1 e sua ausência é sinalizada por 0. A partir da presença de uma sequencia compartilhada entre os grupos, podemos inferir uma relação de semelhança mais estreita entre os mesmos. A partir dessa matriz, árvores foram geradas pelo programa TNT 1.5 e analisadas posteriormente referentes às suas homoplasias e sinapomorfias.

- c. Aumento da espessura do opérculo: O opérculo, construído há três meses após os experimentos iniciais de reconstrução de opérculo, foi removido e a espessura do mesmo foi medida, com o auxílio de um paquímetro. Foram aguardadas 24 horas para a construção de um novo opérculo. Medições após 24 horas foram feitas, também com o auxílio de um paquímetro, tomando a remoção do opérculo como ponto inicial. Novas medições foram feitas, desta vez após 48 horas, 72 horas, 96 horas, sete dias, dez dias, 14 dias e 17 dias. Os dados foram analisados de forma indicar ou não a presença de um aumento gradual na espessura do opérculo.

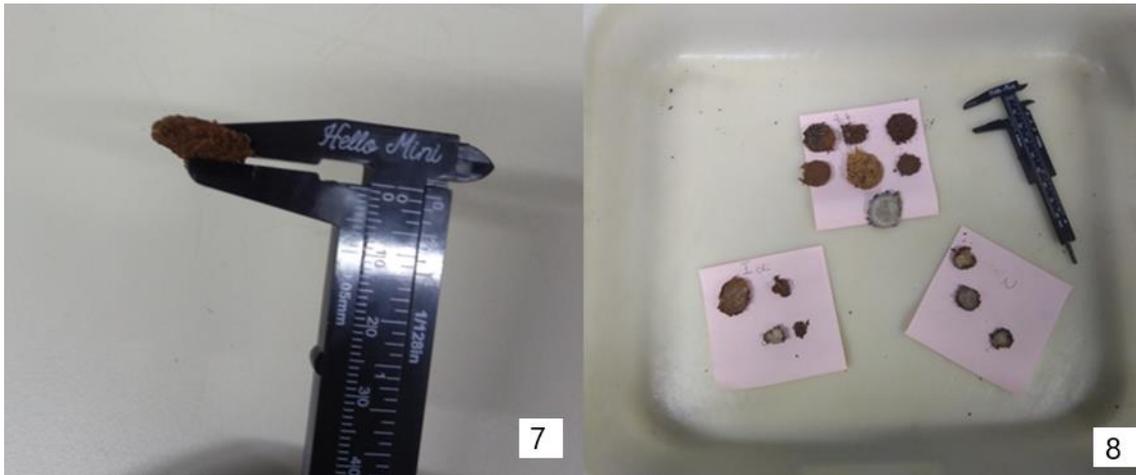


Figura 7: Paquímetro utilizado na medição da espessura dos opérculos. Figura 8: Medição inicial dos opérculos construídos há três meses.

- 5) Revisão bibliográfica: Utilizando o software Mesquite, a árvore filogenética de Opatova et. al. 2019 foi recriada utilizando a ferramenta *Draw Tree By Hand*. Uma matriz de caracteres referentes à história natural foi criada para os taxa presentes na árvore, utilizando dados de artigos de descrição e redescricao dos taxa utilizados por Opatova et al. (2019). Foi feita uma revisão bibliográfica de modo a reunir todos os artigos contendo notas sobre história natural, descrição da toca e até mesmo fotos das tocas dos animais. Foi utilizada a ferramenta *Trace Character History*, selecionando a metodologia de parcimônia, para se observar e discutir a evolução dos caracteres de história natural.

D) Resultados

a. Etograma:

A partir de uma análise pré-liminar dos vídeos, um etograma foi estabelecido. Foram reconhecidas sete categorias comportamentais para o processo de reconstrução de opérculo. As categorias comportamentais

descritas por Coyle et. al. 1992, *pivoting* e *rolling*, foram desconsiderados nessa análise.

Tabela 1: Etograma de comportamento de reconstrução de opérculo.

Comportamento	Descrição	Equivalencia entre autores
Sair da toca	Retirar o corpo inteiro da toca, expondo o abdômen e os tarsos da perna IV.	-
Fechar opérculo	Puxar o opérculo com pernas I, pedipalpos ou quelíceras. O animal pode tentar realizar o comportamento com o opérculo ausente.	<i>Door-shape testing</i> (Coyle et al. 1992)
Entrada da toca	O animal se posiciona na entrada da toca, sem movimentação, com pernas I para fora.	-
Sair do campo de visão	O animal vai até a parte mais profunda da toca, sendo impossível observa-lo.	-
Reunir materiais	O animal utiliza pernas I e II, quelíceras e pedipalpo para pegar substrato.	<i>Digging</i> Coyle et al. 1992.
Fixar materiais	Utilizando perna I e pedipalpos, o animal posiciona os materiais	<i>Soil releasing + door molding</i> Coyle et al.

	coletados na borda da toca ou no opérculo.	1992
Aplicar teia	Passar as fiandeiras no opérculo ou nas bordas da toca	<i>Silk application</i> Coyle et al. 1992

b. Fluxograma do comportamento de reparo de opérculo e toca.

i. Gênero *Actinopus*

Foram registrados e analisados três vídeos bem sucedidos para o gênero *Actinopus*, utilizando indivíduos diferentes para cada vídeo. Os vídeos tem duração de 24 horas, mas os animais não se mantiveram ativos na totalidade deste período. A relação de indivíduos utilizados por experimento se encontra em Anexos, Tabela 3. Foi registrado um ciclo inicial de saída da toca, sucedido pela reunião de materiais (como terra, folhas secas e galhos) e fechamento do opérculo, que se repete pela primeira hora após a remoção do opérculo. No ciclo seguinte ocorre a parte de construção mais significativa: o animal sai da toca, reúne os materiais, fixa os mesmos, aplica teia com o auxílio das fiandeiras, se posiciona no início da toca momentaneamente e repete o ciclo até a conclusão do reparo (Figura 9). Em poucas ocasiões, o animal sai do campo de visão do observador, retornando para a entrada da toca ou fixando materiais. O comportamento de sair do campo de visão ocorre com menos frequência ao ponto de não pertencer ao ciclo obrigatoriamente, mas ocorre com frequência suficiente para ser mencionado no fluxograma.

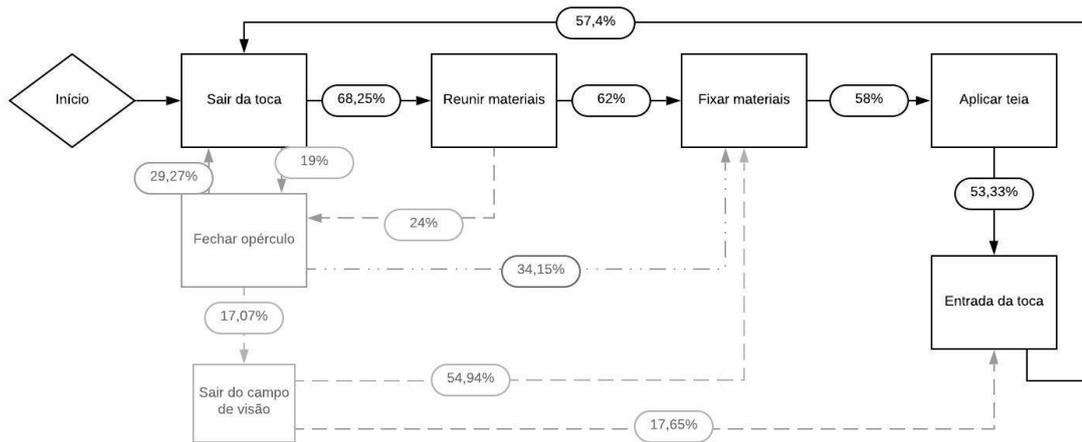


Figura 9: Fluxograma de reparo de toca e opérculo para o gênero *Actinopus*. Em preto e em linhas sólidas está representado o ciclo principal, de maior frequência. Em cinza e em linhas pontilhadas, estão representados os outros comportamentos presentes, de menor frequência.

ii. Gênero *Idiops*

Foram registrados e analisados três vídeos bem sucedidos para o gênero *Idiops*, contanto com três indivíduos diferentes, filmados por 24 horas, sendo que as atividades não foram mantidas na totalidade deste período. A relação de indivíduos utilizados por experimento se encontra em Anexos, Tabela 3. O comportamento registrado para o gênero contém apenas um ciclo, com pequenos desvios de menor frequência. O ciclo inicia com o animal posicionado na entrada da toca e nesta mesma posição reunindo materiais, seguido do comportamento de fixar estes materiais, que por sua vez é seguido da aplicação de teia (Figura 10). O ciclo reinicia após este comportamento, podendo recomeçar no posicionamento na entrada da toca ou com o comportamento de

reunir materiais. É possível observar um comportamento alternado de fixar materiais e aplicar teia de forma repetitiva. O comportamento de sair da toca ocorre com pouca frequência e é sempre sucedido pelo comportamento de reunir materiais, neste caso explorando uma área maior de busca de substrato.

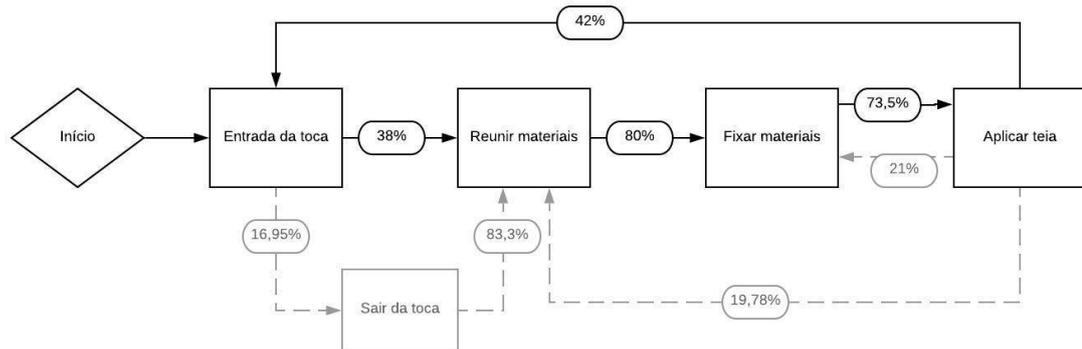


Figura 10: Fluxograma de reparo de opérculo para o gênero *Idiops*. Em preto e em linhas sólidas está representado o ciclo principal, de maior frequência. Em cinza e em linhas pontilhadas, estão representados os outros comportamentos presentes, de menor frequência.

iii. Gênero *Neocteniza*

Foi registrado e analisado apenas um vídeo bem sucedido de reparo de opérculo para a espécie *Neocteniza toba*. Os dados escassos para este gênero devem-se pela dificuldade de obter o registro do comportamento: Durante as dez tentativas de experimento, apenas um indivíduo reconstruiu o opérculo e realizou o reparo da toca. Os demais indivíduos quando estimulados pela ausência do opérculo, não realizaram seu reparo, muitas vezes permanecendo sem o mesmo ou saindo das tocas e

tentando fugir dos terrários. Não se sabe a razão deste comportamento, mas não devemos atribuí-lo como história natural do gênero. Dentre as possíveis explicações para esta ausência de reparo, a mais plausível seja referente às condições laboratoriais, que pode sensibilizar alguns indivíduos. Apesar da escassez de indivíduos testados, o registro existente se mostrou muito informativo. O comportamento de *Neocteniza* mostra apenas um ciclo comportamental (Figura 11). O ciclo se inicia com o animal se posicionando na entrada da toca, em seguida reunindo materiais, os fixando e por fim aplicando teia. O ciclo pode reiniciar na reunião de materiais ou no posicionamento na entrada da toca. Em poucas ocasiões o animal deixa a toca após seu posicionamento na entrada da toca e reúne os materiais para construção. Desta forma é possível obter uma maior área para a coleta deste substrato.

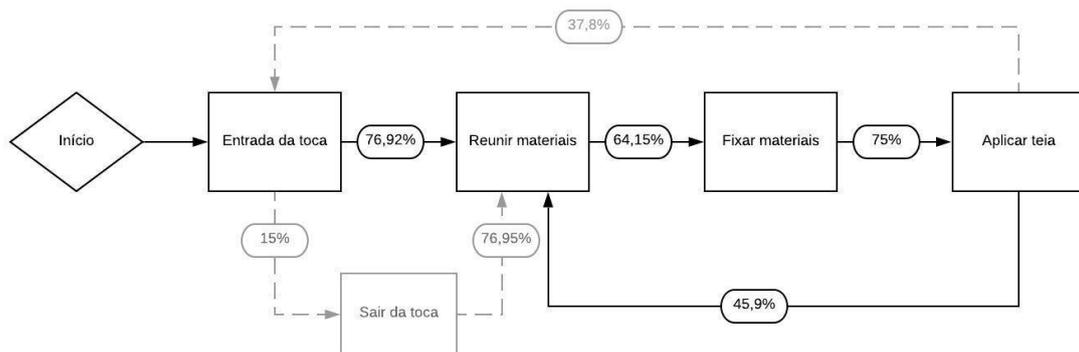


Figura 11: Fluxograma de comportamento de reparo de opérculo para o gênero *Neocteniza*. Em preto e em linhas sólidas está representado o ciclo principal, de maior frequência. Em cinza e em linhas pontilhadas, estão representados os outros comportamentos presentes, de menor frequência.

b. Comparação entre gêneros.

Os ciclos comportamentais se diferenciam pela ausência de algumas categorias comportamentais e pelas frequências em que ocorrem. O ciclo comportamental de *Actinopus* é o que se difere dos restantes, contendo dois ciclos distintos. O primeiro ciclo (Figura 12), que não ocorre para os outros gêneros, aparenta ser um ciclo de reação inicial anterior ao reparo efetivo do opérculo. Os comportamentos de sair do campo de visão e fechar opérculo ocorrem de maneira expressiva apenas em *Actinopus*, demonstrado como um pequeno desvio no ciclo de construção de opérculo (Figura 9).

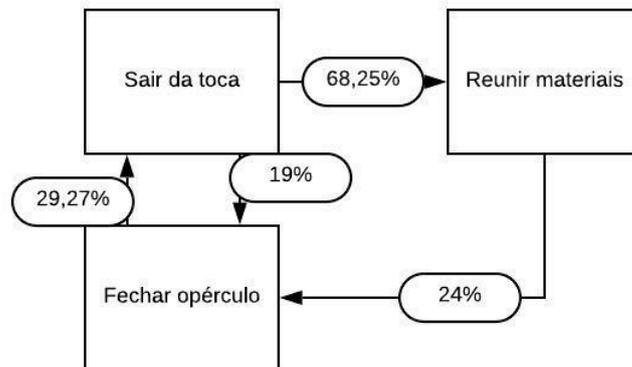


Figura 12: Ciclo exclusivo ao gênero *Actinopus*

Ao analisar as árvores de consequentes obtidas nas análises de *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza* foram obtidas 73 seqüências comportamentais e suas respectivas frequências. O dendrograma construído a partir da análise de cluster demonstra uma proximidade entre os gêneros *Actinopus* e *Idiops*.

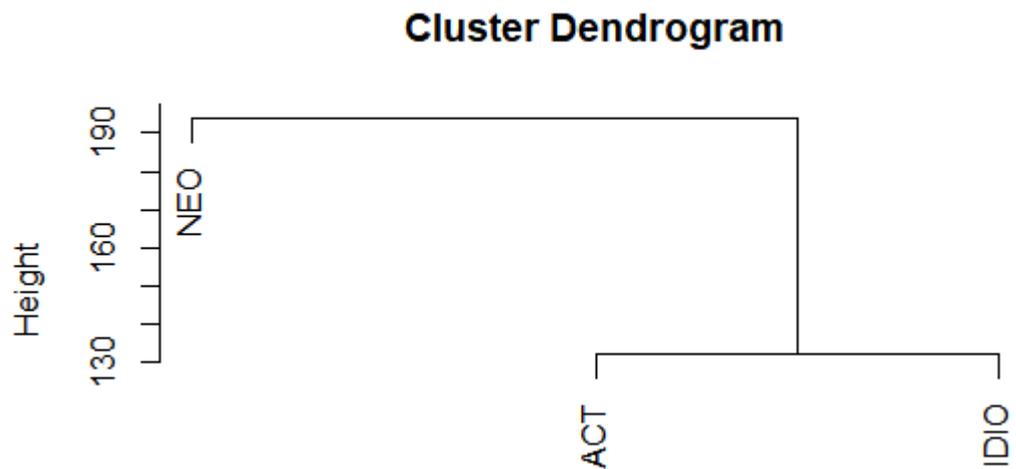


Figura 13: Dendrograma de *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza*. ACT= *Actinopus*, IDIO=*Idiops*, NEO=*Neocteniza*.

Ao comparar os arquivos tgs foram obtidas 66 sequências comportamentais compartilhadas. As sequências que ocorrem em apenas um gênero foram excluídas por não serem informativas no contexto comparativo. Os gêneros *Actinopus* e *Idiops* compartilham 27 sequências comportamentais. Os gêneros *Actinopus* e *Neocteniza* compartilham nove sequências comportamentais. Por fim, os gêneros *Idiops* e *Neocteniza* compartilham 14 sequências (figura 14).

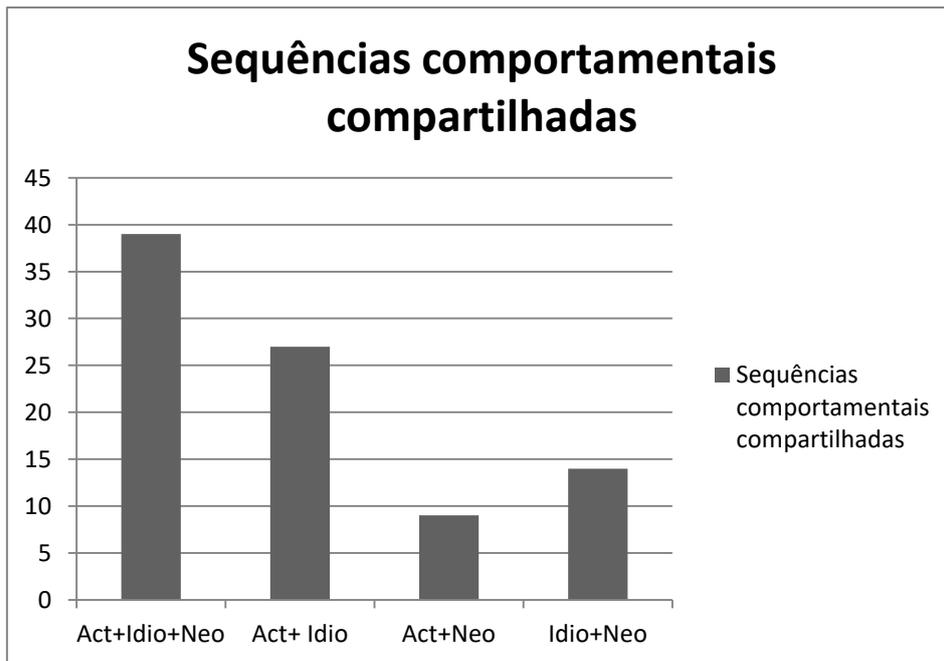


Figura 14: Gráfico de sequências compartilhadas. Act = *Actinopus*, Idio = *Idiops*, Neoct = *Neocteniza*

A árvore de semelhança evidência a pequena diferença entre os ciclos comportamentais dos grupos. Apesar de aproximar mais os gêneros *Idiops* e *Actinopus*, que não pertencem à mesma família, essa semelhança é sustentada por 27 sequências compartilhadas, enquanto a semelhança comportamental entre *Idiops* e *Neocteniza*, que por sua vez pertencem a mesma família, é sustentada por 14 sequências compartilhadas.

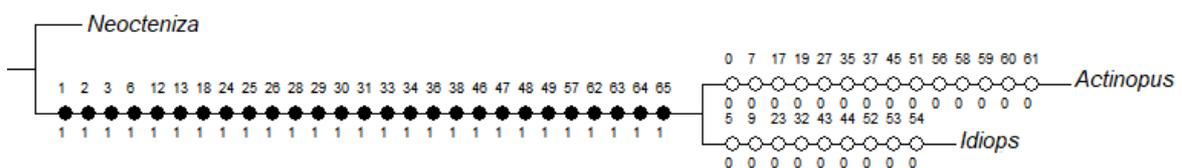


Figura 15: Árvore de semelhança.

c. Aumento da espessura do opérculo

A partir da observação realizada dentre os dias 01 e 18 de Outubro de 2019, foi possível observar as diferenças quanto à espessura do opérculo para os gêneros *Actinopus* e *Idiops*. Para o gênero *Actinopus*, foram utilizados seis indivíduos para esse experimento. Pudemos observar o aumento gradual de espessura do opérculo de *Actinopus*, com exceção de um indivíduo cujo o opérculo se manteve com a mesma espessura. Ao longo dos 17 dias de observação, a maioria dos indivíduos de *Actinopus* construíram um opérculo e realizaram a manutenção de modo que a espessura se igualou a dos opérculos construídos anteriormente, e em alguns casos se tornando ainda mais espesso. Para o gênero *Idiops*, foram observados três indivíduos, o opérculo fora reconstruído, o novo opérculo já possuía a mesma espessura do anterior e não sofreu alterações posteriores. Tentativas de replicar o experimento utilizando aranhas do gênero *Neocteniza* foram feitas, no entanto, nenhuma das aranhas reconstruiu o opérculo dentro do prazo de 17 dias estipulado.

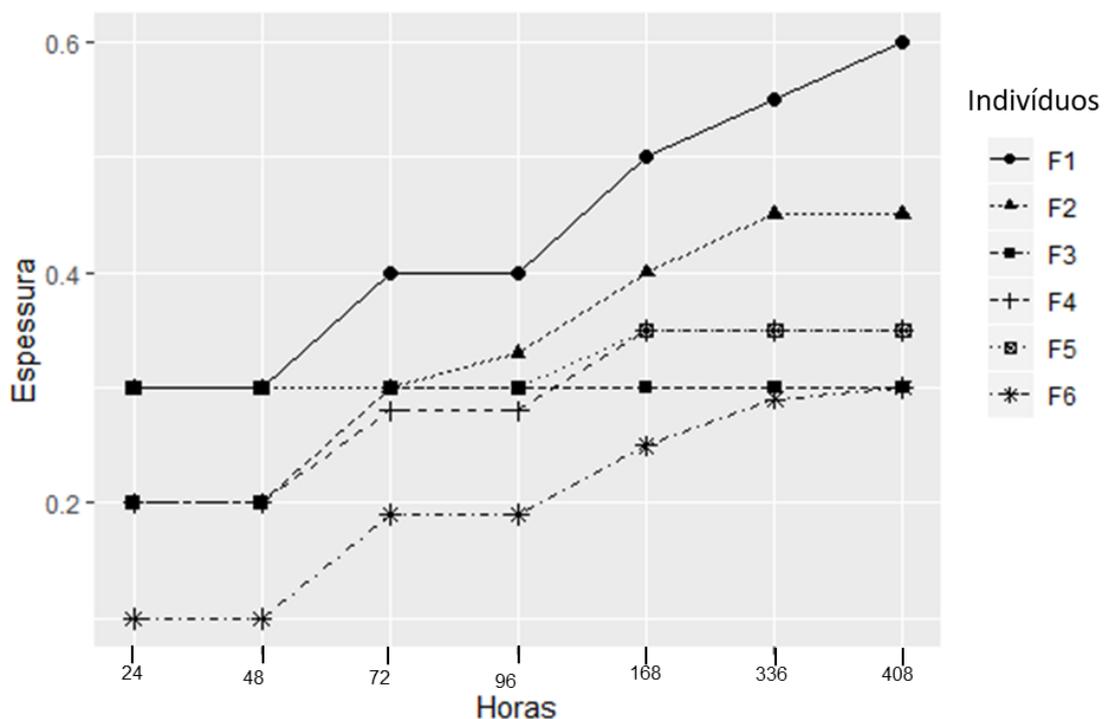


Figura 16: Gráfico de aumento da espessura, em centímetros, de opérculo de *Actinopus*.

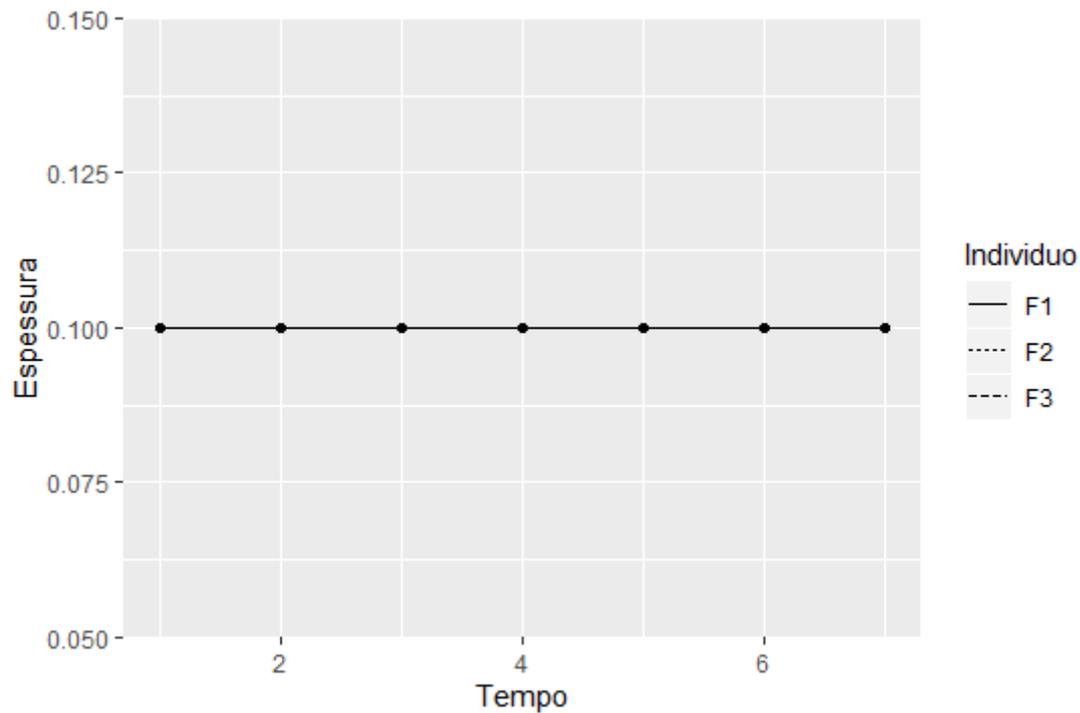


Figura 17: Gráfico de aumento da espessura, em centímetros, de opérculo de *Idiops*. Tempo: 24 a 408 horas.

d. Evolução dos caracteres de história natural de aranhas de alçapão.

d.1. Taxa utilizados

Os taxa construtores de alçapão e suas respectivas relações foram estabelecidos a partir de uma análise realizada por Opatova et al. 2019. Os taxa não construtores de alçapão foram mantidos nesta análise, portanto algumas homoplasias nas árvores são esperadas (ver árvores em Anexos, Capítulo I). A partir de uma revisão bibliográfica, foram reunidos 35 artigos que abordavam a história natural de aranhas de alçapão. Três livros também foram utilizados de modo a obter algumas informações faltantes. Os detalhes referentes aos artigos (referências, tipos de informação, gênero/ espécie abordada) podem ser encontrados na Tabela 2, abaixo.

Tabela 2: Relação de artigos utilizados para construção da Matriz de História Natural (Tabela 3, Anexos).

Espécie/Gênero	Artigos de história natural revisados	Tipo de informação (fotos, descrição, figuras)
<i>Liphistius</i> Schiödte 1849	Schwendinger, 1996, 1997; Platnick & Schwendinger,	Fotos e descrição

	1997; Ono, 1999	
<i>Vinathela</i> Ono 20000	Li et. al. 2019	Fotos
<i>Aliatypus</i> Smith, 1908	Coyle, 1994	Descrição, figuras e fotos
<i>Stasimopus</i> Simon, 1892	Hendrixson & Bond 2004	Descrição e fotos
<i>Actinopus</i> Perty 1833	Coyle et. al. 1994, observações da autora.	Descrição, fotos, observações em laboratório
<i>Cyclocosmia truncata</i> Hentz, 1841	Hunt, 1976	Figuras e descrição
<i>Cyclocosmia</i> Ausserer, 1871	Yu&Zhang, 2018; Zhu et. al. 2006	Fotos
<i>Latouchia</i> Pocock, 1901	Haupt, 1995	Descrição e fotos
<i>Conothele</i> Thorell, 1878	Siliwal et. al. 2015, Xu et. al. 2017	Descrição e fotos
<i>Ummidia</i> Thorell, 1875	Bond & Coyle, 1995	Descrição e fotos
<i>Moggridgea</i> O. Pickard- Cambrige, 1875	Griswold, 1987	Descrição e fotos
<i>Poecilomigas</i> Simon, 1903	Griseold, 1998	Descrição e fotos
<i>Bertmainius</i> Harvey, Main, Rix & Cooper, 2015	Harvey et. al. 2015	Descrição e fotos
<i>Arbatinis</i> Koch, 1874	Raven & Wishart, 2005	Descrição e fotos
<i>Cataxia</i> Rainbow, 1914	Main, 1969	Descrição e figuras
<i>Idiossoma</i> Ausserer, 1971	Rix et. al. 2018	Descrição
<i>Eucyrtops</i> Pocock, 1897	Rix et. al. 2017	Fotos
<i>Heligmomerus</i> Simon, 1892	Sanap & Mirza 2015, Siliwal et al. 2010	Descrição e fotos

<i>Idiops</i> Perty, 1833	Gupta et. al. 2015, observações da autora	Descrição e observações em laboratório
<i>Titanidiops</i> Simon, 1903	Schwendinger, 1991	Descrição e figuras
<i>Cyrtocarenum</i> Ausserer, 1871	Deacae et. al. 1982	Descrição e fotos
<i>Myrmekiaphila tigris</i> Bond & Ray, 2012	Hardy, 2018	Descrição e fotos
<i>Aptotichus barackobamai</i> Bond, 2012	Bond 2012	Descrição e fotos
<i>Promyrmekiaphila</i> Schenkel, 1950	Stockman & Bond, 2008	Descrição e fotos
<i>Neoapachella</i> Bond & Opel, 2002	Bond & Opel, 2002	Descrição
<i>Eucteniza</i> Ausserer, 1875	Bond & Godwin, 2013	Descrição
<i>Homostola</i> Simon 1892	Dippernaar-Schoeman, 2002	Descrição
<i>Synothele</i> Simon, 1908	Raven, 1994	Descrição
<i>Ozicrypta</i> Raven, 1994	Raven, 1994	Descrição
<i>Amblyocarenum</i> Simon, 1892	Le Peru, 2011	Descrição
<i>Nemesia</i> Audouin, 1826	Le Peru, 2011	Descrição
<i>Iberesia</i> Decae & Cardoso, 2006	De La Inglesia, 2019	Descrição, fotos e figuras
<i>Cyrtauchenius</i> Thorell, 1869	Le Peru, 2011	Descrição

No entanto, não foi possível reunir informações para todos os terminais da árvore. Terminais cujo todos os caracteres apresentava *missing data* foram excluídos da análise. Dos originais 110 taxa de Opatova et al. 2019, foram mantidos 98 taxa. Foram excluídos os seguintes, devido à falta de informação: *Hebestatis theveneti*, *Heteromigas sp.*, *Ctenolophus sp.*, *Segregara sp.*, *Cteniza moggridei*, *Entychides sp.*, *Eucteniza Moss Landing*, *Atrophothele socotrana*, *Mexentypesa sp.*, *Calisoga sp.*, *Pionothele sp.* e *Cyrtauchenidae sp.*.

d.2. Caracteres estabelecidos

A matriz construída a partir da revisão bibliográfica pode ser encontrada em Anexos do Capítulo I, como Matriz de História Natural (Tabela 3). A matriz de história natural possui quatro caracteres, sendo estes:

- i. Caráter I: Formato da toca: Formato subterrâneo da toca, podendo incluir ou não ramificações. Estados: 0 = não construtor de tocas. 1 = construtor de tocas tubulares, não ramificadas. 2 = construtor de toca em formato de T, duas entradas unidas por um tubo horizontal que se conecta a um tubo vertical. 3 = construtor de toca em formato de Y, dois tubos separados unindo-se em uma bifurcação para um único tubo. 4 = construtor de tocas tubulares com câmaras ou tubos adjacentes. 5 = construtor de tocas curtas, *pear shaped*. (Figura 18)
- ii. Caráter II: Tipo de opérculo: Espessura do opérculo que recobre o alçapão. 0 = ausência de opérculo. 1 = opérculo mais espesso, *cork like*. 2 = opérculo menos espesso, *wafer like, thin*. (Figura 19)
- iii. Caráter III: Formato do opérculo: Forma do opérculo, vista, preferencialmente, com a toca aberta. 0 = ausência de opérculo, 1 = opérculo semi-circular, forma semelhante a letra D. 2 = opérculo circular/ oval. (Figura 21)
- iv. Caráter IV: Número de opérculos: Número de entradas para a toca recobertas por opérculos. Opérculos internos à toca não serão considerados. 0 = Ausência de opérculos. 1 = única entrada recoberta por opérculo. 2 = duas entradas recobertas

por opérculos. 3 = três ou mais entradas recobertas por opérculos. (Figura 22)

d.3. Estabelecimento de hipótese de homoplasia primária

- i. Caráter I: Formato da toca: A hipótese de homologia para os tipos de tocas de aranhas de alçapão pode se basear na similaridade destas estruturas. Todas as tocas de alçapão são escavações recobertas interiormente por teia e servem de abrigo às aranhas fêmeas e jovens. O processo de escavação das tocas é muito similar, sendo comparado em estudos passados (COYLE & ICENOGLE, 1994). A escavação das tocas é realizada com as quelíceras, pedipalpos e pernas I e II. Griswold (1987) relacionou o processo de escavação com a presença de estruturas, como garrars tarsais e espinhos na coxa. A presença destas estruturas pode sugerir uma similaridade na construção das tocas dentre as famílias de aranhas de alçapão.
- ii. Caráter II: Tipo de opérculo: A partir dos experimentos anteriores podemos constatar que a) há pouquíssimas diferenças entre a construção de opérculo *cork-like* e opérculos *wafer-like* e b) o aumento de espessura ocorre de forma gradual. Ambos os resultados dos experimentos anteriores corroboram com a hipótese de homologia primária para este caráter. Os opérculos são de estruturas similares, compostos por teia e sedimento.
- iii. Caráter III: Formato do opérculo: Assim como o caráter II, podemos afirmar, a partir de experimentos, que a construção de ambos os estados da estrutura são muito semelhantes. Os opérculos são muito similares, compostos por teia e sedimento.
- iv. Caráter IV: Número de opérculos: A construção das entradas das tocas é muito similar dentre os grupos, como comparado por Coyle & Icenogle (1994). A construção das

tocas, como mencionado no caráter I, possuem grande similaridade. A presença de de ambos os estados para uma mesma espécie também sustentam a similaridade entre tocas de uma única entrada ou de entradas múltiplas.

A ornamentação de opérculos e tocas foi sugerida como um caráter durante as primeiras análises, mas uma hipótese de homologia primária para o caráter não pode ser estabelecida. A obtenção de dados em relação a ornamentação também se provou um desafio. Sendo os dados referentes à história natural escassos na maioria dos artigos, os dados referentes à ornamentação são quase ausentes. A falta de dados trouxe dúvidas ao processo de montagem da matriz, tornando-se difícil saber se há uma ausência de ornamentação ou uma ausência de documentação do hábito de ornamentação. A ausência da ornamentação pode ocorrer devido à composição do micro-habitat ou devido à inexistência deste comportamento para o animal. A ornamentação está intimamente ligada a presença de elementos (folhas, galhos) no substrato que podem ser utilizados para a camuflagem da toca. Por exemplo, a ausência de folhas nos barrancos onde alguns indivíduos podem ser encontrados pode ser o motivo da ausência de ornamentação. Portanto a história traçada para este caráter seria imprecisa. Outra dificuldade encontrada para tornar a ornamentação um caráter foi estabelecer a conexão entre a ornamentação de opérculos e o chamado *twig-linings*. O *twig-linings* é a ornamentação na toca compostas por lamina de grama aderidas a entrada. Não sendo possível estabelecer a hipótese de homologia primária para o caráter devido a grande divergência dos estados, este caráter foi desconsiderado.

d.4. Árvores obtidas

A árvore de reconstrução do caráter I (Tipode toca) apresenta todos os estados de caráter. É possível observar a ausência de dados para Ctenizidae neste caráter, assim como o surgimento independente do estado 4 (Tocas em Y) em dois ramos distintos. O surgimento de tocas tubulares pode ser atribuído ao ancestral de Bipectina, que posteriormente se diversificou. O surgimento de tocas em T ocorre em *Kiama sp.* e *Liphistius sp.*, ocorrendo de forma independente e o surgimento de tocas

pear-shaped ocorre em aenas um ramo da árvore. Figura 19, em Anexos.

A árvore de reconstrução do caráter II (Tipo de opérculo) apresenta todos os estados de caráter. É possível observar o surgimento de opérculos *wafer-like* para o ancestral de Bipectina e o surgimento de opérculo *cork-like* em ramos independentemente. *Kiama sp.* e *Arbanitis sp.* não constroem opérculos, portanto foram atribuídos o estado 0 para estes terminais. Para o terminal *Spiroctenus sp.* há a ausência de dados. Figura 20, em Anexos.

A árvore de reconstrução do caráter III (Formato de opérculo) apresenta todos os estados de caráter. É possível observar o surgimento do opérculo semicircular para o ancestral de Domiothelina e o surgimento do opérculo circular em diversos ramos de forma independente. Figura 21, em Anexos.

A árvore de reconstrução do caráter IV (Quantidade de entradas recobertas por opérculos) não apresenta todos os estados de caráter. Apenas os estados 0 (sem opérculo), 1 (uma entrada recoberta por opérculo) e 2 (duas entradas recobertas por opérculos). As tocas com uma única entrada recoberta por opérculo surgem para o ancestral de Bipectina, e posteriormente tocas com duas entradas recobertas por opérculo surgem independentemente. Figura 22, em Anexos.

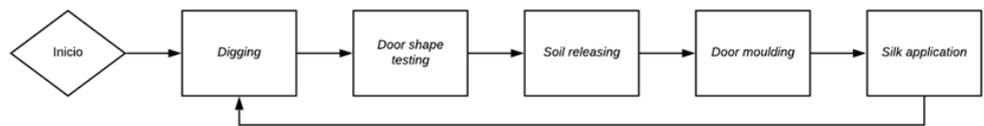
As árvores representando as transformações dos caracteres podem ser encontradas em Anexos, Capítulo I, Figuras 18-22.

E) Discussão

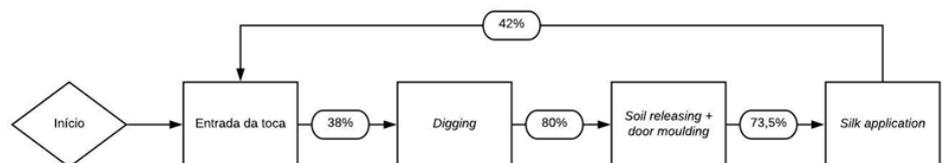
- a. Comportamento de reconstrução de opérculo e aumento gradual do opérculo.

Algumas das categorias de comportamento observadas por Coyle et al. (1992) observadas em Idiopinae também ocorreram em *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza*. O comportamento de *digging* foi documentado neste

trabalho como “reunir materiais”. O comportamento de *soil releasing* e *door moulding* foi documentado neste trabalho como “fixar materiais”, e o comportamento de *silk application* foi documentado como “aplicar teia”. Por fim, o comportamento de *door testing* foi documentado neste trabalho como “fechar opérculo”. Os comportamentos de *rolling* e *pivoting* foram observados, mas não foram documentados como comportamentos individuais. Para comparar as Idiopinae de Coyle et al. (1992) com as *Idiops* observadas, os fluxogramas foram colocados lado a lado.



Fluxograma de Idiopinae, Coyle et. al. 1992



Fluxograma de *Idiops*

Figura 18: Comparação entre o fluxograma descrito por Coyle et al. 1992 para Idiopinae e o fluxograma obtido para *Idiops* no presente estudo.

Os *Idiops* observados para o presente estudo não apresentaram o comportamento chamado de *door shape testing* de forma expressiva (ou seja, mais de 5% das repetições), o que pode sugerir que: (a) a Idiopinae estudada por Coyle et. al. (1992) não

se tratava uma *Idiops* ou (b) devido à ausência de metodologia que analisasse a frequência e a ordem dos comportamentos, um comportamento inexpressivo como *door shape testing* tenha se destacado mais do que o condizente a realidade.

Os comportamentos de Idiopidae e Actinopodidae apresentam diferenças consideráveis, no entanto, as principais estão no posicionamento do animal na toca durante o processo de reconstrução. *Actinopus* tende a se expor mais, saindo mais vezes da toca do que *Idiops*. Os comportamentos de construção são muito similares, de forma que os opérculos resultantes sejam muito similares. O experimento de aumento de espessura de opérculo demonstrou que as diferenças de espessura entre os opérculos de *Actinopus* e *Idiops* ocorrem a partir do aumento gradual da espessura. Coyle et al. (1992) discutem um aumento na espessura do opérculo de Idiopinae, mas a idade do opérculo analisado no artigo varia de 60 a 150 dias. Observações de história natural relataram que indivíduos pertencentes à espécie *Idiops joida* Gupta et al. 2013 construíram ambos os tipos de opérculo (GUPTA et al. 2015), o que corrobora a hipótese de que a construção é muito similar e o espessamento do opérculo é gradual e posterior. Os opérculos mais espessos, chamados *cork-like*, foram relacionadas por Main (1957) á áreas de alagamento nas planícies australianas, o que sugere que o espessamento destas estruturas é uma adaptação para prevenir a entrada de água na toca.

b. Evolução dos caracteres de história natural.

Ao observar a evolução do formato de toca, é visível a ampla distribuição de tocas tubulares dentre as aranhas de alçapão. Podemos até mesmo inferir que o formato tubular para as tocas seja mais primitivo em relação aos outros formatos de toca encontrados. No entanto a presença de tocas em formato de T para o táxon *Liphistius* parece não concordar com a hipótese acima. Como discutido por Schwendinger (1997), apenas indivíduos jovens de *Liphistius* foram encontrados em tocas de formato T. A

diferenciação de estágio de vida dos indivíduos quando se tratando de informações de história natural está ausente na maioria dos artigos revisados. Será assumido que todas as informações de história natural presentes nos artigos que não especificam esta diferença são referentes a fêmeas adultas. Portanto, a informação referente aos jovens de *Liphistius* não será considerada para esta análise. Podemos assumir então o aparecimento de tocas de alçapão como tocas tubulares, passando por diversas modificações ao longo da evolução e diversificação do grupo. As tocas menores (caráter 1, estado 5), *pear-shapped*, aparecem em dois dos três terminais do grupo *Bertmainius* + *Poecilomigas* + *Moggridea*, sendo que o táxon *Poecilomigas* consta como *missing data*. Caso se confirme a presença de *pear-shapped* para este táxon no futuro, se poderá se tratar de uma sinapomorfia para o grupo. As tocas em T (caráter 1, estado 2) não foram documentadas para nenhum indivíduo adulto, ocorrendo apenas em indivíduos jovens de *Liphistius*. As tocas em formato de Y (caráter 1, estado 3) foram observadas apenas para o táxon de *Titanidiops*, indicando uma possível autapomorfia. As tocas com câmaras ou tubos adjacentes (caráter 1, estado 4) foram as mais frequentes variações à forma tubular original, surgindo de forma independente em quatro ramos diferentes. As *Rachias* Simon 1892 (Nemesiidae), apesar de não incluídas na árvore, possuem tocas que podem variar de tocas tubulares com câmaras adjacentes para tocas em Y (R.P. INDICATTI, comentário pessoal), o que sugere uma grande plasticidade ao caráter 1: Formato da toca. O formato das tocas de *Arbanitis* e *Promyrmekiaphila* pode ser considerado uma convergência, uma vez que poucas evidências sustentam uma possibilidade de um ancestral comum construtor de toca tubular com câmaras ou tubos adjacentes, apesar da proximidade dos taxa. A árvore ilustrando os dados discutidos pode ser encontrada em Anexos, neste mesmo capítulo (Figura 19).

Para o caráter referente ao tipo de opérculo (caráter 2), é possível observar o surgimento do opérculo fino *wafer-like* no ancestral comum do grupo Bipectina e a manutenção deste estado em alguns terminais. Os opérculos mais espessos, frequentemente chamados de *cork-like lid*, aparecem pela primeira vez na árvore no *venom clade* (Opatova et al. 2019), que consiste dos gêneros *Actinopus* + *Atrax* + *Hadronyche* + *Stasimopus*. Para o *venom clade*, pode se propor um ancestral comum construtor de opérculo *cork like*, contando com a perda do hábito de construção de alçapão por completo por *Atrax* e *Hadronyche*. *Cyrtocarenum* aparenta ter evoluído seu opérculo *cork-like* independentemente do *venom clade*, uma vez que um ancestral comum implicaria na regressão ao estado mais basal (opérculo *wafer-like*) em vários taxa. Nos gêneros *Idiops*, *Ummidia*, *Mogridgea* e *Nemeside* foram encontrados opérculos *cork-like* e *wafer-like*. Esta ambiguidade de estados aparece de forma independente para todos os gêneros acima. O opérculo *cork-like* surge também dentro de Idiopidae, de forma independente, para o gênero *Eucyrtops*. Apesar de não presente na árvore, o gênero *Euoplos*, pertencente à família Idiopidae, possui as chamadas *plug-doors* para duas das novas espécies descritas por Wilson (et al. 2019). As *plug-doors* são muito similares aos opérculos *cork-like* já observadas em *Eucyrtops*. Em *Euoplos* também ocorrem opérculos do tipo *wafer-like*. O surgimento do opérculo *plug-doors* para *Euoplos turrificus* e *Euoplos thynnearum*, que já ocorre duas vezes de forma independente dentro do gênero (Wilson et al. 2019), reforça o que foi demonstrado na árvore: o surgimento independente desta estrutura em determinados grupos, que por sua vez convergiram em formas similares. A árvore ilustrando os dados discutidos pode ser encontrada em Anexos, neste mesmo capítulo (Figura 20).

O formato das tocas de aranhas de alçapão também é um caráter cuja desinformação pode afetar a análise. O opérculo semi-circular (caráter 3, estado 1)

apresenta uma distribuição pela árvore muito similar ao opérculo *wafer-like* (caráter 2, estado 2) com exceção de alguns grupos. Houve inicialmente uma primeira evolução do opérculo semi-circular que em alguns grupos foi mantido, e em outros possivelmente evoluiu para o opérculo circular/oval (caráter 3, estado 2), de forma independente e convergindo para estruturas similares. Dentro da família Idiopidae, o opérculo circular surgiu em *Eucyrtops* e *Heligmomerus*, sugerindo duas evoluções independentes dentro da família. O surgimento do opérculo circular em *Bertmainius* também é sugerido como independente. O opérculo circular também está presente em *Actinopus* e *Stassimopus*, no entanto, devido aos terminais do *venom clade* que não constroem tocas de alçapão, não é possível determinar se foram duas evoluções independentes que convergiram para forma similares ou um ancestral comum com o mesmo traço, ocorrendo a perda do caráter pra *Atrax* e *Hadronyche*. O opérculo circular também fora observado em *Iberesia*, mas devido a falta de informação para os taxa próximos, é impossível determinar como ocorreu o surgimento deste tipo de opérculo. A árvore ilustrando os dados discutidos pode ser encontrada em Anexos, neste mesmo capítulo (Figura 21).

O número de entradas (caráter 4) para a tocas recobertas por um opérculo raramente variou do estado 1, tocas com uma única entrada recobertas por opérculo. A árvore infere que o surgimento de tocas com um único opérculo surgiu uma única vez e foi modificado poucas vezes em alguns grupos. O gênero *Titanidiops* é o único na família Idiopidae a apresentar duas entradas para a toca recobertas por opérculo (caráter 4, estado 2). Apesar disso, foi documentada pra *Arbanitis* a presença de até quatro entradas para a toca. O fato não é demonstrado na árvore devido à ausência de opérculos nas tocas de *Arbanitis*. A presença de duas entradas recobertas por opérculo (caráter 4, estado 2) também é observada pra *Synothele* e *Ozicrypta*, a árvore sugere para estes taxa um ancestral comum com a mesma característica. A toca contendo duas aberturas

recobertas por opérculo já fora documentada anteriormente para Barychelidae (SILIWAL et al. 2009). Para *Neodiplothele* Mello-Leitão 1917 já foi documentado a presença de duas entradas recobertas por opérculo (J.P.L. GUADANUCCI, comentário pessoal). No entanto, é possível encontrar na literatura descrições de tocas de Barychelidae com apenas uma abertura recoberta por opérculo (RAVEN, 1990), que pode sugerir que a toca contendo dois opérculos não é uma sinapomorfia para a família. Em laboratório, foi observada a construção de quatro entradas recobertas por opérculo por um indivíduo de *Actinopus* sp., no entanto, não se sabe se foi realizada a construção de quatro tocas independentes ou uma única toca com quatro entradas. O animal apresentou a manutenção de apenas um dos opérculos, indicando a possibilidade da construção de quatro tocas separadas. A árvore ilustrando os dados discutidos pode ser encontrada em Anexos, neste mesmo capítulo (Figura 22).

F) Conclusões

A partir dos resultados, é possível concluir que o comportamento de construção de opérculo para Idiopidae e Actinopodidae são muito similares, com apenas algumas diferenças quanto a exposição do indivíduo para o exterior da toca. Podemos concluir que Idiopidae tende a se expor menos quando comparado com Actinopodidae. Também é possível concluir que o aumento de espessura em opérculos *cork like* é gradual e pode ocorrer dentro de 15 dias.

A partir da revisão bibliográfica podemos concluir que a forma mais primitiva para o opérculo é de *wafer-like* (caráter 2, estado 2) e semicircular (caráter 3, estado 1), sugerindo que o opérculo *cork-like* (caráter 2, estado 1) e circular (caráter 3, estado 2) surgiu para as aranhas de alcapão diversas vezes na filogenia. Também é possível concluir que o formato das tocas (caráter 1) é um caráter muito plástico, uma vez que

pode haver diferenças dentre espécies do mesmo gênero e até mesmo indivíduos da mesma espécie, dependendo do estágio de desenvolvimento.

G) Referências:

BOND, J. E.; COYLE, F. A. Observations on the natural history of an Ummidia trapdoor spider from Costa Rica (Araneae, Ctenizidae). **Journal of Arachnology**, p. 157-164, 1995.

BOND, J. E. **Systematics and Evolution of the Californian Trapdoor Spider Genus Aptostichus Simon (Araneae: Mygalomorphae: Euctenizidae)**. 1999. Tese de Doutorado. Virginia Tech.

BOND, J. E. & OPELL, B. D. Phylogeny and taxonomy of the genera of southwestern North American Euctenizinae trapdoor spiders and their relatives (Araneae: Mygalomorphae: Cyrtaucheniidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **136**: 487-534, 2002.

BOND, J. E.; HENDRIXSON, B. E., HAMILTON, C.A.; HEDIN, M. A reconsideration of the classification of the spider infraorder Mygalomorphae (Arachnida: Araneae) based on three nuclear genes and morphology. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e38753, 2012.

BOND, J. E.; GODWIN, R. L. Taxonomic revision of the trapdoor spider genus Eucteniza Ausserer (Araneae, Mygalomorphae, Euctenizidae). **ZooKeys**, n. 356, p. 31, 2013.

BRISTOWE, W. S. A contribution to the knowledge of liphistiid spiders. **Journal of Zoology**, v. 178, n. 1, p. 1-6, 1976.

BUCHLI, H. Note préliminaires sur l'accouplement des araignées mygalomorphes *Nemesiacaementaria*, *Nemesia* dubia et *Pachylomerus piceus* (Ctenizidae). **Vie Milieu** 13:167-178. 1969.

COYLE, F. A.; GOLOBOFF, P. A.; SAMSON, R. A. Actinopus trapdoor spiders (Araneae, Actinopodidae) killed by the fungus, *Nomuraea atypicola* (Deuteromycotina). **Acta Zoologica Fennica**, v. 190, p. 89-93, 1990.

COYLE, F. A.; DELLINGER, R. E.; BENNETT, R. G. Retreat architecture and construction behaviour of an East African idiopine trapdoor spider (Araneae, Idiopidae). **Bulletin of the of the British Arachnological Society**, v. 9, p. 99-104, 1992.

COYLE, F. A.; ICENOGLE, W. R. Natural history of the Californian trapdoor spider genus *Aliatypus* (Araneae, Antrodiaetidae). **Journal of Arachnology**, p. 225-255, 1994.

- DECAE, A. E.; CARANHAC, G.; THOMAS, G.. The supposedly unique case of *Cyrtocarenum cunicularium* (Olivier, 1811)(Araneae, Ctenizidae). **Bulletin of the British Arachnological Society**, v. 5, n. 9, p. 410-419, 1982.
- DE LA IGLESIA, J.A. L. A new Iberian trapdoor spider, *Iberesia valdemoriana* n. sp., and the first records of *I. brauni* and *I. barbara* in the Iberian Peninsula (Araneae: Nemesiidae). **Arachnology**, v. 18, n. 2, p. 156-171, 2019.
- DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. S. **Baboon and trapdoor spiders of southern Africa: an identification manual**. Pretoria: Agricultural Research Council, 2002.
- DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. S.; VAN DER MERWE, M. A check list of the spider fauna of the Western Soutpansberg, South Africa (Arachnida: Araneae). **Koedoe**, v. 45, n. 2, p. 35-43, 2002.
- FERRETTI, N.; PÉREZ-MILES, F.; GONZÁLEZ, A. “Mygalomorph Spiders of the Natural and Historical Reserve of Martín García Island, Río de la Plata River, Argentina.” **Zoological Studies**, v. 49, n. 4, p. 481-491, 2010.
- FOELIX, R. **Biology of spiders**. OUP USA, 2011.
- FUKAMI, C. Y.; LUCAS, S. M.; INDICATTI, R. P. Primeiro registro do gênero *Neocteniza* Pocock, 1895 para o Brasil (Araneae, Mygalomorphae, Idiopidae, Genysinae). **Revista Ibérica Aracnol**, v. 9, p. 30, 2004.
- GODWIN, R. L., OPATOVA, V., GARRISON, N. L., HAMILTON, C. A., & BOND, J. E. . Phylogeny of a cosmopolitan family of morphologically conserved trapdoor spiders (Mygalomorphae, Ctenizidae) using Anchored Hybrid Enrichment, with a description of the family, Halonoproctidae Pocock 1901. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 126, 303-313, 2018.
- GOLOBOFF, P. A.; FARRIS, J. S.; NIXON, K. C. TNT, a free program for phylogenetic analysis. **Cladistics**, v. 24, n. 5, p. 774-786, 2008.
- GRISWOLD, C. E. The African members of the trap-door spider family Migidae (Araneae: Mygalomorphae) 1: the genus *Moggridgea* OP Cambridge, 1875. **Annals of the Natal Museum**, v. 28, n. 1, p. 1-118, 1987.
- GRISWOLD, C. E. The nest and male of the trap-door spider *Poecilomigas basilleupi* (Araneae, Mygalomorphae, Migidae). **Journal of Arachnology**, p. 142-148, 1998.
- GUPTA, N.; DAS, S. K.; SILIWAL, M.. Natural history of the trapdoor spider *Idiops joida* (Araneae: Idiopidae) from the Western Ghats in India. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 8, n. 1, p. 38-42, 2015.
- HAMILTON, C. A., LEMMON, A. R., LEMMON, E. M., & BOND, J. E. Expanding anchored hybrid enrichment to resolve both deep and shallow relationships within the spider tree of life. **BMC Evolutionary Biology**, 16(1), 212, 2016.
- HARDY, L. M. Ecological Observations of the Trapdoor Spider *Myrmekiaphila comstocki* Bishop & Crosby 1926 (Araneae, Mygalomorpha, Euctenizidae,

Apomastinae) in the Ouachita Mountains of Arkansas. **Southeastern Naturalist**, v. 17, n. m10, p. 1-37, 2018.

HARVEY, M. S. et al. Refugia within refugia: in situ speciation and conservation of threatened Bertmainius (Araneae: Migidae), a new genus of relictual trapdoor spiders endemic to the mesic zone of south-western Australia. **Invertebrate Systematics**, v. 29, n. 6, p. 511-553, 2015.

HAUPT, J. et al. Twig-lining in a trapdoor spider Latouchia swinhoei (Araneae: Ctenizidae) from Okinawa. **European Journal of Entomology**, v. 92, p. 605-605, 1995.

HENDRIXSON, B. E.; BOND, J. E. A new species of Stasimopus from the Eastern Cape Province of South Africa (Araneae, Mygalomorphae, Ctenizidae), with notes on its natural history. **Zootaxa**, v. 619, n. 1, p. 1-14, 2004.

HENDRIXSON, B. E.; BOND, J. E. Two sympatric species of Antrodiaetus from southwestern North Carolina (Araneae, Mygalomorphae, Antrodiaetidae). **Zootaxa**, v. 872, n. 1, p. 1-19, 2005.

HEDIN, M.; BOND, J. E. Molecular phylogenetics of the spider infraorder Mygalomorphae using nuclear rRNA genes (18S and 28S): conflict and agreement with the current system of classification. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 41, n. 2, p. 454-471, 2006.

HEDIN, M., DEKARABETIAN, S., RAMÍREZ, M. J., VINK, C., & BOND, J. E. Phylogenomic reclassification of the world's most venomous spiders (Mygalomorphae, Atracinae), with implications for venom evolution. **Scientific Reports**, 8(1), 1-7, 2018.

HEDIN, M.; DERKARABETIAN, S.; ALFARO, A.; RAMÍREZ, M. J.; BOND, J. E. Phylogenomic analysis and revised classification of atypoid mygalomorph spiders (Araneae, Mygalomorphae), with notes on arachnid ultraconserved element loci. **PeerJ**, v. 7, p. e6864, 2019.

HUNT, R. H. Notes on the ecology of Cyclocosmia truncata (Araneae, Ctenizidae) in Georgia. **Journal of Arachnology**, p. 83-86, 1975.

JAPYASSÚ, H. F.; ALBERTS, C. C.; IZAR, P.; SATO, T. EthoSeq: a tool for phylogenetic analysis and data mining in behavioral sequences. **Behavior research methods**, v. 38, n. 4, p. 549-556, 2006.

LE PERU, B. **The spiders of Europe: a synthesis of data**. Société linnéenne de Lyon, 2011.

LI, D.; LIU, H.; XU, X.. Three new species of the primitively segmented spiders from Mt Yuelu, Hunan, China (Mesothelae, Liphistiidae). **Zootaxa**, v. 4691, n. 2, p. zootaxa. 4691.2. 3-zootaxa. 4691.2. 3, 2019.

MAIN, B. Y. Biology of aganippine trapdoor spiders (Mygalomorphae: Ctenizidae). **Australian Journal of Zoology**, v. 5, n. 4, p. 402-473, 1957.

MAIN, B. Y. et al. A new genus of diplurid spider (Araneae: Mygalomorphae) from New South Wales. **Journal of the Entomological Society of Australia (NSW)**, v. 6, p. 24, 1969.

MAIN, B. Y. THE TRAP-DOOR SPIDER GENUS CATAXIA RAINBOW (MYGALOMORPHA: CTENIZIDAE)—TAXONOMY AND NATURAL HISTORY. **Australian Journal of Entomology**, v. 8, n. 2, p. 192-209, 1969.

MAIN, B. Y. Biology of the arid-adapted Australian trapdoor spider *Anidiopsvillosus* (rainbow). **Bulletin of the British Arachnological Society**, v. 4, p. 161-175, 1978.

MAIN, B. Y. Historical ecology, responses to current ecological changes and conservation of Australian spiders. **Journal of Insect Conservation**, v. 5, n. 1, p. 9-25, 2001.

MARPLES, B. J.; MARPLES, M. J. Observations on *Cantuaritoddi* and other trapdoor spiders (Araneae: Mygalomorpha) in Central Otago, New Zealand. **Journal of the Royal Society of New Zealand**, v. 2, n. 2, p. 179-185, 1972.

MASON, L. D.; TOMLINSON, S.; WITHERS, P. C.; MAIN, B. Y. Thermal and hygric physiology of Australian burrowing mygalomorph spiders (*Aganippe* spp.). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 183, n. 1, p. 71-82, 2013.

MCCOOK, H. C. Nesting habits of the American purseweb spider. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, p. 203-220, 1888.

MIGLIO, L. T. et al. **Taxonomia das espécies brasileiras de *Actinopus* perty, 1983 (Araneae, Mygalomorphae, Actinopodidae)**. 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará.

MIRANDA, R. J.; ARIZALA, S.; CAMBRA, R. A. A new species of "*Neocteniza*" (Araneae: Idiopidae) from Coiba Island, Panama, with observations on parasitism by "*Euplaniceps varia*", 1944. **Revista ibérica de arcnología**, n. 22, p. 3-7, 2013.

MIRZA, Z. A. et al. A new species of the trapdoor spiders genus *Idiops* Perty, 1833 (Araneae: Idiopidae) from the Western Ghats, with a key to the *Idiops* of India. **Revista Ibérica de Arcnología**, v. 21, p. 9-14, 2012.

MOGGRIDGE, J. T.; PICKARD-CAMBRIDGE, O. **Harvesting ants and trap-door spiders: notes and observations on their habits and dwellings**. L. Reeve & Company, 1873.

ONO, H. Spiders of the genus *Heptathela* (Araneae, Liphistiidae) from Vietnam, with notes on their natural history. **Journal of Arachnology**, p. 37-43, 1999.

OPATOVA, V.; HAMILTON, C. A.; HEDIN, M.; MONTES DE OCA, L.; KRAL, J.; BOND, J. E. Phylogenetic systematics and evolution of the spider infraorder Mygalomorphae using genomic scale data. **BioRxiv**, p. 531756, 2019.

- PLATNICK, N. I.; SHADAB, M. U. A revision of the spider genera Haplodrassus and Orodrassus (Araneae, Gnaphosidae) in North America. *American Museum novitates*; no. 2583. 1975.
- PLATNICK, N. I.; SCHWENDINGER, P. J.; STEINER, Helmut. Three new species of the spider genus Liphistius (Araneae, Mesothelae) from Malaysia. *American Museum novitates*; no. 3209. 1997.
- PLATNICK, N. I.; DUPÉRRÉ, N.. The goblin spider genus *Costarina* (Araneae, Oonopidae), part 1. **American Museum Novitates**, v. 2012, n. 3730, p. 1-65, 2012.
- PLATNICK, N. I.; RAVEN, R. J. Spider systematics: past and future. **Zootaxa**, v. 3683, n. 5, p. 595-600, 2013.
- RIX, M. G. et al. Conservation systematics of the shield-backed trapdoor spiders of the nigrum-group (Mygalomorphae, Idiopidae, Idiosoma): integrative taxonomy reveals a diverse and threatened fauna from south-western Australia. **ZooKeys**, n. 756, p. 1, 2018.
- RAVEN, R. J. The spider infraorder Mygalomorphae (Araneae): cladistics and systematics. **Bulletin of the AMNH**; v. 182, article 1. 1985.
- RAVEN, R.J. A revision of the Australian spider genus Trittame Koch (Mygalomorphae: Barychelidae) and a new related genus. **Invertebrate Systematics**, v. 4, n. 1, p. 21-54, 1990.
- RAVEN, R. J. Mygalomorph spiders of the Barychelidae in Australia and the western Pacific. *Memoirs of the Queensland Museum* **35**: 291-706, 1994.
- RAVEN, R. J.; WISHART, G. The trapdoor spider *Arbanitis* L. Koch (Idiopidae: Mygalomorphae) in Australia. NSW [email: gwishart@ tpg. com. au], 2005.
- RÍORÍOS-TAMAYO, D.; GOLOBOFF, P. A. Taxonomic Revision and Morphology of the Trapdoor Spider Genus *Actinopus* (Mygalomorphae: Actinopodidae) in Argentina. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2018, n. 419, p. 1-84, 2018.
- RIVERS, J. J. Description of the nest of the californian turret building spider, with some reference to allied species. **Zoe (1890-1906)**, v. 2, n. 4, p. 318, 1892.
- SANAP, R. V.; MIRZA, Z. A. A new large trapdoor spider species of the genus *Heligmomerus* Simon 1892 (Araneae, Mygalomorphae, Idiopidae) from Western Ghats, India. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 8, n. 3, p. 242-246, 2015.
- SCHWENDINGER, P. J. Two new trap-door spiders from Thailand (Araneae, Mygalomorphae, Idiopidae). **Bulletin of the British arachnological Society**, v. 8, n. 8, p. 233-240, 1991.
- SCHWENDINGER, P. J. New Liphistius species (Araneae, Mesothelae) from western and eastern Thailand. **Zoologica Scripta**, v. 25, n. 2, p. 123-141, 1996.
- SCHWENDINGER, P. J. Five new Liphistius species (Araneae, Mesothelae) from Thailand. **Zoologica Scripta**, v. 27, n. 1, p. 17-30, 1998.

SILIWAL, M.; MOLUR, S.; RAVEN, R.. Transfer of two Indian Idiops spp. to the genus Heligmomerus Simon, 1892 (Araneae: Idiopidae) with redescription of *H. barkudensis* (Gravely, 1921). **Journal of Threatened Taxa**, p. 940-947, 2010.

SILIWAL, M., GUPTA, N., SANAP, R. V., MIRZA, Z. A., & RAVEN, R. First record of the genus *Tigidia* Simon, 1892 (Araneae: Barychelidae) from India with description of three new species from the Western Ghats, India. **Journal of Threatened Taxa**, 3(12), 2229-2241, 2011.

SILIWAL, M. et al. Natural history and two new species of the trapdoor spider genus *Conothele* Thorell 1878 (Araneae: Ctenizidae) from India. **The Journal of Arachnology**, v. 43, n. 1, p. 34-39, 2015.

STOCKMAN, A.; BOND, J. E. A taxonomic review of the trapdoor spider genus *Promyrmekiaphila* Schenkel (Araneae, Mygalomorphae, Cyrtaucheniidae, Euctenizinae). **Zootaxa**, v. 1823, n. 1, p. 25-41, 2008.

TAUBER, M.J. et al. Moisture, a vital but neglected factor in the seasonal ecology of insects: hypotheses and tests of mechanisms. **Environmental Entomology**, v. 27, n. 3, p. 523-530, 1998.

TROVA, E. F. **Aspectos da história natural de aranhas-de-alçapão em duas unidades de conservação do Cerrado e Mata Atlântica do sudeste do Brasil**. 2019. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2019.

TURNBULL, A. L. "Ecology of the true spiders (Araneomorphae)." **Annual review of entomology**, v. 18, n. 1, p. 305-348, 1973.

TSO, I.-Min et al. "The trapdoor spider family Ctenizidae (Arachnida: Araneae) from Taiwan." **Raffles Bulletin of Zoology**, v. 51, n. 1, p. 25-34, 2003.

XU, X. et al. Four new species of the trapdoor spider genus *Conothele* Thorell, 1878 from Mainland China and Laos (Araneae, Ctenizidae). **ZooKeys**, n. 643, p. 63, 2017.

YU, K. U. N.; ZHANG, Z.S. On three species of the trapdoor spider Genus *Cyclocosmia* from China (Araneae, Halonoproctidae). **Zootaxa**, v. 4532, n. 2, p. 248-256, 2018.

WORLD SPIDER CATALOG (2017). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 18.0, accessed on {28 de outubro de 2019}

ZHU, M. S.; ZHANG, J. X.; ZHANG, F. Rare spiders of the genus *Cyclocosmia* (Arachnida: Araneae: Ctenizidae) from tropical and subtropical China. **The Raffles Bulletin of Zoology**, v. 54, p. 119-124, 2006.

H) Anexos:

Tabela 3: Matriz de história natural: Nesta tabela, são apresentados os terminais/taxa da análise de História de Caracteres de Historia Natural. Alguns taxa presentes em Opatova et. al. 2019 sofrem de grande ausência de dados, portanto foram excluídos desta matriz. São estes: *Hebestatis theveneti*, *Heteromigas sp.*, *Ctenolophus sp.*, *Segregara sp.*, *Cteniza moggridei*, *Entychides sp.*, *Eucteniza Moss Landing*, *Atrophothele socotrana*, *Mexentypesa sp.*, *Calisoga sp.*, *Pionothele sp.* e *Cyrtauchenidae sp.*

Caracteres \ Taxa	1	2	3	4
<i>Liphistius sp.</i>	1&2	2	1	1&2
<i>Vinathela sp.</i>	?	2	1	1
<i>Aliatypus sp.</i>	1	2	1	1
<i>Hexura sp.</i>	0	0	0	0
<i>Antrodiaetus unicolor</i>	0	0	0	0
<i>Atypoides gertschi</i>	0	0	0	0
<i>Calommata signata</i>	0	0	0	0
<i>Atypus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Atypus muralis</i>	0	0	0	0
<i>Thelechoris striatipes</i>	0	0	0	0
<i>Ischnothele sp</i>	0	0	0	0
<i>Microhexura sp</i>	0	0	0	0
<i>Bymainiella sp.</i>	0	0	0	0
<i>Euagrus lynceus</i>	0	0	0	0
<i>Euagrus chisoseus</i>	0	0	0	0
<i>Allothele sp.</i>	0	0	0	0
<i>Namirea sp.</i>	0	0	0	0
<i>Cethegus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Australothele sp.</i>	0	0	0	0
<i>Porrhothele sp.</i>	0	0	0	0

<i>Macrothele calpeiana</i>	0	0	0	0
<i>Macrothele sp. 1</i>	0	0	0	0
<i>Macrothele sp2</i>	0	0	0	0
<i>Paratropis sp.1</i>	0	0	0	0
<i>Paratropis sp. 2</i>	0	0	0	0
<i>Stasimopus sp. 1</i>	1	1	2	1
<i>Stasimopus sp. 2</i>	1	1	2	1
<i>Actinopus sp.1</i>	1	1	2	1
<i>Actinopus sp.2</i>	1	1	2	1
<i>Atrax sp.</i>	0	0	0	0
<i>Hadronyche sp.</i>	0	0	0	0
<i>Cyclocosmia truncata</i>	1	2	1	1
<i>Cyclocosmia sp.</i>	1	2	1	1
<i>Latouchia sp.</i>	?	2	1	1
<i>Conothele sp.1</i>	1	1	1	1
<i>Conothele sp.2</i>	1	1	1	1
<i>Ummidia sp. 1</i>	1	1&2	1	1
<i>Ummidia sp. 2</i>	1	1&2	1	1
<i>Ummidia sp.3</i>	1	1&2	1	1
<i>Ummidia sp.4</i>	1	1&2	1	1
<i>Moggridgea sp.</i>	5	1&2	1	1
<i>Poecilomigas abrahami</i>	?	1	1	1
<i>Bertaminius sp.</i>	5	1	2	1
<i>Arbanitis sp.</i>	4	0	0	0
<i>Cataxia sp.</i>	1	2	1	1
<i>Idiossoma sp.</i>	?	2	1	1
<i>Eucyrtops sp.</i>	1	1	2	1
<i>Idiops sp.</i>	1	2	1	1
<i>Titanidiops sp.</i>	?	2	1	1

<i>Heligmomerus sp.</i>	1	2	2	1
<i>Cyrtocarenum sp.</i>	?	1	?	1
<i>Myrmekiphila tigris</i>	1	2	1	1
<i>Apomastus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Aptostichus barackobamai</i>	1	2	1	1
<i>Promyrmekiaphila sp.</i>	1	2	1	1
<i>Eucteniza sp.</i>	1	2	?	1
<i>Neoapachella sp.</i>	?	2	?	1
<i>Spiroctenus sp.</i>	4	?	?	1
<i>Homostola sp. 1</i>	1&4	2	?	?
<i>Homostola sp. 2</i>	1&4	2	?	?
<i>Homostola sp. 3</i>	1&4	2	?	?
<i>Synothele sp.</i>	1	2	?	2
<i>Ozicrypta sp.</i>	1	2	?	2
<i>Catumirim parvum</i>	0	0	0	0
<i>Brachionopus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Cyripagopus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Ichnocolus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Theraphosidae sp.</i>	0	0	0	0
<i>Cyrtopholis portoricae</i>	0	0	0	0
<i>Sericopelma sp.</i>	0	0	0	0
<i>Aphonopelma mojavi</i>	0	0	0	0
<i>Stichplastoris sp.</i>	0	0	0	0
<i>Amblyocarenum sp.</i>	1	2	?	1
<i>Nemesia sp.1</i>	1&4	1&2	?	2
<i>Nemesia sp.2</i>	1&4	1&2	?	2
<i>Iberesia sp.1</i>	1	1	2	1
<i>Iberesia sp. 2</i>	1	1	2	1
<i>Bayana labordai</i>	0	0	0	0

<i>Stenoterommata sp.</i>	0	0	0	0
<i>Acanthognathus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Stanwellia hoggi</i>	0	0	0	0
<i>Linothele sp.</i>	0	0	0	0
<i>Harmonicon sp.</i>	0	0	0	0
<i>Diplura sp.</i>	0	0	0	0
<i>Cyrtauchenius sp. 1</i>	1&4	2	?	1
<i>Cyrtauchenius sp. 2</i>	1&4	2	?	1
<i>Microstigmata sp.</i>	0	0	0	0
<i>Kiama sp.</i>	1&3	0	0	0
<i>Lepthercus sp.</i>	0	0	0	0
<i>Entypesa sp.</i>	0	0	0	0
<i>Kwonkan sp.</i>	0	0	0	0
<i>Aname sp.</i>	0	0	0	0
<i>Proshermaca sp.</i>	0	0	0	0
<i>Namea sp.</i>	0	0	0	0
<i>Teyl sp.</i>	0	0	0	0
<i>Pseudoteyl sp.</i>	0	0	0	0

a. Árvores de história de caracteres.

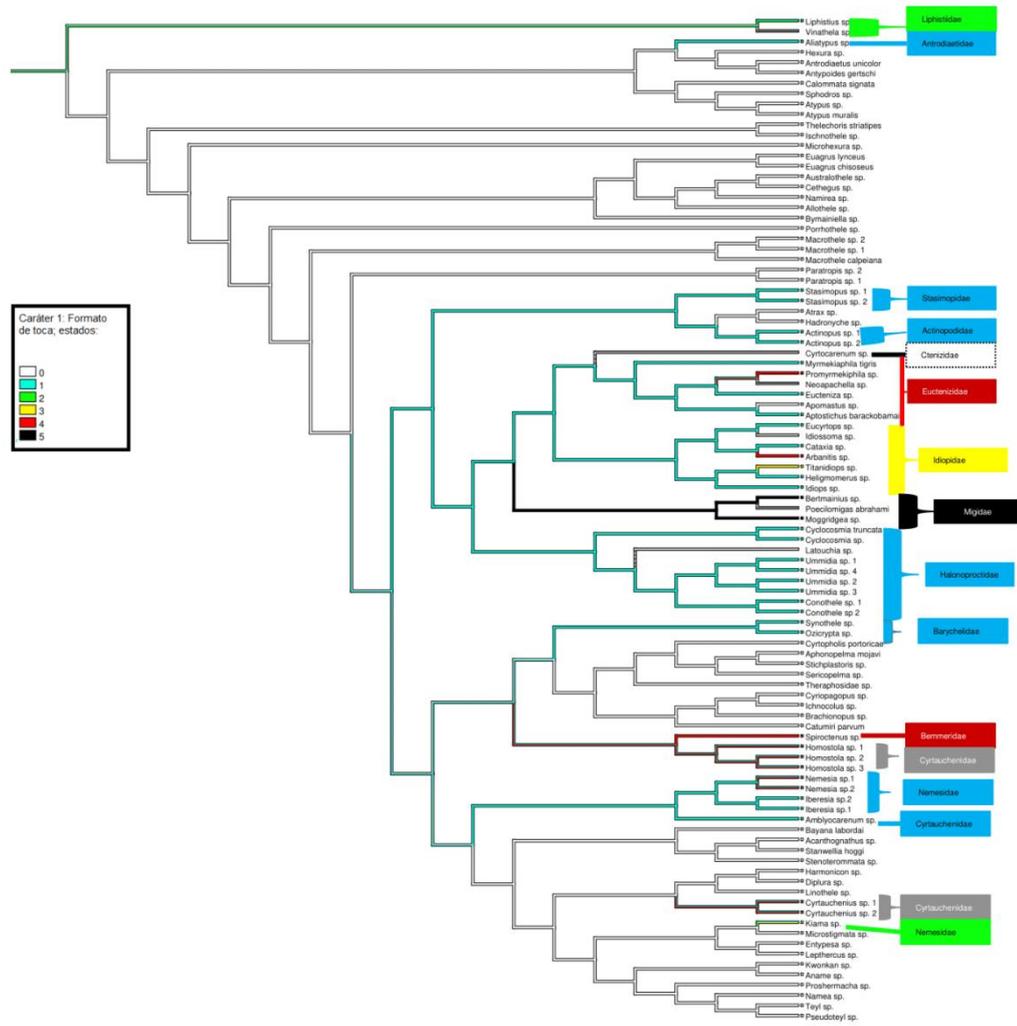


Figura 19: Árvore de Opatova et. al. 2019 com reconstrução de história de caráter. Caráter 1: Formato da toca. Estados: 0 = não construtor de toca (branco); 1= construtor de tocas tubulares (azul); 2= construtor de tocas em T (verde); 3= construtor de tocas em Y (amarelo); 4 = construtor de tocas tubulares com câmaras ou tubos adjacentes (vermelho); 5 = construtor de tocas curtas/ *pear-shaped* (preto).

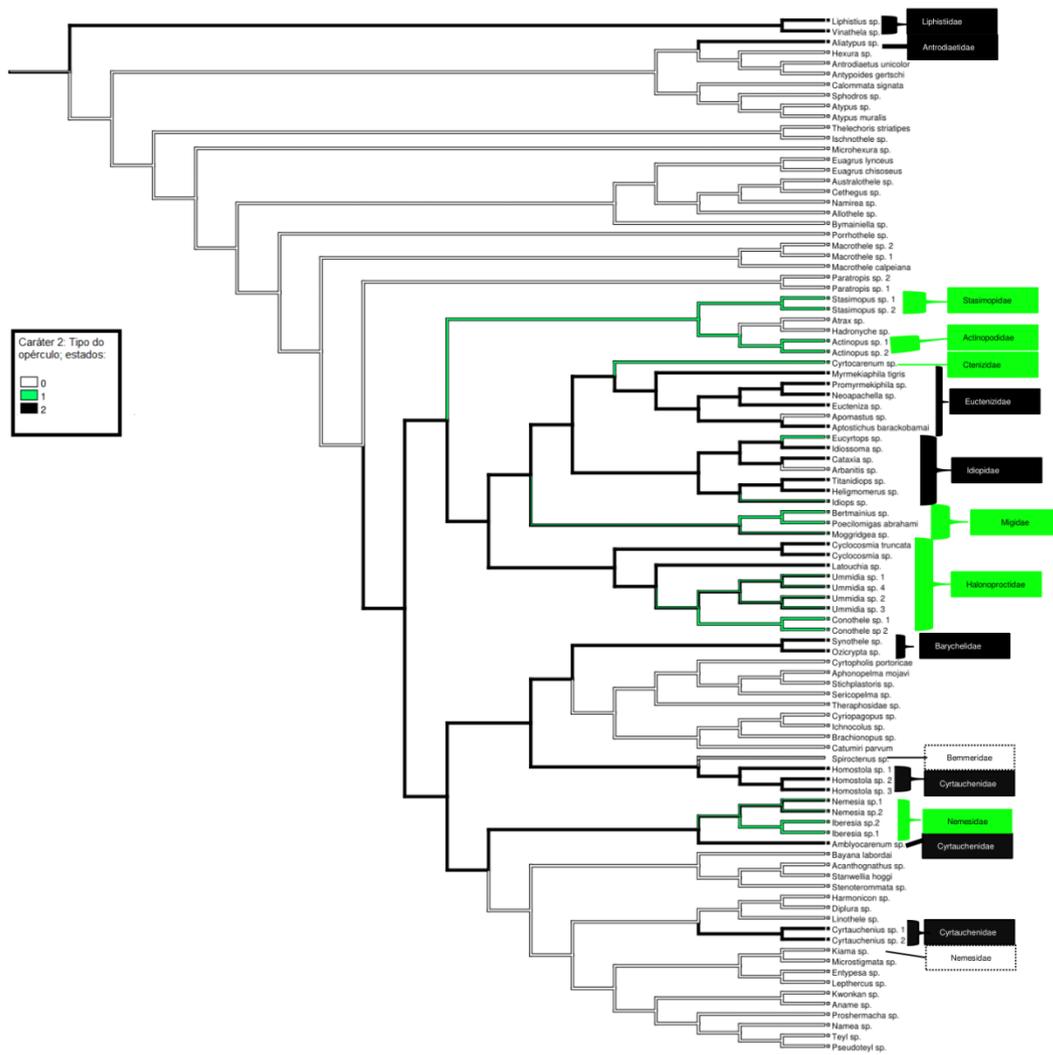


Figura 20: Árvore de Opatova et. al. 2020 com reconstrução de história de caráter. Caráter 2: Tipo do opérculo. Estados: 0 = ausência de opérculo (branco); 1 = opérculo *cork-like* (verde); 2= opérculo *wafer-like, thin* (preto).

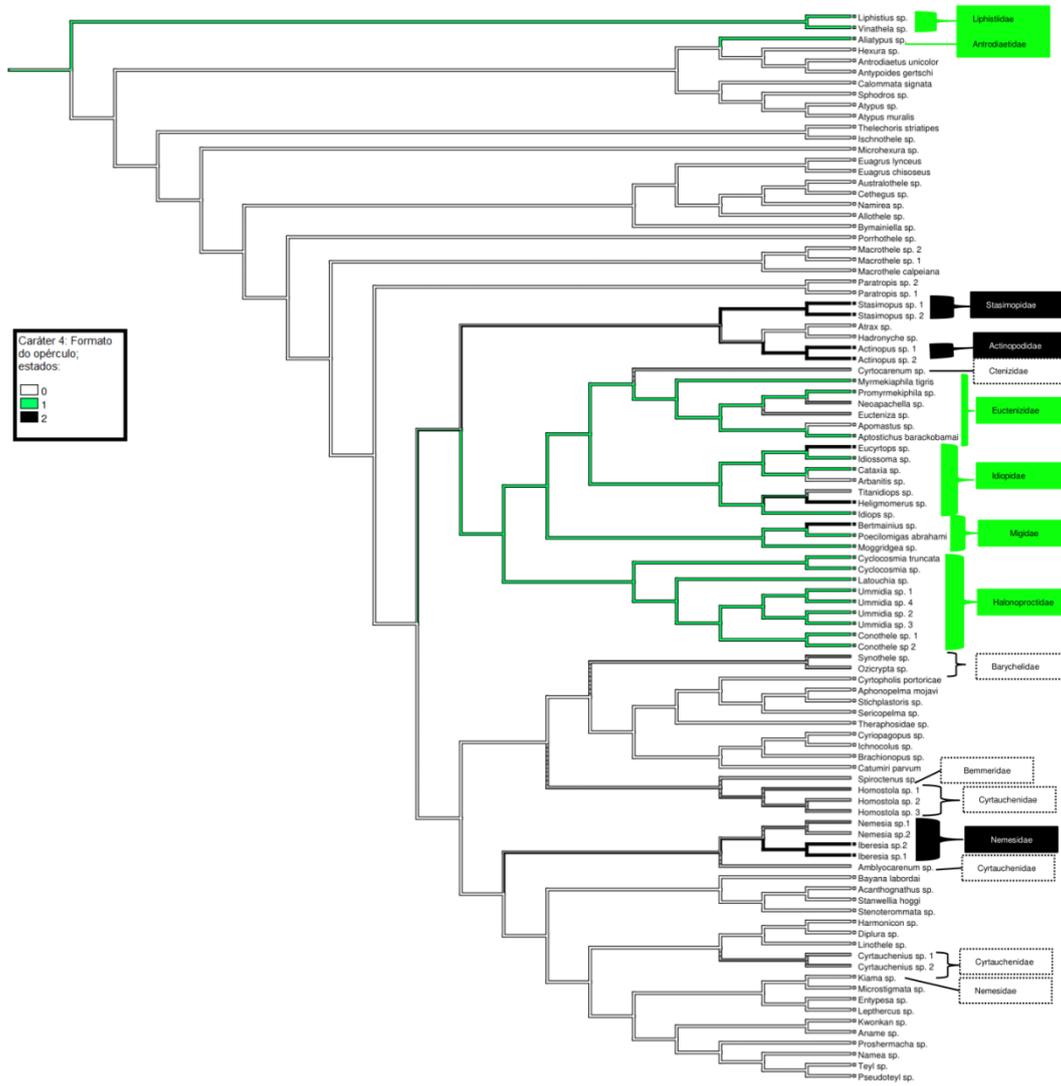


Figura 21: Árvore de Opatova et. al. 2019 com reconstrução de história de caráter. Caráter 3: Formato do opérculo. Estados: 0 = ausência de opérculo (branco); 1 = opérculo semi-circular (verde); 2 = opérculo circular/oval (preto).

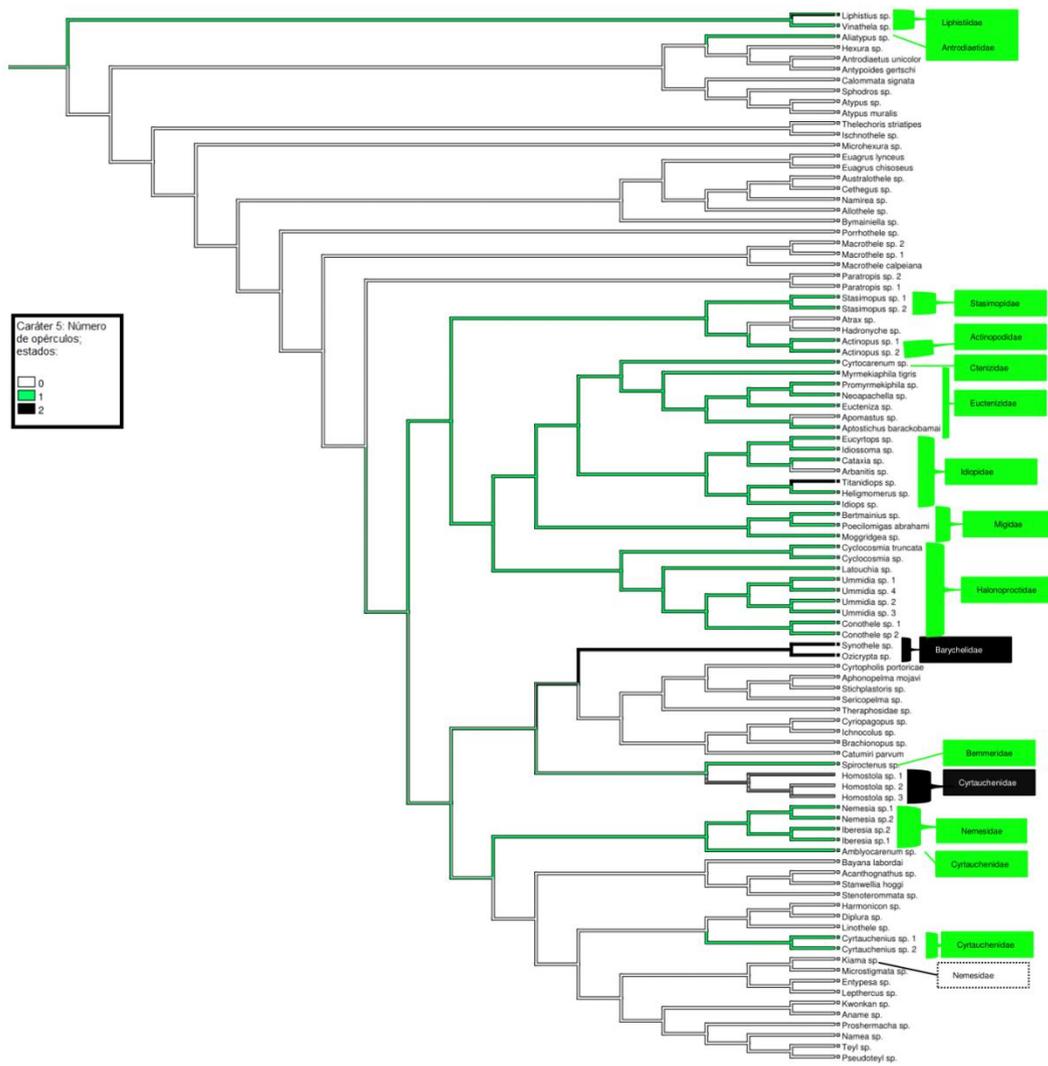


Figura 22: Árvore de Opatova et. al. 2019 com reconstrução de história de caráter. Caráter 4: Número de opérculos. Estados: 0 = ausência de opérculo (branco); 1= única entrada recoberta por opérculo (verde); 2= duas entradas recobertas por opérculo (preto); 3 = três ou mais entradas recobertas por opérculo (ausente na árvore).

CAPÍTULO II: CICLO CIRCADIANO E
INFLUÊNCIA DO FOTOPERÍODO O
COMPORTAMENTO DE ARANHAS DE
ALÇAPÃO

A) Introdução

Para um ser vivo a organização temporal pode ser expressa de duas formas, como reação ao ambiente e como ritmicidade (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). Os ritmos biológicos podem se manifestar em milissegundos ou até anos, sendo o ciclo biológico mais evidente o “claro-escuro”. Os ritmos associados à alternância claro-escuro são chamados circadianos (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997) que podem variar entre 20 a 28 horas, sendo ciclos com duração inferior a 20 horas chamados ultradianos e aqueles com duração acima de 28 horas são chamados infradianos (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). Os chamados ritmos em livre-curso são aqueles que se mantêm mesmo na ausência completa de ciclos ambientais, portanto não dependendo de fatores temporizadores externos (BÜNNING, 1967). Ritmos em livre curso são a expressão de relógios biológicos endógenos, mas na ausência de fatores externos estes ritmos podem ser ligeiramente diferentes daqueles apresentados em natureza (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997).

Ritmos biológicos são arrastados por *Zeitgeber* (do alemão, doador de tempo), que são fatores cíclicos ambientais. Ou seja, há a existência de um ritmo endógeno, que é regulado por *Zeitgebers* que sinalizam as condições ambientais a partir de pistas, como por exemplo a luminosidade. O arrastamento depende da relação entre o ritmo biológico e o ciclo ambiental (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). Considerando a luz como um *zeitgeber*, o arrastamento pode ser discreto ou contínuo. O arrastamento discreto ocorre devido a um único pulso/estímulo, desde que este ocorra em uma fase específica da curva de resposta de fase (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). A curva de resposta de fase (CRF) é definida como a representação gráfica de deslocamentos de fase (atrasos e adiantamentos), causada por um único pulso de perturbação, administrado em diferentes horas circadianas de um organismo em livre

curso (MARQUES & ODA, 2012). Em condições naturais, o arrastamento discreto ocorreria em dois momentos no dia, nos crepúsculos, atingindo assim as CRFs nos pontos de atraso e adiantamento de fase (PITTENDRIGHT, 1981). Experimentos em *Drosophila* demonstram que um fotoperíodo contendo apenas dois pulsos pode ser tão eficiente quanto um fotoperíodo completo (PITTERDRIGHT, 1966). O arrastamento contínuo propõe que o ciclo claro escuro exerce um efeito contínuo sobre os osciladores biológicos (ASCHOFF, 1960; SWADE, 1969; MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). A ação do arrastamento seria de aceleração ou retardo, dependendo de como o ciclo claro e escuro incidisse na CRF (MARQUES & MENNA-BARRETO, 1997). A regulação por fotoperíodo está intimamente ligada a sazonalidade e manutenção do sincronismo de eventos de história natural de acordo com as exigências climáticas (DANILEVSKII, 1965; TAUBER et al.1986; DANKS, 1987; LEATHER, 1993; BRADSHAW & HOLZAPFEL, 2007).

O relógio circadiano está ligado a processos metabólicos e a sincronia destes processos ao longo do dia (CLARIDGE-CHANG et al. 2001; McDONALD & ROSBACH, 2001; MATSUMOTO, 2006). Órgãos fotorreceptores são necessários para a regulação de claro e escuro em uma escala diária pelo sistema circadiano (TORK, 2018). Os órgãos fotorreceptores podem ser classificados em visuais (oculares) e não visuais (não oculares) (TORK, 2018).

A indução por fotoperíodo é amplamente utilizada no campo da agropecuária e inicialmente testada em plantas e em mamíferos. Ao modificar os períodos de luz e escuridão, é possível obter alterações no comportamento e na fisiologia do animal ou planta, como antecipar a floração ou modular o crescimento testicular em vertebrados (PITTENDRIGH, 1972). A primeira evidência da influência do fotoperíodo em artrópodes foi registrada por Marcovitch em 1923, em afídios, hemípteras da

superfamília Aphidoidea. Os afídios utilizados neste estudo alternam entre reproduções sexuadas e assexuadas ao longo do ano, reproduzindo-se por partenogênese nas estações de dias mais longos (NELSON, DELLINGER & SOMERS, 2010). Ao alterar o fotoperíodo para simular dias mais curtos, Marcovitch pode induzir a produção da geração sexuada nos afídios. Desde então, foram desenvolvidos estudos buscando correlacionar a importância dos fotorreceptores destes animais à influência do fotoperíodo (NUMATA et al. 1997).

Para aracnídeos, estudos anteriores demonstraram que existe a modulação do comportamento pelo ciclo circadiano (SEYFARTH, 1980; SCHMITT et al. 1990; SUTER, 1993; YAMASHITA & NAKAMURA, 1999; ORTEGA-ESCOBAR, 2002; JONES et al. 2007) e exibem alterações fisiológicas e comportamentais durante um ciclo diário. Um estudo comprovou a diferença de padrão de atividades para diferentes espécies de opilião. O estudo comparou os padrões de atividade entre opiliões epígeos e cavernícolas. Foi observado que os opiliões epígeos possuem um pico de atividade durante o dia, enquanto os opiliões cavernícolas apresentam um ciclo bimodal, com picos de atividade durante o dia e durante a noite (HOENEN & GNASPINI, 1999).

As aranhas possuem hábito noturno, no entanto, algumas famílias como Salticidae são compostas por animais diurnos (FOELIX, 2011, CLOUDSLEY-THOMPSON, 2000). Em relação a aranhas migalomorfas, aranhas do gênero *Trechona* (Araneae, Dipluridae), habitantes de cavernas, foram observadas quanto ao seu padrão de atividade. A redução de ciclos de luz e escuridão em ambientes subterrâneos, como as cavernas, é responsável pela redução de elementos circadianos em animais de caverna. Para aranhas do gênero *Trechona*, cuja população habitava três diferentes áreas da caverna (zona de entrada, zona de penumbra e zona afótica), foi observada mudança comportamental dentre as parcelas da população (GUADANUCCI et al. 2015). A

parcela da população que habitava a zona de entrada da caverna, que supostamente ainda apresenta *zeitgebers* externos (dia e noite), apresentou o comportamento compatível a animais noturnos, repousando durante o dia e mantendo-se ativas à noite. A parcela da população habitante da zona afótica da caverna passou mais tempo ativa quando comparados com os indivíduos habitantes da zona de entrada da caverna (GUADANUCCI et al. 2015).

Como parte importante do ecossistema, é interessante observar o investimento de uma aranha de alçapão ao forragear, pelo método de *sit-and-wait*, e o momento que este comportamento ocorre. Durante o tempo que o animal está forrageando, é possível observar uma pequena abertura do alçapão, que se diferencia da toca de alçapão completamente fechada (COYLE et al. 1992). O animal em posicionamento de defesa mantém os alçapões bem fechados, de modo que quando ocorre uma tentativa de abrir esta toca, o animal puxa o opérculo e oferece resistência às forças externas, o opérculo se torna côncavo em relação à entrada da toca (COYLE et al. 1992).

No caso das aranhas-de-alçapão, sempre se presumiu que se tratava de um animal noturno. No entanto, não há nenhum trabalho que documente o ciclo diário destes animais, ou qualquer descrição de seu comportamento. Para as aranhas de alçapão, era esperada uma resposta aos estímulos luminosos cíclicos, de forma a manter as atividades no período noturno. Estudar os ciclos circadianos de aranhas de alçapão nos possibilita observar os possíveis impactos de atividade humana no cotidiano destes animais. Considerando a proximidade destes animais a ambientes antropizados, como foi comentado brevemente no capítulo I, devemos nos perguntar o impacto das luzes artificiais e de outros estímulos tem no comportamento destes animais. Para isso, é necessário estabelecer uma conexão entre os comportamentos das aranhas de alçapão e os ciclos de luminosidade.

B) Objetivo Geral:

Estudar o padrão de atividades para o ciclo circadiano de aranhas dos gêneros *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza* e a influência da iluminação externa nestas atividades.

C) Objetivos específicos:

- 1) Observar o padrão de atividades para o ciclo circadiano com iluminação compatível ao meio externo.
- 2) Observar se há alteração no padrão de atividades do item anterior na condição de inversão de padrões de claro-escuro.
- 3) Observar o padrão de atividades no caso de uma alteração de fotoperíodo.
- 4) Induzir uma possível supressão do padrão de atividades, utilizando iluminação constante.

D) Metodologia:

- 1) Metodologia de coleta: Os animais pertencentes aos gêneros *Actinopus*, *Idiops* e *Neocteniza* foram coletados em natureza, a partir da remoção do animal da toca de alçapão, o que pode resultar na destruição desta última. Coletas foram realizadas na Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade e nas áreas arborizadas de Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho, no município de Rio Claro, São Paulo. Alguns indivíduos foram coletados em campos realizados por colegas de laboratório. Os detalhes em relação à coleta destes indivíduos, sua identificação no nível de espécie e onde estão depositados podem ser encontrados na Tabela 2, em Anexos do Capítulo II. Apenas os indivíduos fêmeas e jovens foram de interesse para este estudo. Todos os indivíduos foram identificados em nível de espécie. Para *Actinopus* foram identificadas cinco espécies diferentes, para *Idiops* foram

identificadas quatro espécies diferentes. Todas as *Neocteniza* utilizadas nos experimentos foram identificadas como *Neocteniza toba*. Portanto quando a nomenclatura *Actinopus* ou *Idiops* for utilizada estaremos nos referindo a uma generalização para os gêneros.

- 2) Aclimação: Para todos os experimentos os animais foram aclimatados, colocados em terrários de vidro e plástico, com paredes translúcidas. O tamanho dos terrários variou de acordo com o tamanho do animal, as aranhas menores (de tocas de até 1 cm de diâmetro) foram colocadas em terrários redondos de plástico de 11 cm de diâmetro e 8 cm de altura. As aranhas maiores foram colocadas em terrários redondos de vidro de 25,5 cm de diâmetro e 10 cm de altura. Os terrários foram preenchidos com 5 cm de terra e uma fina camada de folhas secas e galhos. A maioria dos animais trazidos do campo construíram tocas dentre as 24-72 horas seguintes a sua chegada no laboratório. No entanto, alguns animais não construíram tocas e foram encontrados parasitados posteriormente. Os animais eram alimentados uma vez a cada 30 dias, sendo oferecidas baratas (*Phoetallia palida*), larvas de tenébrios (*Tenebrio molitor*) ou larvas de moscas (*Hermetia illucens*). Os animais foram deixados em diversas condições de luminosidade, dependendo dos objetivos propostos para cada experimento. As condições de luminosidade foram reproduzidas em laboratório utilizando lâmpadas fluorescentes tubulares de 32W e um temporizador analógico bivolt Foxlux® (modelo FX TBA). Nos casos de alterações drásticas de condições de luminosidade, foram feitas mudanças graduais ao longo de uma semana para que a mudança repentina não causasse alguma alteração nos animais. Exemplo: Para que fosse possível a inversão de fase (as fases clara e escura são invertidas de modo a não ficarem compatíveis com o meio externo), o início da fase clara foi atrasado

por uma hora e o fim da mesma adiantado por uma hora por dia. Passados seis dias, as fases clara e escura estariam completamente invertidas de forma gradual. A cada modificação de padrão de luminosidade, os animais aclimatavam ao novo padrão por setes dias.

- 3) Condições laboratoriais: O laboratório foi mantido sem alterações de temperatura, ocorrendo uma medição de temperatura antes do início de qualquer experimento. Por meio de termo-higrômetro, foi possível observar uma variação de 26°C a 19°C. Os animais receberam água sempre que necessário, de modo a manter a terra úmida sem alagar o terrário.
- 4) Experimentos: Cada experimento teve pelo menos três réplicas ocorrendo durante o mesmo período do dia, com indivíduos diferentes. Para a relação de quais indivíduos foram utilizados em quais experimentos, checar a Tabela 3, em Anexos do Capítulo II. Os experimentos ocorreram no laboratório. Os experimentos são:
 - a. Observação de atividade com apenas estímulos de luz: Para este experimento, utilizamos como indicador de atividades o comportamento de se posicionar próximo à entrada da toca, que para este trabalho será descrito como forrageamento e de manutenção da toca, como apresentados na Tabela 1, em Resultados. Inicialmente os indivíduos foram aclimatados de acordo com o fotoperíodo natural. Os indivíduos foram mantidos em um ciclo LD 12/12 (L = *light*, D = *darkness*, 12/12 = número de horas na fase clara e na fase escura, respectivamente). A fase clara teve início às seis horas e trinta minutos (06:30) e a fase escura teve início às dezoito horas e trinta minutos (18:30). Todos os indivíduos foram gravados no intervalo de 24 horas e as filmagens foram analisadas, buscando identificar um horário de aumento de atividade. Para este

experimento não houve nenhum tipo de interferência do observador, como remoção de opérculo ou tentativa de alimentação. A coleta dos dados comportamentais foi realizada utilizando a metodologia *ad libitum*, sendo coletados todos os comportamentos realizados.

- b. Observação de predação: Este experimento foi idealizado de forma a medir o investimento em relação a predação. Uma presa foi solta no terrário e será deixada por 24 horas, sendo filmado para depois ser analisado. Os experimentos de predação foram realizados com intervalos variados e durante diferentes períodos do dia. Como dados para este experimento foram observadas a distância entre o animal e a presa no momento do ataque, a frequência de alimentação e o se o forrageamento pode ocorrer em momentos diferentes do dia, como em momentos de repouso do animal, podendo indicar um maior investimento energético. A presa foi colocada no terrário durante três períodos, de manhã, tarde ou noite. As presas são baratas da espécie *Phoetallia pallida* mantidas em laboratório.

- c. Inversão de luminosidade: Após realizar todos os experimentos em um padrão de luminosidade que coincide ao meio externo, os animais tiveram o padrão de luminosidade invertido gradualmente. Esta inversão ocorreu ao longo de seis dias, adiantando duas horas por dia do início das fases claro e escuro simultaneamente. Os experimentos referentes à “Observação de atividade com apenas estímulo de luz” foram repetidos sob o padrão de luminosidade invertido. Os terrários foram mantidos úmidos. O comportamento dos animais foi registrado utilizando a

metodologia *ad libitum*, anotando apenas quando o comportamento ocorria. Os resultados deste experimento foram comparados aos resultados do experimento “a. Observação de atividades com apenas estímulo de luz” para melhor compreender a relação entre as fases clara e escura e o ciclo de atividades do animal.

d. Experimento de alteração de fotoperíodo: Os animais foram aclimatados com o ciclo LD16/8 (16 horas de luz e oito horas de escuro). Não houve nenhum tipo de estímulo, e os animais foram filmados por 24 horas. Os vídeos foram analisados a posteriori, utilizando a metodologia para coleta de amostras comportamentais *ad libitum*, anotando somente quando algum comportamento ocorria.

e. Experimento de supressão de ciclo: Os animais foram aclimatados com o ciclo LL (24 horas luz/luz), ou seja, 24 horas de luz. A transição para o ciclo LL se deu de forma gradual, reduzindo duas horas da fase escura por dia, chegando ao final de seis dias com 24 horas de fase clara. Os animais foram filmados e os vídeos analisados a posteriori, utilizando da metodologia para coleta de amostras comportamentais *ad libitum*, anotando somente quando algum comportamento ocorria.

5) Análises estatísticas: De modo a determinar se existe o indício da presença de um ciclo circadiano, que se relaciona com as condições de luminosidade, foi utilizada a estatística direcional, mais especificamente o teste de significância de Rayleigh. O teste de Rayleigh é utilizado para determinar se a distribuição de vetores em uma distribuição circular tende à uniformidade ou não. Ao realizarmos o teste, obtemos o valor para r (que pode variar de 0 a 1), se $r = 0$ os vetores estão

distribuídos uniformemente e se $r=1$ a distribuição dos vetores não é uniforme. Portanto, de forma a indicar a presença de um ciclo circadiano esperasse que o valor de r se aproxime de 1 mais do que de 0. Os testes estatísticos do presente trabalho foram selecionados baseando-se na metodologia de Hoenen e Gnaspinni (1999). No entanto, o teste de Rayleigh possui certas limitações, porque se baseia em dois pressupostos: primeiro de que os dados não são diametricamente bidirecionais, e segundo que os dados são unimodais, isto é, os pontos estão concentrados em apenas uma região do círculo. Portanto, para dados bimodais foi utilizado o teste de Kuiper modificado para uma única amostra. O teste de Kuiper se baseia no valor de V , que é a soma das distâncias entre a função da distribuição cumulativa e a distribuição empírica. Para dar significância ao teste, é utilizado α que nos atribuí um *valor crítico* (MARDIA & JUPP, 2001). O resultado do teste de Kuiper indica a rejeição ou não da hipótese nula, que indica a uniformidade da distribuição. Se $V > \text{valor crítico}$, a hipótese nula é rejeitada, portanto, não há indícios de uniformidade. Se $V < \text{valor crítico}$, a hipótese nula é aceita, portanto há indícios de uniformidade.

E) Resultados:

a. Etograma:

Para descrever a atividade diária, um etograma contemplando os diferentes comportamentos ao longo do ciclo diário. Esta análise é apenas descritiva (qualitativa) e não quantitativa, e foi utilizada para todos os experimentos neste capítulo.

Tabela 1: Etograma de atividades diárias.

Comportamento	Descrição
Sem comportamento aparente.	Toca fechada, sem movimentação visível, sem o animal visível.
Forragear	Alçapão semi-aberto, pernas I e II visíveis
Atividade mínima	Movimentação interna de rotação, alçapão semi-aberto
Reparo de toca	O animal se apoia no opérculo, ficando completamente exposto e repara a toca.

b. Observação de atividade com apenas estímulos de luz:

Para estes experimentos, a luminosidade foi mantida em um ciclo LD12/12 compatível com o meio externo, que será referida a partir de agora como “condições normais de fotoperíodo”. Nos experimentos de observação de atividades diárias, durante o regime de iluminação 12/12 foi possível observar uma preferência para a execução de atividades em uma determinada fase. Os animais tendem a se manter em atividade durante a fase escura. Os gráficos a seguir não especificam quais atividades ocorreram, mas quando as atividades ocorreram e com que frequência a atividade ocorreu naquele momento..

i. *Actinopus*

Para as aranhas do gênero *Actinopus* foram obtidos cinco registros de 24 horas. No gráfico a seguir, podemos observar que a atividade pode ocorrer mesmo em período de luminosidade, apesar de pouco frequente.

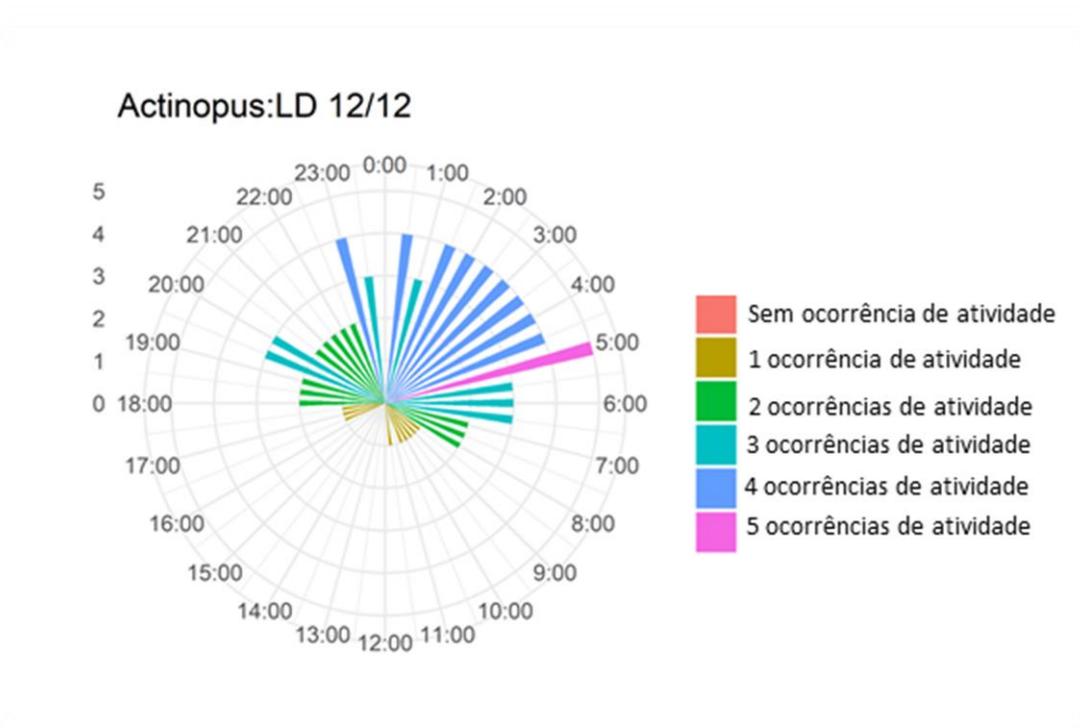


Figura 1: Gráfico de atividade geral de *Actinopus* em condições normais de iluminação (LD12/12).

Também é possível observar a ocorrência de atividade em curtos períodos de luminosidade próximos a fase escura, como 30 minutos antes do início da fase escura (18:00h) e até 90 minutos após o fim da fase escura (08:00h). Podemos observar que os dados possuem a distribuição unimodal, ou seja, o acúmulo de dados ocorre em apenas uma região da esfera. Devido a distribuição unimodal dos dados, foi possível realizar o teste de Rayleigh de uniformidade. Ao realizar o teste de Rayleigh nas ocorrências de atividade de *Actinopus*, o resultado obtido foi $r = 0,4891$ ($p < 0,001$), o que indica uma tendência a não-uniformidade.

ii. *Idiops*

Para os indivíduos do gênero *Idiops* foram obtidos quatro registros de 24 horas. No gráfico da figura podemos observar a concentração das atividades durante a fase escura. Também é possível observar a completa ausência de atividades durante a fase clara.

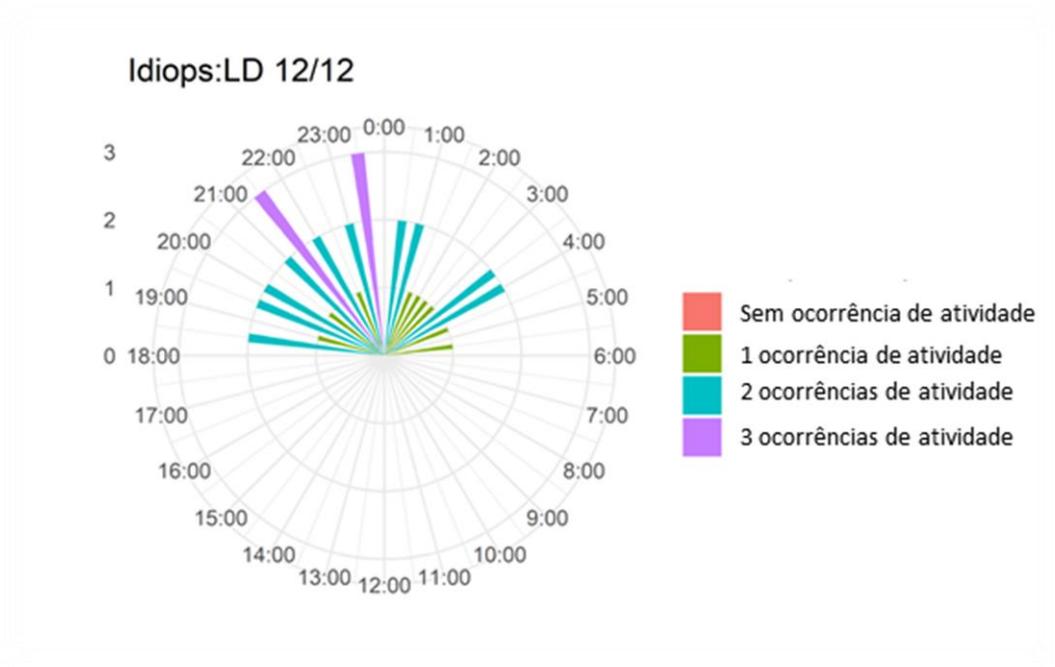


Figura 2: Gráfico de atividade de *Idiops* em condições normais de luminosidade (LD12/12).

As atividades de *Idiops* apresentaram uma distribuição unimodal, de modo que a ocorrência de atividades se acumula em apenas uma região da esfera. Devido a distribuição unimodal dos dados, foi possível utilizar o teste de Rayleigh de uniformidade. O resultado do teste de Rayleigh para a atividade diária de *Idiops* foi de $r=04892$ ($p < 0,001$), indicando a tendência a não-uniformidade.

iii. *Neocteniza*

Os indivíduos do gênero *Neocteniza* falharam em produzir resultados. Em nenhum dos dez vídeos obtidos foi observada atividade. Os motivos para esta falta de resposta por parte dos animais pode se derivar de inúmeros fatores. Os fatores

interferentes podem tanto preceder a coleta, por exemplo, a saúde e a integridade física dos indivíduos, como podem ser inerentes a não adaptação às condições laboratoriais.

c. Inversão de luminosidade.

Para estes experimentos, os animais foram mantidos em condições de luminosidade invertidas quando comparadas ao meio externo. Portanto, o início da fase escura ocorre às seis horas e trinta minutos (06:30h) e o início da fase clara ocorre às dezoito horas e trinta minutos (18:30h).

a. *Actinopus*

Para as aranhas do gênero *Actinopus* foram obtidos quatro registros de atividade neste experimento.

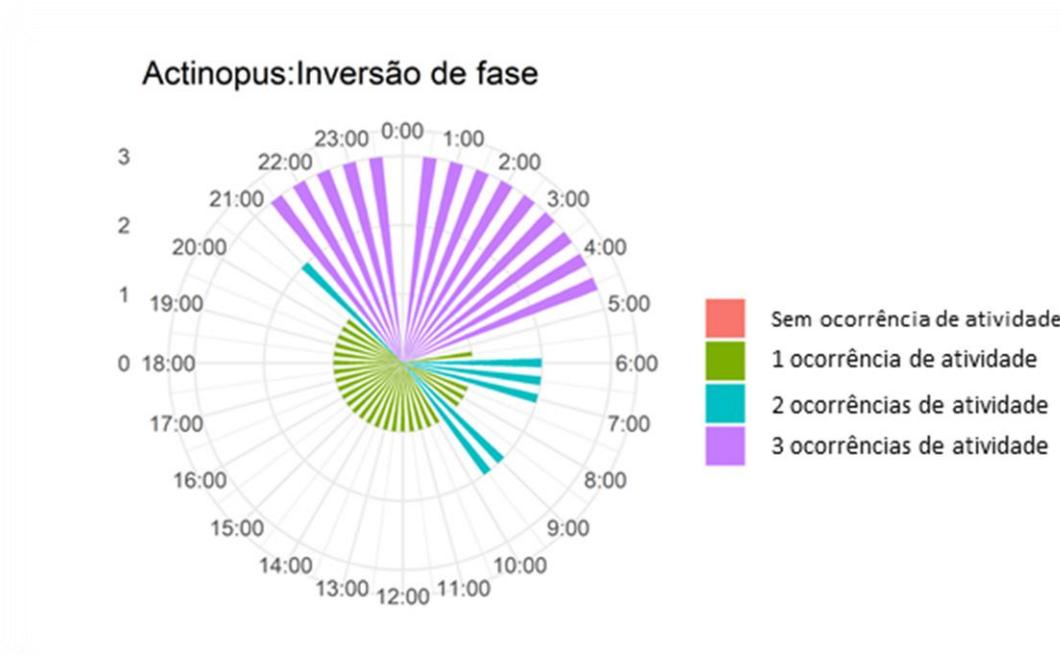


Figura 3: Gráfico de atividades de *Actinopus* em condições invertidas de luminosidade

A partir da análise inicial do gráfico podemos observar a ampla distribuição de atividades ao longo do dia, não se limitando apenas por uma fase do ciclo de claro e escuro. Podemos observar uma maior concentração de atividade durante o período entre

as 21:30h e as 04:30h, que corresponde à fase clara. A distribuição dos dados é unimodal, ocorrendo a concentração de atividade em apenas uma região da esfera. Foi possível a utilizado o teste de Rayleigh, resultando em $r=0.4893$ ($p<0,01$), que indica a tendência a não uniformidade.

b. *Idiops*

Para aranhas do gênero *Idiops* foram obtidos três registros bem sucedidos.

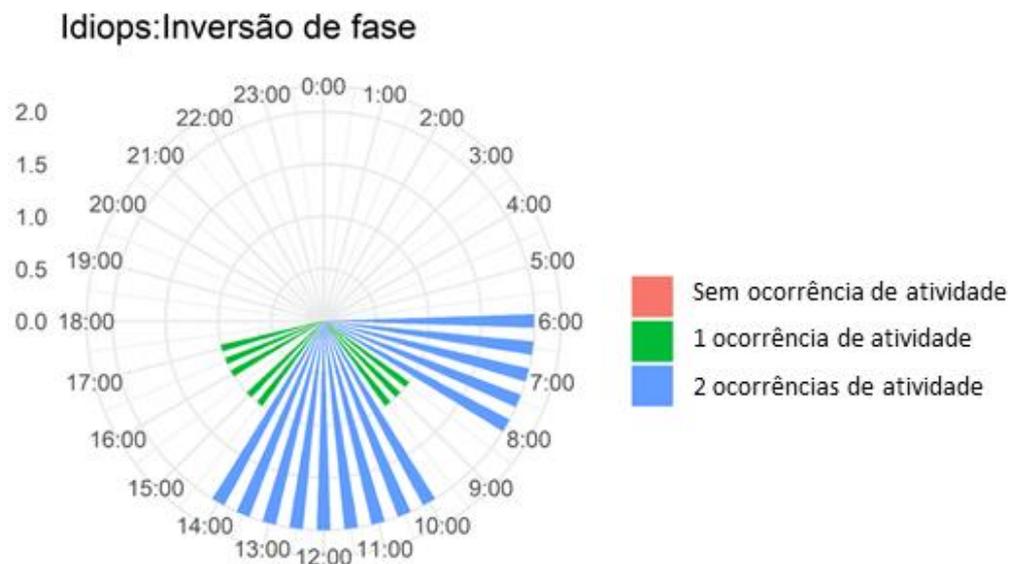


Figura 4: Gráfico de atividade de *Idiops* em condições invertidas de luminosidade

No caso dos indivíduos de *Idiops* é possível observar a concentração de atividades durante a fase escura do ciclo LD12/12. Novamente, as atividades não ocorrem na fase clara do ciclo. A distribuição dos dados é unimodal, o que possibilitou a utilização do teste de Rayleigh. Os resultados do teste de Rayleigh apontam uma tendência para a não-uniformidade ($r = 4893$, $p < 0,001$).

d. Observação de predação:

O experimento de “Observação de Predação” falhou em produzir dados de qualquer natureza. Quando ocorreram as tentativas de alimentação, os animais não

responderam à presa colocada no terrário. Estes animais, em cativeiro, se alimentam com uma baixa frequência, muitas vezes recusando alimento. Em muitas ocasiões o indivíduo de *Phoetallia pallida* era encontrado ainda vivo no dia seguinte à tentativa de alimentação. Em outros casos, a barata se refugiava na terra, o que impossibilitava a predação.

e. Alteração de fotoperíodo.

Para este experimento a duração da fase clara foi expandida para 16 horas e a duração da fase escura foi encurtada para oito horas. As luzes foram programadas para acender às 04:00h e se apagar às 20:00h. Os animais foram mantidos em aclimação por uma semana antes do início dos experimentos.

i. *Actinopus*

Para o gênero *Actinopus*, foram obtidos três registros de atividade sob as condições de iluminação de LD16/8 (16 horas de fase clara, oito horas de fase escura). A partir da análise dos vídeos, pudemos observar que a ocorrência de atividade aparentava ocorrer ao longo de ambas às fases, clara e escura. O período das 01:00h às 08:30h é o período em que maior parte das atividades foi registrada, correspondendo a 5 horas e 30 minutos de fase clara e 3 horas de fase escura. Os dados são bimodais, de modo que o teste de Rayleigh é inadequado. Foi necessária a utilização do teste de Kuiper, adotando dois valores para alpha (alpha= 0,01 e alpha = 0,15). Utilizando o teste de Kuiper modificado para uma amostra, a hipótese nula fora rejeitada ($V = 3.681$, alpha = 0,01), indicando a não-uniformidade para a distribuição.

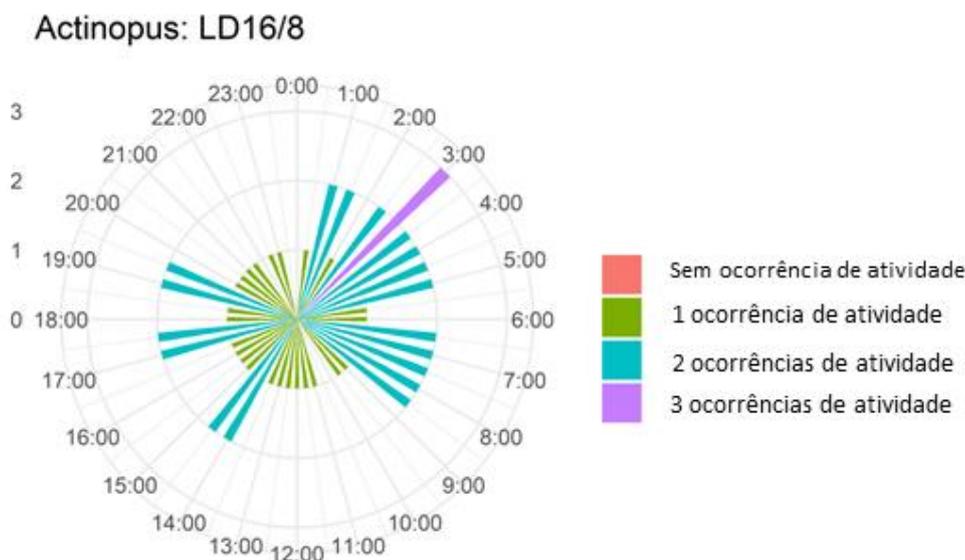


Figura 6: Gráfico de atividades de *Actinopus* sob LD 16/8

ii. *Idiops*

Para o gênero *Idiops*, foram obtidos três registros de atividade sob as condições de iluminação LD16/8 (16 horas de fase clara, oito horas de fase escura). A partir da análise dos vídeos foi possível observar diferentes casos de padrões de comportamento. Em um dos casos, o indivíduo permaneceu em forrageio por 22 horas e 30 minutos. Durante outro experimento, outro indivíduo não demonstrou nenhum tipo de atividade visível por 24 horas. Os dados foram considerados unimodais e o teste de Rayleigh foi realizado. O teste indicou uma não uniformidade para a distribuição dos dados ($r = 0,4893$, $p < 0,001$). Devido à natureza dos registros, foi realizado também um teste de Kuiper modificado para amostra única, resultando na rejeição da hipótese nula, apontando para a não uniformidade ($V = 4.648$, $p = 0,001$).

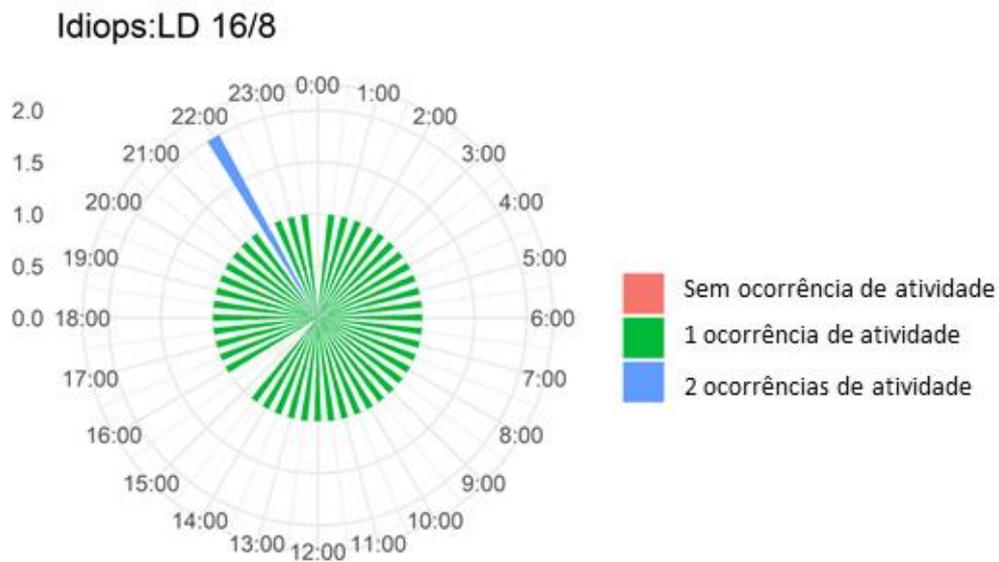


Figura 7: Gráfico de atividades de *Idiops* sob LD 16/8

f. Supressão de ciclo.

i. *Actinopus*

Para o gênero *Actinopus*, foram obtidos quatro registros de atividade. A partir da análise dos vídeos foi possível observar que as atividades ocorriam de forma aleatória durante o dia. O pico de maior atividade foi registrado para o período entre às 20:00h e às 23:30h. Os dados foram considerados unimodais, e o teste de Rayleigh foi utilizado. O teste de Rayleigh obteve o resultado de $r = 0,3178$ ($p < 0,001$). No teste de Kuiper modificado para amostra únicas foi obtido o valor de $V = 2,829$, rejeitando a hipótese

nula

de

uniformidade.

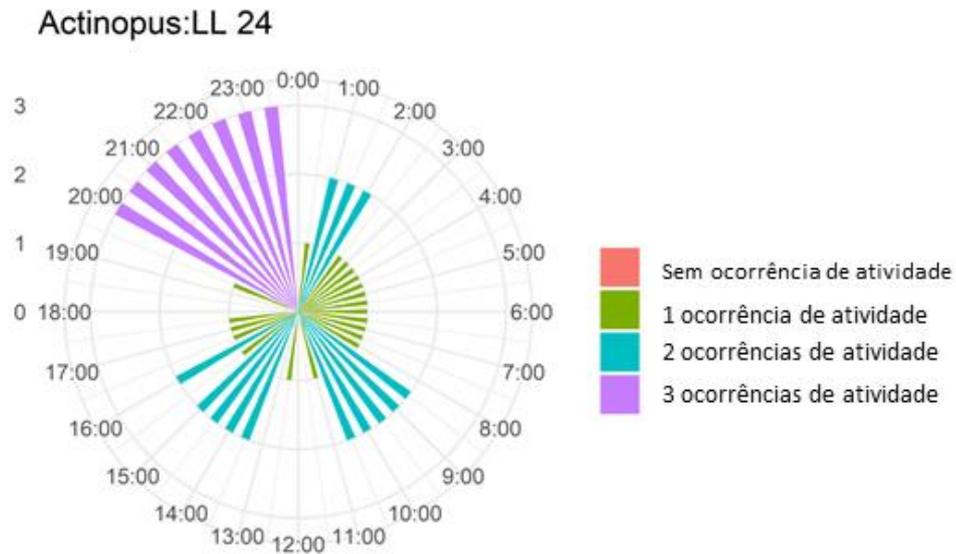


Figura 8: Gráfico de atividade de *Actinopus* sob LL24.

ii. *Idiops*

Para *Idiops*, apesar dos cinco experimentos realizados, nenhum dos indivíduos teve atividade registrada. Durante todo o período em que ocorreu a suspensão da fase escura, nenhum indivíduo de *Idiops* se expôs para fora da toca, se mantendo sempre fora do campo de visão do observador.

F) Discussão

a) Ciclo circadiano e inversão de fase

Após a realização do teste de Rayleigh para os experimentos sob condições de luminosidade LD12/12, podemos observar que os resultados para o valor de r (*Actinopus* = 0,489, *Idiops* = 0,489) estão mais próximos de uma uniformidade de que uma não uniformidade, uma vez que a uniformidade é igual a $r=0$ e a não uniformidade é igual a $r=1$. No entanto, ao observar os gráficos de padrões de comportamento,

podemos observar em ambos os gêneros uma tendência à atividade na fase escura. Para Hoennen & Gnapinni (1999), o valor de $r = 0,41$ já indica as atividades de *I. pustulosa* como circadianas, portanto se o mesmo julgamento se aplicar aos dados de *Actinopus* ($r = 0,489$) e de *Idiops* ($r = 0,489$), podemos inferir que as atividades estão contidas em um ciclo circadiano, muito provavelmente tendo a luz como *zeitgeber*. Os valores de r podem ser considerados válidos para indicar indícios de ciclo circadiano, apesar de se se aproximarem mais de uma situação de uniformidade ($r = 0$). Se considerarmos o valor de $r = 1$ para uma distribuição cujos dados estão presentes em apenas um ponto da circunferência, podemos considerar que $r = 0,5$ indica uma distribuição onde os pontos estão dispostos na metade da circunferência. Portanto, valores que se aproximem de 0,5 podem ser considerados circadianos, pois ocorrem somente durante o período de uma fase.

Apesar dos resultados do teste de Rayleigh apresentarem valores muito similares para *Actinopus* e *Idiops*, podemos através da observação dos gráficos notar algumas diferenças nos padrões de comportamento. Enquanto *Idiops* aparenta apresentar um comportamento exclusivamente durante a fase escura, é possível observar atividades em indivíduos de *Actinopus* durante horas da fase clara. Esta diferença se apresentou mais drasticamente durante os experimentos de inversão de fase.

Apesar das distribuições das atividades ao longo do dia se apresentarem de forma muito similar para *Actinopus* e *Idiops* durante o experimento de inversão de fases, como evidência os respectivos valores para r no teste de Rayleigh, os intervalos de tempo em que as atividades ocorrem são distintos. Os picos de atividade de *Actinopus* ocorreram das 21:00 horas até às 09:30 horas, passando por fase clara e fase escura. Dos indivíduos testados, um caso em particular no qual o indivíduo passou 18 horas em atividade constante demonstra a indiferença ao ciclo claro e escuro observado neste

experimento. Os picos de atividade para *Idiops* ocorreram das 06:00 horas às 14:00 horas, ocorrendo apenas na fase escura, demonstrando assim uma maior sensibilidade ao ciclo claro-escuro.

Traçando hipóteses para a diferença da influência da luz pra ambos os gêneros, foi apontada a diferença na receptividade da luz. Os opérculos que recobrem as tocas dos indivíduos de *Idiops* são mais finos, possivelmente possibilitando a passagem de luz. Os opérculos que recobrem as tocas dos indivíduos de *Actinopus* são mais espessos, possivelmente impossibilitando a passagem de luz. Portanto, a maior ocorrência de atividade de *Actinopus* durante o dia pode ser justificada por uma regulação fraca ao ciclo de claro e escuro.

b) Alteração do fotoperíodo.

Apesar do teste de Kuiper indicar a não-uniformidade para a distribuição das atividades de *Actinopus*, é difícil afirmar que exista uma expressão do ciclo circadiano, muito menos da influência do ciclo de claro e escuro. Os indivíduos de *Actinopus* mantinham suas atividades durante períodos de fase clara e fase escura, no entanto, após a alteração de fotoperíodo, os animais perderam qualquer referência ao comportamento relatado no item “Atividades diárias sem estímulos externos”. Os resultados incomuns a este experimento podem estar ligados às condições artificiais de aclimação que os animais foram submetidos, talvez não se comportando desta maneira na natureza.

O teste de Kuiper também indica uma não-uniformidade para a distribuição de atividades de *Idiops*, no entanto, este dado é pouco informativo em relação a natureza circadiana do comportamento. Anteriormente, os indivíduos de *Idiops* demonstraram uma completa predileção pela realização de seus comportamentos em fase escura. No

entanto, para este experimento, um dos indivíduos se manteve ativo por horas durante a fase clara e é impossível determinar se este fato tem relação aos padrões de iluminação ou a quaisquer outros fatores referentes à sua aclimatação ou manutenção em cativeiro. Os outros indivíduos utilizados neste experimento mantiveram atividades durante a fase escura, ou se mantiveram dentro da toca, sem atividades visíveis para o observador. Os dados para *Idiops* foram muito escassos para determinar se existe a alteração do padrão de atividades no caso da alteração de fotoperíodo.

c) Supressão de fotoperíodo.

Não é incomum para *Actinopus* se manter em atividade por longos períodos de tempo, como observado em itens anteriores. No entanto, as atividades parecem não obedecer nenhum tipo de padrão, o que era um resultado esperado para este experimento. Os resultados dos testes estatísticos, mais especificamente o teste de Rayleigh, demonstra uma maior proximidade entre o valor de r a zero, quando comparado com os experimentos anteriores. No teste de Kuiper, o valor de V se aproxima muito do valor crítico de α , quando comparado com resultados anteriores. Portanto, podemos considerar que apesar de rejeitar a hipótese de uniformidade, os resultados deste experimento não podem ser considerados circadianos.

Depres-Brummer et al.(1995) discute a longa exposição de ratos a LL (suspensão da fase escura) e a consequente perda do ciclo circadiano, que por sua vez é precedida por um ciclo ultradiano (com duração inferior a 20 horas). Podemos argumentar que há uma possibilidade dos indivíduos de *Actinopus* se encontrarem em um ciclo ultradiano, encurtando o intervalo dentre os momentos de atividade e os momentos de repouso. Para *Idiops*, a ausência de atividades diárias possivelmente representa a perda deste ciclo circadiano. O fato de que os indivíduos de *Idiops* apresentaram uma reação mais rápida ao regime de luz LL que os indivíduos de

Actinopus corrobora com a hipótese de uma maior sensibilidade a luz presente nestes animais.

G) Conclusões

A partir dos resultados e da discussão, podemos concluir que existe a expressão de um ciclo circadiano em aranhas de alçapão. Podemos também concluir que possivelmente a presença ou a ausência de luz é um fator que influencia na realização de atividades diárias para estes animais. Por fim, é possível concluir que a sensibilidade a mudanças de iluminação ambiente de aranhas do gênero *Idiops* é maior quando comparada com a sensibilidade de aranhas do gênero *Actinopus*.

H) Referências:

ASCHOFF, J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. In: **Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1960. p. 11-28.

AYOUB, N.A.; GARB, J.E.; HEDIN, M.; HAYASHI, C.Y. Utility of the nuclear protein-coding gene, elongation factor-1 gamma (*EF-1 γ*), for spider systematics, emphasizing family level relationships of tarantulas and their kin (Araneae: Mygalomorphae). **Mol. Phylogenet. Evol.** 42:394–409, 2007.

BIEBACH, H; FALK, H.; KREBS, J. R. The effect of constant light and phase shifts on a learned time-place association in garden warblers (*Sylvia borin*): hourglass or circadian clock?. **Journal of Biological Rhythms**, v. 6, n. 4, p. 353-365, 1991.

BRADSHAW, W. E.; HOLZAPFEL, C. M. What season is it anyway? Circadian tracking vs. photoperiodic anticipation in insects. **Journal of Biological Rhythms**, v. 25, n. 3, p. 155-165, 2010.

BÜNNING, E. Known and unknown principles of biological chronometry. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 138, n. 2, p. 515-524, 1967.

CLARIDGE-CHANG, A.; WIJNEN, H.; NAEF F.; BOOTHROYD, C.; RAJEWSKY, N.; YOUNG, M. W. Circadian regulation of gene expression systems in the *Drosophila* head. **Neuron**, v. 32, n. 4, p. 657-671, 2001.

CLOUDSLEY-THOMPSON, J.L. Biological clocks. Their functions in nature. 1.ed. Londres :Weidenfield and Nicholson,. 1980.

DANILEVSKII, A. S **Photoperiodism and seasonal development of insects**. 1.ed. Edinburgh: Oliver & Boyd Ltd,. 1965.

- DANKS, H. V. et al. **Insect dormancy: an ecological perspective**. Ottawa, ON: Biological Survey of Canada (Terrestrial Artropods), 1987.
- DEPRES-BRUMMER, P.; LEVI, F.; METZGER, G.; & TOUITOU, Y. Light-induced suppression of the rat circadian system. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 268(5), R1111-R1116, 1995.
- GARNER, W. W.; ALLARD, H.A.. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. **Monthly Weather Review**, v. 48, n. 7, p. 415-415, 1920.
- GUADANUCCI, J.P. L.; BRAGA, P. L. M.; SÁ, F. de S. Aspects of the activity rhythm and population size of troglophilic mygalomorph spiders (*Trechona* sp., Dipluridae) in a quartzite cave in Minas Gerais, Brazil. **Journal of natural history**, v. 49, n. 15-16, p. 889-903, 2015.
- HOENEN, S.; GNASPINI, P. Activity rhythms and behavioral characterization of two epigeal and one cavernicolous harvestmen (Arachnida, Opiliones, Gonyleptidae). **Journal of Arachnology**, p. 159-164, 1999.
- JONES, K. H.S.; ELLIS, J.; von SCHANTZ, M.; SKENE, D.; DIJK D.J.; ARCHER, S. N., Age-related change in the association between a polymorphism in the PER3 gene and preferred timing of sleep and waking activities. **Journal of sleep research**, v. 16, n. 1, p. 12-16, 2007.
- KUIPER, N. H. Tests concerning random points on a circle. In: **Nederl. Akad. Wetensch. Proc. Ser. A**. 1960. p. 38-47.
- LEATHER, S. R. Overwintering in six arable aphid pests: a review with particular relevance to pest management. **Journal of Applied Entomology**, v. 116, n. 1-5, p. 217-233, 1993.
- MARDIA, K. V.; JUPP, P.E. **Directional statistics**. John Wiley & Sons, 2009.
- MARQUES, N.; MENNA-BARRETO, L.. **Cronobiologia: Princípios e Aplicações (revista e ampliada) Vol. 12**. São Paulo: Edusp, 1997.
- MARQUES, M. D.; ODA, G. **Glossário de Cronobiologia**. Rev. Biol., ISSN 1984-5154, 2012.
- MATSUMOTO, A. Genome-wide screenings for circadian clock genes in *Drosophila*. **Sleep and Biological Rhythms**, v. 4, n. 3, p. 248-254, 2006.
- MCDONALD, M.J.; ROSBASH, Microarray analysis and organization of circadian gene expression in *Drosophila*. **Cell**, v. 107, n. 5, p. 567-578, 2001.
- NELSON, R. J.; DENLINGER, D. L.; SOMERS, D. E. (Ed.). **Photoperiodism: the biological calendar**. 1. ed. Londres: Oxford University Press, 2010.
- NUMATA, H.; SHIGA, S.; MORITA, A. Photoperiodic receptors in arthropods. **Zoological science**, v. 14, n. 2, p. 187-198, 1997.

ORTEGA-ESCOBAR, J. Circadian rhythms of locomotor activity in *Lycosa tarentula* (Araneae, Lycosidae) and the pathways of ocular entrainment. **Biological rhythm research**, v. 33, n. 5, p. 561-576, 2002.

PITTENDRIGH, C. S. The circadian oscillation in *Drosophila pseudoobscura* pupae: a model for the photoperiodic clock. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, v. 54, p. 275-307, 1966.

PITTENDRIGH, C. S. Circadian surfaces and the diversity of possible roles of circadian organization in photoperiodic induction. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 69, n. 9, p. 2734-2737, 1972.

PITTENDRIGH, C. S.; MINIS, D. H. Circadian systems: longevity as a function of circadian resonance in *Drosophila melanogaster*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 69, n. 6, p. 1537-1539, 1972.

PITTENDRIGH, C. S. Circadian systems: general perspective. In: **Biological rhythms**. Springer, Boston, MA, 1981. p. 57-80.

SEYFARTH, E. Daily patterns of locomotor activity in a wandering spider. **Physiological Entomology**, v. 5, n. 2, p. 199-206, 1980.

SUTER, R. B. Circadian rhythmicity and other patterns of spontaneous motor activity in *Frontinella pyramitela* (Linyphiidae) and *Argyrodes trigonum* (Theridiidae). **Journal of Arachnology**, p. 6-22, 1993.

SWADE, R. H. Circadian rhythms in fluctuating light cycles: toward a new model of entrainment. **Journal of theoretical biology**, v. 24, n. 2, p. 227-239, 1969.

TORK, P. Temporal behaviour in jumping spiders (Araneae, Salticidae). 2018. Tese de Doutorado. University of Canterbury.

YAMASHITA, S.; NAKAMURA, T.. Circadian oscillation of sensitivity of spider eyes: diurnal and nocturnal spiders. **Journal of experimental biology**, v. 202, n. 18, p. 2539-2542, 1999.

WELLENSIEK, S. J. **Flower formation in *Campanula medium***. Veenman, 1960.

I) Anexos

Tabela 2: ID = identificação. Os indivíduos listados como “Perdido” foram mortos por fungos antes que pudessem ser fixados adequadamente.

ID	Data de coleta	Local de coleta	Coletores	Gênero	Espécie	Idade	Estado
ACT1	04-VII-2018	UFSCAR, São Carlos, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Actinopus</i>	<u>sp1</u>	Fêmea adulta	Álcool 70%
ACT2	04-VII-2018	UFSCAR São Carlos, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Actinopus</i>	sp1	Jovem	Álcool 70%

ACT3	17-X-2018	Parna, Serra do Cipó- MG	Galleti-Lima,A	<i>Actinopus</i>	sp2	Fêmea adulta	Álcool 70%
ACT4	04-I-2019	Blumenau, SC	Galleti-Lima,A	<i>Actinopus</i>	<i>trinotatus</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
ACT5	04-I-2019	Blumenau, SC	Galleti-Lima,A	<i>Actinopus</i>	<i>trinotatus</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
ACT6	05-IX-2019	FEENA, Rio Claro, SP	Ando-Teixeira, J.A.	<i>Actinopus</i>	<i>dubiomaculatus</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
ACT7	05-IX-2019	FEENA, Rio Claro, SP	Ando-Teixeira, J.A.	<i>Actinopus</i>	<i>Dubiomaculatus</i>	Jovem	Álcool 70%
ACT8	04-VII-2018	UFSCAR São Carlos, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Actinopus</i>	sp1	Jovem	Perdido
ACT9	17-X-2019	Brejo de Amado de Deus, PE	Ferreira, R. F.	<i>Actinopus</i>	sp3	Fêmea adulta	Álcool 70%
IDI1	04-VII-2018	UFSCAR São Carlos, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Idiops</i>	<i>Camelus</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
IDI2	04-VIII-2018	UNESP, Rio Claro, SP	Ando-Teixeira, J. A.	<i>Idiops</i>	sp1	Fêmea adulta	Álcool 70%
IDI3	-	Estado de São Paulo	Ferreira, R. F.	<i>Idiops</i>	sp2	Jovem	Álcool 70%
IDI4	-	Estado de São Paulo	Ferreira, R. F.	<i>Idiops</i>	sp3	Jovem	Perdido
IDI5	-	Estado de São Paulo	Ferreira, R. F.	<i>Idiops</i>	<i>Camelus</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
IDI6	-	Estado de São Paulo	Ferreira, R. F.	<i>Idiops</i>	<i>Camelus</i>	Fêmea adulta	Perdida
NEO1	02-V-2019	UNESP, Rio Claro, SP	Indicatti, R.P.	<i>Neocteniza</i>	<i>Toba</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
NEO2	18-III-2018	UNESP, Rio Claro, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Neocteniza</i>	<i>Toba</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
NEO3	18-III-2018	UNESP, Rio Claro, SP	Ghirrotto, V.M.	<i>Neocteniza</i>	<i>Toba</i>	Fêmea adulta	Álcool 70%
NEO4	-	Itirapina, SP	Trova, E.F.	<i>Neocteniza</i>	<i>Toba</i>	Fêmea adulta	Perdido

Tabela 3: ID = Identificação. 1.1 Reconstrução de opérculo, 1.2 Aumento gradual do opérculo, 2.1 Atividade diária sem estímulo externo(LD12/12, sem inversão), 2.2 Comportamento de alimentação, 2.3 Inversão de fase, 2.4 Alteração de fotoperíodo (LD16/8) 2.5 Supressão de ciclo circadiano (LL24)

ID	1.1	1.2	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5
ACT1	X	X	X	X	X	X	X
ACT2	X	X	X	X	X	X	X
ACT3	X	X	X	X	X	X	X
ACT4		X			X	X	X
ACT5		X			X	X	X
ACT6	X	X	X				
ACT7					X		
IDI1	X	X	X	X	X	X	X
IDI2	X	X	X	X	X	X	X
IDI3		X					
IDI4	X	X	X	X	X	X	X
IDI5					X		
IDI6					X		
NEO1		X	X		X	X	X
NEO2	X	X	X	X	X	X	X
NEO3	X	X	X	X	X	X	X
NEO4	X		X	X	X	X	