

Estratégia reprodutiva da aranha-marrom *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão (1934) (Araneae; Sicariidae): funcionalidade de estruturas secundárias das espermatecas

Reproductive strategy of the brown spider Loxosceles intermedia Mello-Leitão (1934) (Araneae; Sicariidae): functionality of spermathecae secondary structures

Marta Luciane Fischer^{1*}, Vanessa de Oliveira Amaral²

¹*Bióloga pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC-PR, Mestre, Doutora em Zoologia e Professora Titular– PUC-PR;* ²*Bióloga pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC-PR*

Resumo

Introdução: a aranha-marrom *Loxosceles intermedia* é responsável por milhares de acidentes todos os anos em Curitiba. Uma das hipóteses refere-se à associação do sucesso reprodutivo estar atrelado à presença de espermatecas com estruturas secundárias. **Objetivo:** relacionar o padrão da genitália de *L. intermedia* com sua fecundidade. **Método:** 30 Machos e 30 fêmeas virgens foram pareados e registrados os parâmetros copulatórios. Após a fertilização, a fêmea foi monitorada e registradas as oviposições e fertilidade. **Resultados:** 25 fêmeas ovipositaram totalizando 50 ootecas, com 80% de eclosão, totalizando 2031 ovos e 1654 filhotes. Dos receptáculos analisados, 78% possuíam duas estruturas, 9% três e 12% quatro. Das variáveis analisadas, apenas o tempo despendido na cópula, o peso da fêmea e a quantidade de ootecas apresentou correlação com a fecundidade. Porém, obteve-se correlação negativa entre o número de inserções e a quantidade de ootecas e de ovos, sugerindo relação com dificuldades na transferência espermática. Quanto maior o número de receptáculos, menor foi a quantidade de ootecas, refutando a hipótese do estudo. **Conclusão:** a baixa frequência das variações na população e os mesmos resultados obtidos há 30 anos, sugerem que esses fenótipos são mantidos pela funcionalidade, porém a baixa relevância no aumento da fecundidade, mantém as maiores proporções de genitália com apenas dois receptáculos. Desta forma, conclui-se que a fecundidade de *L. intermedia* está relacionada com fatores morfológicos, comportamentais e ambientais.

Palavras-chave: aracnismo; aranha marrom; comportamento reprodutivo; morfologia; loxoscelismo.

Abstract

Introduction: the brown spider *Loxosceles intermedia* is responsible for thousands of accidents yearly in Curitiba. One of the hypotheses refers to the association of reproductive success being linked to the presence of spermathecae with secondary structures. **Objective:** to relate the pattern of the genitalia of *L. intermedia* with its fecundity. **Method:** 30 males and 30 virgin females were paired, and copulatory parameters were recorded. After fertilisation, the female was monitored, and oviposition and fertility were recorded. **Results:** 25 females laid eggs, totalling 50 oothecae, 80% hatching, 2031 eggs and 1654 spider babies. Of the receptacles analysed, 78% had two structures, 9% had three and 12% had four. Of the variables analysed, only the time spent copulating, the female's weight and the number of oothecae correlated with fecundity. However, a negative correlation was obtained between the number of insertions and the number of oothecae and eggs, suggesting a relationship with difficulties in sperm transfer. The greater the number of receptacles, the smaller the number of oothecae, refuting the study hypothesis. **Conclusion:** the low frequency of variations in the population and the same results obtained 30 years ago suggest that these phenotypes are maintained by functionality. However, the low relevance in increasing fertility maintains the highest proportions of genitalia with only two receptacles. Thus, it is concluded that the fecundity of *L. intermedia* is related to morphological, behavioural and environmental factors.

Keywords: arachnidism; Brown spider; reproductive behaviour; morphology; loxoscelism.

INTRODUÇÃO

O gênero *Loxosceles* Heinecken e Lowe, 1832 é cosmopolita e congrega aranhas causadoras de importantes acidentes com humanos¹. De acordo com a World Spider Catalog² no Brasil cinco das 20 espécies registradas ocorrem no Estado do Paraná: *L. adalaida* Gertsch, 1967, *L.*

gauchus Gertsch, 1967; *L. hirsuta* Mello-Leitão, 1931; *L. laeta* (Nicolet, 1849) e *L. intermedia* Mello-Leitão, 1934. O gênero é caracterizado por possuir aranhas pequenas, de coloração em tons de marrom, com pernas longas e finas, ocorrendo naturalmente em cavernas e fendas de tronco de árvores, se alimentando de insetos interceptados por sua teia de cobertura. Os aspectos morfológicos e comportamentais diferem entre as espécies sendo *L. intermedia* mais errante e generalista tanto à alimentação quanto ao substrato para construção de teias, enquanto *L. laeta* é mais sedentária e especialista²⁻⁵.

Correspondente/Corresponding: *Marta Luciane Fischer – Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Escola de Ciências da Vida. Programa de Pós-graduação em Bioética. – End. R. Imac. Conceição, 1155 – Prado Velho, Curitiba – PR, 80215-901. – Tel: 55(41)32711515. – E-mail: marta.fischer@pucpr.br

O gênero caracteriza-se por reunir espécies haplóginas, consideradas primitivas dentre as aranhas, as quais ao contrário das enteleginas, não apresentam uma placa esclerotizada sobre os orifícios genitais; pelas fêmeas possuem apenas um par de canais fertilizantes internos e pelos machos possuem bulbo copulatório simples com estilete variável com a espécie. Uma outra característica refere-se ao comportamento de cópula, pois uma vez que os canais das fêmeas haplóginas são em fundo cego, o macho que copula por último possui vantagens reprodutivas, ao contrário das enteleginas, nas quais os machos preferem fêmeas virgens. A aranha-marrom é classificada como araneomorfas primitivas, devido a posição adotada durante a cópula e inserção simultânea dos êmbolos^{1,6}.

Infestações de aranha-marrom foram registradas em diversos países, uma vez que os substratos antrópicos proporcionam refúgios semelhantes com os naturais, o isolamento térmico e, ainda, disponibilidade de presas que são atraídas pela iluminação artificial e proximidade de áreas verdes e ausência de potenciais predadores e competidores⁵. Os acidentes com a aranha-marrom pode desencadear intoxicações graves, sendo considerado problema de saúde pública no Brasil, Estados Unidos e Chile^{7,8}. No Brasil os acidentes causados por *Loxosceles* vêm sendo considerados a causa mais grave de araneísmo, com a maioria dos casos concentrando-se na região sul do país. Curitiba apresenta uma situação atípica em termos mundiais, registrando cerca de 3.000 casos todos os anos, tendo sua população de aranhas representadas por duas espécies: *L. intermedia* e *L. laeta*, sendo que 90% dos registros são de *L. intermedia*^{3,5,9,10}. Durante décadas foi investigado os motivos que levaram ao fenômeno vivenciado em Curitiba, segundo Fischer⁸ (2022) resulta de uma sinergia das características ambientais de Curitiba que não favoreceram a instalação das aranhas na natureza; às características das edificações, hábitos dos moradores e natureza generalista da espécie dominante.

Dentre os estudos de biologia destaca-se a descrição do comportamento sexual, agonístico, fertilidade e desenvolvimento pós-embriônico¹¹⁻²⁴. Fischer, Vasconcellos-Neto¹⁹ (2005b) monitoram 84 fêmeas de *L. intermedia* submetidas a apenas uma cópula, 75% construíram ooteca, sendo que o número de ovos viáveis foi significativamente relacionado com tempo gasto na cópula e com a idade da fêmea no momento da cópula. O número de ovos viáveis diminuiu nas oviposições sucessivas, sendo as mesmas mais frequentes em fêmeas maiores. Enquanto a duração da incubação foi condicionada pela temperatura e umidade.

A análise da genitália de fêmeas de *L. intermedia* ocorrentes no município de Curitiba foi realizada por Fischer¹⁰ (1994) atestando que 78% apresentavam a estrutura padrão com dois receptáculos seminais, 19% três receptáculos e 0,03% com quatro. Backup²⁵ fez uma análise similar com a variação intraespecífica dos receptáculos seminais de *L. intermedia* procedentes do Rio Grande do Sul, relacionando com distância dos ductos

e fórmula das pernas. Das 60 genitálias analisadas, 55% possuíam apenas duas estruturas e as demais com três ou quatro. Até a presente data essa informação foi utilizada apenas para caracterização sistemática da espécie não sendo questionada a sua funcionalidade. Parte-se da premissa que a elevada população de *L. intermedia* em muitos municípios do Estado do Paraná, em especial Curitiba, seja decorrente da alta taxa de recrutamento e sobrevivência dos filhotes. Esse mecanismo pode ser devido à disponibilidade de abrigos e alimentos, bem como decorrente de uma elevada taxa reprodutiva. Ambos os fatores podem exercer uma ação sinérgica maximizando o sucesso na colonização. Assim, tem-se como hipótese que além dos encontros entre fêmeas e machos não serem ao acaso¹², estratégias para armazenamento dos espermatozoides podem favorecer o aumento no número de descendentes. Caso fêmeas com estruturas secundárias em seus receptáculos genitais tenham mais filhotes, esse poderia ser mais um fator influenciador do sucesso da espécie. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo relacionar o padrão da genitália de *L. intermedia* com a sua fecundidade.

METODOLOGIA

O presente estudo refere-se a uma pesquisa experimental cujas aranhas utilizadas nasceram e foram criadas no laboratório na sala de criação do Núcleo de Estudos do Comportamento Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Grupo de Pesquisa Bioética Ambiental CNPQ/PUCPR, Programa de Pós-graduação em Bioética. As aranhas foram mantidas desde seu nascimento individualizadas em recipientes de 120 ml. Como fator de inclusão as aranhas deveriam ter atingido a maturidade no laboratório, uma vez que todas as cópulas ocorreram entre machos e fêmeas virgens, a fim de eliminar o estoque de espermatozoides como variável da fecundidade. As aranhas passaram pela mesma dieta e condições de manutenção com temperatura média de 25±3 °C e umidade relativa do ar de 70±7%, a fim de eliminar também esses fatores como influenciadores da fecundidade.

Assim, que atingiram a maturidade, machos e fêmeas foram identificados e separados. Nos experimentos o casal virgem foi pareado e a cópula foi monitorada. Antes da cópula foi obtida a medida da tíbia da perna I direita como parâmetro de tamanho e as aranhas foram pesadas. Após o pareamento o casal foi monitorado seguindo os parâmetros avaliados por Fischer, Vasconcellos-Neto^{11,19} (2000;2005b) e Fischer et al.¹² (2009) duração do cortejo e da cópula e comportamento de machos e fêmeas antes, durante e depois da cópula, levando-se em consideração: vibração dos pedipalpos e abdome, toque das pernas anteriores, tentativas de fuga e ataque, predisposição para novas cópulas. Em seguida a fêmea fertilizada foi mantida individualizada, sendo alimentada semanalmente com larva de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1858 (Insecta; Coleoptera) ou ninfa de *Pycnoscelus surinamensis* Linnaeus,

1767 (Insecta; Blattaria). Vistorias semanais verificaram a construção da ooteca, procedendo a separação da fêmea, para não correr o risco de destruição. Enquanto a ooteca foi transposta para ala de incubação, a fêmea foi alocada em outro recipiente, alimentada, direcionada para criação e monitorada até a próxima oviposição. Assim que os filhotes nasceram, foram anestesiados e fixados em álcool e registrada a quantidade de filhotes e de ovos gorados.

As fêmeas foram monitoradas durante oito meses após a cópula baseando-se nos dados de Fischer, Vasconcellos-Netto¹⁹ (2005a), então foram anestesiadas com acetato de etila, fixadas em álcool 70%. As genitálias das fêmeas foram preparadas segundo o método descrito por Fischer¹⁰ (1994) resumidamente: a cutícula que recobre os receptáculos foi retirada com o auxílio de estiletes, sob microscópio estereoscópico e deixado por cerca de um minuto em hidróxido de potássio para a retirada da camada de lipídio. Então a genitália foi colocada sobre lâmina e adicionada uma gota do corante Lugol, o excesso de corante foi retirado com papel absorvente e, no caso de o receptáculo ter ficado muito escuro, adicionado uma gota de álcool 70% (para clarear) sendo o excesso também removido com papel absorvente, após a coloração foi fixada a lamínula utilizando uma gota de Entelan. Como grupo externo para comparação com os dados da pesquisa foi relacionado o número de receptáculos com a quantidade de ootecas e de ovos férteis e gorados de 24 aranhas utilizadas em experimentos anteriores utilizando a mesma metodologia desse estudo e mantidas nas condições ambientais durante oito meses. Essas aranhas foram denominadas de controle e as do presente estudo de experimento I.

Análises estatísticas – Para avaliar o número de receptáculos, utilizou-se o teste estatístico qui-quadrado. Enquanto comparação das médias se deu pelo teste não paramétrico kruskwal-wallis e Mann-Whitney. A fecundidade das fêmeas foi relacionada com variáveis comportamentais da cópula como duração e comportamento, variáveis físicas da aranha e número de receptáculos foram avaliados através da regressão linear e para correlação entre variáveis e parâmetros foi utilizado o teste de correlação de Spearman. Em todos os testes se utilizou o software estatística da Statsoft. A hipótese nula foi a existência de homogeneidade nas comparações entre as variáveis, considerando uma significância de 95% e erro de 5%.

Procedimentos Legais – O presente estudo foi realizado segundo a legislação vigente no país, dotado de autorização para coleta, captura e manutenção das aranhas emitido pelo IBAMA-PR (no. 10846-2) e o aval do Comitê de Ética em uso de animais CEUA-PUCPR (CEPA no. 68). A coleção de referência com três fêmeas e três machos foi tombada na coleção científica do Museu de Zoologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná sob o número: 11721.

RESULTADOS

A obtenção de 32 cópulas foi decorrente dos 38 pareamentos entre machos e fêmeas virgens, sendo variáveis físicas e comportamentais da cópula apresentaram as maiores variações (Tabela 1). Do total de fêmeas copuladas, 78% (N= 25) ovipositaram, somando 50 ootecas. Destas 80% (N= 40) eclodiram, na 1ª oviposição foram registrados seis ootecas secas (Tabela 2).

Tabela 1 – Variáveis ambientais, físicas, da cópula e das oviposições monitoradas na reprodução de *Loxosceles intermedia* para correlacionar com o número de receptáculos seminais (média ± desvio padrão (amostra; mínimo – máximo).

VARIÁVEIS		Média ± DV (N; min.-max)
<i>Ambientais</i>	<i>Temperatura</i>	20 ± 2oC (32; 17,1 – 24)
	<i>Umidade relativa do ar</i>	44,5 ± 10,3% (32; 31-66)
<i>Físicas</i>	<i>Tamanho do macho (tíbia I direita)</i>	6 ± 0,9 mm (28; 5 – 8)
	<i>Tamanho da fêmea (tíbia I direita)</i>	5,2 ± 0,6 mm (32; 4 – 7)
	<i>Peso do macho</i>	53 ± 13 mg (32; 28 – 93)
	<i>Peso da fêmea</i>	119,6 ± 42,4 mg (32; 56 – 213)
	<i>Reconhecimento</i>	5,6 ± 2 seg (32; 2-12)
<i>Cópula</i>	<i>Cortejo</i>	162,6 ± 140,6 seg (32; 12 – 644)
	<i>Cópula</i>	1374,2 ± 695,9 seg (32; 386 – 3414)
	<i>Nº inserções</i>	2,4 ± 1,4 (32; 1 – 6)
<i>Oviposição</i>	<i>Incubação</i>	61,2 ± 21,8 dias (41; 37-151)
	<i>Total de ovos</i>	46,1 ± 16,7 (44; 20 – 84)
	<i>Número de Filhotes</i>	41,35 ± 20,5 (40; 1 – 82)
	<i>Número de ovos gorados</i>	11,8 ± 13,5 (32; 1 – 40)
	<i>Número de ootecas destruídas</i>	2
	<i>Número de ootecas secas</i>	6

Fonte: dados da pesquisa

Das 32 aranhas analisadas no experimento I, 78% (N= 25) continham dois receptáculos, 9% (N= 3) três e 12% (N= 4) quatro, enquanto dos 24 receptáculos do grupo controle 58% (N= 14) exibiram dois, 37% (N= 9) três e apenas 4% (N= 1) quatro estruturas (Figura 1; Tabela 3). Em ambas as amostragens houve prevalência de duas estruturas, contudo na amostragem no grupo controle houve uma frequência significativamente maior de três estruturas ($c^2_{(2)}=22,7; P=0,001$).

Figura 1 – *Imagens dos receptáculos: A) com dois ductos e dois receptáculos seminais; b) com um ducto e receptáculo secundários; C) com dois ductos e receptáculos secundários.*



Fonte: os autores (imagens apresentadas coloridas, contudo pode ser alterada para tons de cinza se adequando aos processos da revista)

Tabela 2 – *Variáveis das oviposições por ooteca total, receptáculo total e por ooteca de L. intermedia para correlacionar com a média de ovos e fecundidade (média ± desvio padrão (amostra; mínimo – máximo).*

VARIÁVEIS		Ovos: Média ± DV (N; min.-max)	Fecundidade Média ± DV (N; min.-max)	Nº secas
Ooteca	1ª ooteca	58,1 ± 15,5 (25; 31 – 84)a	65,7 ± 43,2 (25; 0-100)a	6
Total	2ª ooteca	38,7 ± 10,4 (15; 24-64)b	80,5 ± 28,3 (15; 2,5-100)a	-
	3a ooteca	32,4 ± 7,8 (8; 20-43)b	49,7 ± 49,1 (8; 0-100)a	2
	4a ooteca	30,5 ± 1,5 (2; 29 – 32)b	88,4 ± 2,2 (2; 86,2 – 90,6)a	
		$F_{(40)}=10,8; P<0,001$	NS	
Receptáculo				
Ooteca total	2	90,4 ± 29,7 (21; 42-148)a	74,8 ± 32,3 (21; 0-100)	7
	3	95 ± 21 (2; 74-116)a	86,8 ± 9,2 (2; 77,6 – 95,9)	-
	4	79 (2; 79)a	49,4 ± 49,4 (2; 0 – 98,7)	1
		NS	NS	
1ª ooteca	2	55,1 ± 14,8 (21; 31 – 84)a	64,1 ± 43,2 (21; 0-100)a	5
	3	73,5 ± 0,5 (2; 73 – 74)a	98 ± 2 (2; 95,9 – 100)a	-
	4	79 (2; 79)a	49,4 ± 49,4 (2; 0 – 98,7)a	1
		NS	NS	
2ª ooteca	2	38,3 ± 10,7 (14; 24-64)	83,4 ± 27 (14; 2,5 – 100)	-
	3	43 ± 0 (1; 43)	39,5 ± (1; 39,5)	-
	4	-	-	-
3a ooteca	2	32,4 ± 7,8 (8; 20 – 43)	49,7 ± 49,1 (8; 0 – 100)	2
	3	-	-	-
	4	-	-	-
4a ooteca	2	30,5 ± 1,5 (2; 29 – 32)	88,4 ± 2,2 (2; 86,2 – 90,6)	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-

*As médias foram comparadas por meio dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, sendo os valores significativamente distintos ($P<0,05$) representados por letras diferentes.

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 3 – Variáveis analisadas em aranhas criadas para esse experimento e do grupo controle

	Experimento			Controle		
	Número de Receptáculos			Número de Receptáculos		
	2	3	4	2	3	4
Frequência	78%	9%	12%	58%	7%	4%
Nº médio inserções	2,3 ± 1,4 (25; 1-6)a	3 ± 1,4 (3; 2-5)a	2,75 ± 0,8 (4; 2-4)a	-	-	
Tempo médio de cópula	1352,4 ± 723,4 (25; 512-3414)a	1503,3 ± 153,2 (3; 1378-1719)a	1413,2 ± 754,4 (4; 386-2333)a	-	-	
Nº médio de ootecas	2,1 ± 1 (21; 1-4)a	1,5 ± 0,5 (2; 1-2)a	1 (2; 1)a	3,1 ± 1,2 (14; 1-5)a	2,5 ± 1,1 (9; 1-5)a	1
Nº médio de ovos	90,4 ± 29,7 (21; 42-148)a	95 ± 21 (2; 74-116)a	79 (2; 79)a	106,9 ± 39,3 (14; 62 – 202)a	100,7 ± 74,5 (9; 34-279)a	111
Fecundidade média	74,8 ± 32,3 (25; 0-100)a	86,8 ± 9,2 (3; 77,6-95,9)a	49,4 ± 49,4 (4; 0-98,7)a	77,8 ± 33 (14; 0 – 100)a	66,8 ± 38,3 (9; 0-100)a	62,2 (1; 111)

*As médias obtidas para os dados do monitoramento do presente estudo (novas) foram comparadas por meio dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, sendo os valores significativamente diferentes ($P < 0,05$) acompanhados de letras distintas e os valores não significativos acompanhados de NS.

Fonte: dados da pesquisa

Para receptáculos e ootecas totais, não houve correlação para a maioria das variáveis e parâmetros avaliados (Tabela 4). No entanto, quanto maior o número de recep-

táculos menor a quantidade de ootecas; quanto maior o número de inserções menor a quantidade de ootecas e menor a quantidade de ovos.

Tabela 4 – Correlações positivas e negativas significativas (R) obtidas pelo teste de Spearman entre as variáveis e parâmetros de fecundidades de *L. intermedia*, os valores destacados obtiveram correlação ($P < 0,05$).

	Tamanho	Peso	Inserção	Cópula	Número de ootecas	Número de receptáculos
Ovos	-0,04	0,08	-0,22	0,38	0,61	0,01
Fecundidade	-0,01	0,07	0,07	0,18	0,1	-0,15
Número de receptáculos	-0,14	0,17	0,07	0,11	-0,35	-
<i>Ootecas com dois receptáculos</i>						
Ovos	0,04	0,09	-0,22	0,45	0,65	-
Fecundidade	-0,27	0,13	0,05	0,1	0,08	-
<i>Ootecas com três receptáculos</i>						
Ovos	-0,5	0,5	-0,86603	0,5	1	-
Fecundidade	-	-	-	-	-	-
<i>Ootecas com quatro receptáculos</i>						
Ovos	-0,33333	0,632456	-0,38889	0,210819	0,942809	-
Fecundidade	-	-	-	-	-	-

Fonte: dados da pesquisa

A quantidade de receptáculos mostrou correlação com a quantidade de ovos enquanto o tempo de cópula se correlacionou com quantidade de ovos e de ootecas, para as que possuíam duas estruturas. Contudo, a presença de três estruturas não demonstrou correlação entre

número de ovos ou inserção, enquanto a presença de quatro estruturas demonstrou correlação significativa para quantidade de ovos *versus* peso da fêmea (Tabela 4). Nas aranhas que apresentaram dois receptáculos seminais, quanto maior o tempo de cópula maior a quantidade de

ovos. Na primeira oviposição apenas o peso da fêmea teve influência positiva na fecundidade.

DISCUSSÃO

As variações nas etapas da cópula sugere condicionantes individuais, levando à perspectiva de relação com o hábito generalista de *L. intermedia*⁹. No entanto, variações foram identificadas em outras espécies do grupo de irradiação evolutiva de *L. intermedia* como *L. hirsuta*, cujas populações são significativamente mais restritas e os indivíduos mais sedentários¹³; em espécies de ocorrência no mesmo ambiente, com hábito sedentário e especialista, porém pertencente a outro grupo como *L. laeta*; com espécies que habitam locais de condições ambientais divergentes como *L. gaucho*¹⁶; e com espécies cavernícolas como *L. similis*²⁶. Essa constatação evidencia que essa parece uma característica do gênero, e que pode estar relacionada com a origem e evolução em ambientes hostis e instáveis como desertos quentes e frios e em cavernas¹.

A fecundidade mostrou correlação com aspectos comportamentais e morfológicos. A fecundidade de *L. intermedia* é menor do que de *L. laeta* (média de 88,4 ovos/ooteca)^{14,27}, o que parece estar relacionado com o seu menor tamanho, o que se reflete, inclusive, em uma reserva vitelínica menor do recém-eclodido, promovendo uma sobrevivência em inanção quase duas vezes menor²². Além das óbvias variações interespecíficas, há que se considerar que diferenças intraespecíficas podem ser reflexos de condicionantes como idade e peso da fêmea, duração da cópula e quantidade de espermatozoides transferidos.

A correlação negativa entre o número de inserções do êmbolo e a quantidade de ovos e de ootecas, refutam a expectativa de que o número de inserções resultasse em uma transferência maior de espermatozoides. Logo, é possível que seja decorrente de dificuldade na introdução dos êmbolos causada por proporções físicas destoantes do casal; na transferência espermática causada por um preenchimento incompleto nos pedipalpos ou devido a inexperiência do macho, tendo em vista que eram virgens. Sucessivas inserções já foram descritas para *L. intermedia* por Fischer, Vasconcellos-Neto¹¹ (2000) que registraram até seis inserções em uma mesma cópula, sendo a maior frequência registrada para apenas uma inserção (76,9%). Fischer, Marques-da-Silva¹³ (2001a) descreveram até cinco inserções numa mesma cópula para *L. hirsuta*; Rinaldi, Stropa¹⁶ (1998) registraram em 76,5% para *L. gaucho*, enquanto o menor número de inserções (quatro) foi registrado para *L. laeta*¹⁴ e o maior por Hite et al.²⁸ (1966) (onze) para *L. reclusa*.

Por outro lado, quanto maior o tempo investido na manutenção dos êmbolos inseridos, maior foi a quantidade de ovos obtidos por ooteca, indicando que esse deve ser um fator condicionante do sucesso reprodutivo²⁹. A mesma correlação foi registrada por Fischer,

Vasconcellos-Neto¹⁹ (2005a) para *L. intermedia*, contudo, relacionado com o *status* reprodutivo da fêmea, levando a expectativa de que o fato de a espermateca da fêmea virgem estar vazia, poderia se relacionar com um maior investimento de tempo na transferência espermática. Embora *L. laeta* seja caracterizada por uma cópula de poucos segundos¹⁴, o número de ovos é significativamente maior que o registrado para *L. intermedia*²⁷ e *L. similis*²⁶ elucidando assim, que não é necessário muito tempo para a transferência espermática. Logo o maior tempo de permanência com os êmbolos inseridos podem estar relacionados com outros fatores, tais como impedir que a fêmea copule com outro macho. As diferenças indicam que vários mecanismos agem sinergicamente, potencializando a fertilidade fornecendo meios de maximizar a descendência.

O peso da fêmea apresentou correlação significativa com a fertilidade e a quantidade de ovos, principalmente na primeira ooteca, sugerindo que a disponibilidade de presas é um condicionante importante para as aranhas como um todo³⁰. Fischer, Vasconcellos-Neto¹⁹ (2005a) consideraram o forrageamento de *L. intermedia* um componente fundamental para explicar a elevada infestação em Curitiba, enquanto Gonçalves-de-Andrade, Lourenço, Tambourgi²⁷ (2000) alertaram que a alimentação regular provida em criações de laboratório pode potencializar a fertilidade de *L. laeta* e *L. intermedia*. Outro condicionante, pode estar relacionado não com a quantidade, mas com a diversidade nutricional. Lara²⁶ (2008) observou que fêmeas de *L. similis* mantidas sob condição de dieta variada e abundante produziam duas vezes mais ovos do que as mantidas em dieta saprofágica. Ressalta-se que o vitelo produzido deverá ser suficiente para a manutenção do filhote desde a fase embrionária até estar hábil para capturar sua primeira presa²².

Embora as aranhas tenham sido mantidas sob as mesmas condições ambientais, houve uma variação na forma e número de receptáculos seminais. A análise da correlação com os parâmetros de fecundidade utilizados, não subsidiaram a hipótese do presente estudo, de que uma maior quantidade de receptáculos acarretaria uma maior descendência. Os dados do presente estudo sugerem que essas estruturas além de não serem funcionais, ainda exercem um sutil efeito negativo. A não funcionalidade é apoiada igualmente no fato de que animais com mais receptáculos dispendem menos tempo de cópula, mesmo supondo-se que teriam mais locais de armazenamento. O efeito negativo foi evidenciado no fato que quanto maior o número de receptáculos menor foi a quantidade de ootecas e, conseqüentemente, de ovos. O fato das aranhas contendo duas espermatecas serem significativamente mais frequentes, leva a supor que a sua maior funcionalidade resulta em mais descendentes, inclusive, aranhas com 3 receptáculos ovipositaram no máximo duas vezes, com quatro receptáculos apenas uma vez, enquanto aquelas com a estrutura padrão de dois, ovipositaram até quatro vezes após oito meses da cópula.

O grupo controle mostrou um resultado dissonante elucidando que as aranhas com três receptáculos ovipositaram a mesma quantidade que aranhas com dois receptáculos, com menor quantidade de ootecas e de filhotes. As fêmeas com quatro receptáculos ovipositaram apenas uma vez. Considerando que o êmbolo deve ser inserido e encaixado no ducto espermático visando alcançar a base o reservatório espermatático⁶, hipotetiza-se que uma estrutura secundária possa atrapalhar esse trânsito, sendo mais ou menos impeditiva dependendo da altura em que se conecta com o ducto principal.

A frequência de aranhas com 2, 3 ou 4 receptáculos foi semelhante ao registrado por Fischer¹⁰ (1994) há 30 anos em Curitiba, sendo que a maior frequência foi registrada para duas estruturas (78%), seguida por três (19%) e quatro (3%). Essa manutenção de variações morfológicas na população sugere a existência de um mecanismo que mantém níveis estáveis na população.

A análise taxonômica das espécies do gênero *Loxosceles* apresenta variações no formato e número de receptáculos para inúmeras espécies do gênero. A espécie *L. intermedia* representa o formato padrão de dois receptáculos seminais¹, mais uma vez subsidiando a relevância dessa expressão fenotípica. O aparelho reprodutor de *L. intermedia* foi estudado por Morishita et al.³¹ (2003) Margraf et al.³² (2011) quanto a oogenese e espermatogênese, confirmando que a fertilização ocorre no útero durante a oviposição e que a espermatogênese continua possibilita cópulas sequenciais. A variação da genitália é um resultado esperado, pois segundo Gertsch¹, para *L. laeta* no Peru e Gertsch¹ para *L. reclusa* nos Estados Unidos, a variação morfológica está relacionada com a localidade geográfica. Fischer¹⁰ (1994) observou igualmente diferenças no formato dos receptáculos de *L. laeta* mesmo entre os espécimes coletados em Curitiba. De acordo com Huber, Sinclair, Schmitt³³ (2007) a assimetria do aparelho genital de aranhas é considerada um evento raro, de ocorrência principalmente em fêmeas. Segundo os autores, isso se deve ao fato de que para maximizar a cópula o macho das aranhas necessita introduzir ambos os êmbolos na abertura genital da fêmea, uma vez que cada um dos bulbos armazena 50% do total de espermatozoides. Essa inferência sugere que as assimetrias poderiam minimizar a transferência de espermatozoides e, conseqüentemente, a diminuição de descendentes, logo a ocorrência em aranhas seria devido à limitação de espaço no corpo da fêmea. Apenas recentemente os primeiros casos de assimetria genital foram relatados^{34,35}. Segundo Huber, Sinclair, Schmitt³³ (2007) desvios na simetria podem ser determinados por genes, no entanto em espécies que a assimetria é aleatória pode ser uma resposta do indivíduo à seleção sexual. Huber, Sinclair, Schmitt³³ (2007) afirmaram que apenas desenhos das estruturas reprodutivas não são suficientes para determinar claramente sua assimetria, sugerindo que devam ser realizados estudos mais aprofundados com cortes seriados. Contrastando com aranhas, a assimetria em

insetos é comum e ocorre primeiramente em machos, as quais segundo Huber, Sinclair, Schmitt³³ (2007) se deve a evolução das posições de acasalamento. A ocorrência após três décadas de uma mesma frequência de variação dos receptáculos na população de *L. intermedia* sugere se tratar de um fator genético que apesar de sofrer a ação da seleção não é deletério.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos no presente estudo subsidiam a hipótese de que o sucesso reprodutivo de *L. intermedia* se deva a uma ação sinérgica de diferentes fatores comportamentais, físicos e ambientais que podem estar relacionados tanto com aspectos evolutivos do gênero quanto com as particularidades de cada aranha. No caso de *L. intermedia* as variações possibilitam a adaptação às condições artificiais do ambiente antrópico, maximizando o sucesso na colonização dos substratos presentes no ambiente urbano. A hipótese do presente estudo de que a ocorrência de fêmeas com estruturas acessórias em sua genitália poderia deixar mais descendente e assim, contribuir para um maior recrutamento dos filhotes, não foi confirmada. As estruturas acessórias além de ocorrerem em baixa frequência na população apresentaram uma correlação negativa com os parâmetros de fertilidade, sugerindo que sejam mutações, que estão sendo mantidas na população, por não alterarem significativamente a funcionalidade dos principais receptáculos seminais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração do Centro de Produção de Imunobiológicos da Secretaria da Saúde do Estado do Paraná, ao Msc. Emanuel Marques da Silva, à graduanda Naila Cristina Ribeiro Caetano e ao apoio institucional ao Programa de Iniciação científica PUCPR.

REFERÊNCIAS

- 1 Gertsch W. The spider genus *Loxosceles* in South America. Bull. Am Mus Nat Hist. 1997;136:121-82.
- 2 World Spider Catalog Version 23.5 [Internet]. 2022.[citado 2022 jun 05]. Disponível em: <https://wsc.nmbe.ch/>
- 3 Marques-da-Silva E, Fischer ML. Distribuição das espécies do gênero *Loxosceles* Heineken ; Lowe, 1835 (Araneae; Sicariidae) no Estado do Paraná. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2006 38:331-35. doi: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000400010>
- 4 Gonçalves-de-Andrade RM, Pretel FD, Tambourgi DV. The spider *Loxosceles adalaida* Gertsch, 1967 (Araneae, Sicariidae) in the Karstic area of Ribeira Valley, PETAR, São Paulo, Brazil. J Entomol. 2007;4(1):46-50. doi:10.3923/je.2007.46.50
- 5 Fischer ML, Vasconcelos-Neto J. Microhabitats Occupied by *Loxosceles intermedia* and *Loxosceles laeta* (Araneae: Sicariidae) in Curitiba, Paraná, Brazil. J Med Entomol. 2005a;42:756-65. doi: <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.5.756>
- 6 Foelix RF. Biology of Spiders. 2 ed. Cambridge: Harvard University Press; 1996. 330p.

- 7 Vetter RS, Barger DK. An Infestation of 2,055 Brown Recluse Spiders (Araneae: Sicariidae) and no Envenomations in a Kansas Home: Implications for Bite Diagnoses in Nonendemic Areas. *J Med Entomol.* 2002;39(6): 948-51. doi: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.6.948>
- 8 Fischer ML. Vivências de 30 anos do loxoscelismo em Curitiba, Paraná, Brasil: rumos de uma educação em saúde disruptiva, inclusiva, humanitária e sustentável. *Inclusiones.* 2022;9(3)52-77. doi: <https://doi.org/10.58210/fprc3367>
- 9 Marques-da-Silva E, Souza-Santos R, Fischer ML, Rubio GBG. *Loxosceles* spider bites in the state of Paraná, Brazil: 1993-2000. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2006;12:110-23. doi: <https://doi.org/10.1590/S1678-91992006000100009>
- 10 Fischer ML. Levantamento das espécies do gênero *Loxosceles* Heinecken; Lowe, 1832 no município de Curitiba, Paraná, Brasil. *Estud Biol.* 1994;38:63-88.
- 11 Fischer ML, Vasconcellos-Neto J. Comportamento sexual de *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). *Rev etol.* 2000;2:31-42.
- 12 Fischer ML, Cokl A, Ramires EN, Marques-da-Silva E, Delay C, Fontana JD, et al. Sound is involved in multimodal communication of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). *Behav Process.* 2009;82(3): 236-43. doi: [10.1016/j.beproc.2009.06.013](https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.06.013)
- 13 Fischer ML, Marques-da-Silva EM. Comportamento sexual de *Loxosceles hirsuta* Mello-Leitão, 1931 (Araneae; Sicariidae) *Estud Biol* 2001a; 47:7-14.
- 14 Galiano ME. Ciclo biológico e desarrollo de *Loxosceles Laeta* (Nicolet, 1849). *Acta Zool Lilloana.* 1967; 23:431-64.
- 15 Fischer ML. Comportamento sexual de *Loxosceles laeta* (Nicolet) (Araneae, Sicariidae): influência da idade da fêmea. *Rev Bras Zool.* 2007;24(4):865-72. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-81752007000400002>
- 16 Rinaldi IMP, Stropa AA. Sexual behaviour in *Loxosceles gaucho* Gertsch 1967 (Araneae; Sicariidae). *Bull Br Arachnol Soc.* 1998;11:57-61.
- 17 Fischer ML. Comportamento agonístico de *Loxosceles laeta*, *L. hirsuta* e *L. laeta* (Araneae: Sicariidae) *Rev Bras Zool.* 2008;25(4): 579-86. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-81752008000400001>
- 18 Fischer ML, Diniz S, Vasconcellos-Neto J. Do agonistic interactions underlie the segregation and relative abundances between two *Loxosceles* species (Araneae: Sicariidae)? *J Med Entomol.* 2014;51(3):547-59. doi: <https://doi.org/10.1603/ME13064>
- 19 Fischer ML, Vasconcelos-Neto J. The fecundity of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). *J Arachnol* 2005b;33:670-80. <https://doi.org/10.1636/S03-40.1>
- 20 Fischer ML, Vasconcelos-Neto J. Development and life tables of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934 (Araneae; Sicariidae). *J Arachnol.* 2005c; 33:758-66. doi: <https://doi.org/10.1636/S03-39.1>
- 21 Marchioro CA, Fischer ML, Marques-da-silva E. Desenvolvimento pós embrionário de *Loxosceles intermedia* Mello-Leitão, 1934, *L. laeta* (Nicolet, 1849) e *L. gaucho* Gertsch, 1967 (Araneae: Sicariidae) criadas sob condições de alimentação monoespecífica. *Biotemas.* 2005;18(1):93-112.
- 22 Fischer ML, Parolin LC, Neves FM, Villanueva-Bonilla GA, Vasconcellos-Neto J. Effects of food, kinship, and density on the longevity of spiderlings. *Can J Zool.* 2021;99(9):741-51. doi: <https://doi.org/10.1139/cjz-2020-0275>
- 23 Lowrie DC. Effects of diet on the development of *Loxosceles laeta* (Nicolet) (Araneae, Loxoscelidae). *J Arachnol* 1997;15: 303-8.
- 24 Rinaldi IMP, Forti LC, Stropa AA. On the development of the brown spider *Loxosceles gaucho* Gertsch (Araneae; Sicariidae) the nympho-imaginal period. *Rev Bras Zool.* 1997;14(3):697-706. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-81751997000300018>
- 25 Buckup EH. Variação interpopulacional dos receptáculos seminais em aranhas do grupo Spadicea do gênero *Loxosceles* Heinecken; Lowe, 1832 (Araneae; Scytodidae). *Iheringia Ser Zool.* 1980;55:137-47.
- 26 Lara RA. Efeitos da dieta no desenvolvimento e na reprodução de *Loxosceles similis* (Moenkhaus, 1898) (Araneae, Sicariidae) [master's thesis] Brasília: Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal; 2008.
- 27 Gonçalves-de-Andrade RM, Lourenço WR, Tambourgi DV. Comparison of the fertility between *Loxosceles intermedia* and *Loxosceles laeta* (Araneae: Sicariidae). *J Arachno.* 2000; 28(2):245-47.
- 28 Hite JM, Gladney WJ, Lancaster JL Junior, Whitcomb WH. Biology of brown recluse spider. *Bull Agric ExpStn Univ Minn.* 1966; 711: 2-26.
- 29 Fischer ML, Marques-da-Silva E. Oviposição e desenvolvimento de *Loxosceles hirsuta* Mello-Leitão, 1931 (Araneae; Sicariidae). *Estud Biol.* 2001b; 47:15-20.
- 30 Higgins LE. Developmental plasticity and fecundity in the orb-weaving spider *Nephila clavipes*. *J. Arachnol.* 1992; 20(2):94-106.
- 31 Morishita R, Ferreira S, Santiago-Filho A, Ditzel FC. Studies on oogenesis and oviposition in the brown spider io (Araneae: Sicariidae). *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: Anat Rec.* 2003; 273(1): 575-82. doi: <https://doi.org/10.1002/ar.a.10062>
- 32 Margraf A, Costa-Ayub CLS, Okada MA, Gomes JR, Ortolani-Machado CF, Soares MAM. Development of *Loxosceles intermedia* Mello-Leitao (1934)(Araneae, Sicariidae) genital tract. *Braz J Biol.* 2011;71(3):747-54. doi: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000400021>
- 33 Huber BA, Sinclair BJ, Schmitt M. The evolution of asymmetric genitalia in spiders and insects. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2007;82(4): 647-98. doi: [10.1111/j.1469-185X.2007.00029.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2007.00029.x)
- 34 Huber BA. Evidence for functional segregation in the directionally asymmetric male genitalia of the spider *Metagonia mariguitarensis* (González-Sponga) (Pholcidae: Araneae). *J Zool.* 2004;262(3):317-26. doi: <https://doi.org/10.1017/S0952836903004709>
- 35 Agnarsson I. Asymmetric female genitalia and other remarkable morphology in a new genus of cobweb spiders (Theridiidae, Araneae) from Madagascar. *Biol J Linn Soc.* 2006;87(2): 211-32. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2006.00569.x>

Submetido em: 06/07/2022

Aceito em: 04/07/2023