
Ciências Biológicas

HUGO HIDEKI EDAGI

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE CORTE
E CÓPULA DA ESPÉCIE *DOLICHOTHELE*
DIAMANTINENSIS BERTANI, SANTOS &
RIGHI, 2009 (MYGALOMORPHAE,
THERAPHOSIDAE) – EM UM CONTEXTO
COMPARATIVO COM ESPÉCIES
CONGENÉRICAS**

HUGO HIDEKI EDAGI

Estudo do comportamento de corte e cópula da espécie *Dolichothele diamantinensis* Bertani, Santos & Righi, 2009 (Mygalomorphae, Theraphosidae) – em um contexto comparativo com espécies congêneras

Orientador: Dr. Prof José Paulo Leite Guadanucci

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2018

E21e	Edagi, Hugo Hideki Estudo do comportamento de corte e cópula da espécie <i>Dolichothele diamantinensis</i> Bertani, Santos & Righi, 2009 (Mygalomorphae, Theraphosidae) - em um contexto comparativo com espécies congêneras / Hugo Hideki Edagi. -- Rio Claro, 2018 27 f. : il., tabs. + 1 CD-ROM Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro Orientador: José Paulo Leite Guadanucci 1. Aracnídeos. 2. Mygalomorphae. 3. <i>Dolichothele</i>. 4. Comportamento de corte e cópula. 5. Taxonomia. I. Título.
------	---

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

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, principalmente aos meus pais, que me deram essa oportunidade de me formar pela UNESP, pois não é fácil conseguir manter um filho morando em outra cidade, e pelo apoio em momentos de indecisões e conselhos durante a minha vida inteira. Ao meu irmão, minha irmã, meu tio e meu primo que sempre me deram conselhos sobre o que fazer em determinadas horas de incertezas e confusão mental.

Aos grandes amigos e amigas que eu conheci durante a faculdade, principalmente aqueles que vivenciaram todas as etapas da minha vida dentro da universidade, durante épocas de risos ou de tristeza, eles estavam lá: Roger (Yudi), André, João Arthur (Pão), Lara, Kauan, Beatriz, Guilherme (Pumba), Vinícius (Mancebo), Gabriel e a Kemellyn (que me aguentou e me deu muito carinho e amor nesse meu último ano de faculdade). Mas agradeço a outras pessoas que se tornaram meus amigos, ou apenas colegas ou até mesmo pessoas que eu criei rancor, pois me ajudaram de alguma forma a crescer durante esses meus anos aqui na faculdade.

Agradeço o meu orientador professor José Paulo Leite Guadanucci, que com muita paciência me ensinou muito sobre a pesquisa e a vida, com conversas descontraídas e de muito ensinamento.

Agradeço aos docentes que me deram aulas durante a graduação, foram inúmeras as aulas, mas existiam aquelas mais paradas e as mais ativas, as que eu gostava e as que eu odiava... Mas uma coisa é certa, aprendi muito sobre temas das disciplinas e de como eu quero ser um professor em algum futuro.

Agradeço ao grupo PET Biologia por me proporcionar momentos de aprendizado durante a minha graduação.

Agradeço também a todos do Laboratório de Aracnologia de Rio Claro, principalmente ao João e a Julia que me ajudaram na elaboração desse trabalho. Além dos momentos que todos estavam rindo durante uma cerveja.

“その最後まで忘れたくないよ

夢を願う時は少し強くなれる僕らの々”

Tradução: “*Eu não quero esquecer até o último minuto da minha existência, se eu quero que meus sonhos se tornem realidade, me torno um pouco mais forte todo dia*”

(TAKUYA ∞)

Resumo

O estudo de comportamento sexual de corte e cópula em aranhas migalomorfas, mais conhecidas como caranguejeiras, vem se destacando nos últimos anos, apesar de que, muitos acreditavam ser apenas composto por movimentos simples. Entretanto, com estudos mais recentes, mostram que são movimentos que apresentam complexidade e importância no reconhecimento coespecífico entre as espécies. A família Theraphosidae (Araneae) é uma das famílias que vem sendo bastante estudadas em relação ao seu comportamento reprodutivo. Dentro dessa família, o gênero *Dolichothele*, descrito por Mello-Leitão, 1923, não possui muitos trabalhos voltados ao comportamento; por esse motivo, o presente trabalho buscou analisar e padronizar os comportamentos de corte e cópula da espécie *D. diamantinensis*, através de filmagens e análises em programas. Além de comparar, observando matrizes e árvores filogenéticas, com outras três espécies do mesmo gênero: *D. exilis*, *D. mineirum* e *D. rufoniger*, em que as duas últimas ocorrem em simpatria com *D. diamantinensis*, afim de compreender melhor sobre o isolamento reprodutivo e comportamental que podem ter ocorrido em sua evolução, em um contexto filogenético.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVOS.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Observação dos comportamentos de corte e copula.....	10
3.1.1 Análise dos vídeos.....	11
3.2 Estudo Comparativo.....	11
3.3 Análise filogenética.....	12
4. RESULTADOS.....	13
4.1 Categorias comportamentais.....	13
4.1.1 Categorias comportamentais de corte realizados pelo macho.....	13
4.1.2 Categorias comportamentais de copula realizados pelo macho.....	14
4.2 Tabela de transição de movimentos.....	14
4.3 Ciclo comportamental de corte e copula.....	15
4.4 Análises do programa Ethoseq.....	17
4.5 Análises filogenéticas.....	18
4.5.1 Árvore I – Matriz de categorias comportamentais e morfológicas.....	18
4.5.2 Árvore II – Matriz de sequências comportamentais e morfológicas.....	19
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÃO.....	23
7. REFERÊNCIAS.....	24
8. ANEXOS.....	26

1 Introdução

O filo Arthropoda abrange cerca de 85% de todas as espécies de animais já descritas (GIRIBET E EDGECOMBE, 2012), sendo que o a subfilo Chelicerata é o segundo mais diverso entre os grupos que compõem o filo. Os exemplares do subfilo Chelicerata possuem, tipicamente, seu corpo dividido em duas porções principais: a parte anterior denominada prossoma e a posterior de opistossoma (BRUSCA E BRUSCA 2007, FOELIX, 1996). O subfilo é dividido em dois grupos: Pycnogonida e Euchelicerata, sendo que o ultimo possui as classes Arachnida e Xiphosura (GIRIBET E EDGECOMBE, 2012).

A classe Arachnida é dividida em 11 ordens, e dentro desse grupo, a ordem Araneae é uma das mais diversas do grupo, contendo 47327 espécies, distribuídas em 116 famílias (World Spider Catalog 2018). De acordo com a hipótese de Platnick e Gertsch (1976), a ordem é dividida em duas subordens: a subordem Mesothelae (composto por uma única família); o grupo possui características primitivas em relação aos demais indivíduos da ordem, como segmentação do opistossoma e a presença de quatro pares de fiandeiras localizadas na porção média ventral; e a Opisthothelae, conhecidas como aranhas modernas (FOELIX, 1996). A subordem Opisthothelae é dividida em duas infraordens, Araneomorphae (aranhas verdadeiras); grupo mais diverso, com mais de 90% das espécies da ordem; e Mygalomorphae (caranguejeiras); abrangem cerca de 6% das espécies da ordem.

As aranhas, conhecidas assim popularmente, possuem seis pares de apêndices no prossoma; na parte frontal, estão presentes um par de quelíceras e um par de pedipalpos e na lateral estão os outros quatro pares de apêndices (quatro pares de pernas). No opistossoma é possível observar aberturas relacionadas a reprodução, respiração (pulmões foliáceos ou traqueias) e o único apêndice do opistossoma, é representado pelas fiandeiras (estrutura responsável pela produção de seda) (BRUSCA E BRUSCA, 2007). Além disso, esse grupo é um dos mais abundantes animais terrestres, conseguindo explorar também ambientes aquáticos, como habitats de água doce e entremarés (BRUSCA E BRUSCA, 2007). A distribuição geográfica desses animais é também bastante diversa, podendo ser encontrados em quase todos os lugares da terra, desde ilhas árticas até desertos (FOELIX, 1996). Ainda, as aranhas são predadoras com uma alimentação bastante diversificada, podendo conter em sua dieta desde insetos (a maioria das vezes) até pequenos vertebrados (FOELIX,

1996).

São animais dioicos e que apresentam dimorfismo sexual, os machos adultos, normalmente menores que as fêmeas, possuem um par de órgãos copulatórios (bulbos) no ápice dos pedipalpos, e usam essas estruturas que são adquiridas após a última ecdise, para estocar e transferir o esperma para as fêmeas (FOELIX, 1996). Além disso, os machos de algumas famílias de Mygalomorphae podem apresentar uma estrutura no primeiro par de pernas chamada apófise tibial, que possui função de segurar as quelíceras da fêmeas durante a cópula (FERRETTI et al., 2013). Já as fêmeas apresentam um corpo mais robusto e geralmente maior que os machos. A abertura genital, localizada na fenda epigástrica, possui uma luz em comum para o oviduto e para o receptáculo seminal (espermateca), local este que receberá e armazenará o esperma até o momento da fecundação (FOELIX, 1996). Os ovos assim que fecundados, são depositados em uma bolsa de seda (ooteca) construído pela própria fêmea. Em algumas espécies, é possível observar o cuidado parental ou o abandono dos ovos ou da prole (FOELIX, 1996).

Comportamentos relacionados à reprodução sofreram uma enorme pressão seletiva para que houvesse o reconhecimento coespecífico durante a aproximação dos machos em direção às fêmeas para a cópula, evitando a predação dos machos pelas fêmeas (FERRETTI et al., 2013; HUBER, 2005). Alguns autores, como Baruffaldi et al. (2010), mostram a presença de feromônios nas teias das fêmeas, agindo como sinais químicos para o macho, informando a presença e a receptividade da fêmea, e a realização de comportamentos sexuais, exibindo sinais mecânicos (QUIRICI E COSTA, 2007), que são de extrema importância para o reconhecimento coespecífico, onde são percebidos através de órgãos sensoriais, como os tricobotrios.

Os comportamentos sexuais podem ser vistos como rituais que possuem um padrão para cada espécie (FOELIX, 1996). De acordo com Ferretti et al. (2013) o comportamento sexual, também chamado de corte, possui cinco funções: reconhecimento de parceiros (espécie e sexo), orientação e sincronização dos indivíduos durante a corte e posteriormente a cópula e a supressão de comportamentos como predação.

O estudo sobre comportamento sexual é vasto em aranhas araneomorfas, porém estudos com a infraordem Mygalomorphae ainda são escassos; por isso,

trabalhos como de, Costa e Pérez-Miles (2002), Postiglioni e Costa (2006), Bertani et al. (2008), Ferretti e Ferrero (2008), Copperi et al. (2012) e Ferretti et al. (2013), foram de extrema importância para o entendimento de tais comportamentos, procurando padronizar nomenclaturas para facilitar futuros estudos sobre a etologia de corte e copula do grupo.

A família Theraphosidae Thorell, 1869, possui 967 espécies distribuídas em 144 gêneros (World Spider Catalog 2018), é a família de migalomorfos que apresenta os maiores indivíduos e a maior longevidade das aranhas no mundo (COSTA E PÉREZ-MILES, 2002). A subfamília Theraphosinae é endêmica da região neotropical, onde é mais diversa em questão de número de espécies (COSTA E PÉREZ-MILES, 2002). Os comportamentos de corte desses animais eram vistos como simples; todavia, de acordo com Ferretti et al. (2013), com o aumento de trabalhos envolvendo a etologia desses animais, observa-se uma maior complexidade nos movimentos para a percepção macho-fêmea desses animais.

Os comportamentos de corte e copula desta família são importantes para o reconhecimento coespecífico, sincronização e a supressão de comportamentos agressivos (FERRETTI et al, 2013). Durante a corte, o macho pode realizar desde movimentos vibratórios utilizando o corpo (*body vibration*) até movimentos utilizando alguns apêndices, como o pedipalpo (FERRETTI et al. 2013).

Já durante a cópula, os machos seguram as quelíceras das fêmeas com a apófise tibial, Ferretti et al. (2013) descrevem o movimento como *Clasping*, elevando o corpo da fêmea, formando ângulos de 60 a 80 graus entre o abdômen e o opistossoma, durante essa fase, o macho insere os bulbos copulatórios na abertura genital da fêmea (FERRETTI et al., 2013).

O gênero *Dolichothele*, descrito por Mello-Leitão, 1923 pertence à família Theraphosidae e possui como característica diagnóstica o lábio mais largo do que longo (BERTANI et al. 2009; GUADANUCCI, 2007, 2011). Dentro desse gênero, a espécie *D. diamantinensis* (BERTANI, SANTOS E RIGHI, 2009), pode ser reconhecida por possuir uma coloração azul metálica e por uma mancha avermelhada no abdômen (BERTANI et al. 2009). A espécie pode ser encontrada na Serra do Espinhaço do estado de Minas Gerais (GUADANUCCI, 2011), relacionado à habitat de campos rupestres (altitudes de cerca de 900 metros acima do nível do mar)

(GIULIETTI E PIRANI, 1988) e clima tropical, de acordo com Silva et al (2005), citado por também no trabalho Bertani et al (2009).

Pouco se conhece sobre o comportamento reprodutivo dessa espécie, além de ocorrer em simpatria com *D. rufoniger* e *D. mineirum*. Portanto o objetivo desse trabalho é estudar e descrever padrões de comportamentos de corte e copula e comparar os dados comportamentais com outras três espécies congêneras, para as quais já temos dados de outros estudos realizados no laboratório. Afim de, compreender melhor o isolamento reprodutivo que pode ter ocorrido nas espécies, em um contexto filogenético.

2 Objetivos

Analisar os comportamentos de corte e copula da espécie *D. diamantinensis* e comparar as categorias comportamentais com outras três espécies *D. exilis*, *D. rufoniger* e *D. mineirum*, em um contexto filogenético.

3 Materiais e métodos

Para a realização do presente trabalho, foram utilizados exemplares de machos e fêmeas da espécie *Dolichothele diamantinensis*, provenientes do Planalto Diamantina, Minas Gerais. As rotinas experimentais com os indivíduos foram efetuadas no Laboratório de Aracnologia de Rio Claro (LARC) – na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” no campus de Rio Claro. Os animais foram mantidos no laboratório em recipientes plásticos (11,5 cm de diâmetro por 7,3 cm de altura) com pequenas aberturas para circulação de ar; além disso, foram dispostos no recipiente um substrato de terra vegetal e um pequeno reservatório com água para manter a umidade no terrário, criando um ambiente ideal para a sobrevivência e menos estressante para o animal. Os indivíduos foram alimentados com baratas (*Periplaneta* sp. e *Gromphadorhina* sp.) uma vez por semana.

3.1 Observação dos comportamentos de corte e cópula

Para essa etapa, as fêmeas foram colocadas em terrários de vidro (40 cm de comprimento x 19 cm de altura x 20 de largura) – chamadas de arenas reprodutivas – que também possuíam, assim como os recipientes de plástico, um pequeno reservatório para água e substrato de terra vegetal; além disso, foram acrescentados galhos e pedras que poderiam ser usados para a construção de uma toca pela fêmea. O tempo mínimo de espera, para a fêmea aclimatar-se e construir sua teia no ambiente novo, foi de uma semana.

Assim, com a arena reprodutiva com a fêmea aclimatada, o macho foi introduzido na arena para realizar a corte e a cópula. As observações foram gravadas utilizando uma câmera digital (SONY HANDYCAM DCR-SR47) com um tripé de suporte. Logo em seguida que o macho foi posto na arena, a filmagem iniciava-se, caso não houvesse nenhum comportamento de corte ou cópula, o vídeo era encerrado em 15 minutos, mas se houvesse, a filmagem foi feita até o fim da cópula ou afastamento do macho da fêmea.

3.1.1 Análise dos vídeos

Utilizando programas de edição e exibição de vídeos, as filmagens foram assistidas inúmeras vezes para observar de maneira, primeiramente, qualitativa os comportamentos exibidos pelo macho durante a corte e cópula, usando como base de identificação e comparação o trabalho de Ferreti et al. (2013), que descreveu e padronizou em seu trabalho comportamentos realizados pela família (Theraphosidae) da espécie do estudo. A próxima etapa realizada foi a contagem de comportamentos, ou seja, uma análise quantitativa. Durante essa fase, foram contabilizados o variedade e quantidade de comportamentos realizados e suas repetições.

Para analisar a sequência de comportamentos, foi utilizado o programa Ethoseq (JAPYASÚ et al. 2006), que se baseia na transição entre comportamentos, isto quer dizer, que um movimento seguido por um outro comportamento, torna o segundo dependente do primeiro para que ele aconteça, a partir dessa visão, foi elaborada uma tabela com os comportamentos e suas transições entre os mesmos.

3.2 Estudo comparativo

Com os dados da espécie *Dolichothele diamantinensis*, foi possível comparar com os resultados já obtidos de outras 3 espécies congêneras: *D. rufoniger* (GUADANUCCI, 2007); *D. mineirum* (GUADANUCCI 2011); e *D. exilis* (Mello-Leitão, 1923). Assim, foram estabelecidos caracteres de acordo com os comportamentos realizados pelas espécies, podendo estar: ausente (0) ou presente (1); ou vários graus de intensidade (variando deste ausente até o máximo de intensidade observada entre as espécies).

Além disso, o programa Ethoseq gerou sequências comportamentais, de dois ou mais comportamentos, a partir da comparação das transições comportamentais entre as espécies, observando se as sequências foram exclusivas das espécies (autopomorfias, que foram descartadas) ou compartilhadas entre duas ou mais espécies (hipóteses de homologia primária que foram usadas para construir uma matriz de dados).

3.3 Análise filogenética

Foram construídas duas matrizes, em que a primeira envolvia as categorias comportamentais, que foram tomadas como caracteres, podendo diferenciar entre ausente ou presente, ou com até 4 graus de intensidade. Já a segunda, tomou como caracteres as sequencias comportamentais produzidas pelo programa Ethoseq, no qual podiam variar entre ausente ou presente. Além disso, nas duas análises, os caracteres morfológicos apresentados por Guadanucci (2011) foram combinadas.

A análise cladística foi implementada através da análise de parcimônia com o programa TNT 1.1 (GOLOBOFF et al. 2003). Foi utilizado o programa Winclada 0.9.9 (NIXON, 1999), para a observação da distribuição dos caracteres, utilizando as otimizações Acctran (“accelerate character transformation”) e Deltran (“delay character transformation”).

4 Resultados

Ao total, foram analisados três vídeos, onde é possível ver comportamentos de corte e cópula da espécie *Dolichothele diamantinensis*, contendo, em média, $8 \pm 2,64$ ciclos de corte e 3,4 cortes interrompidas (pela aproximação da fêmea até o macho) por vídeo, nesses três vídeos, dois apresentaram cópula, entretanto, foi possível ver quatro ciclos de comportamento de cópula.

4.1 Categorias comportamentais

Com a análise dos vídeos, foi possível observar comportamentos realizados pelo macho já descritos por Ferretti et al. (2013) e comportamentos ainda não relatados em literatura, a partir disso, foi separado o movimento do macho em duas categorias, comportamento de corte e de cópula:

4.1.1 Categorias comportamentais de corte realizados pelo macho

4.1.1.1) *Body vibration*: é a vibração em alta intensidade do corpo e das pernas do macho em um mesmo lugar, em que o par de pernas 3 seria o responsável pela vibração, ou seja, não há o deslocamento do corpo.

4.1.1.2) Flexão de pernas: nesse movimento, há a flexão de pernas movimentando o corpo do macho horizontalmente no eixo anteroposterior.

4.1.1.3) Pernas I em forma de “V”: esse movimento consiste na ascensão do par de pernas I, com a aproximação das patelas, sobre o prossoma do macho e formando um “*display*” semelhante a letra “V” com a porção distal das pernas.

4.1.1.4) Solavanco: Movimentação rápida utilizando os pedipalpos e par de pernas II para impulsionar o corpo do macho em sentido vertical no eixo dorsoventral (semelhante a pequenos “pulos”); os pares de pernas III e IV servem para sustentar o corpo durante a movimentação rápida. O par de pernas I não participa do movimento, pois permanecem erguidas devido ao comportamento de pernas I em “V”. Esse comportamento foi dividido em 3 graus, variando na quantidade de repetições: um a três repetições indica baixa intensidade, quatro a cinco caracterizam intensidade mediana e cinco ou mais repetições determina alta intensidade. No caso de *D. diamantinensis*, a espécie apresenta alta intensidade, exibindo cinco ou mais repetições do comportamento.

4.1.1.5) *Leg tapping*: Esse movimento consiste em batidas utilizando o par de pernas I e II no corpo ou teia da fêmea ou do substrato, além de ocorrer o deslocamento do macho em direção a fêmea. Durante a corte é possível ver o par de perna II realizando o movimento para prender as pernas da fêmea.

4.1.2 Categorias comportamentais de cópula realizadas pelo macho

4.1.2.1) *Clasping*: Esse comportamento consiste em prender as quelíceras da fêmea utilizando a apófise tibial. Esse comportamento ocorre durante a cópula inteira, em que o macho pode liberar as quelíceras da fêmea e tentar realizar o comportamento novamente; isso só irá cessar se a fêmea não estiver mais receptível.

4.1.2.2) *Papal boxing*: Movimento em que o macho realiza batidas no externo da fêmea. Ocorre simultaneamente com o *clasping* e *leg tapping* (quando o macho usa apenas o par de perna II para prender as pernas na fêmea).

O comportamento de inserção palpal é o finalizador do ciclo de comportamentos de copula, onde há a inserção do êmbolo dos bulbos copuladores na abertura genital da fêmea e a transferência de esperma para a espermateca.

4.2 Tabela de transição de movimentos

A Tabela 1 exemplifica melhor o conceito de transição entre comportamentos, em que o comportamento inicial foi colocado nas linhas e o que sucede nas colunas; cada célula apresenta o número de repetições entre as transições.

A partir da análise do Ethoseq, o programa mostra a probabilidade da transição entre comportamentos ocorrer, de acordo com os números de repetições entre transições listadas na Tabela 1; assim é possível observar se o comportamento é dependente de um outro para ocorrer.

Tabela 1 – Matriz transições ente comportamentos utilizado no programa Ethoseq

Categoria Comportamentais	Body Vibration	Clasping	Flexão	Leg Tapping	Papal Boxing	Pernas I em forma de “V”	Solavanco
Body Vibration	0	0	74	1	0	17	0
Clasping	0	0	0	0	4	0	0
Flexão	70	0	0	0	0	0	1
Leg Tapping	6	4	0	0	0	0	0
Papal Boxing	4	0	0	0	0	0	0
Pernas I em forma de “V”	0	0	0	0	0	0	20
Solavanco	15	0	0	15	0	0	0

4.3 Ciclo comportamental de corte e cópula

Após a identificação e categorização de comportamentos e quantificação dos movimentos, é possível padronizar como é realizado o ciclo de corte e cópula realizado pelo macho.

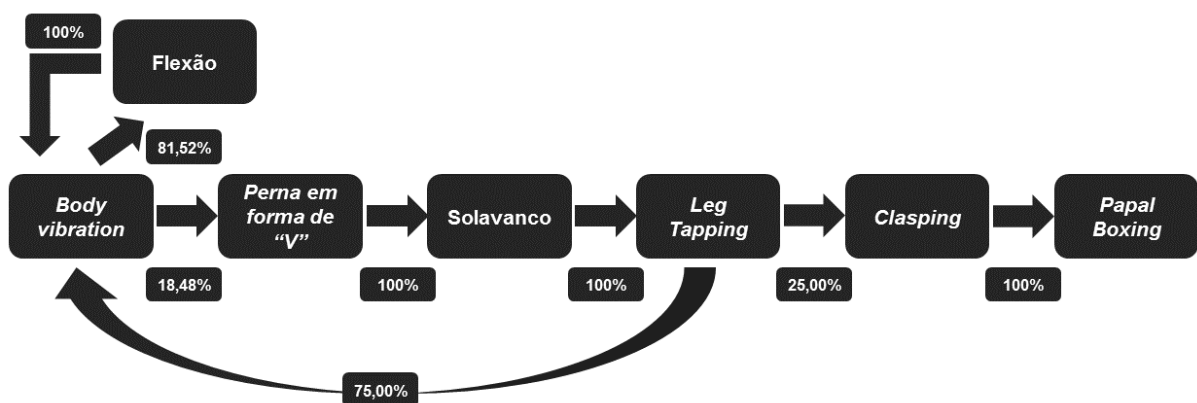
Na espécie *D. dolichothele*, o macho inicia sua corte, após o contato com a teia da fêmea, através do *body vibration*. Durante esse comportamento, o macho realiza a flexão de perna, que dura cerca de 1,5 segundos, retornando ao *body vibration*; essa transição ocorre cerca de uma ou até cinco vezes até iniciar o próximo movimento. Após o retorno ao comportamento de *body vibration*, o macho, que já está com o par de perna I suspensas no ar, inicia o comportamento de pernas I em V. Logo em seguida, o macho realiza o solavanco; na espécie do estudo, a intensidade do movimento é alta, ou seja, o macho realiza 5 ou mais solavancos.

Após os solavancos, o macho inicia o movimento de *leg tapping* utilizando os pares de pernas I e II e desloca-se em direção à fêmea; caso ele não consiga realizar o *clasping* (movimento copulatório) o ciclo de corte é recomeçado a partir do *body vibration*.

Caso o macho seja bem-sucedido na realização do *clasping*, o ciclo de cópula continua. Durante o *clasping*, o macho pode realizar o *leg tapping* com o par de pernas II (almejando controlar o corpo da fêmea) e o *papal boxing*. Por fim, o macho faz a inserção dos pedipalpos na fenda genital da fêmea, completando o ciclo copulatório. Depois desse processo, o macho solta a fêmea e tenta novamente realizar o *clasping*; caso ela estiver ainda receptiva, o ciclo copulatório pode ser iniciado novamente. Entretanto, se ela não estiver receptiva, o macho se afasta.

A partir da tabela de transições comportamentais (Tabela 1), o programa Ethoseq monta modelos de árvores de transição de comportamentos, mostrando a probabilidade de um evento ocorrer após o outro. Assim, com as anotações da análise de vídeo e com os dados obtidos pelo programa, foi possível criar um fluxograma (figura 1) tornando o ciclo de corte e copula padronizado para a espécie *D. diamantinensis* e de melhor visualização.

Figura 1 – Fluxograma de comportamento da espécie *D. diamantinensis*, as setas mostram a transição entre os comportamentos e a probabilidade de ocorrer a sequência.



A partir do fluxograma construído através das observações e das árvores fornecidas pelo Ethoseq, podemos observar a probabilidade da transição entre movimentos. O comportamento de *body vibration* pode ser seguido por dois movimentos, 81,52% de probabilidade de avançar para a flexão de perna ou 18,45%

de avançar para pernas I em forma de “V”. Caso a sequência prossiga para flexão de perna, o movimento é seguido por *body vibration* (100%).

Avançando no fluxograma, podemos observar que o movimento de perna em forma de “V” é seguido pelo comportamento de solavanco (100%), revelando a dependência do movimento para que o comportamento ocorra, assim como a transição entre solavanco e *leg tapping*, que mostra também, 100% de probabilidade de ocorrer.

Todavia, o comportamento de *leg tapping* pode seguir por dois caminhos, com a probabilidade de 75%, o movimento retorna para o *body vibration* e o ciclo recomeça novamente. O outro comportamento que pode suceder o *leg tapping* é o *clasping*, com 25% de chances de ocorrer.

Após ocorrer o *clasping*, podemos novamente, entender que o movimento de *papal boxing* é dependente desse movimento, 100% de chance de ocorrer. Por fim, o macho introduz os palpos na fenda genital da fêmea, completando a cópula.

4.4 Análises do programa Ethoseq

As árvores e sequências fornecidas pelo programa para a espécie do trabalho foram combinadas com as árvores de outras três espécies congêneras. Assim, essa combinação resultou em 59 sequências comportamentais compartilhadas entre as quatro espécies, excluindo autopomorfias.

4.5 Análises filogenéticas

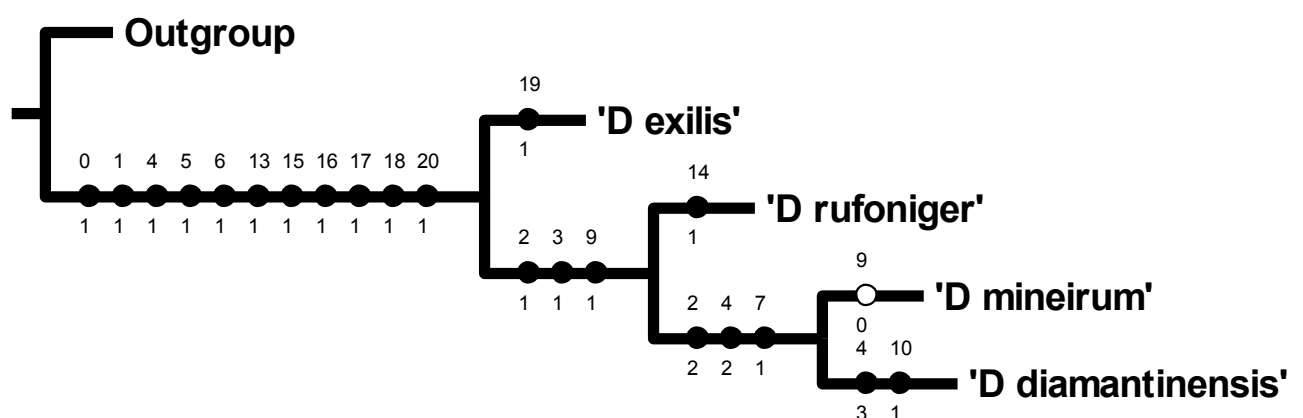
Cada matriz resultou em uma árvore filogenética, contendo, em ambas, 5 táxons, sendo que um foi considerado como um grupo artificial (hipotético), enquanto os outros quatro são as espécies: *D. diamantinensis*, *D. exilis*, *D. rufoniger* e *D. mineirum*.

4.5.1 Árvore filogenética I – Matriz de categorias comportamentais e morfológicas

Os caracteres utilizados na matriz para a construção da árvore estão disponíveis em Anexos (anexo 1). No total, são 21 caracteres, onde sete são comportamentais e 14 morfológicos.

A partir da análise realizada pelo programa TNT 1.1, a árvore possui 22 passos e uma homoplasia (caráter 9). Utilizando a otimização Acctran na árvore (figura 2), podemos observar a regressão de estado do caráter 9 (morfológico) de 1 para 0 na espécie *D. mineirum*, sendo que o mesmo está presente nas espécies *D. rufoniger* e *D. diamantinensis*, o que mostra o aparecimento mais recente do caráter. Já utilizando a otimização Deltran, podemos ver o aparecimento do caráter 9 nas espécies *D. rufoniger* e *D. diamantinensis*, apresentado o aparecimento do estado 1 do caráter 9 mais tardio.

Figura 2 – Árvore baseada na matriz de categorias comportamentais (caracteres 0 a 6) e morfológicas (7 a 21). Os pontos pretos representam homoplasias, enquanto o ponto branco homoplasias. Os números acima dos pontos representam a numeração dos caracteres e o abaixo, os estados.



Em relação aos caracteres comportamentais, podemos observar o caráter 4 em estado 1 aparece nas espécies *D. exilis* e *D. rufoniger*; já em estado 2, é exclusivo de *D. mineirum* e em estado 4, exclusivo de *D. diamantinensis*. O caráter 2 em estado 1 é exclusivo de *D. rufoniger*, enquanto em estado 2 aparece tanto em *D. mineirum* como em *D. diamantinensis*.

4.5.2 Árvore filogenética II – Matriz de sequências comportamentais e morfológicas

Os caracteres utilizados na matriz para a construção da árvore estão disponíveis no anexo 2. No total, são 72 caracteres, sendo eles 14 morfológicos e 58 comportamentais.

A análise realizada no programa TNT 1.1 resultou em uma árvore de 80 passos e 11 homoplasias (Figura 3). As homoplasias estão presentes nos caracteres 2, 17, 22, 26, 28, 29, 31, 39, 40, 47 e 50. O caráter 2 (morfológico), utilizando a otimização Acctran, podemos observar a regressão do caráter de 1 para 0 no táxon *D. mineirum*, estando em homoplasia com o grupo externo. Porém, ao utilizar a otimização Deltran, podemos perceber o surgimento independente do caráter 2 em estado 1, nos táxons *D. rufoniger* e *D. diamantinensis*.

Já o caráter 17 (comportamental), utilizando a otimização Acctran, aparece como regressão de estado 1 para 0 no táxon *D. rufoniger*, estando em homoplasia com o grupo externo, todavia, utilizando a otimização Deltran, foi possível observar o surgimento independente (estado 1) no taxón *D. exilis* e no ancestral comum dos táxons *D. mineirum* e *D. diamantinensis*. Já os caracteres 22, 26, 28, 29, 31, 39, 40, 47 e 50 (comportamentais), apresentam regressão de estado de 1 para 0 no táxon *D. mineirum*, entretanto, a otimização Deltran mostra o aparecimento independente dos caracteres nos táxons *D. rufoniger* e *D. diamantinensis*.

5 Discussão

Analisando as categorias comportamentais das quatro espécies comparadas no trabalho, foi possível observar categorias muito comuns ou já vistas na família Theraphosidae (gênero *Dolichothele*) entre elas *body vibration*, *clasping*, *leg tapping*, e *papal boxing* (FERRETTI et al, 2013). Entretanto, o movimento *papal drumming* (movimentos alternados do pedipalpo) muito comum na família (FERRETTI et al, 2013) não foi visto em nenhuma das quatro espécies.

Além das categorias já descritas pela literatura, outras três categorias comportamentais são novas e não possuem descrição em outros trabalhos, essas categorias são: flexão de perna, pernas I em “V” e o solavanco. O solavanco aparece em todas as espécies, porém em quantidades/intensidades diferentes. Já os comportamentos de flexão de perna e pernas I em “V” são sinapomorfias de (*D. rufoniger* (*D. mineirum* + *D. diamantinensis*)).

Movimentos produzidos por comportamentos de corte e cópula atuam como sinais mecânicos para que ocorra a identificação e interação coespecífica (HUBER, 2005; QUIRICI E COSTA, 2007), assim como os comportamentos de solavanco e flexão de pernas. Em três espécies (*D. rufoniger*, *D. mineirum* e *D. diamantinensis*) o comportamento de pernas I em “V” é um movimento que antecede o comportamento de solavanco, porém na espécie *D. exilis* (com caracteres menos derivados) o solavanco ocorre de maneira mais simples (menos repetições) e sem algum comportamento como o de pernas I em “V”.

Observando as duas árvores (figuras 2 e 3), foi possível observar mudanças de posicionamento de certos táxons em comparação ao que já foi proposto por outros trabalhos (GUADANUCCI, 2011), pois são árvores embasadas em caracteres comportamentais, além de possuírem menos terminais do que Guadanucci (2011).

As categorias e sequências comportamentais de corte e cópula apresentam variações, tanto em intensidade como também na alternância dos comportamentos durante a sequência. A espécie *D. rufoniger* apresenta menos caracteres de sequências comportamentais e diferentes intensidades em categorias comportamentais em comparação com a espécie *D. diamantinensis*. A espécie *D. mineirum* apresenta algumas regressões de estado dos caracteres de sequências comportamentais em comparação a *D. diamantinensis*, que apresenta sequências

comportamentais com maior complexidade. Essa diferenciação no comportamento de cortejo seria uma forma de isolamento reprodutivo pré-zigótico e evitaria assim o cruzamento interespecífico (STRATTON E UETZ, 1986). Essa barreira comportamental (sequências comportamentais ausentes ou presentes) e o consequente isolamento reprodutivo entre essas espécies, que ocorrem em simpátria, evitaria o fluxo de genes entre as espécies, levando à especiação.

Um outro ponto interessante a se analisar, seria de acordo a proposta de Costa et al. (2013), que as espécies podem ter evoluído em ambientes diferentes e que os requisitos para os estímulos criados pelos comportamentos sejam diferentes, e que futuramente estariam em simpatria. Isso pode ser comparado aos diferentes números de solavancos realizados pelas espécies, sendo que na espécie *D. rufoniger* realiza um a três solavancos, o que seria necessário para estimular a fêmea, enquanto em *D. diamantinensis*, o número aumenta para 5 ou mais solavancos.

6 Conclusão

A espécie *D. diamantinensis*, em comparação com as outras espécies congêneras, apresenta os caracteres comportamentais com maior complexidade, onde há presença de todas as categorias comportamentais, *body vibration*, *leg tapping*, *clasping*, *papal boxing*, flexão de perna, pernas I em “V” e solavanco de alta intensidade, além de, exibir sequencias comportamentais mais derivadas.

Comparando com as outras espécies apresentadas no trabalho, podemos perceber a diferença entre padrões e intensidade de comportamentos de corte, que podem servir como mecanismos de isolamento reprodutivo e comportamental, levando assim a especiação simpátrica das espécies. Porém, uma outra possibilidade de especiação poderia ter ocorrido, no caso a alopátrica, em que as espécies evoluíram em ambientes diferentes, logo os estímulos criados pelos comportamentos necessitavam de outros requisitos, gerando a especiação e futuramente as espécies se tornariam simpátricas.

Referências

- BARUFFALDI, Luciana et al. Chemical communication in *Schizocosa malitiosa*: evidence of a female contact sex pheromone and persistence in the field. **Journal of chemical ecology**, v. 36, n. 7, p. 759-767, 2010.
- BERTANI, Rogério. Revision, cladistic analysis, and zoogeography of *Vitalius*, *Nhandu*, and *Proshapalopus*; with notes on other theraphosine genera (Araneae, Theraphosidae). **Arquivos de Zoologia (São Paulo)**, v. 36, n. 3, p. 265-356, 2001.
- BERTANI, Rogério; FUKUSHIMA, Caroline Sayuri; DA SILVA JÚNIOR, Pedro Ismael. Mating behavior of *Sickius longibulbi* (Araneae, Theraphosidae, Ischnocolinae), a spider that lacks spermathecae. **Journal of Arachnology**, v. 36, n. 2, p. 331-335, 2008.
- BERTANI, R.; SANTOS, T.; RIGHI, A. A new species of *Oligoxystre* Vellard 1924 (Araneae, Theraphosidae) from Brazil. **ZooKeys**, v. 5, p. 41–51, 2009.
- BRUSCA, R.C. & BRUSCA, G.J. 2007. **Invertebrados. 2a.ed.**, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 968p.
- COPPERI, Sofia et al. Can't you find me? Female sexual response in an Argentinean tarantula (Araneae, Theraphosidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 38, n. 1, p. 164-166, 2012.
- COSTA, F. G.; PÉREZ-MILES, F. Reproductive Biology of Uruguayan Theraphosids (Araneae, Mygalomorphae). **Journal of Arachnology**, v. 30, n. 3, p. 571–587, 2002.
- COSTA, Fernando G. et al. Is more better? Sexual confusion during courtship between two sympatric and synchronic tarantulas: *Acanthoscurria suina* and *Eupalaestrus weijenberghi*. **Zoologia (Curitiba)**, v. 30, n. 5, p. 577-580, 2013.
- FERRETTI, Nelson E.; FERRERO, Adriana A. Courtship and mating behavior of *Grammostola schulzei* (Schmidt 1994)(Araneae, Theraphosidae), a burrowing tarantula from Argentina. **Journal of Arachnology**, v. 36, n. 2, p. 480-483, 2008.
- FERRETTI, N. et al. Sexual behaviour of mygalomorph spiders: When simplicity becomes complex; an update of the last 21 years. **Bulletin of the British Arachnological Society**, v. 16, n. 3, p. 85–93, 2013.
- FOELIX, R. **Biology of spiders 2a ed.**, New York, Ed. Oxford University Press, Inc., 1996.
- GIRIBET, G.; EDGECOMBE, G. D. Reevaluating the Arthropod Tree of Life. **Annual Review of Entomology**, v. 57, n. 1, p. 167–186, 2012.
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. RUBENS. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. In: Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro. 1988. p. 39-69.
- GOLOBOFF, Pablo A. A reanalysis of mygalomorph spider families (Araneae). **American Museum novitates**; no. 3056. 1993.
- GOLOBOFF, P.; FARRIS, J.; NIXON, K. T. N. T. TNT: Tree Analysis Using New Technology. Program and documentation, available from the authors. 2003.

- GUADANUCCI, J. P. L.. "Revision of the Neotropical spider genus *Oligoxystre* Vellard, 1924 (Theraphosidae, Ischnocolinae)". **Zootaxa**, v. 1555, p. 1-20, 2007.
- GUADANUCCI, J. P. L. Cladistic analysis and biogeography of the genus *Oligoxystre* Vellard 1924 (Araneae: Mygalomorphae: Theraphosidae). **Journal of Arachnology**, v. 39, n. 2, p. 320–326, 2011.
- HUBER, Bernhard A. Sexual selection research on spiders: progress and biases. **Biological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 363-385, 2005.
- JAPYASÚ, Hilton F. et al. EthoSeq: a tool for phylogenetic analysis and data mining in behavioral sequences. *Behavior research methods*, v. 38, n. 4, p. 549-556, 2006.
- NIXON, K. C. Winclada (Beta) version 0.9. 9. Software published by the author, Ithaca, NY. Available on-line at www.cladistics.org, 1999.
- PLATNICK, Norman I.; GERTSCH, Willis John. The suborders of spiders: a cladistic analysis (Arachnida, Araneae). **American Museum novitates**; no. 2607. 1976.
- QUIRICI, Verónica; COSTA, Fernando G. Seismic sexual signal design of two sympatric burrowing tarantula spiders from meadows of Uruguay: *Eupalaestrus weijenberghi* and *Acanthoscurria suina* (Araneae, Theraphosidae). **Journal of Arachnology**, v. 35, n. 1, p. 38-45, 2007.
- POSTIGLIONI, Rodrigo; COSTA, Fernando G. Reproductive isolation among three populations of the genus *Grammostola* from Uruguay (Araneae, Theraphosidae). *Iheringia. Série Zoologia*, v. 96, n. 1, p. 71-74, 2006.
- SILVA, Alexandre Christófaró; PEDREIRA, Léa Cristina Vilela Sá Fortes; ABREU, Pedro Angelo Almeida (Ed.). Serra do Espinhaço Meridional: paisagens e ambientes. **O Lutador**, 2005.
- STRATTON, Gail E.; UETZ, George W. The inheritance of courtship behavior and its role as a reproductive isolating mechanism in two species of *Schizocosa* wolf spiders (Araneae; Lycosidae). **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 129-141, 1986.
- World Spider Catalog (2018). World Spider Catalog. Natural History Museum Bern. Disponível em: <http://wsc.nmbe.ch>, version 19.0, Acesso em 5 de agosto de 2018.

Anexos

Anexo 1: Matriz de categorias comportamentais e morfológicas

Caracteres: 0. *Body vibration* ausente: 0; *body vibration* presente: 1; 1. *Clasping* ausente: 0, *clasping* presente: 1; 2. Pernas I em “V” ausente: 0, pernas I “V” parcial: 1, pernas I “V”: 2; 3. Flexão de perna ausente: 0, flexão de perna presente: 1; 4. Solavanco ausente: 0, solavanco ocorrendo de uma a três repetições: 1, solavanco ocorrendo de três as cinco repetições: 2, solavanco ocorrendo de cinco ou mais repetições: 3; 5. *Palpal boxing* ausente:0, *palpal boxing* presente:1; 6. *Leg tapping* ausente:0, *leg tapping* presente: 1. Os caráters 7 a 20 são referentes à morfologia, suas especificações podem ser encontradas em Guadanucci (2011).

Anexo 2: Matriz de sequências comportamentais e morfológicas

Caracteres: Os caracteres 0 a 13 são referentes à morfologia, suas especificações podem ser encontradas em Guadanucci (2011). Para todos os caracteres de sequências comportamentais, 0 está ausente, 1 está presente. 14. Solavanco e *leg tapping*; 15. Pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 16. *Clasping* e *papal boxing*; 17. *Leg tapping* e *body vibration*; 18. Solavanco, *leg tapping* e *body vibration*; 19. *Body vibration* e flexão de perna; 20. *Leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 21. Pernas I em “V” e solavanco; 22. *Leg tapping* e *clasping*; 23. *Body vibration*, flexão de perna e *body vibration*; 24. Flexão de perna e *body vibration*; 25. *Body vibration* e pernas I em “V”; 26. *Leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 27. Flexão de perna, *body vibration* e pernas I em “V”; 28. *Clasping*, *papal boxing* e *body vibration*; 29. Solavanco, *leg tapping* e *clasping*; 30. *Body vibration*, flexão de perna, *body vibration* e pernas I em “V”; 31. *Leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 32. *Body vibration*, pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 33. *Leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 34. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, flexão de perna e *body vibration*; 35. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *body vibration*; 36. *Body vibration* e solavanco; 37. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 38. *Leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration* e pernas I em “V”; 39. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 40. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *clasping*; 41. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V” e solavanco;

42. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 43. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna e *body vibration*; 44. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e flexão de perna; 45. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V” e solavanco; 46. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 47. Solavanco, *leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 48. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e flexão de perna; 49. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 50. Pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 51. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna e *body vibration*; 52. Flexão, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *body vibration*; 53. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 54. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *body vibration*; 55. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco e *leg tapping*; 56. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration* e pernas I em “V”; 57. *Leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration* e pernas I em “V”; 58. *Body vibration*, flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V” e solavanco; 59. Flexão de perna, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 60. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 61. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 62. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *body vibration*; 63. *Body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 64. *Leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V” e solavanco; 65. *Body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e flexão de perna; 66. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e pernas I em “V”; 67. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e flexão de perna; 68. Flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *body vibration* e flexão de perna; 69. Solavanco, *leg tapping*, *body vibration*, flexão de perna, *body vibration*, pernas I em “V” e solavanco; 70. *Body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping*, *clasping* e *papal boxing*; 71. *Leg tapping*, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *clasping*; 72. Flexão de pernas, *body vibration*, pernas I em “V”, solavanco, *leg tapping* e *clasping*.