

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E BIOLOGIA EVOLUTIVA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS



**MODIFICAÇÕES COMPORTAMENTAIS EM ARANHAS
ORBITELAS (ARANEAE: TETRAGNATHIDAE,
NEPHILIDAE, ARANEIDAE) ATACADAS POR VESPAS
PARASITÓIDES (ICHNEUMONIDAE, PIMPLINAE
POLYSPHINCTINI)**

JOBER FERNANDO SOBCZAK

São Carlos

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA E BIOLOGIA EVOLUTIVA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**MODIFICAÇÕES COMPORTAMENTAIS EM ARANHAS
ORBITELAS (ARANEAE: TETRAGNATHIDAE,
NEPHILIDAE, ARANEIDAE) ATACADAS POR VESPAS
PARASITÓIDES (ICHNEUMONIDAE, POLYSPHINCTINI)**

JOBER FERNANDO SOBCZAK

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais. Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Angélica M. Martins Pentead-Dias

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Gonzaga

SÃO CARLOS

2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S677mc

Sobczak, Jober Fernando.

Modificações comportamentais em aranhas orbitelas (Araneae: Tetragnathidae, Nephilidae, Araneidae) atacadas por vespas parasitóides (Ichneumonidae, Pimplinae, Polysphinctini) / Jober Fernando Sobczak. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

84 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

1. Hymenoptera parasítica. 2. Aranha. 3. Ichneumonidae. 4. Comportamento. I. Título.

CDD: 574.5 (20ª)

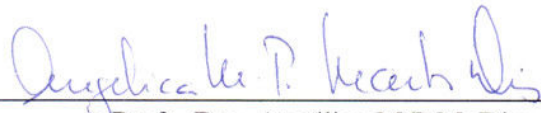
Jobert Fernando Sobczak

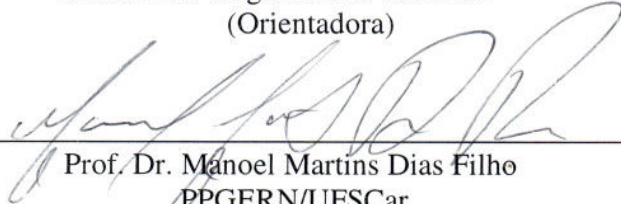
**MODIFICAÇÕES COMPORTAMENTAIS EM ARANHAS ORBITELAS
(ARANEAE: TETRAGNATHIDAE, NEPHILIDAE, ARANEIDAE) ATACADAS
POR VESPAS PARASITÓIDES (ICHNEUMONIDAE, PIMPLINAE,
POLYSPHINCTINI)**

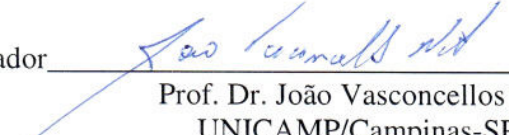
Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2009

BANCA EXAMINADORA

Presidente 
Prof. Dra. Angélica M.P.M. Dias
(Orientadora)

1º Examinador 
Prof. Dr. Manoel Martins Dias Filho
PPGERN/UFSCar

2º Examinador 
Prof. Dr. João Vasconcellos Neto
UNICAMP/Campinas-SP

Homologado(a) pela CPG
478ª reunião 11/03/09
CPG - ERN/UFSCar

DEDICATÓRIA

**As pessoas que sempre estiveram comigo: Jullyana, Elmari, Marcos, Mariana, Marco
Antonio, Wilien**

“... Parece-me existir sofrimento demais no mundo. Não posso persuadir-me de que um Deus beneficente e onipotente tenha propositadamente criado os ichneumonídeos com a expressa intenção de alimentarem-se no interior dos corpos ainda vivos de lagartas ...”

Charles Darwin

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Angélica M. Martins Penteado-Dias, pela confiança em mim depositada e apoio durante o desenvolvimento deste projeto e em outros trabalhos;

Ao amigo e co-orientador Marcelo de Oliveira Gonzaga pelo incentivo em todos os trabalhos realizados desde o aperfeiçoamento na UNICAMP, por ter apresentado o fascinante mundo das vespas parasitóides, por acreditar no meu trabalho como pesquisador, pelas caronas ao Japí, hospedagem durante a realização das disciplinas, e discussões sobre a dissertação;

Ao CNPq pela bolsa de mestrado e FAPESP pelo apoio financeiro;

Agradeço também ao Prof. Dr. João Vasconcellos Neto pelas oportunidades de trabalho, companheirismo em todos os momentos, por acreditar e apoiar o meu trabalho;

À Jullyana pelo apoio, incentivo e ajuda de campo, no delineamento dos experimentos e por acreditar que tudo isso seria possível. Pelo carinho e compreensão durante esses seis anos que estamos juntos e em especial por estar presente nos momentos mais difíceis da minha vida;

Aos meus irmãos Wilien, Mariana e Marco Antônio, à minha Mãe Mari e ao Marcos por sempre acreditarem nos meus esforços;

Ao José César, companheiro de vários momentos da base ecológica do Japí, co-autor do livro “Darwin” e incentivador das atividades de campo;

Aos companheiros de estadia da base, Janaina coquinho, Paulo borboleta, Thais Fleofana, Cris Sauá, Enéias o filósofo, Eduardo fotógrafo e várias pessoas que dividiram os momentos e projetos em dias de sol, chuva e frio na Serra do Japí;

À Natalia Leiner pela hospedagem e boa conversa em São Carlos e durante o curso de campo na Serra do Japi;

Aos funcionários da base ecológica em especial ao sr. Lauro pelo entusiasmo, dedicação e colaboração logística para a conclusão dos estudos;

Aos colegas de laboratório na UNICAMP, Adriana, Godoy e Matheus pelas conversas sobre a filosofia do mundo da ciência;

Aos colegas de laboratório na UFSCar, Ana Paula pela ajuda com a identificação e descrição dos *Hymenoepimecis* e em outros trabalhos, a Juliano e Clóvis pelo bom humor de sempre e incentivo;

RESUMO

Vespas parasitóides utilizam uma ampla diversidade de artrópodes como alimento para suas larvas. Entre as espécies cenobiontes, cujo desenvolvimento do parasitóide não interrompe as atividades normais do hospedeiro, está um grupo de vespas que utiliza exclusivamente aranhas como hospedeiros. No grupo *Polysphincta* (Hymenoptera, Ichneumonidae, Pimplinae), algumas espécies são capazes de alterar o comportamento de seus hospedeiros logo antes de empuparem. Essas modificações comportamentais, que possivelmente são responsáveis por um aumento na probabilidade de sobrevivência do parasitóide, são raras nesse tipo de interação. Nesse trabalho, que foi dividido em três capítulos, são descritos novos casos de manipulação comportamental de hospedeiros e um deles, a interação entre a aranha *Nephila clavipes* (Nephilidae) e a vespa *Hymenoepimecis bicolor* (Ichneumonidae) é analisado em detalhes.

No primeiro capítulo foram descritas duas novas espécies de vespas do gênero *Hymenoepimecis* que atacam aranhas construtoras de teias orbiculares. A primeira espécie descrita *Hymenoepimecis* n. sp. 1., parasita fêmeas de *Leucauge roseosignata* induzindo um comportamento na aranha que resulta na construção de uma teia modificada. A teia modificada deste hospedeiro é formada por apenas três fios reforçados, sendo que ao centro desta teia fica preso, por um fio suspenso, o casulo do parasitóide. Na segunda espécie descrita, *Hymenoepimecis* n. sp. 2., parasitóide de fêmeas de *Manogea porracea*, foi observado que não existe uma modificação na arquitetura padrão da teia. Apesar disso, o casulo do parasitóide ocupa uma posição na teia distinta daquela normalmente ocupada por fêmeas não parasitadas. Neste caso, é possível que o parasitóide possa induzir o deslocamento da fêmea para um local mais protegido, em meio ao complexo de fios irregulares que fica abaixo da rede de captura de presas.

No segundo capítulo, foi registrado a interação entre *Hymenoepimecis bicolor* e *Nephila clavipes*, e observamos que existe a modificação na arquitetura da teia em um momento específico do desenvolvimento da larva do parasitóide. A larva induz a aranha a construir uma teia modificada cerca de três dias antes de matá-la. Essa modificação do comportamento de construção da teia e conseqüentemente a mudança na sua arquitetura, possivelmente é promovida pela inoculação de alguma substância no hospedeiro. A teia modificada é formada por apenas alguns raios e espiras e muitos fios circundando essa teia. Esses fios formam uma barreira que pode conferir uma proteção adicional para o casulo, uma vez que esse casulo fica ancorado no centro da teia modificada. Neste capítulo foi testado ainda se as modificações na teia poderiam ser o resultado de um estado de carência nutricional, promovido pela contínua exploração do hospedeiro durante a alimentação da larva do parasitóide. O experimento de privação alimentar mostrou que mesmo após 21 dias sem serem alimentadas as aranhas não parasitadas constroem teias com o mesmo número de raios e espiras presentes numa teia construída por aranhas não parasitadas e alimentadas.

No terceiro capítulo foi descrito o macho da espécie *Hymenoepimecis bicolor* e investigado a influência de agregações de teias e do tamanho corporal das aranhas na susceptibilidade de fêmeas de *N. clavipes* ao ataque por *H. bicolor*. Não foi observado influência do número de aranhas nos agregados de *N. clavipes* na proteção contra o ataque do parasitóide. O tamanho corporal da aranha, por outro lado, constitui um fator muito importante na determinação do risco de parasitismo. Aranhas com tamanho corporal menor são mais propensas ao ataque do parasitóide do que aranhas maiores. Neste capítulo está descrito ainda o comportamento de ataque do parasitóide até a imobilização do hospedeiro e oviposição. O comportamento de oviposição inicia-se com um breve vôo de reconhecimento ao redor da teia. Após verificar a posição da aranha, o parasitóide dispara um ataque direto ao centro desta teia atingindo a aranha diretamente, em seguida paralizando-a com a introdução

do ovipositor na sua boca. Depois de imobilizar o hospedeiro o parasitóide inspeciona o abdômen a procura de outras larvas e ovipoem. A aranha recupera os movimentos logo após a oviposição e continua suas atividades normais como a captura de presa e construção de teia, até três dias antes da larva completar o terceiro instar.

ABSTRACT

Parasitoid wasps use a wide diversity of arthropods as food for their larvae. Among the koinobiont species, (those whose development of the parasitoid does not interrupt the normal activities of the host), there is a group of wasps that it uses exclusively spiders as host. In the group, *Polysphincta* (Hymenoptera, Ichneumonidae, Pimplinae), some species are able to alter the behaviour of their hosts just before of pupation. These behavioral modifications, that may promote an increasing in the survival probability of the parasitoids, are rare in this type of interaction. In this work, which was divided in three chapters, new cases of behavioral manipulation of hosts are described and one of them, the interaction between the spider *Nephila clavipes* (Nephilidae) and the wasp *Hymenoepimecis bicolor* (Ichneumonidae) is analyzed in details.

In the first chapter we described two new species of wasps of the genus *Hymenoepimecis* that attack spiders building of orbicular webs. The first species described, *Hymenoepimecis* n. sp. 1., parasite females of *Leucauge roseosignata*, inducing a behavior in the spider that resulted in the construction of a modified web. The modified web of this host is composed of only three reinforced threads. The cocoon remains fixed in in the center of this web by a suspended thread. In the second described species, *Hymenoepimecis* n. sp. 2., parasitoid of females of *Manogea porracea*, we did not observe a modification in the normal web architecture. Nevertheless, we observed that the cocoon of the parasitoid occupies a distinct position in the web. In this case, it is possible that the parasitoid could induce the replacement of the host for another highly protected site within the web

In the second chapter, we analyzed the interaction between *Hymenoepimecis bicolor* and *Nephila clavipes*, and observed that there is a modification in the architecture of the web at a specific moment of larval development. The larva induces the spider to build a modified

web in the last three days that precede its death. This modification of the web construction behavior and consequently the change in his architecture, possibly is promoted by the inoculation of some substance in the host. The modified web is composed of only a few radii and spires, surrounded by a complex structure of barrier threads. The barrier probably confers additional protection for the cocoon. In this chapter we also tested whether the modifications in the web could be the result of poor nutritional condition, promoted by the continuous exploration of the host by the parasitoid larva. We conducted an experiment of food deprivation that showed that, even after 21 days without food, unparasitized spiders keep building webs with a normal number of radii and spirals.

In the third chapter we described the male of *Hymenoepimecis bicolor* and investigated the influence of web aggregations and host body size in the susceptibility of females of *N. clavipes* to *H. bicolor*. We did not observe an influence of the number of spiders in the aggregations in the probability of parasitism. The body size of the spider, on the other hand, was a very important factor in the determination of the risks of parasitism. Spiders with small body size were more susceptible to attacks than large spiders. In this chapter we also describes the attacking behavior of the parasitoid from host the immobilization to oviposition. The oviposition behavior begins with a short recognition flight around the web. After checking the spider position, the parasitoid darted a straight attack to the centre of the web, reaching the host straightly and paralyzing the spider with the introduction of the ovipositor in its mouth. After immobilizing the host the parasitoid inspects the abdomen, possibly searching for another larva or egg before begin the oviposition. The spider recovers the movements soon after the oviposition and continues its normal activities, capturing prey and constructing normal webs, until three days before the larva reach the third instar.

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA.....	Erro! Indicador não definido.
DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	xii
SUMÁRIO.....	xiv
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	6
MATERIAL E MÉTODOS	7
<i>Área de estudo</i>	7
<i>Métodos do capítulo I</i>	9
<i>Métodos do capítulo II</i>	9
<i>Métodos do capítulo III</i>	11
CAPÍTULO I	12
Two new species of <i>Hymenoepimecis</i> (Hymenoptera: Ichneumonidae, Pimplinae) with notes on their spider hosts and behavior manipulation	12
Abstract.....	13
Introduction	14
Methods	15
Results	16
<i>Hymenoepimecis</i> new species 1	16
<i>Hymenoepimecis</i> new species 2	18
Discussion.....	21
Acknowledgements	22
References	23
Figures. 1-12	25
Figures. 13-21	26
Figures. 22-23.....	27
CAPÍTULO II.....	28
Modificação da teia de <i>Nephila clavipes</i> (Araneae: Nephilidae) induzida pelo parasitóide <i>Hymenoepimecis bicolor</i> (Brullé 1846) (Hymenoptera: Ichneumonidae, Pimplinae)	28

Abstract.....	29
Introdução.....	30
Material e métodos.....	33
Local de estudo.....	33
Resultados.....	34
Discussão.....	37
Agradecimentos.....	39
Referências bibliográficas.....	40
<i>Figura. 1.</i>	45
<i>Figura. 2.</i>	46
<i>Figura. 3.</i>	47
<i>Figura. 4.</i>	48
<i>Figura. 5.</i>	49
CAPÍTULO III	50
The effect of host body size and web aggregation on parasitism of <i>Nephila clavipes</i> (Araneae, Nephilidae) by <i>Hymenoepimecis bicolor</i> (Hymenoptera, Ichneumonidae) ..	50
Abstract.....	51
Introduction	52
Study species	54
<i>Host</i>	54
<i>Parasitoid</i>	54
Materials and Methods	55
Results	56
<i>Hymenoepimecis bicolor</i> (Brullé, 1846).....	56
Frequency of parasitism and wasp/spider interactions	57
Discussion.....	59
Acknowledgements	61
References	62
Figure 1.....	68
Figure. 2.....	69
Figure. 3.....	70
Figure. 4	71
Figure 5.....	72
DISCUSSÃO GERAL	73

CONCLUSÕES.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

INTRODUÇÃO

O padrão de arquitetura das teias orbiculares, característico de várias famílias incluídas no clado Orbiculariae (Araneidae, Nephilidae, Tetragnathidae, Uloboridae), requer um investimento em seda relativamente baixo, possibilita a captura de uma grande diversidade de insetos voadores e permite que as aranhas reciclem a seda utilizada em construções futuras, o que representa uma significativa economia energética para mudar de sítio de forrageamento (Opell 1998, Blackledge *et al.* 2003). Apesar disso, o padrão bi-dimensional dessas teias deixa suas construtoras muito expostas à ação de alguns inimigos naturais, como vespas caçadoras e parasitóides (Rayor 1997, Blackledge *et al.* 2003).

Aranhas construtoras de teias orbiculares são atacadas por uma grande diversidade de inimigos naturais, incluindo diversas famílias de Hymenoptera, como Sphecidae, Crabronidae, Pompilidae e Ichneumonidae. Esta última família inclui mais espécies que todos os Vertebrata juntos e possivelmente constitui um dos maiores grupos animais atualmente conhecido (Janzen 1981). Dentre os vários gêneros que constituem a família Ichneumonidae, o grupo de gêneros *Polysphincta* (*sensu* Wahl & Gauld 1998) chama a atenção pelo seu espetacular modo de vida. É composto por aproximadamente 190 espécies distribuídas em 21 gêneros e todas depositam seus ovos em aranhas vivas, que continuam suas atividades normalmente enquanto são lentamente consumidas pelas larvas (Dubois *et al.* 2002). Por esse motivo, são classificadas como ectoparasitóides cenobiontes.

O gênero *Hymenoepimecis* Viereck 1912, incluído no grupo de gêneros *Polysphincta*, é atualmente constituído por nove espécies, distribuídas desde o México até a região Sudeste do Brasil (Gauld 2000). É diagnosticado pela presença de uma reentrância no pronoto, mesopleura com carena epicnemial vestigial ou ausente ventralmente, nervura 3rs-m ausente na asa anterior (Gauld, 1991) e coloração marrom amarelada (Gauld & Dubois, 2006). Todas

as espécies conhecidas são ectoparasitóides cenobiontes de aranhas das famílias Araneidae, Tetragnathidae e Nephilidae (Gauld & Dubois, 2006).

Apesar da diversidade do grupo e da existência de complexas interações parasita-hospedeiro, como a manipulação comportamental do hospedeiro pelas larvas (Eberhard 2001), para a maioria das espécies descritas não existe sequer o registro da identidade dos hospedeiros (Gauld & Dubois 2006). Além disso, certamente um grande número de espécies ainda permanece por ser descrito.

Gonzaga & Sobczak (2007) descreveram o comportamento de ataque, oviposição e um evento de infanticídio em uma nova espécie de vespa parasitóide do gênero *Hymenoepimecis* na Serra do Japi, Jundiaí-SP. Essa espécie ataca preferencialmente fêmeas pequenas da espécie orbitela *Araneus omnicolor* (Keyserling 1893) (Araneidae), contrariando a hipótese de que aranhas maiores seriam selecionadas por apresentarem uma maior disponibilidade de biomassa para o desenvolvimento das larvas. Um padrão semelhante na utilização de hospedeiros de tamanho médio foi observado por Fincke *et al.* (1990) estudando as interações entre a vespa *Hymenoepimecis robertsae* (Ichneumonidae) e a aranha *Nephila clavipes* (Linnaeus 1767) (Nephilidae), na Costa Rica. A ausência de indivíduos grandes parasitados nas populações de *A. omnicolor*, sugere duas hipóteses alternativas: 1º, as vespas realmente escolhem aranhas menores porque estariam menos sujeitas a injúrias durante o processo de imobilização e oviposição; e 2º, as vespas depositam seus ovos sobre aranhas de diferentes tamanhos (preferencialmente nas maiores), mas as aranhas grandes conseguem remover os ovos ou larvas nos primeiros estágios de desenvolvimento. Essa última hipótese é corroborada pela observação feita por Gonzaga & Sobczak (2007) da remoção de um ovo 24 horas após sua deposição.

Outro aspecto interessante da interação entre *Hymenoepimecis* sp. e *Araneus omnicolor* estudada por Gonzaga & Sobczak (2007) é a modificação das teias orbiculares dos hospedeiros que foram encontrados com larvas bem desenvolvidas aderidas em seus corpos. As teias de *A. omnicolor* possuem uma estrutura tridimensional de fios ligada à parte orbicular, usada para sustentar um abrigo feito com uma folha seca enrolada (Fig. 1A). Após a morte das aranhas, as larvas utilizam esse abrigo, na resistente parte tridimensional, para empupar. Teias com pupas sempre apresentam a parte orbicular parcial ou completamente destruída (Fig. 1B). Possivelmente porque aranhas debilitadas abandonam as atividades de reparo e reconstrução de suas teias. Eberhard (2001) mostrou que a alteração das teias dos hospedeiros *Leucauge argyra* (Walckenaer 1842) (Tetragnathidae) parasitados por *Hymenoepimecis argyraphaga* (Ichneumonidae) é muito mais drástica. Esse hospedeiro constrói uma teia orbicular frágil e, quando parasitado, é induzido a construir uma teia completamente modificada com apenas alguns raios e espiras somente na região central da teia, o que Eberhard denominou de “cocoon web” (muito mais resistente) para que seu parasitóide possa empupar em segurança.

Recentemente foi documentado três novos casos de possível manipulação comportamental em aranhas. O primeiro evento foi a descrição de uma nova espécie de vespa parasitóide do gênero *Hymenoepimecis* parasitando *Leucauge roseosignata* (Mello-Leitão, 1943) (Tetragnathidae). A aranha quando não parasitada constrói uma teia orbicular na horizontal com vários raios e espiras (Fig. 1C). A larva do parasitóide, no entanto, ao atingir o terceiro instar induz o hospedeiro a construir uma teia inteiramente modificada (Fig. 1D), com características semelhantes a encontrada por Eberhard (2001) na Costa Rica.

O segundo caso também envolve uma nova espécie de *Hymenoepimecis* e a aranha *Manogea porracea* (Araneidae). O casulo do parasitóide ocupa uma posição na teia distinta daquela normalmente ocupada pela fêmea. Isso pode significar que o parasitóide induz o

deslocamento da fêmea para um local mais protegido, em meio ao complexo de fios irregulares que fica abaixo da rede de captura de presas.

O terceiro caso registrado foi a manipulação da construção da teia em *N. clavipes*, por *Hymenoepimecis bicolor* (Ichneumonidae). A aranha com uma larva de terceiro instar aderida deixa de construir a teia orbicular característica da espécie (Fig. 1E) e passa a reforçar com fios de seda apenas o centro da teia, formando uma estrutura tridimensional (Fig. 1F). É nesse local onde, após consumir todo o hospedeiro, a larva de terceiro instar constrói o casulo.

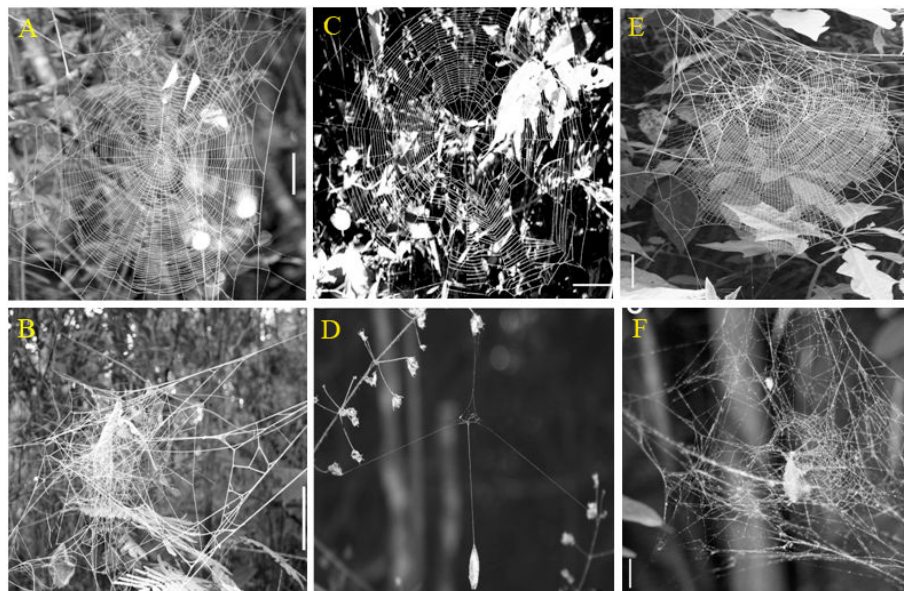


Figura. 1. A, teia normal de *Araneus omnicolor*; B, teia modificada; C, teia normal de *Leucauge roseosignata*; D, teia modificada com o casulo no centro; E, teia não modificada de *Nephila clavipes*; F, teia modificada com o casulo preso ao centro.

Essa mudança no comportamento de construção da teia ocorre de maneira gradual, mas apenas nos últimos três dias que antecedem a morte da aranha. Já na interação descrita por Eberhard (2000a, b, 2001) na Costa Rica, a larva do parasitóide só induz a construção da teia modificada na noite que precede a morte da aranha.

A modificação das estruturas das teias possivelmente é ocasionada pela injeção de compostos químicos pelas larvas quando estas atingem o terceiro instar de desenvolvimento,

momento que as aranhas constroem as teias modificadas. Há algum tempo se conhece que substâncias psicotrópicas podem modificar a forma de teias orbiculares (Witt *et al.* 1968). Eberhard (2000b, 2001) atribuiu a modificação da teia de *L. argyra* a uma possível injeção de substâncias pela larva do parasitóide. A arquitetura da teia orbicular pode variar de acordo com o estado nutricional da aranha e também devido a proximidade com o momento da muda (Baba & Miyashita 2006). Indivíduos com carência alimentar podem construir teias menores, refletindo o seu estado fisiológico debilitado (Sherman 1994). Contudo, os mecanismos empregados na modificação do comportamento do hospedeiro pela larva de terceiro instar observado em *L. argyra*, *L. roseosignata*, *N. clavipes* e *A. omnicolor* ainda são completamente desconhecidos. Por que a larva de terceiro instar induz a construção de uma teia modificada é uma pergunta que ainda necessita de experimentos para ser respondida. Possivelmente essa alteração confere maior resistência à teia para suportar o casulo. Em *N. clavipes* além de conferir maior resistência, a teia modificada pode proteger o casulo contra a ação de predadores e hiperparasitóides, uma vez que o casulo está envolto por fios de seda.

Algumas espécies de aranhas podem formar agregações de teias (Uetz & Hieber 1994,) sendo essa estrutura coletiva importante na defesa contra inimigos naturais (Hodge & Uetz 1992, Uetz & Hieber 1994, Henschel 1998). Hodge & Uetz (1992) observaram que no México a agregação de *Nephila clavipes* proporciona uma maior proteção contra o ataque de inimigos naturais como vespas e pássaros. Neste terceiro capítulo foi investigado a importância das agregações de teias de *N. clavipes* contra o ataque do parasitóide *H. bicolor*.

Informações sobre o comportamento alterado do hospedeiro durante a construção da teia e as características de teias normais de aranhas não parasitadas comparadas com aranhas parasitadas são importantes para determinar como essa complexa interação parasitóide/hospedeiro ocorre dentro do gênero *Hymenoepimecis*.

OBJETIVOS

1. Descrever duas novas espécies de *Hymenoepimecis*. *Hymenoepimecis* n. sp. 1., parasitóide de *Leucauge roseosignata* (Tetragnathidae) que ocorre na Serra do Japi, Jundiáí-SP; e *Hymenoepimecis* n. sp. 2., parasitóide de *Manogeta porracea* (Araneidae) encontrada em Sooretama-ES;
2. Testar se as modificações na parte orbicular das teias de *Nephila clavipes* são causadas pela ação direta do parasitóide (por meio da inoculação de compostos químicos) ou indireta (devido ao estado nutricional debilitado da aranha hospedeira);
3. Avaliar a frequência de parasitismo por *Hymenoepimecis bicolor* em teias solitárias e em teias agregadas de *N. clavipes* e se ocorre a seleção de hospedeiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Todos os experimentos de manipulação comportamental por *H. bicolor* em *N. clavipes* foram desenvolvidos na Reserva Biológica REBIO Serra do Japi (23°11'S, 46°52'W), localizada no município de Jundiá - São Paulo, Brasil (Fig. 2), caracterizada por uma cobertura florestal arbórea, que se estende desde altitudes próximas a 750m até 1294m, com variações fisionômicas que vão desde mata de planalto, formadas por árvores de grande porte e dispostas espaçadamente, até a formação de matas com árvores de pequeno porte e densamente distribuídas (Rodrigues & Shepherd 1992).

A descrição de duas novas espécies foi baseada em espécimes coletados na Reserva Biológica Rebio Serra do Japí, Parque Estadual de Intervales e espécimes coletados na Reserva Natural da Vale. Esta última está localizada no município de Sooretama – ES (19°06'S 40°02'W) (Fig. 3), a 15 km da cidade de Sooretama e 30 km da cidade de Linhares, abrange uma área de 22.000 há. Possui altitudes entre 20 e 65m e é coberta predominantemente por floresta Mesófila (Jesus 1988).



Figura 2. Vista geral da Serra do Japi e seus limites com os municípios de Cabreúva e Cajamar. A Rebio está inserida na região do município de Jundiá.



Figura 3. Vista parcial da Reserva Natural da Vale, localizada no Município de Sooretama-ES.

Métodos do capítulo I

A primeira espécie de vespa parasitóide, *Hymenoepimecis* n. sp. 1., foi coletada no mês de julho de 2006 na área conhecida como estrada da cascalheira na Rebio Serra do Japi, e novamente coletada em março de 2007 próximo à base de pesquisa desta mesma unidade. A segunda espécie, *Hymenoepimecis* n. sp. 2., foi coletada na borda da floresta pertencente a Reserva Natural da Vale localizada no município de Sooretama em agosto de 2007. E um outro espécime foi coletado no Parque Estadual de Intervales - SP. As duas novas espécies de vespas parasitóides foram medidas e fotografadas em um estereomicroscópio Nikon SMZ 1500 e posteriormente descritas seguindo Gauld (1991).

Os holótipos dos parasitóides foram depositados na coleção do departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- SP, Brasil (DCBU, curadora A. M. Penteado-Dias) e os exemplares testemunho do hospedeiro foram depositados na coleção do Instituto Butantan (curador A.D. Brescovit), São Paulo, Brasil.

Métodos do capítulo II

Foi mensurada a área da teia de aranhas parasitadas e não parasitadas na borda de uma estrada da região conhecida como “DAE” em Março de 2007 e Março de 2008 para avaliar se a larva possui algum efeito no tamanho da teia. Para testar a hipótese de que o tamanho da teia é proporcional ao tamanho da aranha, ou seja, que aranhas maiores possuem teias maiores, foi conduzido um teste não paramétrico ANCOVA (McSweeney & Porter 1971), usando o comprimento do abdômen da aranha como covariável.

Foram coletadas fêmeas adultas de *Nephila clavipes* com e sem larvas ou ovos de *Hymenoepimecis bicolor* foram coletadas nas bordas da mata em Abril de 2008 e

posteriormente acondicionadas em gaiolas de bambu medindo (0.5x0.5.1.5m), totalmente fechadas por tela (Fig. 4). As aranhas foram medidas com um paquímetro e separadas em três grupos: Grupo 1: aranhas parasitadas e alimentadas; Grupo 2: aranhas não parasitadas e alimentadas; Grupo 3: aranhas não parasitadas e sem alimentação. A alimentação consistia de uma mosca doméstica (*Musca domestica*) a qual era dada em intervalos de dois dias. Diariamente era anotado o nº de espiras superior e inferior e o nº de raios de todas as teias construídas nos respectivos grupos experimentais.

Os espécimes de *H. bicolor* foram depositados na coleção da Universidade Federal de São Carlos (DCBU, curadora A. M. Pentead-Dias), São Carlos-SP, Brasil.



Figura. 4. Gaiola de bambu onde foram mantidas as fêmeas de *N. clavipes*

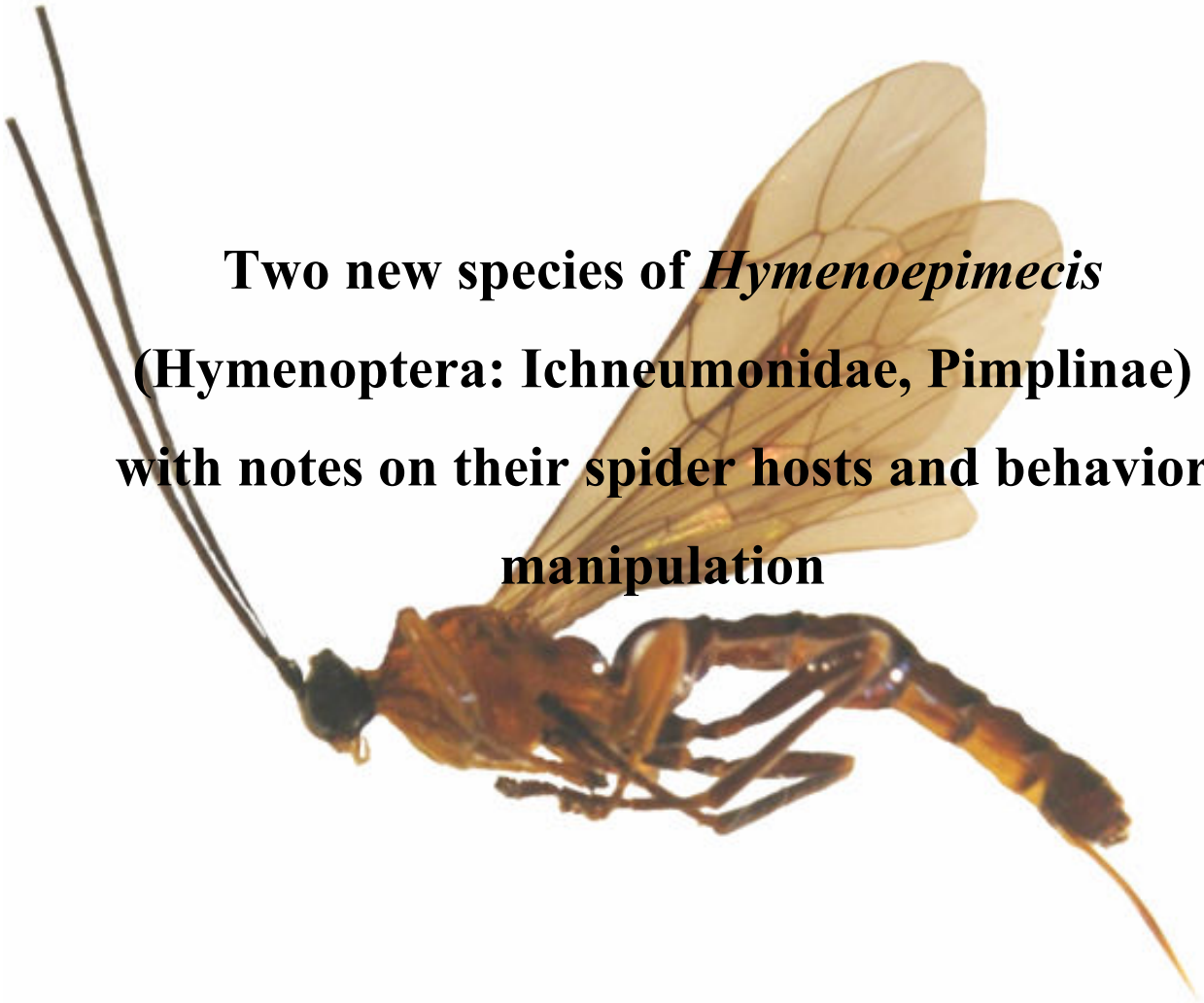
Métodos do capítulo III

A coleta de dados foi realizada em março de 2007, na região do “DAE” dentro da Reserva Serra do Japi. Foram inspecionadas 166 fêmeas adultas e subadultas de *Nephila clavipes* e também 183 machos adultos da mesma espécie. As inspeções foram feitas para verificar a presença no abdômen da aranha de ovos ou larvas da vespa parasitóide *Hymenoepimecis bicolor*.

Para verificar se a agregação de teias, bem como o tamanho da aranha *N. clavipes* (comprimento do abdômen) dificultava a ação do parasitóide *Hymenoepimecis bicolor*, foram obtidos com o auxílio de um paquímetro o comprimento do abdômen de fêmeas e machos de *N. clavipes* e verificado se a sua teia se encontrava em agregados ou era solitária.

CAPÍTULO I

**Two new species of *Hymenoepimecis*
(Hymenoptera: Ichneumonidae, Pimplinae)
with notes on their spider hosts and behavior
manipulation**



Abstract

The wasp genera included in the *Polysphincta* genus-group develop exclusively as koinobiont ectoparasitoid of spiders, an unusual pattern within Hymenoptera. All known species of *Hymenoepimecis* attack orb-web spiders and the third instar larva of one species of this genus, *H. argyraphaga*, was previously described inducing a sudden modification on its host web-building behavior. Information on parasitoid/host interactions and even on host identities for most members of the genus-group, however, remain scarce in the literature. In this study we describe two new species of *Hymenoepimecis* from Southeastern Brazil, present information on their hosts and registered two new cases of host behavioral manipulation involving *Hymenoepimecis* and their hosts, spiders of the genera *Leucauge* (Tetragnathidae) and *Manogeta* (Araneidae). The modified cocoon web of *L. roseosignata* constructed under the influence of *Hymenoepimecis* n. sp.1 is very similar to the modified web described for *L. argyra*. It is composed of three axes, including several radial threads each, and a hub used by the larva to attach the cocoon's suspension line. Spiral viscous threads, present in normal webs and in webs of parasitized spiders carrying larvae in the first and second instars, are completely absent in cocoon webs. In the cocoon web of *Manogeta porracea* the horizontal sheet is poorly structured and the cocoon is attached far from the spider normal resting position, in an area composed of a dense three dimensional structure of threads.

Keywords: Tetragnathidae, Araneidae, Pimplinae, Parasitoid, Biodiversity, Cocoon webs

Introduction

The genus *Hymenoepimecis* Viereck, 1912 is currently represented by nine species, all of them with Neotropical distribution (Gauld 2000, Gauld & Dubois 2006). The genus diagnosis is based on a mediodorsally modified pronotum with a forwardly directed pocket-like flange and on the presence of enlarged fore leg, with the femur similar in size or larger than the mid femur. The genus was originally described as lacking the epicnemial and submetapleural carinae, but both characters are present in the supposedly basal species *H. argyraphaga* (Gauld 2000). Gauld (2000) mentioned that approximately ten undescribed species, currently deposited in museums, are known to occur from lowland or mid-altitude South America. However, no information on these species is available in literature.

There are information on host identities for four described species of *Hymenoepimecis*. All of them were observed attacking orb-web spinning spiders of the families Nephilidae, Araneidae and Tetragnathidae (Fincke *et al.* 1990, Eberhard 2000, Gauld 2000). Recently, another new species from southeastern Brazil was observed attacking and laying eggs on *Araneus omnicolor* (Araneidae) (Gonzaga & Sobczak 2007). After the attack these parasitoids allow the hosts to continue their normal activities and the larvae do not kill or consume the hosts until they are about to pupate.

Eberhard (2000a, b, 2001) described an interesting interaction between a species from Costa Rica, *Hymenoepimecis argyraphaga*, and its host, the spider *Leucauge argyra* (Tetragnathidae). He observed that on the evening that the larva will kill the spider, it induces the spider to perform stereotyped movements leading to the construction of a completely modified web structure, called “cocoon web”. This web is composed of several radial lines distributed in a few axes and lack temporary spiral or stick lines.

Gonzaga & Sobczak (2007) also observed that the webs spun by parasitized *Araneus omnicolor* females usually present a reduction of the orbicular component. They attributed this reduction to the debilitated nutritional condition of parasitized spiders or, as suggested by Eberhard (2000b, 2001), to behavioral alterations chemically induced by the parasitoid larvae. Although behavioral manipulation remains as a possibility in the interaction between *Hymenoepimecis* sp. and *A. omnicolor*, the characteristic “cocoon webs” of *Leucauge argyra* are, by now, the only clear case of behavioral change directly induced by a parasitoid in a spider. Additional studies on other *Hymenoepimecis* species are essential to clarify if this change is a particular occurrence or a widespread pattern within the genus.

In this study we describe two new species of *Hymenoepimecis* from southeastern Brazil, their interactions with spider hosts and the characteristics of webs used to attach the cocoons, comparing these webs with the normal webs constructed by unparasitized individuals.

Methods

The specimens of *Hymenoepimecis* n. sp. 1., were collected parasitizing females of *Leucauge roseosignata* (Tetragnathidae). We located the spiders being consumed by the parasitoid larvae in the forest borders of Reserva Ecológica da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brazil. Cocoon webs were already constructed at the moment we found the spiders. Host identification was based on spider remains, including the cephalotorax, legs and a small part of the abdomen containing the genitalia. These remains were removed before the larvae complete the consumption. One day after, in each occasion, we collected the pupae and kept the cocoon in laboratory until the emergence of adult wasps. Two other adult female spiders

were observed carrying first instar larvae and were also transported to laboratory. These specimens, however, did not complete their development, dying few days after removal.

We collected two cocoons of *Hymenoepimecis* n. sp. 2. attached to the webs of *Manogea porracea* (Araneae: Araneidae) in Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce, Sooretama, Espírito Santo, Brazil. Another parasitized *M. porracea* female was photographed and collected, but the larva also did not complete its development in laboratory. Web invasion was observed in Parque Estadual Intervales, Ribeirão grande, São Paulo, Brasil. The wasp was collected before leave the web.

The wasp specimens examined in this study are deposited in the collection of Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (DCBU, A. M. Penteado-Dias curator) and the spiders are deposited in Instituto Butantan, São Paulo (IBSP, A. D. Brescovit curator). Specimens were examined, measured and photographed in a SMZ 1500 Nikon stereomicroscope. All measurements are in millimetres.

Results

***Hymenoepimecis* new species 1**

(Figures 1-12)

Type material

Female holotype from Serra do Japi, Jundiaí, State of São Paulo, Brazil, 23°13'55"S, 46°56'18"W, 17 July 2006, M.O.Gonzaga and J.F. Sobczak. coll., in DCBU. Female paratype from the same locality and collectors, 15 March 2007, in DCBU.

Diagnosis

Hymenoepimecis n. sp.1 shares with *Hymenoepimecis cameroni* (Townes, 1966) the anterior wings and pterostigma uniformly fuscous, but leg pigmentation is different between these species. In *H. cameroni* both pairs of anterior legs are rufostestaceous while in *H. n. sp. 1* they are yellowish.

Description

Female (Holotype). Body length 9.2 mm; fore wing 8.9 mm; hind wing 6.6 mm; antenna with 36 segments; lower face elongated 0.7 times as broad as high, smooth and bearing hairs, with two shallow grooves in the median part, head in dorsal view with gena long, posterior ocelli separated from the eyes by about 0.4 times its own maximum diameter; distance from tegula to the head of about 0.7 times the distance between the tegula to the margin of the propodeum, scutellum in profile convex; mesopleuron smooth and polished, bearing thin and sparse hairs; propodeum smooth and polished with sparse hairs and lateral longitudinal carina present only posteriorly, submetapleural carina absent. Fore wing with *cu-a* interstitial to base of *Rs&M*, *2rs-m* about 0.5 times as long as the abscise of *M* between *2rs-m* and *2m-cu*, *3rs-m* absent. Hind wing with the abscise *Cu1* equidistant between *M* and *1A*. Posterior leg with tibia + tarsus 0.5 times the length of the fore wing. Tergite I 1.5 times as long as posteriorly broad, presence of lateral carina only anteriorly; Sternite I with a low rounded prominence, tergites I-IV smooth bearing sparse hairs all around. Ovipositor 0.9 times as long as tibia. Head black with yellowish mouthparts; except the tip of the mandibulae. Mesossoma yellowish, metassoma with tergites I-IV anteriorly brownish and tergites VI-VIII mostly blackish. Ovipositor brownish and ovipositor sheath black. First and second pair of legs yellowish, hind legs brownish with bases of coxae and tibia pale testaceous. Fore wing fuscous with pterostigma brownish.

Male. Unknown

Natural history

Hymenoepimecis n. sp. 1 was observed parasitizing female specimens of *Leucauge roseosignata*. These spiders construct horizontal two dimensional orb structures with open hubs (Fig. 6). Larvae remain attached in the spider's abdomen during their development, feeding on spider's fluids through small orifices perforated in several positions. Spiders carrying first (Fig. 7) and second instar larvae presented normal webs while we observed a third instar larvae killing a spider in a very modified cocoon web (Fig. 8-12). This web was composed of three axes, each one made of several radial threads (Fig. 10-11), and a closed hub. The line used by the parasitoid to attach the cocoon was connected to this hub. A second web with the same characteristics and a cocoon attached was found. After the emergence of the adult in laboratory we could determine that it belonged to the same species.

***Hymenoepimecis* new species 2**

(Figures 13-18)

Type material

Female holotype from Sooretama (19°06'S 40°02'W), State of Espírito Santo, Brazil, 28 August 2007, M.O.Gonzaga and J.F. Sobczak. coll., in DCBU. Male paratype from the same locality, collectors and date, in DCBU.

Paratype

Female from Parque Estadual Intervales (24°16'S, 48°25'W), Ribeirão Grande, State of São Paulo, Brazil.

Diagnosis

Hymenoepimecis n. sp. 2 shares to *H. atriceps* (Cresson, 1865) the hyaline wings. First pair of legs yellowish, second pair yellowish with light brown tarsi, third pair with coxae, trochanter and trocanthelus yellow, femur and tarsi black, tibia brown in the base.

Description

Female (Holotype). Body length 9.6 mm; fore wing length 6.9 mm; hind wing 4.7 mm; antenna with 35 segments; lower face elongated 0.7 times as broad as high, smooth and bearing hairs, convex, sculptured, with fine scattered hairs near the basis of scapus and laterally, near the margin eyes; head in dorsal view with gena long, posterior ocelli separated from eyes by 0.8 times its own maximum diameter; distance from tegula to head of about 0.7 times the distance between the tegula to the hind margin of propodeum; scutellum in profile convex; mesopleuron smooth and polished, ventrally with fine and scattered hairs; propodeum smooth and polished with sparse hairs and lateral longitudinal carina present only posteriorly; submetapleural carina absent. Fore wing *cu-a* interstitial to base of *Rs* & *M*, *2rs-m* about 0.2 times as long as abscissa of *M* between *2rs-m* and *2m-cu*, vein *3rs-m* absent. Hind wing with abscissa of *Cu1* equidistant between *M* and *1A*. Hind leg with tibia plus tarsi 0.6 times the length of the fore wing. Tergite I 1.5 times as long as posteriorly broad, presence of lateral carina only anteriorly, with 1/3 of the length of the tergite I; sternite I with a low rounded posteriorly prominence, tergite II 0.7 mm long, and tergite I–III smooth with scattered hairs

sparse around the tergite, tergites IV-VI uniformly covered with hairs. Ovipositor 1.4 times as long as the hind tibia. Head black, with white spot at the radicula, adjacent to antenna; except the tip of mandibulae. Antenna dark brown, mesosoma yellow. Metassoma with tergite I mostly yellow with a blackish tip; tergites II-V mostly brown with yellowish base and VI-VIII black. Sternite I smooth, pale yellow; II-VI white and coraceous. Ovipositor brownish and ovipositor sheath blackish. First and second pair of legs yellowish; hind legs, with coxae, trochanter and trochanter and tibia anteriorly yellow, femur, tibia and tarsus blackish. Wings hyaline, pterostigma brown.

Male. Similar to female in structure and color; however different in body length: 8.8mm; fore wing: 6.0mm; antenna with 32 segments; tergites II and III with more hairs than the female.

Natural history

The cocoons of *Hymenoepimecis* n. sp. 2 were collected attached to the webs of *Manogea porracea* in the forest borders of an Atlantic Forest reserve. *Manogea porracea* builds horizontal dome-shaped webs with small mesh and lacking viscid threads. The parasitoid enters in the three dimensional structure of the web walking on the threads (Fig. 19) until reach a position close to spider's resting place. Our observation on the attacking behavior, however, was interrupted at this point and we did not witness host immobilization and egg laying behaviors. Webs with cocoons attached are apparently similar to webs of unparasitized spiders, but the horizontal sheet used by the spider to capture prey was severely destroyed in the two webs containing cocoons we have found. In addition, the cocoons were not attached at the position usually occupied by the female (Figs 22, 23) but in a lower position, in the hub of a dense complex of threads.

Discussion

The web change described here for parasitized females of *L. roseosignata* indicates that the behavioral modification of *L. argyra* described by Eberhard (2000a, b, 2001) is not a unique case in *Hymenoepimecis*/hosts interactions. It is interesting that the same general web structure, composed of a few and strong radial lines, and no spirals, is present in the two cases. Hénaut *et al.* (2006) observed the web construction behavior of unparasitized specimens of *Leucauge venusta* and described that the sequence of orb-building is to make radii and frame lines, then hub loops followed by a temporary spiral, and finally the sticky spiral. Eberhard (2001) suggested that the parasitoid larva chemically interfere in specific behavioral routines involved in web construction, suppressing actions such as breaking, reeling up and replacing lines and, in another phase, the behavior of breaking and re-attaching lines. The absence of these same routines would result in the same web pattern we observed in the cocoon webs of *L. roseosignata*. In addition, Eberhard (2001) showed that all the routines involved in the production of temporary spiral and stick spiral, and the removal of the central part of the hub, were absent during the construction of the cocoon webs of *L. argyra*. The same behavioral restriction probably occurs in *L. roseosignata*, once these structures are also absent in their cocoon webs.

According to Poulin (2007) the most important criterion that must be met by behavioral changes to be considered a parasite adaptation is they lead to improved parasite transmission or fitness. The modified design of the cocoon webs seems to reduce the probability of insect interception in the web threads, and consequently the risk of web destruction due to insects struggling to escape. In addition the concentration of several web threads in only three axes may improve the stability and resistance of the web. In that way, the modified web structure may benefit the survivorship probability of the pupae. The criterion

mentioned by Poulin, however, remains to be demonstrated in the interaction between *Hymenoepimecis* n. sp. 1., and *Leucauge roseosignata*.

The differences observed between normal and cocoon webs of *Manogea porracea* may also indicate the occurrence of host behavioral manipulation. In that case the alteration of spider position to a safer place within the three-dimensional web structure may assure a more stable and protected site to the pupae.

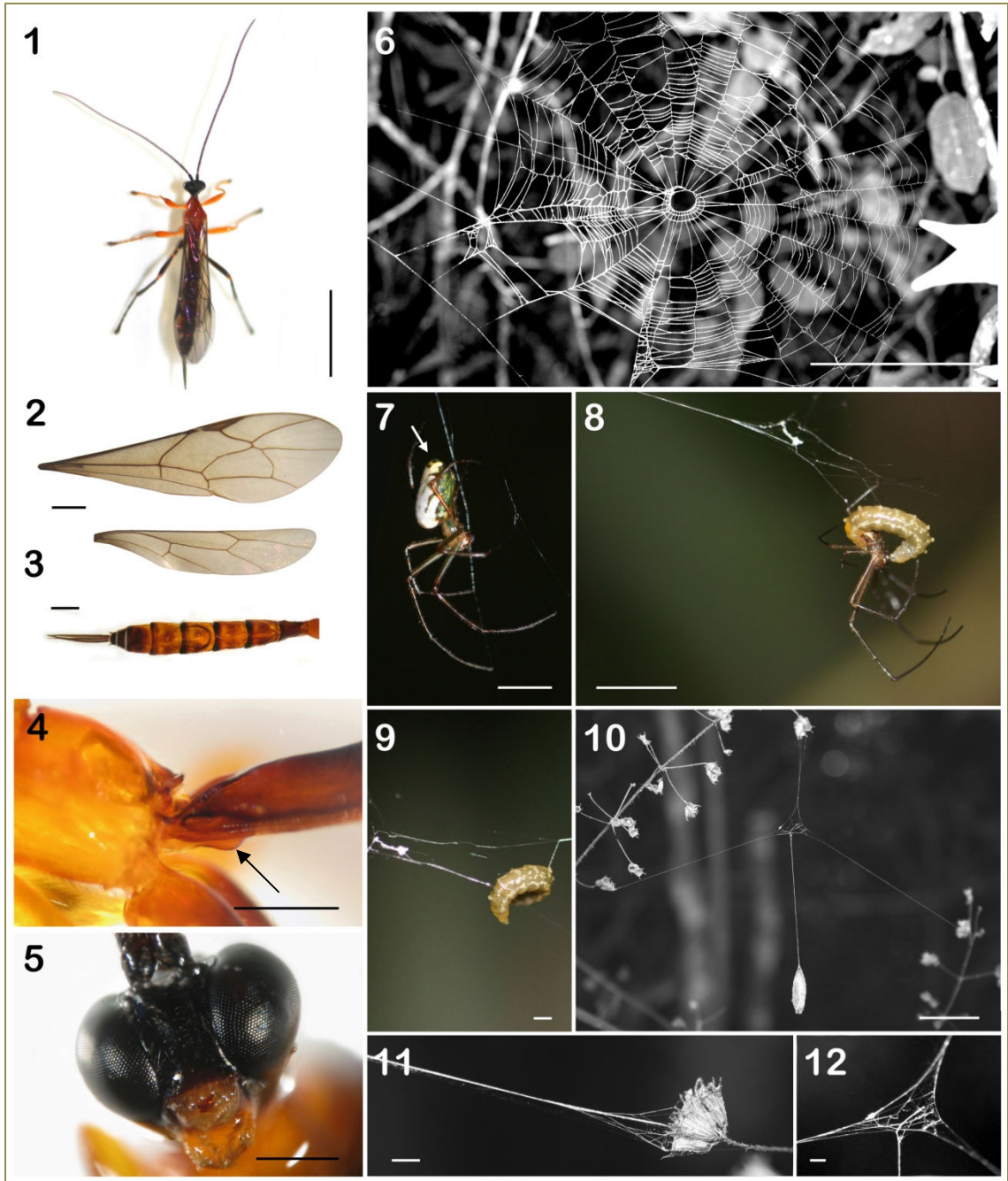
Acknowledgements

This study was supported by CNPq (research grants to A.M. Pentead-Dias , J.F.Sobczak and A.P.S. Loffredo), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (proc. 06/59810-8 and 07/50731-0 to M.O. Gonzaga; Proc. 07/50141-9 to A. M. Pentead-Dias). We also thank Prefeitura Municipal de Jundiaí and the staff of Base de Estudos de Ecologia e Educação Ambiental da Serra do Japi.

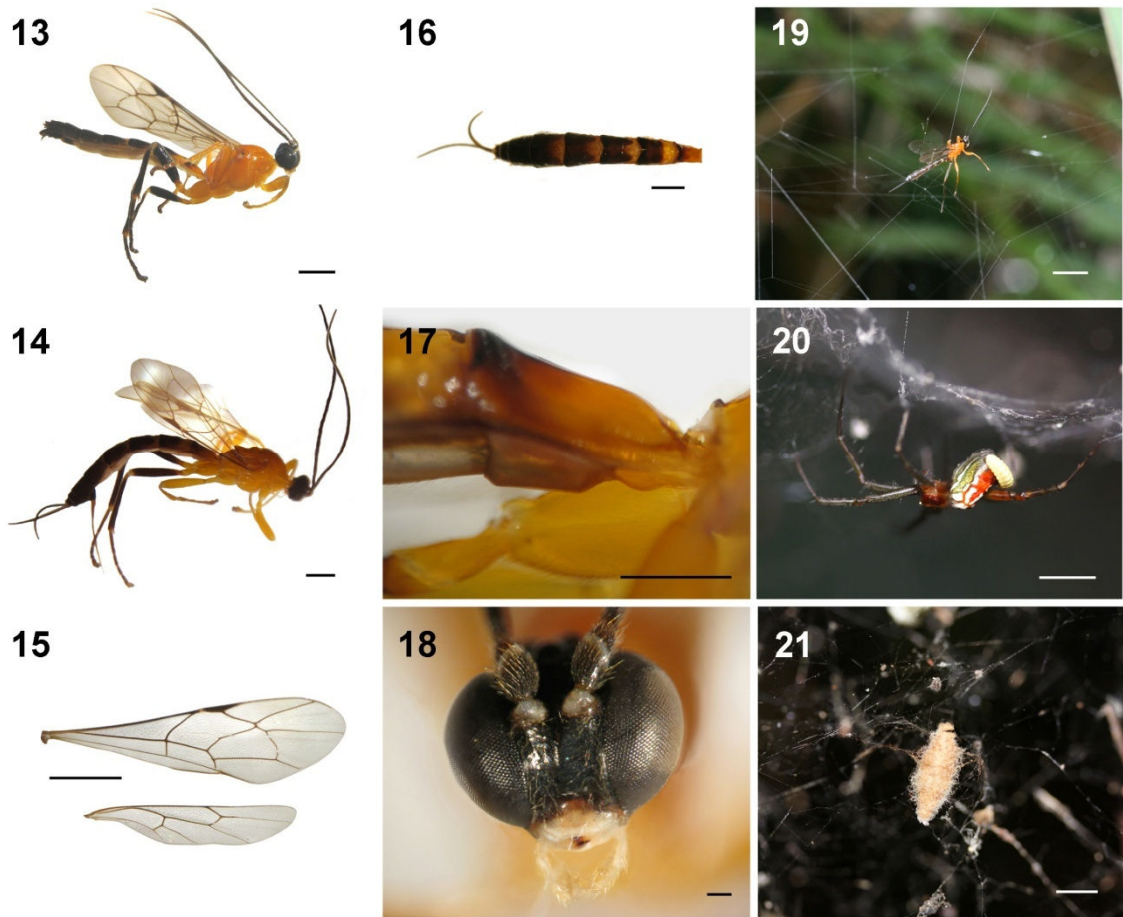
References

- Eberhard, W. G. 2000a. The natural history and behavior of *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a parasitoid of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae). *J. Hymenopt. Res.* 9:220-240.
- Eberhard, W.G. 2000b. Spider manipulation by a wasp larva. *Nature* 406:255-256.
- Eberhard, W.G. 2001. Under the influence: webs and building behavior of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae) when parasitized by *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *J. Arachnol.* 29: 354-366.
- Fincke, O. M.; Higgins, L. & Rojas, E. 1990. Parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae) by an ichneumonid (Hymenoptera, Polysphinctini) in Panama. *J. Arachnol.* 18:321–329.
- Gauld, I. D. 2000. The re-definition of pimpline genus *Hymenoepimecis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) with a description of a plesiomorphic new Costa Rican species. *J. Hymenopt. Res.* 9:213–219.

- Gauld, I. D. and Dubois, J. 2006. Phylogeny of the *Polysphincta* group of genera (Hymenoptera: Ichneumonidae; Pimplinae): a taxonomic revision of spider ectoparasitoids. *Syst. Entomol.* 31:529–564.
- Gonzaga, M. O. and Sobczak, J. F. 2007. Parasitoid-induced mortality of *Araneus omnicolor* (Araneae, Araneidae) by *Hymenoepimecis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) in southeastern Brazil. *Naturwissenschaften* 94:223-227.
- Hénault, Y., García-Ballinas, J.A. & Alauzet, C. 2006. Variations in web construction in *Leucauge venusta* (Araneae, Tetragnathidae). *J. Arachnol.* 34:234-240.
- Poulin, R. 2007. *Evolutionary Ecology of Parasites*. Princeton University Press. Princeton, 342p.



Figures 1-5. *Hymenoepimecis* new species 1: 1, Female, dorsal view; 2, Fore and hind wings; 3, Metasoma dorsal view; 4, Sternite I, lateral view; 5, Head. **Figures 6-12.** *Leucauge roseosignata*: 6, Normal web; 7, Egg of *H.* new species 1 attached on the abdomen of a female; 8, Third instar larva consuming the host; 9, third instar larva holding the threads of the web hub; 10, cocoon web; 11, fixation point of the axial threads of the cocoon web on vegetation; 12, cocoon web hub. Scales: Figs. 4, 5= 0,5mm; figs. 2, 3, 9, 11, 12=1mm; figs. 1, 7, 8=5mm; figs. 10=1cm; fig. 6=10cm.

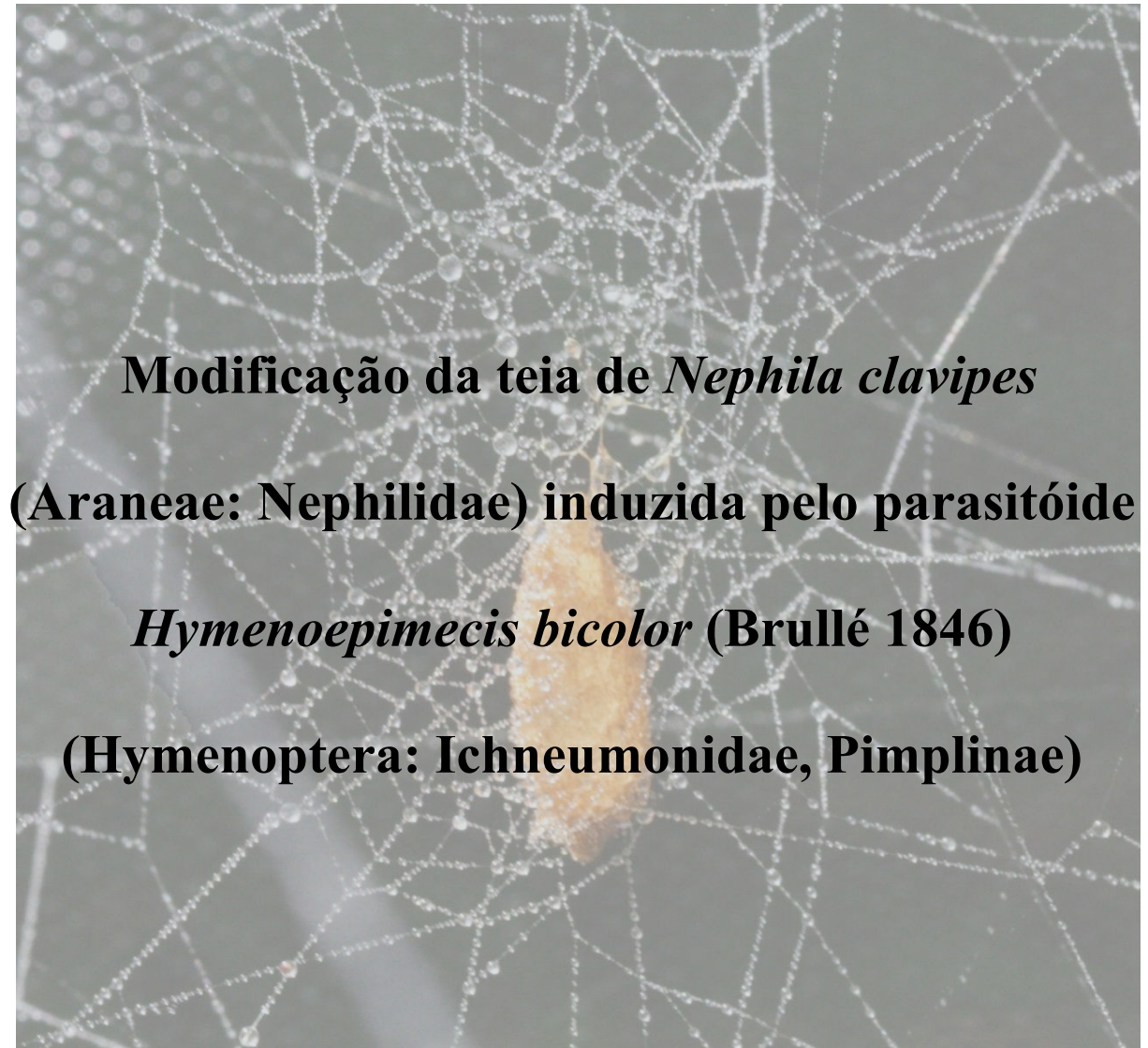


Figures 13-18. *Hymenoepimecis* new species 2: 13, male lateral view; 14, female, lateral view; 15, fore and hind wings; 16, metasoma dorsal view; 17, sternite, I lateral view; 18, head. **Figures 19-21** *M. porracea*: 19, parasitoid web invasion of the *Manogeia porracea*; 20, larvae of the *H. sooretama* new species attached on the abdomen of a female; 21, cocoon fixed in the web. Scales: Fig. 18=0.1mm; fig. 17=0.5mm; figs. 13; 14; 15; 16=1.0 mm; figs. 19; 20; fig. 21=10cm.



Figures. 22-23. Web of spider *Manogea porracea*: 22, Web Normal; 23, cocoon web showing the position occupied by the male, the position usually occupied by unparasitized females (arrow above) and the cocoon (arrow below).

CAPITULO II



Modificação da teia de *Nephila clavipes*

(Araneae: Nephilidae) induzida pelo parasitóide

***Hymenoepimecis bicolor* (Brullé 1846)**

(Hymenoptera: Ichneumonidae, Pimplinae)

Abstract

Several spider species are attacked by wasp parasitoids of the family Ichneumonidae. Alterations in web design were previously observed in a few of these spider hosts during the development of the parasitoid larva attached to their bodies. These web modifications include specific designs that confer a higher web resistance, silk structures that protected the wasp cocoon and the reduction or absence of the orbicular component. In this study we describe the alterations in webs of *Nephila clavipes* attacked by *Hymenoepimecis bicolor* and carried in experiment to test if these modifications are a consequence of a poor nutritional state in parasitized spiders or effect of the parasitoid on the host.

The size of the orb webs spun by parasitized spiders were not significantly different from the size of webs of unparasitized spiders, but webs with parasitoid cocoons always presented reduced orbs. Cocoons are attached to small orbs and remain protected by a net of barrier threads spun very close to its position. This web modification may be a consequence of host behavioral manipulation by the parasitoid.

Palavras chaves: Comportamento, manipulação do hospedeiros, parasitóides, aranhas, teia modificada.

Introdução

Modificações comportamentais ocasionadas por parasitas foram documentadas em diversos taxa de hospedeiros. Peixes parasitados pelo cestode *Ligula intestinalis*, por exemplo, tem seu padrão de atividade e distribuição vertical na coluna d'água alteradas, tornando-se mais susceptíveis a predação por aves (van Dobben 1952, Brown *et al.* 2001). Formigas infectadas pelo Trematoda *Dicrocoelium dendriticum* apresentam um comportamento de subir na vegetação durante a noite e prender-se nas folhas, sendo consumidas por herbívoros que constituem os hospedeiros finais do parasita (Hohorst & Graefe 1961). O anfípodo, *Gammarus lacustris* quando infectado pelo Acanthocephala *Polymorphus paradoxus* também exibe um comportamento anormal, passando mais tempo na superfície e agarrando-se à vegetação após qualquer distúrbio na água. Com isso tornam-se mais expostos a predação por patos (Bethel & Holmes 1973, 1977). Finalmente, ratos infectados por *Toxoplasma gondii* perdem a aversão por odores de gatos (Berday 2000). Esses são apenas alguns dos exemplos mais conhecidos.

Os aspectos ecológicos envolvidos na manipulação comportamental causada por insetos parasitóides nos seus hospedeiros, contudo, continuam ainda pouco estudados (Fritz 1982). A maioria das observações da manipulação comportamental feita por insetos parasitóides incluem a mudança do hospedeiro de um habitat para outro, o aumento da taxa de consumo de alimentos pelo hospedeiro, o cuidado da prole do parasitóide pelo hospedeiro ou a construção de estruturas para suportar e proteger o casulo do parasitóide (Wickler 1976, Godfray 1994, McLachlan 1999, Eberhard 2000a, b, 2001, Grosman *et al.* 2008, Matsumoto 2008). O desenvolvimento, crescimento, e a sobrevivência do hospedeiro parasitado apresentam conseqüências diretas para o desenvolvimento do parasitóide (Fritz 1982). Desta forma o parasitóide regula os processos de desenvolvimento do hospedeiro injetando

substâncias como venenos e hormônios que são capazes de alterar sua fisiologia, garantindo sucesso para completar o ciclo de vida (Vinson 1975).

Aranhas construtoras de teias orbiculares são atacadas por uma grande diversidade de inimigos naturais, incluindo diversas famílias de Hymenoptera, como Sphecidae, Crabronidae, Pompilidae e Ichneumonidae. A arquitetura bidimensional dessas teias, característica das famílias Araneidae, Nephilidae, Tetragnathidae e Uloboridae, possibilita a captura de uma grande diversidade de insetos voadores (Opell 1998, Blackledge *et al.* 2003). Além disso, permite uma grande economia de seda em relação às armadilhas tridimensionais. Essas estruturas, no entanto deixam suas construtoras muito expostas à ação de inimigos naturais como vespas caçadoras e parasitóides (Rayor 1997, Blackledge *et al.* 2003).

Dentro de Ichneumonidae, as principais vespas parasitóides que atacam aranhas e manipulam o seu comportamento pertencem ao grupo de gêneros conhecidos como *Polysphincta* (Hymenoptera: Ichneumonidae: Pimplinae). Esse grupo é formado por 21 gêneros e 190 espécies descritas, todas exclusivamente ectoparasitóides cenobiontes de aranhas (Dubois *et al.* 2002; Gauld & Dubois 2006). Quando em estágio de larva algumas espécies podem manipular o comportamento de construção da teia pelo seu hospedeiro através da inoculação de compostos químicos (Eberhard 2000a, b). Contudo é possível que a modificação da teia do hospedeiro possa estar também relacionada a um estado debilitado ocasionado pela carência nutricional promovida pela larva do parasitóide, que continuamente suga a hemolinfa do hospedeiro (Gonzaga e Sobczak 2007). A arquitetura da teia orbicular pode variar de acordo com o estado nutricional da aranha e também devido a proximidade com o momento da muda (Baba & Miyashita 2006). Indivíduos com carência alimentar podem construir teias menores, refletindo o seu estado fisiológico debilitado (Sherman 1994). Nielsen (1923) observou que *Cyclosa conica* quando parasitada por *Reclinervellus nielseni* construía uma teia menor antes de ser totalmente consumida pela larva do parasitóide, sendo essa teia mais resistente que a

teia normal. Talvez esse seja o primeiro registro da modificação comportamental por vespas parasitóides. Recentemente diversos novos casos de alterações comportamentais em aranhas vem sendo descritos. *Hymenoepimecis argyraphaga*, por exemplo, provavelmente injeta alguma substância em seu hospedeiro, a aranha *Leucauge argyra* (Tetragnathidae) (Eberhard 2000a, b, 2001). Como consequência a aranha constrói uma teia modificada e mais resistente, usada para suportar o casulo da vespa (Eberhard 2001). Gonzaga & Sobczak (2007) observaram que teias de *Araneus omnicolor* parasitada por *Hymenoepimecis* sp. também apresentavam a parte orbicular reduzida. Matsumoto (2008) demonstrou que a manipulação comportamental em *Agelena limbata*, feita pelo ectoparasitóide cenobionte *Brachyzapus nikkoensis* resulta na construção de um estrutura de seda muito particular, conferindo uma maior capacidade de proteção ao casulo do parasitóide contra o ataque de formigas.

Na maioria desses casos, entretanto, apesar da constatação da existência de teias modificadas contendo casulos dos parasitóides, se conhece muito pouco sobre as causas dessa modificação. Neste trabalho descrevemos a modificação comportamental de *Nephila clavipes* (Nephilidae) pelo parasitóide *Hymenoepimecis bicolor* (Ichneumonidae). Foi observado as diferenças entre teias normais e teias construídas por fêmeas parasitadas no campo. Um experimento foi desenvolvido para demonstrar se as modificações observadas na estrutura das teias contendo casulos são consequência da carência nutricional promovida pelo parasitóide, surgindo gradativamente ao longo do desenvolvimento da larva, ou se ocorrem subitamente, conforme descrito para a interação entre *Hymenoepimecis argyraphaga* e *Leucauge argyra*.

Material e métodos

Local de estudo

O estudo foi conduzido na Reserva Serra do Japi, uma reserva florestal localizada no município de Jundiá (23°15'S, 46°57'W), estado de São Paulo, Brasil.

Fêmeas adultas e subadultas parasitadas e não parasitadas de *Nephila clavipes* foram encontradas e coletadas ao longo das bordas da floresta em uma área conhecida como DAE e em estradas próximas a base de pesquisa da Reserva durante o mês de janeiro e maio de 2007 e 2008. Essas fêmeas tiveram o abdômen medido com auxílio de um paquímetro e suas teias (parte orbicular) foram medidas com uma trena para avaliar se aranhas portando larva do parasitóide constroem teias com tamanho diferente das teias das aranhas não parasitadas.

Para controlar o efeito do tamanho da aranha, que é correlacionado com o tamanho da parte orbicular da teia, a diferença de tamanho entre as teias de aranhas parasitadas e não parasitadas foi analisada por ANCOVA (McSweeney & Porter 1971), usando o comprimento do abdômen da aranha como covariável. Para esta análise foram incluídos somente dados de fêmeas não parasitadas que estivessem dentro do intervalo de tamanho corporal de aranhas usadas pelas vespas para ovipor (4.9-10.7mm comprimento do abdômen).

Para testar se a carência nutricional interfere no padrão de construção das teias como sugerido por Baba & Miyashita 2006, foram construídas 15 gaiolas (0.5x0.5x1.5m), confeccionadas com varas de bambu e totalmente cobertas com uma rede fina, para evitar a entrada de insetos e manter padronizados os tratamentos. Dentro de cada gaiola foi mantida apenas uma aranha. Essas gaiolas foram posicionadas no campo a aproximadamente 100 metros da base de pesquisa da Reserva Serra do Japi. As aranhas mantidas nas gaiolas foram separadas em três grupos experimentais: Grupo 1: formado por aranhas parasitadas e alimentadas, Grupo 2: aranhas não parasitadas e alimentadas, Grupo 3: aranhas não

parasitadas e não alimentadas. A alimentação consistia no fornecimento a cada dois dias de uma mosca (*Musca domestica*). Diariamente foram quantificados os números de espiras e de raios das teias de cada aranha nos três grupos experimentais.

Para testar se as teias modificadas seriam mais resistentes que as teias normais construídas por aranhas não parasitadas, foram removidas 11 aranhas de suas teias normais e comparadas com teias contendo o casulo do parasitóide. Durante esse experimento foi observado e registrado o comportamento de alimentação da larva nos três instars, local de fixação no hospedeiro, período de desenvolvimento e eclosão da vespa adulta do casulo.

Espécimes testemunhos de *Hymenoepimecis bicolor* foram depositados na coleção da Universidade Federal de São Carlos (DCBU - curadora A. M. Pentead-Dias), São Carlos, SP, Brasil.

Resultados

Após a vespa adulta ovipor na aranha, o ovo permanece aderido ao abdômen do hospedeiro. Nessa fase não ocorre forrageamento, o ovo passa para a fase de larva (primeiro instar). A taxa de crescimento corpóreo durante o primeiro instar aparentemente é pequena. Com o passar de aproximadamente 10 dias da oviposição a larva atinge o segundo instar, exibindo com mais nitidez as divisões no corpo. No final do segundo instar a larva apresenta pequenos pontos amarelados em cada divisão do corpo (Fig. 1b). Ao atingir o terceiro e último instar a larva aparenta um tamanho corporal três vezes maior que a larva de primeiro (Fig. 1c). Nessa fase surge em cada divisão do corpo um tubérculo, estrutura composta de pequenos ganchos que serão os responsáveis pela fixação da larva ao centro da teia modificada (Fig. 1 e, d). Desde o momento da oviposição até o final do segundo instar a aranha constrói a teia normal, contudo quando a larva atinge o terceiro instar, a aranha

constrói uma teia modificada com pronunciada redução do número de raios e espiras. Após a construção dessa teia a larva consome completamente a aranha e permanece fixa, com auxílio de ganchos existentes nos tubérculos, na porção central da teia modificada (Fig.1 e) (Fig.2 A, B). Após ter consumido o hospedeiro a larva inicia a construção do casulo, e finaliza o processo de construção em até 24 horas (n=5), variando conforme as condições climáticas do local. (Fig. 2 C, D, E).

A vespa adulta emerge do casulo após 19 dias (n=3) da morte do hospedeiro, para isso rompe, com o auxílio da mandíbula, a porção superior do casulo, formando uma “tampa”. Após a saída, a vespa adulta permanece um período de 3 horas (n=2) esticando as asas para o voo. Nessas duas observações a vespa só emergiu do casulo quando a temperatura ambiente estava acima dos 25°C. (Fig. 2 F).

A teia de *Nephila clavipes* é composta por uma parte orbicular formada por um número variável de raios e espiras, uma parte central sem espiras onde a aranha fica posicionada, e uma teia de barreira formada por fios resistentes e posicionada na frente da parte orbicular, (Fig. 3 A, B). Já a teia modificada, apresenta uma redução significativa do número de raios e no número de espiras, e tem características de uma teia tridimensional (Fig. 3 C, D). A diminuição do número de espiras e raios das teias de aranhas parasitadas foi observado apenas três dias antes da morte do hospedeiro (Fig. 4), com uma diminuição abrupta no tamanho da teia. Neste período a aranha com larva de terceiro instar deixa de construir a teia orbicular com vários raios e espiras e passa a refazer apenas a parte central da teia conferindo uma maior resistência nesse local, além de tecer fios em volta do centro da teia o que proporciona uma defesa adicional para o casulo do parasitóide. Ao mesmo tempo a larva de terceiro instar triplica de tamanho e muda a sua morfologia com o surgimento de tubérculos no dorso. Esses tubérculos são formados por pequenos ganchos que servem para fixar a larva na teia modificada do hospedeiro

A área da parte orbicular construída por aranhas parasitadas com larvas de primeiro e segundo instars não foi significativamente menor do que a área de teias normais, construídas por aranhas não parasitadas (ANCOVA; tratamento: $F_{1,64}=1.24, p=0.27$; tamanho do abdômen : $F_{1,64}=6.02, p=0.02$). Contudo, todas as teias contendo casulo da vespa ou aranhas com larva de terceiro instar, apresentaram a parte orbicular reduzida, (média \pm sd = $7.33 \pm 4.45 \text{ cm}^2$, n=6), e os casulos foram fixados na parte orbicular reduzida da teia e envoltos por fios de barreiras (Fig.3 C, D).

A parte orbicular das teias construídas por aranhas do grupo dois, não parasitadas e alimentadas, e por aranhas do grupo três, não parasitadas e privadas de alimentação, permaneceu relativamente estável durante todo o período do experimento (Fig.5) (ANOVA de medidas repetidas, espiras: com alimento $F=1,197 p=0,289$; sem alimento $F=1,008, p=0,466$; Raios: com alimento $F=0,611 p=0,889$; sem alimento $F=1,353, p= 0,183$). Só foi registrada alteração na arquitetura da teia com redução significativa no número de espiras e do número de raios nos últimos três dias de vida do hospedeiro (Fig. 4). Durante essa fase foi observado um aumento expressivo em tamanho da larva do parasitóide e mudança na morfologia, com o surgimento de pequenos tubérculos na região dorsal.

Cinco dias após as aranhas alimentadas e não alimentadas serem removidas de suas teias, seis das 11 teias iniciais foram completamente destruídas. As cinco teias remanescentes foram destruídas durante os seis dias subsequentes. As cinco teias modificadas contendo casulos permaneceram intactas durante este intervalo de tempo e permaneceram por mais oito dias sem serem destruídas. No tempo total do experimento as teias modificadas contendo casulos resistiram por aproximadamente 19 dias, enquanto teias normais não alteradas permaneceram por apenas 11 dias.

Discussão

Gonzaga & Sobczak (2007) sugerem que a modificação da arquitetura na teia de *Araneus omnicolor* contendo casulos de *Hymenoepimecis* sp. poderia ser uma consequência do estado debilitado do hospedeiro devido a carência nutricional, ou uma possível modificação comportamental induzida pelo parasitóide para que a aranha construísse uma estrutura mais resistente para a ancoragem do casulo. Tendências similares de redução da parte orbicular da teia já haviam sido documentadas em algumas interações entre os hospedeiros e seus parasitóides. *Nephila clavipes* e *H. robertsae* (Fincke *et al.* 1990), *Cyclosa octotuberculata* (Araneidae) e *Riclinervellus tuberculatus* (Matsumoto & Konishi 2007), *Cyclosa fililineata* e *Polysphincta janzeni* (M.O.Gonzaga em prep), *Leucauge roseosignata* e *Hymenoepimecis* n. sp. 1 (Sobczak *et al.*, em prep) e *Agelena limbata* (Agelenidae) e *Brachyzapus nikkoensis*. O experimento com privação de alimento mostrou que a carência nutricional não provoca a construção de teias com as mesmas características daquelas observadas em indivíduos com larvas de terceiro instar. Durante os 21 dias de experimento tanto as aranhas não parasitadas alimentadas quanto as aranhas privadas de alimentação construíram teias normais periodicamente. Isso indica que a modificação na teia deve, conforme sugerido por Eberhard (2001), ser provocada por alguma substância inoculada no hospedeiro. Eberhard (2000a, b, 2001) descreveu a modificação das teias de *Leucauge argyra*, e atribuiu essa modificação possivelmente a alguma substância química injetada pela larva do parasitóide *H. argyraphaga*. As aranhas atacadas pelo parasitóide continuam a construir uma teia normal até momentos antes da larva atingir a maturação, nesse momento a aranha passa a construir uma teia completamente modificada. A teia modificada ou ‘cocoon web’ de *L. argyra* é mais resistente se comparada com a frágil teia normal construída por aranhas dessa espécie, e constituem um suporte resistente para o desenvolvimento da pupa do parasitóide

(Eberhard 2000b). A arquitetura da teia pode ser modificada por substâncias psicotrópicas, o que já havia sido documentado por Witt *et al.* (1968), contudo os mecanismos que estão envolvidos nesse processo ainda permanecem por serem descritos (Eberhard 2001). Libersart (2009) demonstra que em alguns casos a manipulação comportamental ocorre via modulação do sistema nervoso central do hospedeiro pela injeção direta de neurotoxinas que alteram o comportamento do hospedeiro, como em baratas parasitadas pela vespa *Ampulex compressa*.

Aranhas construtoras de teias orbiculares constantemente realizam reparos em suas teias, isso é importante para evitar a fuga de presas. Contudo uma vez que a teia não seja reparada, ela inicia um processo natural de degradação. Em teias modificadas essa degradação poderia por em risco a sobrevivência da pupa do parasitóide, talvez isso possa ser um dos motivos que leva a larva de terceiro instar a induzir a modificação comportamental na aranha que passa a construir uma estrutura mais resistente para abrigar o casulo. Verificamos que teias normais, construídas por aranhas não parasitadas, apresentam um período de degradação menor quando se comparado com teias modificadas contendo casulo. A modificação da teia, e como consequência a redução da parte orbicular para a ancoragem do casulo de *H. bicolor*, possivelmente proporciona ao casulo uma maior proteção contra inimigos naturais e fatores abióticos como vento e chuva. Matsumoto (2008) demonstrou que a aranha *Agelena limbata* quando parasitada por *Brachyzapus nikkoensis* construía uma teia modificada que proporcionava uma maior sobrevivência da pupa do parasitóide ao ataque de formigas. Eberhard (2000a) sugere que a modificação da estrutura da teia poderia conferir uma maior proteção contra fortes chuvas. Desta forma a modificação da estrutura da teia que ocorre dias antes da morte do hospedeiro pode ser considerado como um importante fator que contribui para a sobrevivência da pupa do parasitóide.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo). Agradecemos a Prefeitura Municipal de Jundiá e a Base de Estudos de Ecologia e Educação Ambiental da Serra do Japi.

Referências bibliográficas

- Baba Y., Miyashita T. 2006. Does individual internal state affect the presence of a barrier web in *Argiope bruennichii* (Araneae: Araneidae)? *J. Ethol.* 24: 75-78.
- Blackledge T. A., Coddington J. A. and Gillespie R. G. 2003. Are three-dimensional spider webs defensive adaptations? *Ecol. Lett.* 6:13-18.
- Berdoy M., Webster J. P., Macdonald D. W. 2000. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc R Soc Lond-Ser B: Biol Sci* 267, pp. 1591–1594.
- Bethel W. M. and Holmes J. C. 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behaviour induced by larval acanthocephalans. *Can J. Zoo.* 55: 111&115.
- Bethel W. M. and Holmes J. C. 1973. Altered evasive behavior and responses to light in amphipods harboring acanthocephalan cystacanths. *J. Parasit.* 59: 945-956.
- Brown, S.P., Loot, G., Grenfell, B.T., Gue'gan, J.F., 2001. Host manipulation by *Ligula intestinalis* – accident or adaptation? *Parasitology* 123: 519–29.

Dubois, J., Rollard, C., Villemant, C. and Gauld, I. D. 2002. The phylogenetic position of parasitoids of spiders within Pimplinae (Hymenoptera, Ichneumonidae). *In*: Samu F, Szinetár Cs (eds) *Proceedings of the 20th European Colloquium of Arachnology*. Plant Protection Institute and Berzsenyi College, Budapest, pp 27–35.

Eberhard W. G. 2000a. The natural history and behavior of *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a parasitoid of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae). *J. Hymenopt. Res.* 9:220-240.

Eberhard W. G. 2000b. Spider manipulation by a wasp larva. *Nature* 406:255-256.

Eberhard W. G. 2001. Under the influence: webs and building behavior of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae) when parasitized by *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *J. Arachnol* 29:354-366.

Fincke O. M., Higgins L. and Rojas E. 1990. Parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae) by an ichneumonid (Hymenoptera, Polysphinctini) in Panama. *J. Arachnol.* 18:321–329.

Fritz, R. S. 1982. Selection for host behavior modification by insect parasitoids. *Evol.* 36:283-288.

- Gauld I. D. and Dubois J. 2006. Phylogeny of the *Polysphincta* group of genera (Hymenoptera: Ichneumonidae; Pimplinae): a taxonomic revision of spider ectoparasitoids. *Syst. Entomol.* 31:529–564.
- Godfray H. C. J. 1994. *Parasitoids—behavioral and evolutionary ecology* Chichester: Princeton University Press. 473 p.
- Gonzaga M. O. and Sobczak J. F. 2007. Parasitoid-induced mortality of *Araneus omnicolor* (Araneae, Araneidae) by *Hymenoepimecis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) in southeastern Brazil. *Naturwissenschaften* 94:223-227.
- Groaman A. H., Janssen A., De Brito E. F., Cordeiro E.G., Colares F., Fonseca J. O., Lima E. R., Pallini A., and Sabelis W. 2008. Parasitoid increases survival of its pupae by inducing hosts to fight predators. *PloS One* 3(6).
- Hohorst W., Graefe G. 1961. Ameisen-obligatorische Zwischenwirte des Lanzettegels (*Dicrocoelium dendriticum*). *Naturwissenschaften* 48: 229-230.
- Libersat F., Delago A., Gal R. 2009. Manipulation of host behavior by parasitic insects and insect parasites. *Annu. Rev. Entomol.* 54. 189-207.

Matsumoto R., and Konishi, K. 2007. Life histories of two ichneumonid parasitoids of *Cyclosa octotuberculata* (Araneae): *Reclinervellus tuberculatus* (Uchida) and its new sympatric congener (Hymenoptera: Ichneumonidae: Pimplinae). *Entomol. Sci.* 10:267-278.

Matsumoto R. 2008. “Veils” Against predators: Modified web structure of a host spider induced by an Ichneumonid parasitoid, *Brachyzapus nikoensis* (Uchida) (Hymenoptera). *J. insect Behav.*

McLachlan A. 1999. Parasites promote mating success: the case of a midge and a mite. *Anim. Behav.* 57:1199–1205.

Opell B. D. 1998. Economics of spider orb-webs: the benefits of producing adhesive capture thread and of recycling silk. *Fun. Ecol.* 12:613-624.

Rayor L. S. 1997. Attack strategies of predatory wasps (Hymenoptera: Pompilidae: Sphecidae) on colonial orb web-building spiders (Araneidae: *Metepeira incrassata*). *J. Kans. Entomol. Soc. Supp.* 69:67-75.

Sherman P. M. 1994. The orb-web: An energetic and behavioural estimator of a spider's dynamic foraging and reproductive strategies. *Anim Behav.* Vol. 48, no. 1, pp. 19-34.

Nielsen E. 1923. Contributions to the life history of the Pimpline spider parasites (Polysphincta, Zaglyptus, Tromatobia). *Entomologiske Meddelelser* 14:137–205.

van Dobben W.H. 1952. The food of the cormorant in the Netherlands. *Ardea* 40,1–63.

Wickler W. 1976. Evolution-oriented ethology, kin selection, and altruistic parasites. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 42: 206-214.

Vinson S. B. 1975. Biochemical coevolution between parasitoids and their hosts, p. 14-18. In P. W. Price (ed.), *Evolutionary strategies of Parasitic Insects and Mites*. Plenum Press, N. Y.

Witt P. N., Reed C., and Peakall D.B 1968. *A spider's Web* Springer, New York.

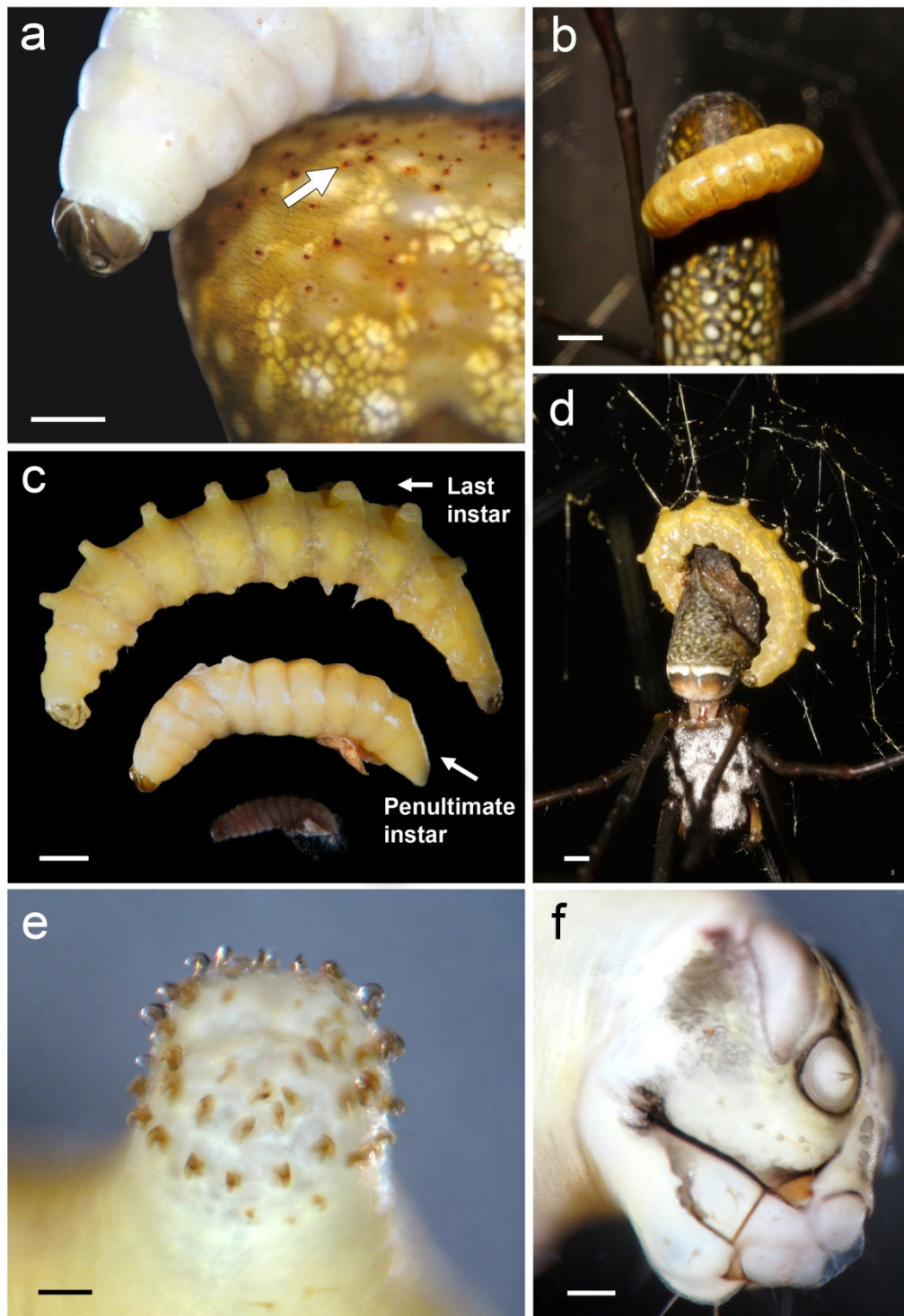


Figura. 1. a-f. Larva de *H. bicolor* sobre o abdômen de *N. clavipes*: a, cicatrizes de perfurações (pontos vermelhos) feita pela larva do parasitóide *H. bicolor* no abdômen da aranha *N. clavipes*; b, larva de segundo instar aderida ao abdômen da aranha; c, diferentes instares da larva do parasitóide; d, larva de terceiro instar aderida a teia modificada e sugando o hospedeiro; e, detalhes dos tubérculos presentes na larva de terceiro instar coberto com pequenos ganchos; f, detalhes da cabeça da larva. Escalas: Fig. a=0,5mm; fig. b, c, d=1mm; figs. e, f=0,1mm.

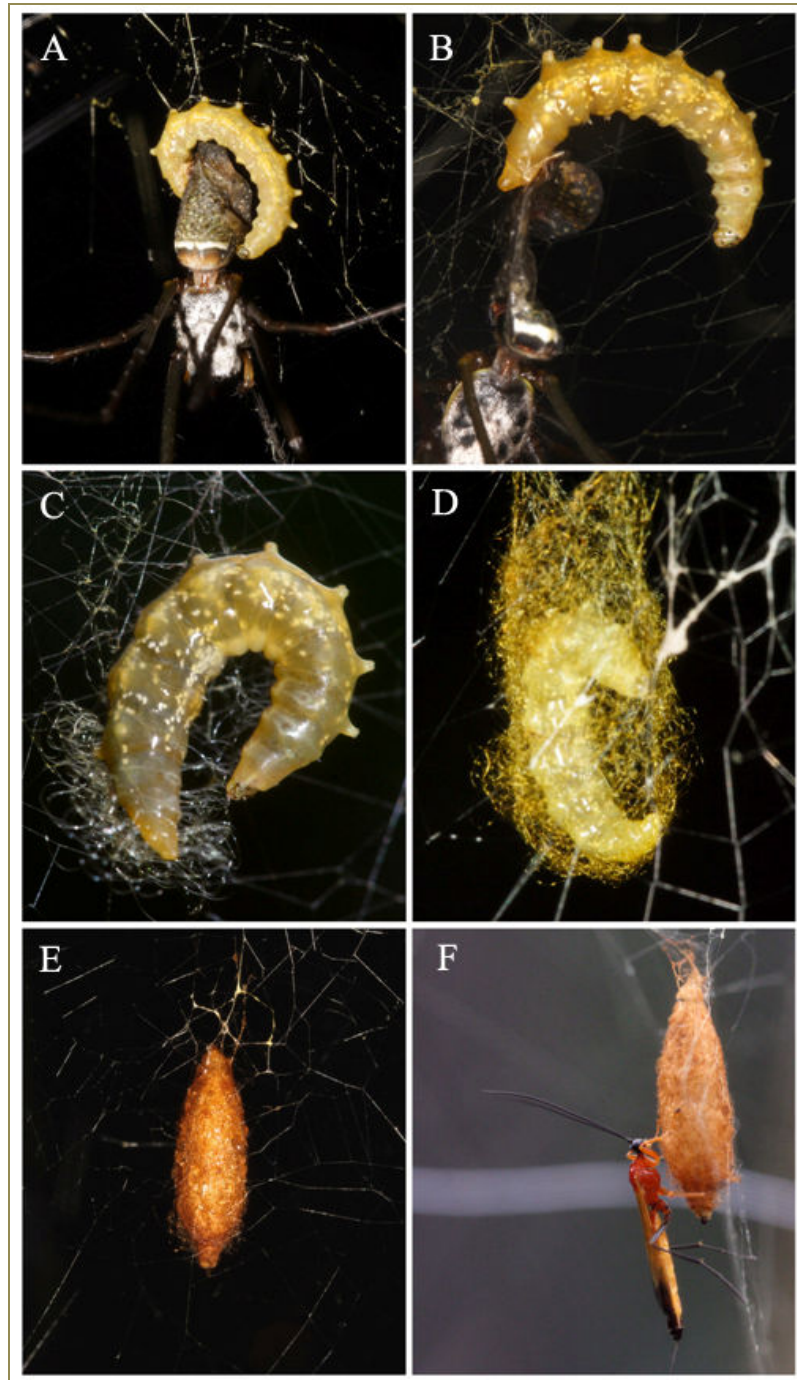


Figura. 2. A –F. Estágios do desenvolvimento do parasitóide: A, larva consumindo o hospedeiro; B, larva de terceiro instar terminando de consumir a aranha; C, início da construção do casulo; D, larva construindo o casulo; E, casulo aderido ao centro da teia modificada; F, vespa adulta saindo do casulo.

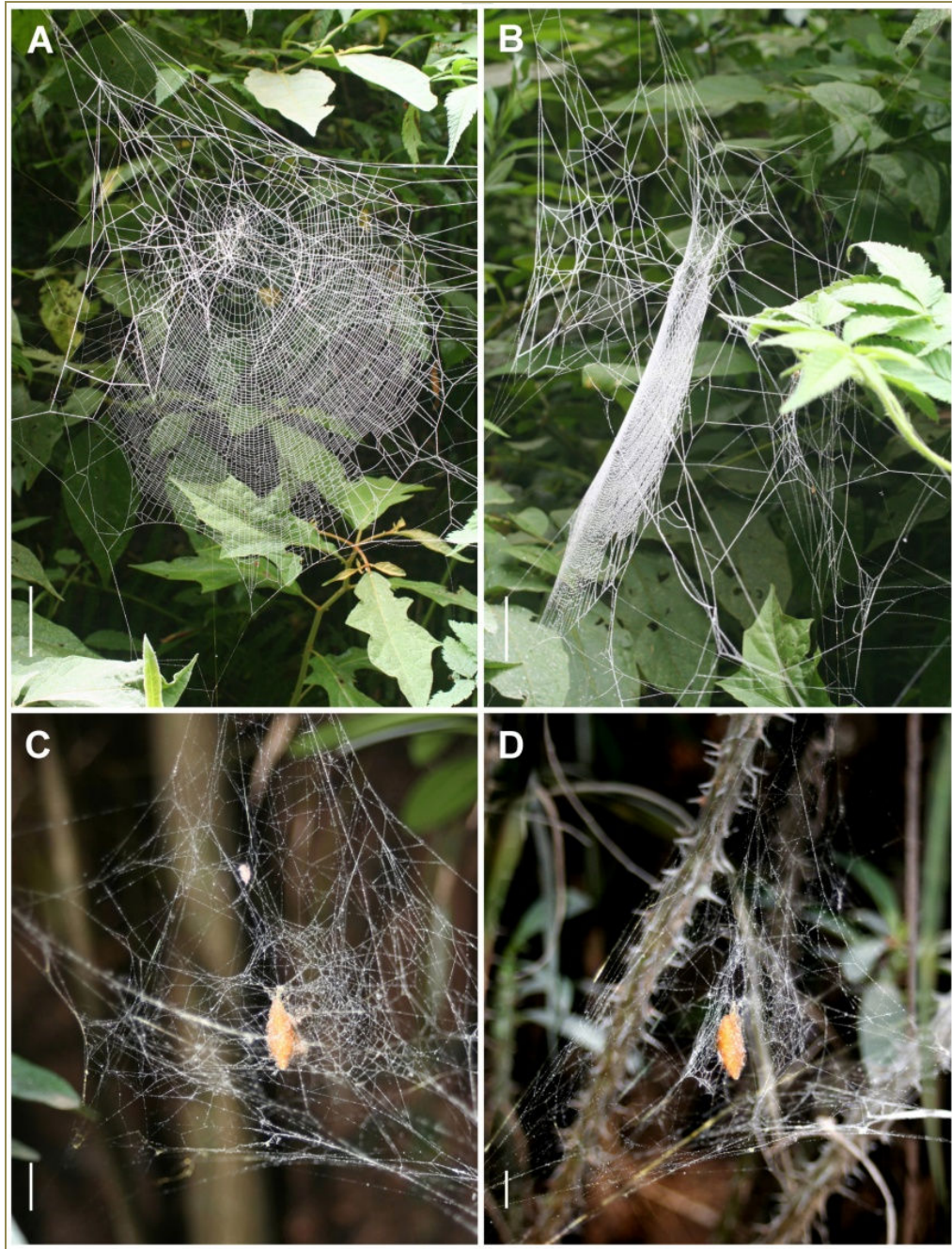


Figura. 3. A-D. Teia normal e teia modificada de *Nephila clavipes*: A, teia normal de *N. clavipes* em vista frontal; B, vista lateral; C, Teia modificada contendo o casulo do parasitóide *H. bicolor* preso ao centro da teia modificada, em vista frontal e D, vista lateral. Escalas 10 cm.

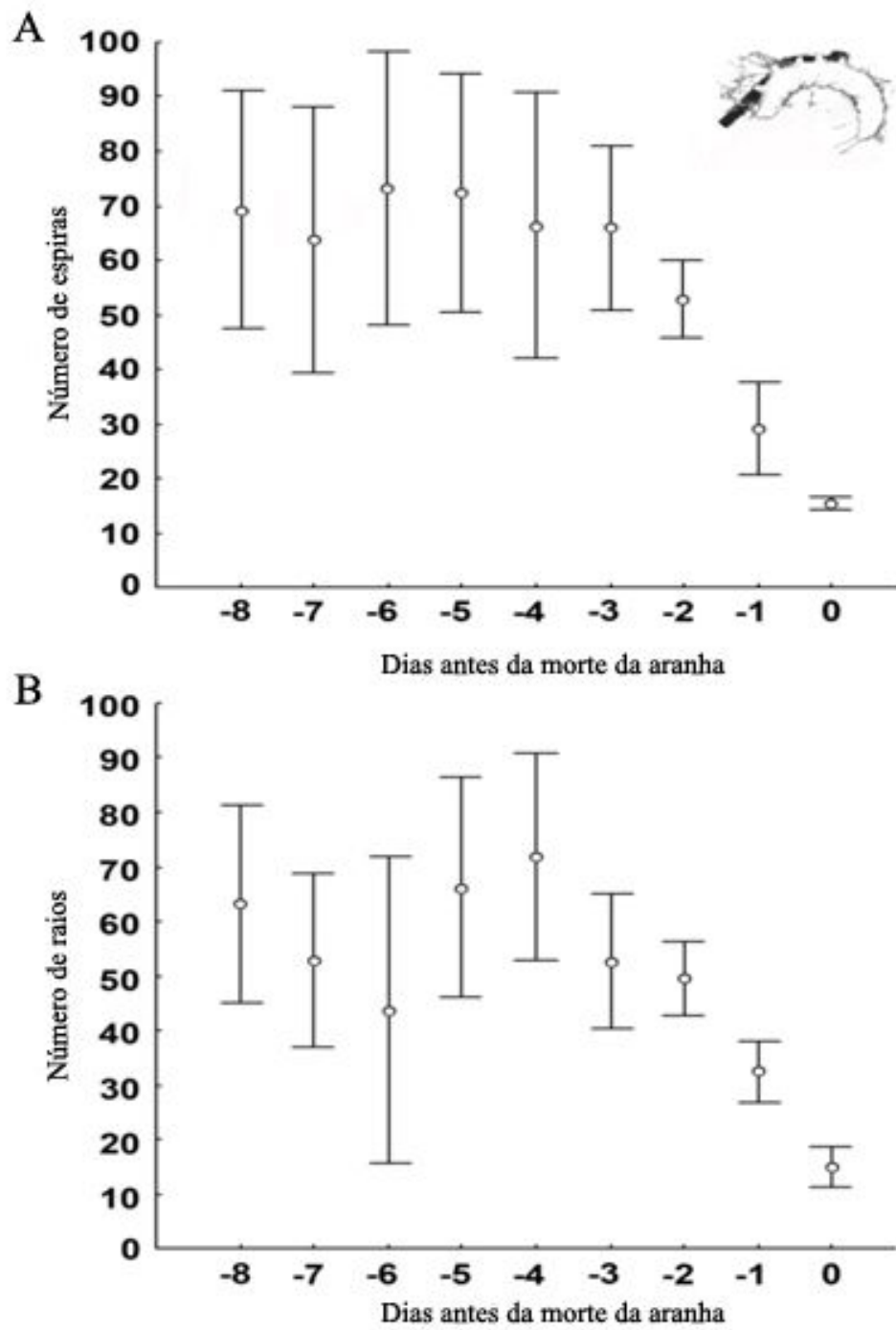


Figura. 4. Redução do número de espiras; A, e raios; B, em teias de aranhas parasitadas três dias antes da morte da aranha.

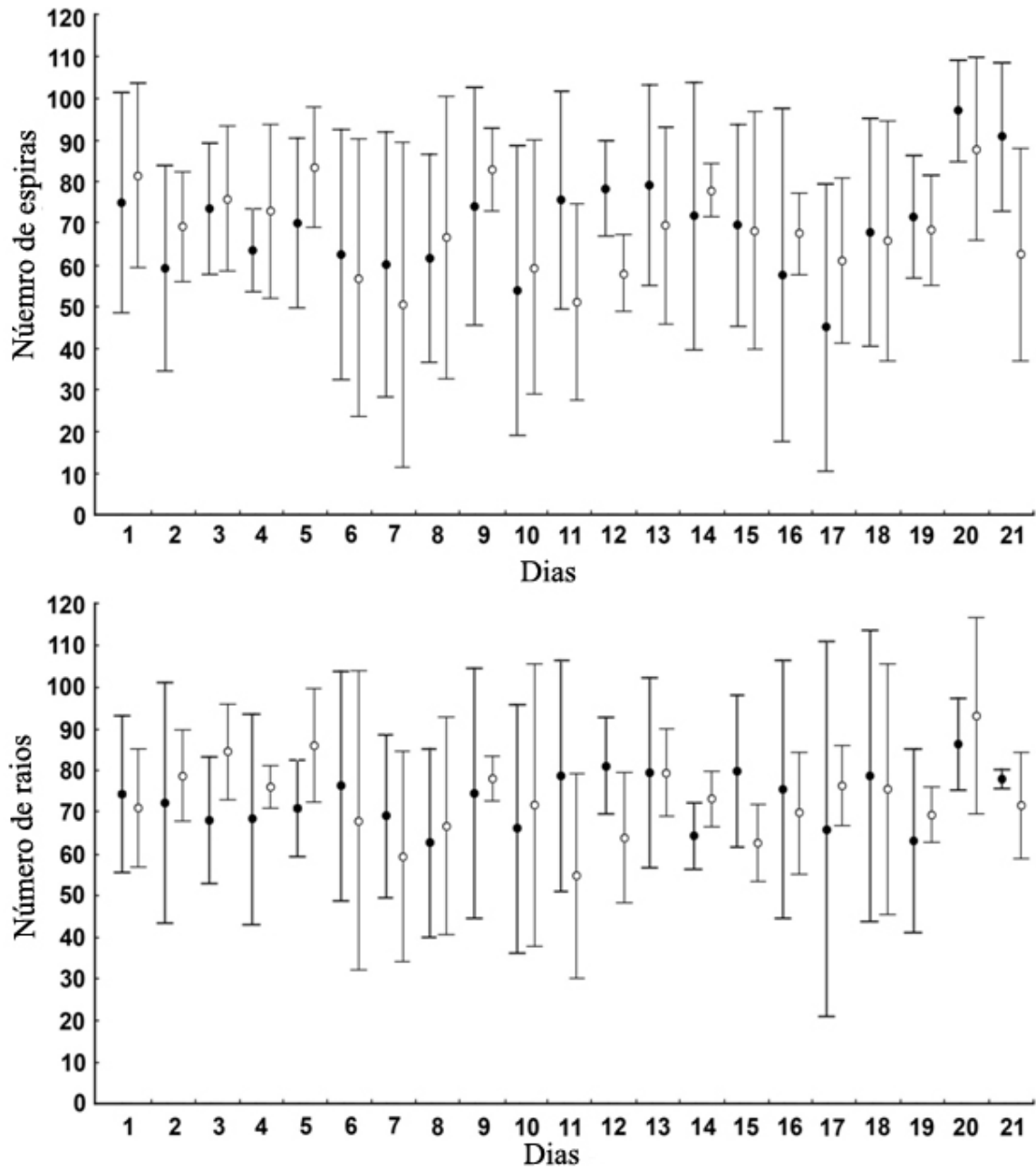
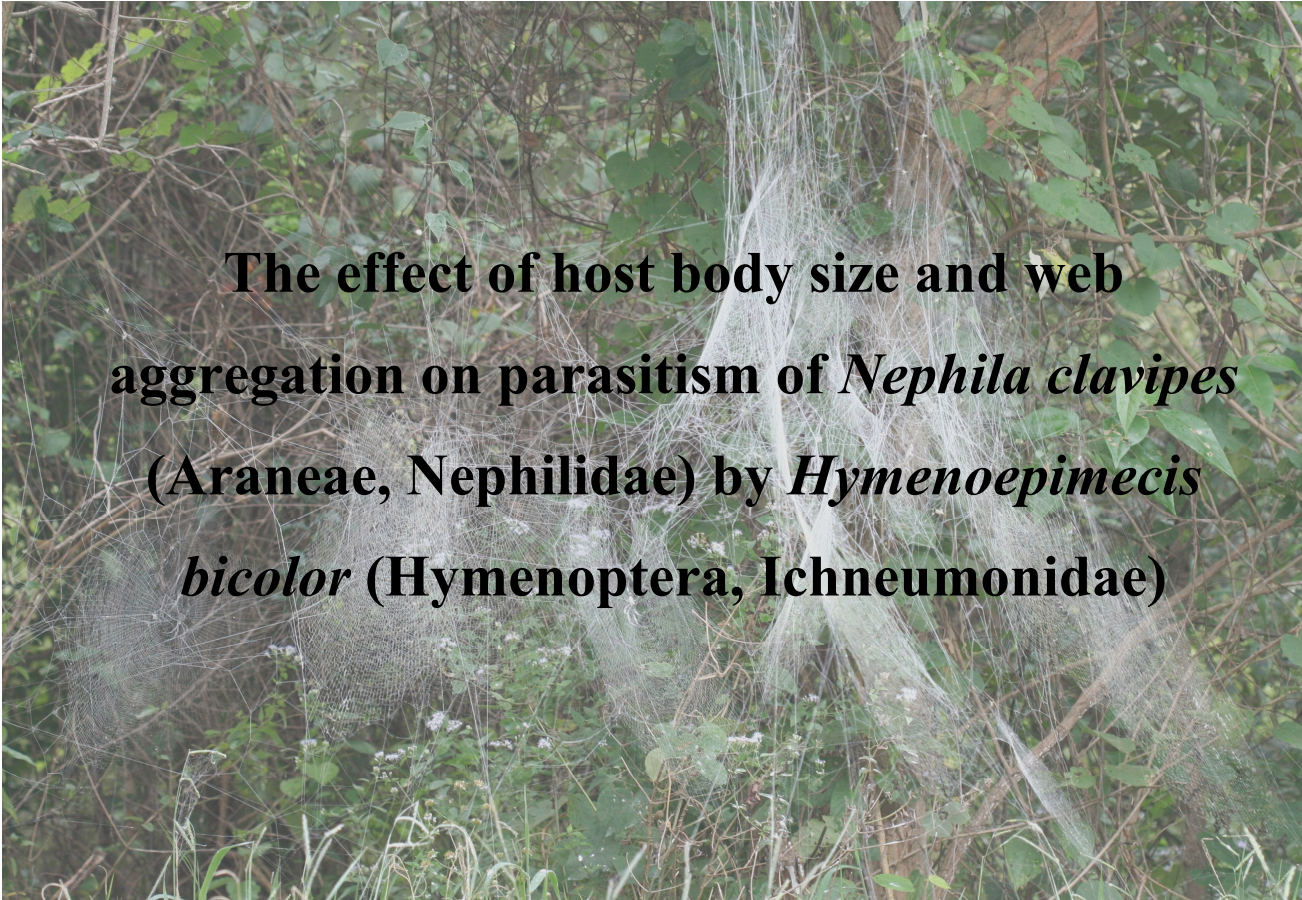


Figura. 5. Número de espiras e raios de teias construídas nos grupos de aranhas alimentadas e não alimentadas durante o período de 21 dias de experimento. ANOVA de medidas repetidas. Círculos pretos: aranhas com presa; círculos brancos: aranhas sem presa.

CAPÍTULO III



The effect of host body size and web aggregation on parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Nephilidae) by *Hymenoepimecis bicolor* (Hymenoptera, Ichneumonidae)

Abstract

Animals living in groups may experience reduced risks of predation and parasitism due to encounter, dilution and early warning effects. Even in groups, however, some individuals may be subject of most attack attempts, depending on their size and/or position occupied within the aggregation. In this study we described the interaction between the parasitoid wasp *Hymenoepimecis bicolor* and its host, the spider *Nephila clavipes*. We described *H. bicolor* males for the first time and tested whether the probability of parasitism is influenced by host size and/or by the number of webs in the aggregations. All the 20 parasitized spider females located presented intermediate and, specially, small sizes. The number of connected webs in aggregations, on the other hand, did not influence significantly the probability of parasitism. During the attack the wasp darts at the spider, grabs it and inserts the tip of the ovipositor into its mouth. After the immobilization the wasp repeatedly rubs the ovipositor over the dorsal surface of the spider's abdomen and lays one single egg, released directly from the genital opening. The higher incidence of parasitism in relatively small spider females possibly results from host selection or from a higher ability of large spiders to avoid ovipositing wasps or to remove the eggs. The barrier webs and the complex structure of web aggregations are not completely effective against direct attacks of parasitoid wasps.

Key words: *Hymenoepimecis*, *Nephila*, parasitoid, body size, spider aggregations.

Introduction

Some spider species form web aggregations in which each individual defends its own orb and all the prey items intercepted in this hunting area, but several group members contribute to the construction of a communal silk framework (Uetz & Hieber 1994, Whitehouse & Lubin 2005). The collective web structure of these colonial spiders may improve individual prey capture as insects ricochet among webs (Uetz 1988, 1989), allows the exploitation of new habitats (Lubin 1974) and/or resources (Lubin 1974, Hodge & Uetz 1996), represents an economy of silk expenditure (Buskirk 1981, Lloyd & Elgar 1997) and may reduce the risks of predation (Hodge & Uetz 1992, Uetz & Hieber 1994, Henschel 1998). Hodge & Uetz (1992), for example, compared the frequency of predation attempts on solitary, intraspecifically aggregated and mixed-species groups of *Nephila clavipes* in Mexico. They observed that solitary females experienced a greater frequency of predation attempts and suggested two alternative explanations to this pattern: (1) the low frequency of attacks on groups may be related to hesitation on the part of wasps or birds, and (2) females in groups are larger and there may be limits to the size of the spiders attacked. Additionally, the barrier threads of many webs in aggregations constitute a complex structure that may prevent predators and/or parasites to reach the spiders, acting as an early-warning system (see Uetz *et al.* 2002) and, perhaps, as a physical obstacle preventing direct attacks.

Large groups of animals may, however, constitute conspicuous targets for some predators and parasites. Avilés & Tufiño (1998), for example, found a high incidence of egg-sac parasitism and a higher probability of infestation by a eulophid wasp on large colonies of *Anelosimus eximius* (Theridiidae). Smith (1982) also observed a positive relationship between colony size and egg-sac parasitism by *Arachnopteromalus dasys* (Pteromalidae) in *Philoponella oweni* (Uloboridae). Hieber & Uetz (1990) found that the ichneumonid wasp

Tromatobia sp. is most successful at attacking colonies of *Metepeira incrassata* of intermediate size. They suggested that this wasp is either unable to locate or successfully attack egg-sacs in small colonies, and that early warning alarms accounts for the declining success at the very large colonies.

In addition to the number of spiders in a group, the size of each individual may constitute an important variable determining the susceptibility to attacks. Gonzaga & Sobczak (2007) and Fincke *et al.* (1990) observed that females of the parasitoid wasps *Hymenoepimecis* sp. and *H. robertsae* attack mostly small and intermediate sized spiders. They argued that large individuals might be difficult to immobilize and/or manipulate, although represent a higher amount of resources for the growing larva.

Small spiders are usually found in marginal positions within the aggregations. Rayor & Uetz (1990), for example, showed that the largest members of *Metepeira incrassata* (Araneidae) groups maintain their central and relatively well protected positions within the colonies through aggressive interactions. Small individuals are found on the periphery, where attacks by wasps, hummingbirds and other spiders are more frequent. Alves-Costa & Gonzaga (2001) also observed that small individuals of *Philoponella vittata* (Uloboridae) usually construct their webs at exposed positions while large individuals usually remain in the core of the groups. This pattern of spatial distribution may reduce the possible advantage of being in a group for the smallest individuals.

In this study we described the interaction between *Hymenoepimecis bicolor* and its host for the first time, testing the contribution of host aggregation and host size in determining the risks of parasitism. We also described the unknown males of *H. bicolor* and the attacking and egg laying behaviors of this wasp on *N. clavipes* females.

Study species

Host

Nephila clavipes is a large cosmopolitan orb-weaver spider. Females usually occurs both in solitary webs and aggregated at the same localities (Farr 1977, Hodge & Uetz 1992), most commonly spinning their webs on wide spaces at forest borders, tree gaps or river margins. Adult males can be found in the barrier threads or in the orbs of female's webs and several males usually share the same web, continuously fighting for dominance positions (Christenson *et al.* 1985, Vincent & Lailvaux 2006).

It may present two generations per year at some localities (Lubin 1978, Vollrath 1980) or, as occurs in Serra do Japi, a single generation per year, with mature adults peaking in late wet season (March-April) (M.O.G. unpublished data).

Parasitoid

Hymenoepimecis is a neotropical genus, comprising nine described species of koinobiont ectoparasitoids of immature and adult spiders (Yu & Horstmann 1997, Gauld 2000). Data from the four species that occur in Costa Rica (*H. argyraphaga*, *H. tedfordi*, *H. robertsae* and *H. heidyae*) (Gauld 2000) and from an undescribed Brazilian species (Gonzaga & Sobczak 2007) indicate that females of *Hymenoepimecis* lay their eggs exclusively on orb-weaver spiders (families Araneidae, Tetragnathidae and Nephilidae). Hosts of four species described from Cuba (*H. atriceps*), Brazil (*H. heteropus*) and Guiana (*H. cameroni* and *H. neotropica*), however, are unknown and we present here the first record of the host species of *H. bicolor*. According to Gauld & Dubois (2006) spiders generally are attacked by the wasps

whilst sitting in the web. After consume their hosts the wasps spun golden fusiform cocoons that remain attached to the webs.

Voucher specimens of *Hymenoepimecis bicolor* were deposited in the collection of Universidade Federal de São Carlos (DCBU - curator A.M.Penteado-Dias), São Carlos, SP, Brazil.

Materials and Methods

Fieldwork was conducted in March 2007 at Serra do Japi (23°15'S, 46°57'W), an area of subtropical forest located in Jundiá, state of São Paulo, Brazil. We inspected 166 subadult and adult females of *Nephila clavipes* and 183 adult males, distributed at the edges of a road in the area known as “DAE”, searching for larvae of *Hymenoepimecis* attached to spider's abdomens. Females were located in solitary webs or in aggregations composed of 2-7 interconnected individual webs. All the males were found at the barrier threads or in the orbs of female's webs. During the sampling period we recorded six attacks of wasps on *N. clavipes* females.

Spider size (abdominal length) and number of webs connected in the aggregations were used as predictor variables of parasitism susceptibility in a stepwise multiple logistic regression analysis (see Hosmer & Lemeshow 2000). The criterion for retaining a variable in the model was $P < 0.05$. We used the abdominal length to evaluate spider size because this variable was highly correlated with the female's weight ($r = 0.88$, $n = 15$, $P < 0.001$, $\text{Weight}_{\text{mg}} = 92.3 \times \text{Width}_{\text{mm}} - 77.1$) and male's weight ($r = 0.87$, $n = 15$, $P < 0.001$, $\text{Weight}_{\text{mg}} = 10.6 \times \text{Width}_{\text{mm}} - 25.7$), and because it could be easily measured at the field site using a caliper rule. These correlations were established by measuring and weighting, in the

laboratory, the first 15 unparasitized *N. clavipes* females and 15 males located. The other spiders included in the analysis were measured at their webs, without manipulation. Males were collected, measured at the field site and released close to the position previously occupied.

Parasitized spiders were collected and maintained in 1.5 x 0.7 x 0.7 m screened outdoor enclosures constructed with bamboo stems. These enclosures were positioned close to the field site, few meters apart from the research station. We provided food (one house fly) to the spiders every other day and collected the adult wasps after they emerge from the cocoons.

Results

Hymenoepimecis bicolor (Brullé, 1846)

(Figure 1)

Male: Length: 14 mm. Fore wings: 0.8 mm. Antenna with 41 joints, lower face about 0.7 times as broad as high, with scattered hairs, coriaceous and striated transversally, presence of small tubercle below the base of scapus; head in dorsal view with gena long, posterior ocelli separated from eyes by 1.2 times its own maximum diameter. The distance from tegula to head is about 0.9 times the distance from tegula to hind margin of propodeum, scutellum in profile convex, mesopleurum smooth and polished, propodeum smooth, polished with two lateral longitudinal carina only posteriorly. Metapleurum and propodeum with scattered hairs, submetapleural carina absent. Fore wing with *cu-a* interstitial to base of *Rs* & *M*, 2 *rs-m* about 0.5 times as long as abscissa of *M* between 2 *rs-m* and 2*m-cua*, vein 3*rs-m* absent; hind wing with distal abscissa of *Cu* 1 meeting *cu-a* closer to *M* than 1*A*. Hind tibia plus tarsus 0.7 times the fore wing length. Metasoma slender, tergite I 2.6 times as long as posteriorly broad, with convergent lateral carina present only anteriorly; sternite I with an apically acute, thorn-

like ventral projection posteriorly, tergite II – IV 1.4 times as long as posteriorly broad with presence of two tubercles, smooth.

Head black, the most part of clypeus pale yellow. Body yellow. Tergite I of metasoma yellow, II-IV yellow with apical margin black, VI + black Sternite I smooth, brownish; II – VI light brown and coraceous. First and second pair of legs yellow, hind pair of legs with femur, tibia and tarsi black. Wings slightly yellowish, fore wings with a slight spot infumated in the apex, pterostigma all yellow.

Frequency of parasitism and wasp/spider interactions

We found 20 parasitized females (12%), occurring in solitary and aggregated webs (Fig. 2), and only 1 parasitized male (0.5%). Nineteen females had only one larva or egg attached and one female had two larvae positioned almost at the same location on the abdomen.

The stepwise logistic regression indicated that only spider size explain the probability of parasitism ($\chi^2= 44.28$, $df=1$, $p<0.001$). Abdominal length entered into the model at $P < 0.05$ ($\beta=-0.862$, $SE=0.184$, $p<0.001$) (Fig. 3), but the variable “number of females in the aggregation” was excluded ($p>0.1$).

We observed the wasps directly flying to the spider’s resting position, at the hub of the web, in four unsuccessful attack attempts. Before each attack the wasps inspected the webs, flying around. In three occasions the spiders immediately dropped to vegetation on a drag line after the initial attack and were followed by the parasitoids. After few minutes flying around their potential hosts (Fig. 4a), the wasps left the site. All those three spiders were above the size of all the other spiders previously found carrying a larva. In the fourth attack the victim

was spider with abdominal length only slightly higher than the abdomen of spiders that are usually attacked (about 13 mm), but the wasp darted at the spider position from the opposite side of the web. The wasp became entangled by the orb threads and was captured and consumed by the spider (Fig. 4b).

We also witnessed two successful attacks on relatively small females (abdominal length 10.5 and 10.0). The initial phases of the attacks were similar to the previously described unsuccessful attempts: the wasps flew around the spiders for 1.5-2 minutes and darted directly to the center of their webs from distances of about 20-30 cm. In the first occasion the spider immediately jumped from the web and was followed and grasped by the wasp, which positioned herself posteriorly and introduced the tip of the ovipositor into the spider's mouth. There was a brief struggle close to the inferior limit of the orb and they fell on the ground. After that the spider remained completely still and the wasp started to inspect carefully her abdomen, performing repeated movements with the ovipositor over the dorsal surface of the spider's abdomen during 29 seconds. When she finished these movements the wasp expelled one egg, pressing the tip of her abdomen against the spider's body. She took approximately 1 minute to expel the egg, which adhered to the anterior portion of the spider's abdomen. Few seconds later the wasp flew away. The paralysis lasted for about 14 minutes.

In the second occasion all the immobilization and egg laying processes took place at the center of the orb web. The wasp attacked and grasped the spider, introducing the ovipositor into her mouth (Figs 5a, b). They remained at this position during 6 minutes. After that the wasp removed the ovipositor, turned around and touched the spider's chelicerae (Fig. 5c) and eyes (Fig. 5d) repeatedly using its mandible. She eventually performed rough movements with her legs during this behavior sequence, which last for about 4 minutes. The spider remained immobile during this interval. After that, the wasp inspected the spider's

abdomen using the ovipositor during 56 seconds and then laid the egg (Figs 5e, f). The spider remained paralyzed for 12 min and 20 sec after the first insertion of the wasp's ovipositor.

Discussion

Although *Nephila* aggregations seem to be structurally more complex than solitary webs, small females in groups were also susceptible to *H. bicolor* attacks. The web threads used as support for the orbs in aggregations probably represent little additional protection to the barrier threads also present in individual webs. In addition, most webs in *N. clavipes* aggregations are exposed, at least in part, to direct attacks from the exterior.

Blackledge *et al.* (2003) argued that wasp (Pompilidae and Sphecidae) predation could represent a directional selective pressure favoring the construction of three-dimensional webs by araneid spiders. Several ichneumonids, however, may have developed specific behaviors to attack their hosts within complex 3-D web structures. This is the case, for example, of the other *Hymenoepimecis* species previously studied at Serra do Japi (Gonzaga & Sobczak 2007). The wasps wait on the barrier threads until the spider leave its refuge (a curled dry leaf) to capture a prey intercepted in the orb. Other members of the *Polysphintini* genus-group (genus *Zatypoda*) were also observed walking on 3-D webs of *Anelosimus jabaquara* and *Anelosimus nigricens* (Theridiidae) at the same locality (M.O.G., unpublished data).

The attacking behavior of *H. bicolor* is distinct. The wasp darts rapidly at host position. Even these direct attacks, however, are well succeed against a host that builds barrier webs and sometimes form complex web aggregations. Eberhard (2000) observed a similar attacking behavior during the interactions of *H. argyraphaga* and *L. argyra*. Fincke *et al.* (1990) did not witness attacks that led *H. robertsae* successfully landing and ovipositing on *N. clavipes*. However, they observed females of *N. clavipes* in the leaf litter or on vegetation

close to the webs, while wasps were resting at the web hub. When the spiders perceived the position occupied by the parasitoid they quickly dropped into the leaf litter and were followed by the wasp, which flew away after flying around the potential host.

We also observed wasps following the spiders after the initial attack. This behavior may be common during the sequence of attacking of *Hymenoepimecis* spp., perhaps to evaluate the size of the potential host or to perform host immobilization outside the web. Our observation of a successful attack at the center of the orb, however, suggests that this sequence is not obligatory in *H. bicolor*. At least some hunting-wasps (Pompilidae, Sphecidae) exploit the behavior of dropping from the web to runaway from predators performed by orb-weaver spiders. Rayor (1997), for example, reported that the hunting-wasp *Poecilopompilus mixtus* (Pompilidae) induce *Metepeira incrassata* to leave webs during the attacks, following the spider to perform the final attack on the ground. Blackledge & Pickett (2000) also observed a similar behavior in the wasp *Sceliphron caementarium* attacking *Argiope aurantia* and *A. trifasciata* (Araneidae). When hunting for these species the wasp bumps into the webs, dropping the spider from it. After this initial attack the wasp pursues the spider, crawling around the vegetation, to perform the capture. An alternative explanation for the behavior of following the spiders is that it would be just a consequence of unsuccessful initial approaching attempts.

Our observations of three incomplete attacks on large females of *N. clavipes* suggest that the initial phase of the attacking sequence, the rapid and direct darting toward the central position occupied by the spiders at their webs, is independent of spider size. The higher incidence of parasitism in relatively small female spiders, however, indicates that large females are not suitable hosts and are avoided by the wasps after the initial attacks or that the attacks on these spiders are ineffective. The same pattern was also observed by Fincke *et al.* (1990) and Gonzaga & Sobczak (2007) for other *Hymenoepimecis* species. Another

possibility is that large spiders may be capable of removing the eggs or larvae more frequently. Fincke *et al.* (1990) mentioned that *H. robertsae* larvae were rarely seen to disappear from *Nephila* females, concluding that size-specific parasitism did not result from differential larval success in this species. We did not evaluate the frequencies of larva and egg disappearance in this study and it is still necessary to inspect large spider's abdomens for signs of removed larvae (bleeding scars) and continuously check spiders with eggs attached during the days after oviposition.

The jabbing and rubbing behaviors using the tip of the ovipositor against the spider abdomen probably have the function of locating and removing another egg or larva previously deposited by another wasp. Gonzaga & Sobczak (2007) recorded the same behavior in another species of *Hymenoepimecis* while attacking *Araneus omnicolor*. In that case the wasp removed an egg before laying its own. The same sequence of movements were observed by Matsumoto, during 25 minutes, in an attack of *Reclinervellus tuberculatus* (Ichneumonidae) on *Cyclosa octotuberculata* (Araneidae) in Japan and by Fincke *et al.* (1990) and Eberhard (2000) on *H. robertsae* and *H. argyraphaga*, respectively. The function of touching the spider's chelicerae and eyes with the mandible is not clear and we need to confirm if this behavior is common during the immobilization process.

Acknowledgements

This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (proc. 06/59810-8 and 07/50731-0 to M.O. Gonzaga), Katherine McLennan Brown Charitable Foundation (Fundação FMB) and CNPq (research grants to J.F.Sobczak), CNPq (proc. 300539/94-0 to J. Vasconcellos-Neto) and FAPESP and CNPq to Angélica M. P. M. Dias. We also thank Prefeitura Municipal de Jundiá and the staff of Base de Estudos de Ecologia e Educação Ambiental da Serra do Japi.

References

- Alves-Costa, C. P., and Gonzaga, M. O. (2001). Prey capture and spatial distribution of *Philoponella vittata* (Araneae Uloboridae) in host webs. *Ethol. Ecol. Evol.* 13:239-246.
- Avilés, L., and Tufiño, P. (1998). Colony size and individual fitness in the social spider *Anelosimus eximius*. *Amer. Nat.* 152:403-417.
- Blackledge, T. A., Coddington, J. A., and Gillespie, R. G. (2003). Are three-dimensional spider webs defensive adaptations? *Ecol. Lett.* 6:13-18.
- Blackledge, T. A., and Pickett, K. M. (2000). Predatory interactions between mud-dauber wasps (Hymenoptera: Sphecidae) and *Argiope* (Araneae: Araneidae) in captivity. *J. Arachnol.* 28:211-216.
- Buskirk, R.E. (1981). Sociality in the Arachnida. In Hermann, H. R. (ed.), *Social insects*, Academic Press, New York, pp. 281-367.
- Christenson, T. E., Brown, S. G., Wenzl, P. A., Hill, E. M., and Goist, K.C. (1985). Mating behavior of the golden-orb-weaving spider, *Nephila clavipes* 1: Female receptivity and male courtship. *J. Comp. Psychol.* 99:160-166.

- Eberhard, W. G. (2000). The natural history and behavior of *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a parasitoid of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae). *J. Hymenopt. Res.* 9:220-240.
- Farr, J. A. (1977). Social behavior of the golden silk spider, *Nephila clavipes* (Linnaeus) (Araneae, Araneidae). *J. Arachnol.* 4:137-144.
- Fincke, O. M., Higgins, L., and Rojas, E. (1990). Parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae) by an ichneumonid (Hymenoptera, Polysphinctini) in Panama. *J. Arachnol.* 18:321–329.
- Gauld, I. D. (2000). The re-definition of pimpline genus *Hymenoepimecis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) with a description of a plesiomorphic new Costa Rican species. *J. Hymenopt. Res.* 9:213–219.
- Gauld, I. D., and Dubois, J. (2006). Phylogeny of the *Polysphincta* group of genera (Hymenoptera: Ichneumonidae; Pimplinae): a taxonomic revision of spider ectoparasitoids. *Syst. Entomol.* 31:529–564.
- Gonzaga, M. O., and Sobczak, J. F. (2007). Parasitoid-induced mortality of *Araneus omnicolor* (Araneae, Araneidae) by *Hymenoepimecis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) in southeastern Brazil. *Naturwissenschaften* 94:223-227.

- Henschel, J.R. (1998). Predation on social and solitary individuals of the spider *Stegodyphus dumicola* (Araneae, Eresidae). *J. Arachnol.* 26:61-69.
- Hieber, C. S., and Uetz, G. W. (1990). Colony size and parasitoid load in two species of colonial *Metepeira* spiders from Mexico (Araneae: Araneidae). *Oecologia* 82:145-150.
- Hodge, M. A., and Uetz, G. W. (1992). Antipredator benefits of single- and mixed-species grouping by *Nephila clavipes* (L.) (Araneae, Tetragnathidae). *J. Arachnol.* 20:212-216.
- Hodge, M. A., and Uetz, G. W. (1996). Foraging advantages of mixed-species association between solitary and colonial orb-weaving spiders. *Oecologia* 107:578-587.
- Hosmer, D. W., and Lemeshow, S. (2000). *Applied logistic regression*. John Wiley & Sons, New York.
- Lloyd, N. J., and Elgar, M. A. (1997). Costs and benefits of facultative aggregating behaviour in the orb-spinning spider *Gasteracantha minax* Thorell (Araneae: Araneidae). *Aust. J. Ecol.* 22: 256-201.
- Lubin, Y. D. (1974). Adaptive advantages and the evolution of colony formation in *Cyrtophora* (Araneae: Araneidae). *Zool. J. Linn. Soc.* 54:321-339.

- Lubin, Y. D. (1978). Seasonal abundance and diversity of web-building spiders in relation to habitat structure on Barro Colorado Island, Panama. *J. Arachnol.* 6:32-51.
- Matsumoto, R., and Konishi, K. (2007). Life histories of two ichneumonid parasitoids of *Cyclosa octotuberculata* (Araneae): *Reclinervellus tuberculatus* (Uchida) and its new sympatric congener (Hymenoptera: Ichneumonidae: Pimplinae). *Entomol. Sci.* 10:267-278.
- Rayor, L. S. (1997). Attack strategies of predatory wasps (Hymenoptera: Pompilidae: Sphecidae) on colonial orb web-building spiders (Araneidae: *Metepeira incrassata*). *J. Kans. Entomol. Soc. Supp.* 69:67-75.
- Rayor, L. S., and Uetz, G.W. (1990). Trade-offs in foraging success and predation risk with spatial position in colonial spiders. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 27:77-85.
- Rypstra, A. L. (1985). Aggregations of *Nephila clavipes* (L.) (Araneae, Araneidae) in relation to prey availability. *J. Arachnol.* 13:71-78.
- Smith, D. R. (1982). Reproductive success of solitary and communal *Philoponella oweni* (Araneae: Uloboridae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11:149-154.

- Uetz, G. W. (1988). Group foraging in colonial web-building spiders. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 22:265-270.
- Uetz, G. W. (1989). The “ricochet effect” and prey capture in colonial spiders. *Oecologia* 81:154-159.
- Uetz, G. W., and Hieber, C. S. (1994). Group size and predation risk in colonial web-building spiders: analysis of attack abatement mechanisms. *Behav. Ecol.* 5:326-333.
- Uetz, G. W., Boyle, J., Hieber, C. S., and Wilcox, R. S. (2002). Antipredator benefits of group living in colonial web-building spiders: the ‘early warning’ effect. *Anim. Behav.* 63:445-452.
- Vincent, S. E., and Lailvaux, S. P. (2006). Female morphology, web design, and the potential for multiple mating in *Nephila clavipes*: do fat-bottomed girls make the spider world go round? *Biol. J. Linn. Soc.* 87:95-102.
- Vollrath, F. (1980). Male body size and fitness in the web building spider *Nephila clavipes*. *Z. Tierpsychol.* 53:61-78.

Whitehouse, M. E. A., and Lubin, Y. (2005). The functions of societies and the evolution of group living: spider societies as a test case. *Biol Rev.* 80:1-15.

Yu, D., and Horstmann, K. (1997). Catalogue of world Ichneumonidae (Hymenoptera). *Mem. Amer. Ent. Inst.* 58:1-1558.

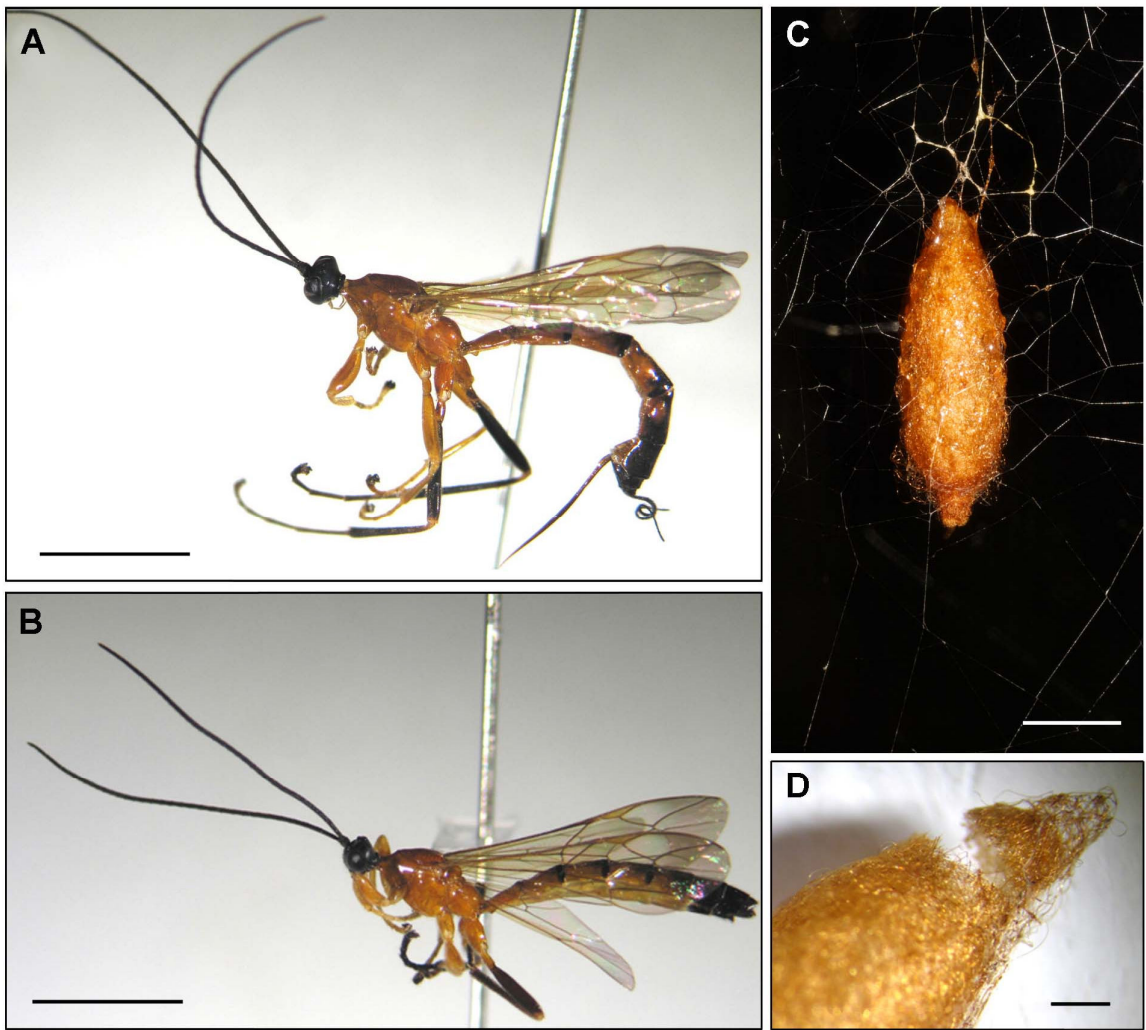


Figure 1. A-D. *Hymenoepimecis bicolor*: A, female; B, male; C, D, cocoons. Scales: 0.5cm.

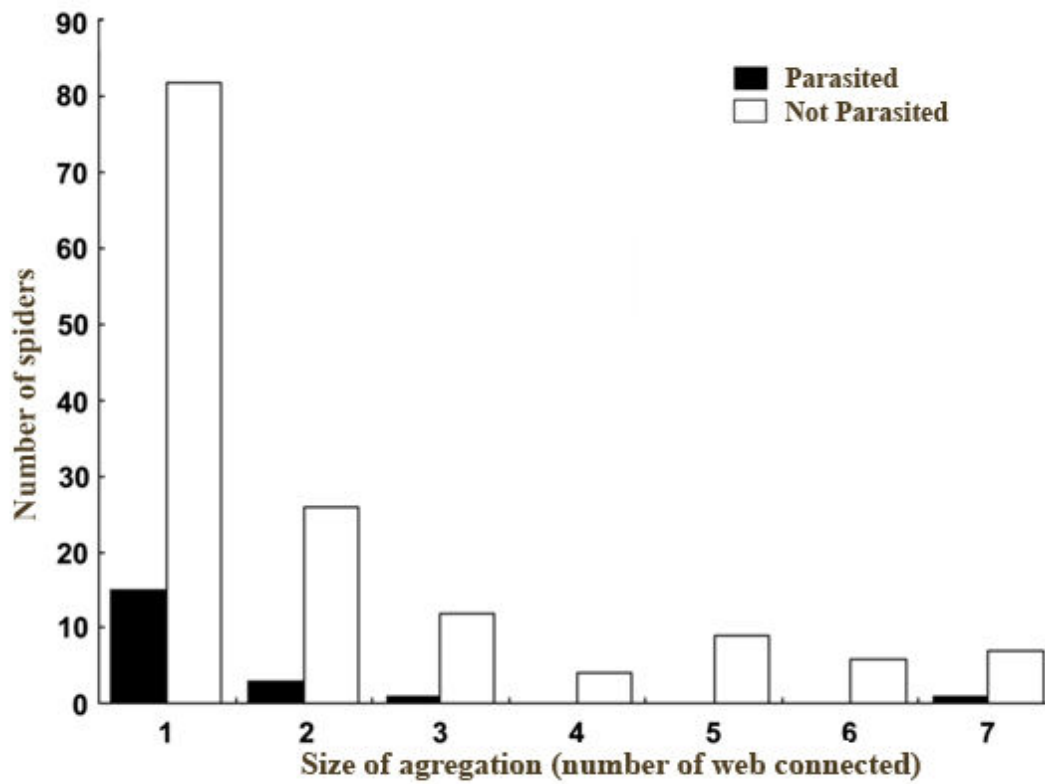


Figure. 2. Number of *Nephila clavipes* individuals located with and without larvae attached in solitary and aggregated webs.

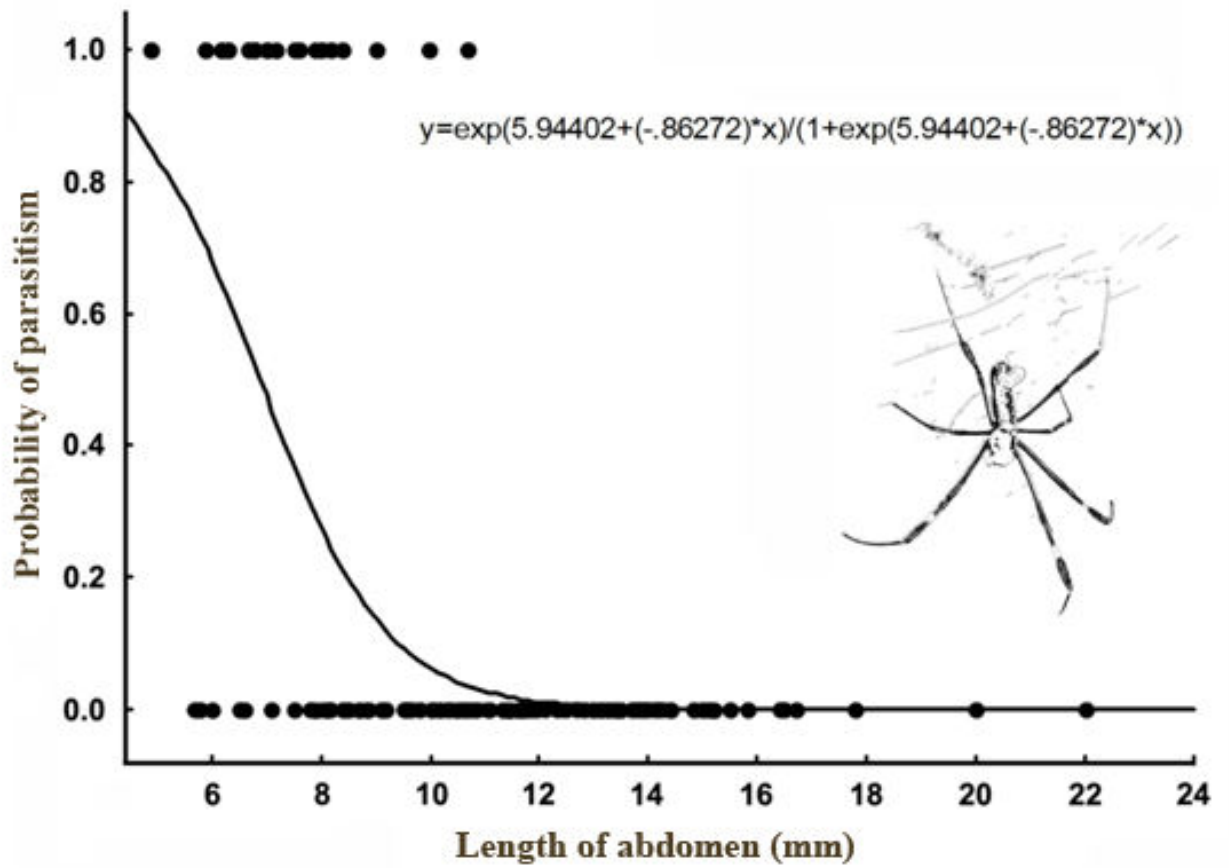


Figure 3. Data on host female size and probability of parasitism.

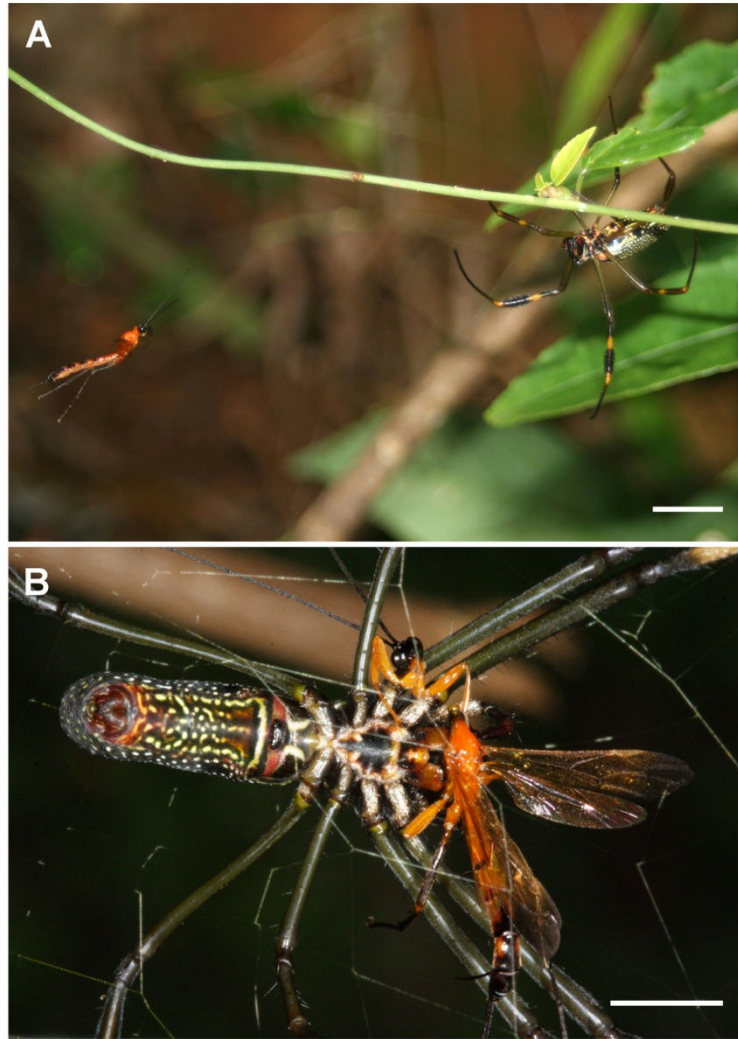


Figure. 4 . A-B. Unsuccessful attack attempts: A, wasp inspecting a large female of *N. clavipes* at vegetation after the initial attack; B, a female spider consuming the wasp that became entangled in the web.

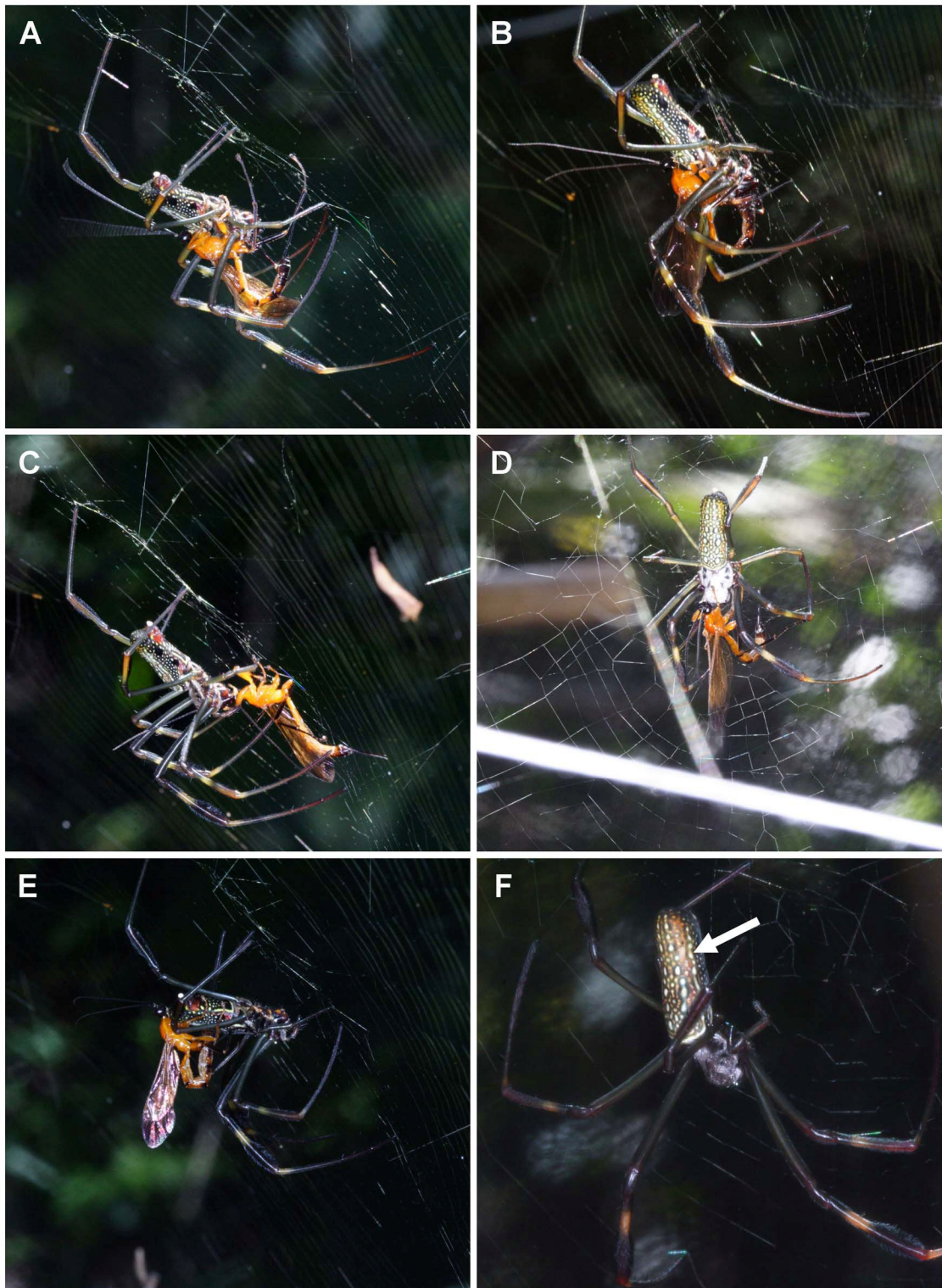


Figure 5. A-F. Wasp behavior during host immobilization and oviposition: A, the wasp inserts the tip of the ovipositor into the spider's mouth; B, they remain in this position until the spider became completely immobile; C-D, the wasp then removes its ovipositor and starts to inspect the spider's body; E, after a series of movements rubbing its ovipositor against the spider's abdomen, the wasp lays one egg from the genital opening; F, the egg remain attached on the surface of the abdomen and the spider starts to perform slow movements.

DISCUSSÃO GERAL

No primeiro capítulo foram descritas duas novas espécies de *Hymenoepimecis* com notas sobre novos casos de manipulação comportamental de hospedeiros envolvendo o gênero *Hymenoepimecis* e aranhas do gênero *Leucauge* (Tetragnathidae) e *Manogea* (Araneidae). A teia modificada de *Leucauge roseosignata* construída sobre a influência do parasitóide *Hymenoepimecis* n. sp.1 é muito similar a teia modificada construída por *L. argyra* descrita por Eberhard (2001), contendo o casulo de *H. argyraphaga*. A teia modificada é composta por três fios de sustentação que são ancorados na vegetação e uma pequena área central onde é fixado através de um fio suspenso, o casulo do parasitóide. A arquitetura da teia de indivíduos parasitados difere de teias normais pela ausência da região orbicular usada para a captura de presas. Essa região orbicular é importante para a captura de presas em aranhas não parasitadas. As modificações da teia realizada por fêmeas parasitadas de *L. roseosignata* indicam que a modificação comportamental de *L. argyra* descrita por Eberhard (2000a, b; 2001) não é o único caso de manipulação comportamental com alteração da arquitetura da teia dentro do gênero *Hymenoepimecis*. Eberhard (2001) sugere que a alteração na teia de *L. argyra* ocorre como consequência da inoculação de algum composto químico pela larva do parasitóide e o mesmo pode ocorrer em *L. roseosignata*.

Essa modificação pode trazer alguns benefícios para a sobrevivência da pupa. Uma teia normal composta por vários raios e espiras, normalmente intercepta presas, essas presas poderiam derrubar o casulo no solo o que colocaria em risco a sobrevivência da pupa. Outro fator importante para ocorrer a modificação da teia esta relacionado com a resistência dessa estrutura, uma teia normal é muito frágil, e necessita ser construída e reparada diariamente pela aranha. Como a larva consome toda a aranha não haveria como a teia ser reparada, uma vez sem reparo a teia seria destruída nos primeiros dias depois da morte da aranha. Vale

destacar que essa modificação pode conferir também uma proteção contra o ataque de inimigos naturais. Matsumoto (2008) observou que as teias de *A. limbata* quando modificadas são capazes de restringir o acesso de formigas que atacam o casulo do parasitóide *Brachyzapus nikkoensis*.

Na segunda espécie descrita, *Hymenoepimecis* n. sp.2 parasitando *Manogea porracea*, não observamos nenhuma alteração no formato padrão da teia. A teia característica desta espécie apresenta uma parte orbicular horizontal, no centro, que é circundada por fios de barreira, conferindo uma estrutura tridimensional à teia. A larva constrói o casulo fora da região orbicular, em meio aos fios irregulares. Essa estrutura irregular de fios possivelmente é mais resistente à fatores abióticos e talvez forneça também proteção à pupa de *Hymenoepimecis* contra o ataque de hiperparasitóides. Apesar de não termos registrado alterações na arquitetura da teia, observamos que o casulo do parasitóide ocupa uma posição na teia distinta daquela normalmente ocupada pela fêmea. Isso pode significar que o parasitóide induz o deslocamento da fêmea para uma local mais protegido, em meio ao complexo de fios irregulares que fica abaixo da rede de captura de presas. Nesse local o parasitóide consome por completo a aranha e constrói o casulo.

Verificamos que a parte orbicular da teia de aranhas com larva de primeiro e segundo instar não apresentam tamanho distinto daquelas de aranhas não parasitadas. As modificações na teia só foram encontradas em aranhas cuja larva havia atingido o terceiro instar, caracterizado pela presença de tubérculos no dorso da larva. Ao atingir o terceiro e último instar a larva aparentemente induz quimicamente a aranha a construir uma teia cuja arquitetura é completamente diferente do padrão usual de teias construídas por *Nephila clavipes*. Essa alteração induzida possivelmente está relacionada com uma maior proteção da pupa do parasitóide.

Para verificar se o estado nutricional afeta a construção da teia como sugerido por Baba (2006) foi realizado um experimento de privação alimentar onde o primeiro grupo era formado por indivíduos parasitados e alimentados, grupo dois, aranhas não parasitadas e alimentadas e grupo três com indivíduos também não parasitados contudo privado de alimentação. Foram 21 dias de experimento onde o grupo de aranhas não parasitadas e privadas de alimento comparado com o grupo de aranhas não parasitadas e alimentadas não apresentaram diferenças no tamanho de suas teias, ou seja, a carência nutricional não induz a modificação da teia como sugerido por Baba (2006).

No terceiro grupo, composto por aranhas parasitadas, observamos que a modificação da teia ocorre apenas nos últimos três dias que antecedem a morte da aranha. A teia só é alterada quando a larva está próxima do momento de empupar. Talvez essa alteração não aconteça antes porque a larva necessita sugar diariamente nutrientes do hospedeiro, e um hospedeiro debilitado não seria capaz de capturar presas, o que diminuiria diretamente o aporte de nutrientes disponível para a larva, afetando o seu desenvolvimento. Existe ainda a possibilidade de que a larva só tenha a capacidade de modificar o comportamento de construção da teia no último instar porque é necessário o amadurecimento das glândulas que secretam as substâncias que irão interferir no comportamento de construção da teia. Qual o papel da modificação da arquitetura da teia para o parasitóide? A resposta pode estar relacionada ao fato de que a modificação da arquitetura da teia pode conferir uma maior proteção ao casulo contra ataques de inimigos naturais, uma vez que a teia modificada é formada por vários fios de barreira, possivelmente diminuindo a exposição a hiperparasitóides ou outros inimigos naturais. A teia modificada também confere uma maior resistência física para suportar o casulo.

Foi mensurado o tempo de destruição da teia de indivíduos parasitados e comparado com o tempo de destruição das teias de indivíduos não parasitados. Em teias modificadas

contendo o casulo do parasitóide o tempo de destruição foi maior, o que corrobora a hipótese de que a modificação da arquitetura da teia confere maior resistência para a fixação do casulo do parasitóide. Assim teias modificadas são mais resistentes ao processo de degradação sem a constante manutenção da teia pela aranha.

Com as aranhas parasitadas utilizadas no experimento de privação alimentar foi registrado o período de desenvolvimento da larva até o momento da eclosão da vespa adulta. O tempo de desenvolvimento foi dividido em quatro fases: ovo, primeiro, segundo e terceiro instar. O ovo de coloração branca amarelada é colocado pela vespa adulta na porção posterior do abdômen da aranha. O primeiro instar é marcado pelo pequeno crescimento da larva e pela ausência dos tubérculos na região dorsal, contudo se diferencia da fase de ovo por apresentar divisões no corpo. Quando a larva atinge o segundo instar já apresenta pequenos pontos amarelos no dorso, indicando que os tubérculos já estão sendo formados. Durante a fase de ovo, primeiro instar e segundo instar a aranha continua capturando presas normalmente. Ao atingir o terceiro e último instar a larva demonstra um crescimento rápido, se comparado com os instares anteriores, apresentando três vezes o tamanho das larvas de primeiro instar. A presença de tubérculos na região dorsal caracteriza o terceiro e último instar do desenvolvimento da larva e são as responsáveis pela fixação da larva na teia modificada após terminar de consumir o hospedeiro. A construção do casulo é iniciada logo após a morte do hospedeiro e leva aproximadamente 24 horas para ficar pronto, variando conforme as condições climáticas do ambiente. O tempo de desenvolvimento da pupa também é variável e pode levar até 19 dias. A eclosão da vespa adulta acontece quando a temperatura ambiente está acima de 25°C.

A agregação de indivíduos possibilita a redução dos riscos de predação devido aos efeitos de diluição, vigilância coletiva, e aumento dos sinais de advertência (Morrell & James

2007). Contudo, aranhas ao formarem agregados estão mais propensas ao ataque de inimigos naturais como parasitóides de ovos (Hieber & Uetz 1990).

Fêmeas de *N. clavipes* foram encontradas em teias solitárias ou em agregados constituídos por 2-7 teias individuais conectadas. Todos os machos encontrados estavam ocupando os fios de barreira ou parte orbicular das teias das fêmeas. Foram encontradas 20 fêmeas parasitadas com tamanho intermediário ou pequeno, em teias solitárias e agregadas e somente um macho parasitado. Dezenove fêmeas tinham somente uma larva ou ovo aderido em seu abdômen e um única fêmea tinha duas larvas. Segundo os dados coletados o número de teias conectadas que formam o agregado não influencia significativamente a probabilidade de parasitismo e tamanho da aranha é o principal fator que explica a probabilidade de uma aranha ser parasitada ou não. Gonzaga & Sobczak (2007) e Fincke *et al.* (1990) já haviam registrado essa mesma preferência por fêmeas menores em duas espécies de *Hymenoepimecis*, *Hymenoepimecis* sp. e *H. robertsae* que atacam preferencialmente aranhas de pequeno porte. Eles argumentam que a alta incidência de parasitismo que ocorre em fêmeas de pequeno tamanho pode estar relacionada com a possibilidade de aranhas grandes serem mais eficientes na remoção dos ovos dos parasitóides ou do ataque da vespa ser pouco eficiente na paralisação de hospedeiros grandes. Contudo um hospedeiro maior ofereceria um maior aporte de nutrientes para o desenvolvimento da larva do parasitóide.

O comportamento de oviposição de *Hymenoepimecis bicolor* consiste em um breve sobrevôo ao redor da teia da aranha por um período variável de tempo (1,5 a 2 minutos). Esse sobrevôo deve estar relacionado ao reconhecimento do tamanho corpóreo do hospedeiro e da posição ocupada pelo hospedeiro na teia. Após esse período a vespa posiciona-se a uma distância de até 30 cm do centro da teia e lança um ataque certeiro na tentativa de imobilizar, no menor tempo possível, a aranha. Ao atingir a aranha, a vespa tenta imobilizá-la introduzindo o ovipositor na sua boca. O ovipositor funciona como um ferrão sendo o

responsável pela injeção de uma substância que paralisa a aranha em poucos segundos. Esse comportamento de imobilização rápida do hospedeiro é muito importante para a sobrevivência da vespa. Desta forma, possuir uma substância que age rapidamente paralisando a aranha é de extrema importância para o sucesso da oviposição. Esse comportamento já havia sido documentado por Gonzaga & Sobczak (2007), em *Hymenoepimecis* sp., que introduz o ovipositor na boca de seu hospedeiro, a aranha *Araneus omnicolor*, paralisando-a rapidamente. O comportamento de introduzir o ferrão na boca do hospedeiro pode estar relacionado com o local de ação da substância paralisante. O ferrão dentro da boca da aranha atinge diretamente o gânglio subesofágico paralisando seus movimentos.. Algo semelhante foi observado em *Ampulex compressa* que introduz o ferrão na cabeça da barata acertando o gânglio e paralisando o hospedeiro (Libersat 2009).

Segundo Blackledge *et al.* (2003) a estrutura complexa de teias em três dimensões, presente em várias espécies de aranhas (entre elas *Nephila clavipes*), está relacionada com a pressão de predação ocasionada por algumas espécies de vespas, entre as quais estão as vespas das famílias Pompilidae e Sphecidae. Contudo, em algumas espécies de aranhas essa estrutura pode até mesmo ser usada pela vespa durante as tentativas de ataque, como registrado por Gonzaga & Sobczak 2007 em *Araneus omnicolor* parasitada por *Hymenoepimecis* sp.. Neste caso o parasitóide usa a região dos fios de barreira para esperar a saída da aranha de seu abrigo. Já em algumas espécies do grupo Polysphintini (gênero *Zatypoda*) o parasitóide pode entrar e locomover-se normalmente pelos fios irregulares. É o que acontece com os parasitóides de *Anelosimus jabaquara* e *Anelosimus nigricens* (M.O. Gonzaga, dados não publicados). Isso significa que uma estrutura de fios mais complexa não necessariamente representa uma barreira contra a aproximação de parasitóides.

CONCLUSÕES

Neste trabalho foram descritos três novos casos de modificação comportamental de hospedeiros induzida por vespas do gênero *Hymenoepimecis*. Em *N. clavipes* atribui-se a modificação comportamental à uma possível inoculação de substâncias pela larva quando esta atinge o terceiro instar, e não devido à carência nutricional do hospedeiro.

O número de teias conectadas nos agregados não influencia significativamente a probabilidade de parasitismo. O que determina se uma aranha será ou não parasitada é o seu tamanho e a posição que ocupa dentro do agregado. A alta incidência de parasitismo em fêmeas de pequeno tamanho, possivelmente é o resultado da seleção do hospedeiros feita pelo parasitóide, ou devido a habilidade que aranhas de tamanho maiores possuem em remover larvas ou ovos do parasitóide. A complexa estrutura formada pela agregação das teias não é completamente efetiva contra ataques diretos do parasitóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baba Y., Miyashita T. 2006. Does individual internal state affect the presence of a barrier web in *Argiope bruennichii* (Araneae: Araneidae)? *J. Ethol.* 24: 75-78.
- Blackledge T. A., Coddington J. A. and Gillespie R. G. 2003. Are three-dimensional spider webs defensive adaptations? *Ecol. Lett.* 6:13-18.
- Dubois, J., Rollard, C., Villemant, C. and Gauld, I. D. 2002. The phylogenetic position of parasitoids of spiders within Pimplinae (Hymenoptera, Ichneumonidae). In: Samu F, Szinetár Cs (eds) *Proceedings of the 20th European Colloquium of Arachnology*. Plant Protection Institute and Berzsenyi College, Budapest, pp 27–35.
- Eberhard W. G. 2000a. The natural history and behavior of *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera: Ichneumonidae) a parasitoid of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae). *J. Hymenopt. Res.* 9:220-240.
- Eberhard W. G. 2000b. Spider manipulation by a wasp larva. *Nature* 406:255-256

- Eberhard W. G. 2001. Under the influence: webs and building behavior of *Plesiometea argyra* (Araneae, Tetragnathidae) when parasitized by *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *J. Arachnol.* 29:354-366.
- Fincke O. M., Higgins L. and Rojas E. 1990. Parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae) by an ichneumonid (Hymenoptera, Polysphinctini) in Panama. *J. Arachnol.* 18:321–329.
- Gonzaga M. O. and Sobczak J. F. 2007. Parasitoid-induced mortality of *Araneus omnicolor* (Araneae, Araneidae) by *Hymenoepimecis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) in southeastern Brazil. *Naturwissenschaften* 94:223-227.
- Gauld I. 2000. The re-definition of pimpline genus *Hymenoepimecis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) with a description of a plesiomorphic new Costa Rican species. *J. Hymenopt. Res.* 9:213–219.
- Gauld I. D. and Dubois J. 2006. Phylogeny of the Polysphincta group of genera (Hymenoptera: Ichneumonidae; Pimplinae): a taxonomic revision of spider ectoparasitoids. *Syst. Entomol.* 31:529–564.
- Gauld, I. D. 1991. The Ichneumonidae of Costa Rica. In. *Memories of the American Entomological Institute.* 47: 1- 589.

- Henschel, J. R. 1998. Predation on social and solitary individuals of the spider *Stegodyphus dumicola* (Araneae, Eresidae). *J. Arachnol.* 26:61-69.
- Hieber C. S. & Uetz G. W. 1990 Colony size and parasitoid load in two species of colonial *Metapeira* spiders from Mexico (Araneae: Araneidae). *Oecologia* 82, 145-50.
- Hodge, M. A., and Uetz, G. W. 1992. Antipredator benefits of single- and mixed-species grouping by *Nephila clavipes* (L.) (Araneae, Tetragnathidae). *J. Arachnol.* 20:212-216.
- Janzen, D. H. 1981. The peak in North American Ichneumonid species-richness lies between 38° and 42°N. *Ecology.* 62:532-537.
- Jesus, R. M. 1988. A Reserva Florestal da CVRD. In *Anais do VI Congresso Florestal Estadual*, Vol. 1, Nova Prata, RS, Brasil, PP. 59-112.
- Libersat F., Delago A., Gal R. 2009. Manipulation of host behavior by parasitic insects and insect parasites. *Annu. Rev. Entomol.* 54. 189-207.

- Matsumoto R. 2008. "Veils" Against predators: Modified web structure of a host spider induced by an Ichneumonid parasitoid, *Brachyzapus nikoensis* (Uchida) (Hymenoptera). *J. insect Behav.*
- McSweeney, M. T., & Porter, A. C. 1971. Small sample properties of nonparametric index of response and rank analysis of covariance. *Annual meeting of the American Educational Research Association.*
- Morrel J. L and James R. 2007. Mechanisms for aggregation in animals: rule success depends on ecological variables. *Behav. Ecol.* 27.
- Opell B. D. 1998. Economics of spider orb-webs: the benefits of producing adhesive capture thread and of recycling silk. *Fun. Ecol.* 12:613-624.
- Rayor L. S. 1997. Attack strategies of predatory wasps (Hymenoptera: Pompilidae: Sphecidae) on colonial orb web-building spiders (Araneidae: *Metepeira incrassata*). *J. Kans. Entomol. Soc. Supp.* 69:67-75.
- Rodrigues, R.R. and Shepherd, G.J. 1992. Análise da variação estrutural e fisionômica da vegetação e características edáficas, um gradiente altitudinal na serra do Japi. In: Morellato, L.P.C.(ed.). *História Natural da Serra do Japi – Ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. Editora da Unicamp, Campinas.

- Sherman P. M. 1994. The orb-web: An energetic and behavioural estimator of a spider's dynamic foraging and and reproductive strategies. *Anim Behav.* Vol. 48, no. 1, pp. 19-34.
- Uetz, G. W., and Hieber, C. S. 1994. Group size and predation risk in colonial web-building spiders: analysis of attack abatement mechanisms. *Behav. Ecol.* 5:326-333.
- Wahl, D., and Gauld I. D. 1998. The cladistics and higher classification of the Pimpliformes (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Syst. Entomol.* 23: 265-268.
- Witt P.N., Reed C., Peakall D. B 1968. *A spider's Web* Springer, New York.