

Biología reproductiva de las arañas blancas de los médanos (*Allocosa* spp., Araneae, Lycosidae): aislamiento reproductor entre dos especies simpátricas y sincrónicas, e inversión de roles sexuales.

Anita Aisenberg

Orientadora: Dra. Carmen Viera  
Co-Orientador: Prof. Fernando G. Costa

Tesis de Maestría  
Área Biología, Subárea Zoología  
PEDECIBA, Facultad de Ciencias,  
Universidad de la República  
Montevideo, Uruguay

2006

“... es bueno seguir multiplicando los polvorines mentales, el humor que busca y favorece las mutaciones más descabelladas ... es bueno que existan los bestiarios colmados de transgresiones, de patas donde debería haber alas y de ojos puestos en el lugar de los dientes.”

Julio Cortázar  
Paseo entre las jaulas, 1978

## ÍNDICE

|   | Número de página |
|---|------------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>  | <b>2</b>         |
| <b>RESUMEN .....</b>  | <b>4</b>         |
| <b>INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>   | <b>5</b>         |
| <b>CAPÍTULO 1: DESARROLLO Y PROPORCIÓN SEXUAL .....</b>                       | <b>11</b>        |
| INTRODUCCIÓN .....  | 12               |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 14               |
| RESULTADOS .....  | 15               |
| DISCUSIÓN .....   | 20               |
| <b>CAPÍTULO 2: COMPORTAMIENTO SEXUAL E INVERSIÓN DE ROLES SEXUALES .....</b>  | <b>23</b>        |
| INTRODUCCIÓN .....  | 24               |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 26               |
| RESULTADOS .....  | 28               |
| DISCUSIÓN .....   | 44               |
| <b>CAPÍTULO 3: AISLAMIENTO REPRODUCTOR ENTRE DOS FORMAS DE ALLOCOSA .....</b> | <b>48</b>        |
| INTRODUCCIÓN .....  | 49               |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 50               |
| RESULTADOS .....  | 52               |
| DISCUSIÓN .....   | 65               |
| <b>CAPÍTULO 4: DISCRIMINACIÓN FEMENINA DE LAS CUEVAS .....</b>                | <b>68</b>        |
| INTRODUCCIÓN .....  | 69               |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 70               |
| RESULTADOS .....  | 72               |
| DISCUSIÓN .....   | 76               |
| <b>DISCUSIÓN GENERAL Y PROYECCIONES .....</b>                                 | <b>78</b>        |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                                       | <b>82</b>        |

## **AGRADECIMIENTOS**

Los integrantes del tribunal, Fernando Pérez-Miles, Gabriel Francescoli y Miguel Simó realizaron valiosos aportes y sugerencias que enriquecieron sustancialmente la tesis.

A las autoridades de PEDECIBA por aceptarme como estudiante y otorgarme la beca que consistió un fuerte apoyo para que la presente tesis fuera posible. Un reconocimiento especial a las secretarías de PEDECIBA, Verónica Etchart y Graciela Bocage, por su eficiencia y rapidez en la solución de imprevistos y en la respuesta a las consultas.

Miguel Simó me entrenó con dedicación en la medición de los individuos y preparación de las muestras para la microscopía de barrido.

A mis profesores de Sección Etología de Facultad de Ciencias, por acercarme al mundo del comportamiento animal. Le agradezco profundamente a Ciro Invernizzi y Gabriel Francescoli por contactarme con Fernando Costa.

Álvar Carranza, Sergio Martínez, Walter Norbis, Alfredo Peretti, Verónica Quirici y José Sotelo colaboraron con el apoyo estadístico de los resultados.

Las fotografías fueron tomadas por Soledad Ghione, Álvaro Laborda, Rodrigo Postiglioni, Miguel Simó y Gonzalo Useta. Rodrigo Postiglioni ayudó con la digitalización de las imágenes y diagramado final de la tesis.

María José Albo, Bruna Alonso, Luciana Baruffaldi, Fernando G. Costa, Luis Ernesto Costa Schmidt, Natalia Estramil, Soledad Ghione, Macarena González, Alicia Postiglioni, Rodrigo Postiglioni, Carlos Toscano-Gadea y Gonzalo Useta, colaboraron en las salidas de campo.

Mis compañeros de Karumbé me acompañaron a lo largo de este proceso. Le agradezco especialmente a Alejandro Fallabrino por todo el apoyo.

Agradezco a mi Orientadora Carmen Viera por aceptar dirigir este trabajo de tesis y por sus aportes a la misma, por organizar cursos que me permitieron profundizar sobre temas de interés, y muy en especial por estar siempre que la necesité y brindarme su apoyo y afecto.

A mi Co-Orientador Fernando G. Costa, mi Maestro, por formarme generosamente, abriéndome las puertas al mundo de la investigación y ayudarme a buscar mi lugar. Por su ejemplo, su cariño, su modo inteligente de ver las cosas, por creer en mi, gracias.

A los amigos que soportaron mis cambios de humor, llegadas tarde, desapariciones momentáneas, y estuvieron ahí.

A Martín Graña por motivarme a ingresar en la Licenciatura de Biología, por leer mis proyectos, presentaciones y la tesis haciéndome interesantes aportes desde otra perspectiva, por hacerme llegar bibliografía actualizada sobre mis temas, pero por encima de todo por su confianza en mi, apoyo y calidez tan necesaria.

A mi familia sin la cual esto hubiera sido imposible. Luisito y Meru, Eduardo, Beba y Liber, Tiri y Carlitos, Evita, todos me brindaron apoyo de mil maneras. Muy especialmente quisiera dedicar la presente tesis a mis padres Anita y Luis Alberto, por inculcarme el respeto y fascinación hacia la naturaleza y nunca perder la capacidad de sorprenderse y emocionarse ante su belleza, por su amor incondicional y por motivarme a seguir el camino con corazón y luchar por lo que uno cree, siempre.

## RESUMEN

La teoría de Selección Sexual predice que el mayor aporte femenino en gametos e inversión parental, determinará que las hembras sean selectivas y los machos competitivos. Sin embargo, cuando los machos tienen una alta inversión reproductiva, este sexo también se tomará selectivo, dándose la inversión en los roles sexuales típicos. *Allocosa brasiliensis* es una araña lobo que habita en cuevas en las zonas costeras de Uruguay. Estudios previos mostraban la existencia de dos formas de adultos, con diferencias en el tamaño, diseño cromático y distribución, sugiriendo la existencia de una especie polimórfica o dos especies distintas. Ambas mostraban una mayor movilidad femenina, en oposición con lo generalizado en arañas, postulándose como posibles casos de roles sexuales invertidos. Se planteó como objetivo principal estudiar la biología reproductiva de *Allocosa brasiliensis*, con énfasis en su comportamiento sexual y estrategias reproductoras a la luz de la hipótesis de Inversión de Roles Sexuales, determinando si se trata de una especie polimórfica o dos especies aisladas reproductivamente. Se investigó el desarrollo de los individuos, determinando el número de mudas hasta la maduración y la proporción sexual, encontrándose diferencias entre las dos formas. La forma pequeña mostró una proporción sexual primaria drásticamente sesgada hacia las hembras, hecho excepcional para arañas vagabundas. Capturas a campo confirmaron las marcadas diferencias en tamaño corporal y morfometría de la genitalia. Se constató dimorfismo sexual invertido para ambas formas, con machos más grandes que las hembras. Las experiencias de cortejo y cópula entre individuos de la misma forma mostraron que las hembras activamente se acercan a las cuevas de los machos e inician el cortejo. La cópula se realiza en la cueva de los machos, y luego de finalizada éstos las donan a las hembras. Considerando el riesgo de predación por avispas, la cesión de la cueva implica la entrega de un recurso valioso, que expone al macho a riesgos de ser predado y compromete sus posibilidades de apareamiento hasta la construcción de otra cueva. En los enfrentamientos entre individuos de formas distintas no se obtuvieron cópulas, obteniéndose dos casos de canibalismo. Basándose en experiencias con cuevas vacías, existiría detección femenina de individuos dentro de las cuevas y discriminación entre machos de cada forma, sugiriendo la presencia de feromonas masculinas volátiles. Se confirma la presencia de dos especies simpátricas y sincrónicas de *Allocosa*, aisladas reproductivamente entre sí. El dimorfismo sexual invertido, mayor movilidad femenina y activa participación de las hembras en el cortejo, más la alta inversión masculina indican Inversión parcial de Roles Sexuales para ambas especies de *Allocosa*, abriendo múltiples puertas hacia futuras investigaciones sobre el papel selectivo de cada sexo, el sistema de apareamiento resultante y sus determinantes.

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

La Selección Sexual (Darwin 1871) se considera la fuerza evolutiva que surge como consecuencia de las diferencias en éxito reproductivo, producto de la competencia por el acceso a parejas y apareamientos. Uno de los principales postulados de la teoría de Selección Sexual predice que en general las hembras tenderán a ser el sexo selectivo y recurso escaso por el cual compiten los machos. Las hembras poseen pocos gametos grandes y costosos, y los machos en cambio producen muchos gametos pequeños diseñados para 'parasitar' los recursos de los gametos femeninos (Parker et al. 1972). Tradicionalmente, esta asimetría en el tamaño de los gametos determinará la dirección e intensidad con la que operará la Selección Sexual sobre cada sexo, determinando que las hembras se especialicen en seleccionar y cuidar a la progenie, y los machos en maximizar su número de apareamientos. Dentro de este contexto, surgirán la cooperación y conflictos intra e intersexuales en lo que respecta a decisiones de apareamiento y cuidado parental (Krebs & Davies 1996; Arnqvist & Rowe 2005).

### **Inversión de roles sexuales**

Sin embargo, los roles sexuales no dependerán exclusivamente del sexo en sí, y los papeles de 'explotador' o 'explotado' podrán variar. En algunos casos, los machos serán capaces de equiparar e inclusive invertir esa disparidad precopulatoria de inversiones. Trivers (1972) postula que en especies con cuidado parental en las cuales los dos sexos contribuyen equitativamente a la progenie, ambos se volverán selectivos al momento de la reproducción. Asumiendo estos conceptos se formula la teoría de Inversión de Roles Sexuales, aplicable a especies en las cuales los machos asumen el papel de sexo selectivo y las hembras compiten por acceder a éstos (Andersson 1994). La inversión se considerará total cuando los machos se tornen el sexo selectivo y las hembras el sexo que compite, presentando éstas últimas una mayor variación en su éxito reproductivo en comparación con los machos; o parcial, cuando ambos sexos son selectivos. A su vez, la inversión en roles sexuales implicará cambios en las funciones típicas del cortejo e inversión parental, o en especies en las cuales no existe cuidado parental, exclusivamente la inversión en los roles del cortejo. La inversión de roles determinará que las hembras tomen la iniciativa y sean más activas durante el cortejo, desarrollando, en algunos casos, conspicuos caracteres sexuales secundarios en algunos casos (Gwynne 1991). Los costos de cada sexo estarán determinados no solamente por su gasto en gametos, sino por su esfuerzo de cortejo y cópula, inversión en cuidado de la progenie y/ o provisión de recursos y diferencias en la historia de vida de cada sexo. Asimismo, los factores anteriores determinarán la proporción sexual operacional de la especie, o sea los individuos de cada sexo aptos para la reproducción en un momento determinado, y a su vez tanto la proporción sexual primaria como la operativa, estarán afectando las estrategias sexuales de la especie de un modo bidireccional (Bonduriansky 2001).

La inversión en los roles típicos de cada sexo ha sido descrita en insectos (Bonduriansky 2001) y crustáceos (Gwynne 1991), así como en peces, anfibios y aves (Eens & Pinxten 2000). A pesar de que posiblemente ejemplos de esta índole sean frecuentes, existen escasos estudios en el tema (Andersson 1994). Investigaciones exhaustivas sobre casos de inversión de roles sexuales y las estrategias reproductivas resultantes, aportan información de alta relevancia para una mayor comprensión de los determinantes de las funciones de cada sexo, hacia la elaboración de teorías más robustas de roles sexuales (Eberhard 1985; Bonduriansky 2001; Roughgarden et al. 2006). Asimismo, y considerando la alta biodiversidad de la zona Neotropical y, paradójicamente, el escaso conocimiento de la fauna ocurrente y su biología, estudios sobre especies de estas zonas resultan imperantes en la búsqueda de nuevos casos para poner a prueba la hipótesis de Inversión de roles y sus implicancias.

### Las arañas como modelo de estudio de Selección Sexual.

Las arañas constituyen el séptimo orden más diverso dentro del Reino Animal en términos de especies descritas o estimadas. Más de mil géneros corresponden a la zona Neotropical, casi un tercio de los géneros conocidos para el mundo entero (Coddington et al. 1991). Asimismo, las arañas presentan una gran variedad de estrategias reproductivas y comportamientos reproductivos factibles de ser cuantificados, tornándolas muy propicias para llevar a cabo estudios de biología reproductiva. Eberhard (2004) realiza un listado exhaustivo de las características 'inusuales' de la biología de las arañas que las hacen sujetos de estudio extremadamente interesantes para poner a prueba hipótesis de Selección Sexual. Algunas de estas características serían: presencia de genitalia doble y bilateralmente simétrica en ambos sexos, que permite la utilización del mismo animal como experimento y control; posibilidad de aislar el esperma en forma pura durante la inducción espermática; posiciones copulatorias que permiten la observación adecuada del proceso copulatorio y mecanismos de movimientos de la genitalia masculina que permiten determinar y cuantificar las eyaculaciones, entre otras. La creciente cantidad de estudios sobre biología de arañas, permite la comparación e interpretación de resultados en un marco más amplio de discusión.

### Cortejo y cópula en arañas

El cortejo es una forma de comunicación cuyas funciones principales son sincronizar las actividades sexuales de hembra y macho, orientar y localizar al posible compañero/ compañera de cópula, persuadir o evitar respuestas no sexuales por parte del individuo del otro sexo, y por último asegurar el aislamiento reproductor, o sea la unión intraespecífica (Costa & Gudynas 1995).

En arañas, los canales sensoriales que han sido reportados más frecuentemente en contextos sexuales son el químico, el vibratorio, el visual, el táctil, y combinaciones de los mismos. La emisión de señales químicas en un contexto sexual (feromonas), parece estar muy extendida en arañas y se

considera muy antigua (Costa & Quirici, en prensa). Sin embargo, principalmente por razones técnicas, han sido escasamente estudiadas en su composición química. La mayoría de ejemplos corresponden a feromonas que las hembras liberan asociadas a sus hilos de seda, aunque también existen reportes de feromonas aerotransportables (Schulz 2004). Con respecto a las señales químicas masculinas, existen sólo dos trabajos sobre su utilización en contexto sexual, uno correspondiente a señales de inhibición hacia otros machos (Ayyagari & Tietjen 1987) y otro de feromonas volátiles masculinas que inducirían la catalepsia femenina durante la cópula en *Agelenopsis aperta* (Becker et al. 2005). Recientemente, ha sido reportada la transmisión de sustancias químicas asociadas al esperma que afectarían la receptividad sexual femenina (Aisenberg & Costa 2005; Michalik & Uhl 2005).

En las señales vibratorias, podemos distinguir entre señales acústicas – transmitidas por el aire - y señales sísmicas, las cuales se transmiten por el sustrato. Muchas veces la misma señal puede simultáneamente transmitirse por el aire y por el sustrato. En arañas, estas señales pueden producirse por órganos de estridulación, que implican el raspado de estructuras rígidas entre sí, por percusión o golpeteo de órganos o partes del cuerpo contra un sustrato, o por la vibración de estructuras (Rovner 1975, 1980). Las señales acústicas han demostrado ser un medio efectivo de comunicación intraespecífica, protegiendo a los machos de posibles ataques de las hembras por medio del apaciguamiento a distancia (Uetz & Stratton 1982).

En general, las arañas no poseen buena visión. Los Salticidae son las arañas con el sistema visual más desarrollado. A su vez, Oxyopidae, Deinopidae, Thomisidae y Lycosidae son familias que también poseen una visión relativamente buena (Costa & Quirici, en prensa). Poseen ojos simples (ocelos), y generalmente presentan cuatro pares denominados medianos anteriores, laterales anteriores, medianos posteriores y laterales posteriores, aunque existen algunas familias con tres pares de ojos. A su vez existen familias, como Lycosidae, que poseen una capa reflectora en el fondo de sus ojos –a excepción de los medianos anteriores- que refleja la luz incidente, favoreciendo la visión nocturna (Foelix 1996). Tanto las características como la disposición de los ojos, determinarán las señales visuales utilizadas en el cortejo, que podrán incluir desde exhibiciones de configuraciones o estructuras coloreadas en saltícidos, hasta movimientos particulares exhibiendo extremidades ornamentadas, como en algunos licósidos (Huber 2005) .

Las señales táctiles, por realizarse a corta distancia, en general son utilizadas luego de establecer la comunicación por otros canales. Las arañas poseen numerosos pelos táctiles, móviles, que estimulan las dendritas. A su vez, los pelos quimiosensoriales, las tricobotrias, y aún los receptores de vibraciones presentes en las articulaciones de las extremidades, pueden cumplir funciones táctiles (Foelix 1996). Puede considerarse un canal esencial en animales nocturnos y cavernícolas.

Durante el cortejo, se utilizarán uno o varios canales sensoriales, de acuerdo a las características morfo-funcionales de la especie y del medio en el cual se encuentren. A modo de ejemplo, *Schizocosa malitiosa*, una araña lobo ampliamente extendida en nuestro país, utiliza todos los canales sensoriales durante el cortejo. Los machos de esta especie detectan a la hembra siguiendo los rastros

químicos que ésta libera asociados a sus hilos de seda, mientras emiten señales vibratorias y visuales, culminando con la monta luego de una intensa interacción quimiotáctil (Costa 1975; Costa 1979). Los canales de comunicación permitirán el intercambio de información entre individuos, el reconocimiento intraespecífico, la estimación mutua de las características de la posible pareja, determinando que el encuentro resulte, o no, en apareamiento.

El comportamiento copulatorio de las arañas y su llamativa diversidad han sido ampliamente estudiados (Foelix 1996). Asimismo, como la potencialidad de canibalismo sexual existe, es necesaria una comunicación clara tanto antes como durante la cópula (Arnqvist 1992). Las arañas pueden ser clasificadas en dos grupos, haplóginas y enteleginas, de acuerdo a la morfología de las estructuras genitales femeninas, las espermatecas “cul-de-sac” y “conduit” respectivamente, que determinarán distintas estrategias reproductivas (Austad 1984). Las primeras constan de estructuras simples, receptáculos ciegos donde el esperma entra por el mismo orificio por el que saldrá para fecundar los óvulos. En este caso, y de no haber mezcla de esperma en las espermatecas, el último macho en copular será el favorecido. Por el contrario, en el caso de espermatecas del tipo conduit, los machos lucharán por ser los primeros en inseminar, ya que las hembras poseen espermatecas que conectan con el útero externo mediante conductos fecundadores independientes, que por su ubicación, y de no existir mezcla de esperma, favorecerán el acceso del primer esperma depositado. Estudios más recientes sugieren que existirían desviaciones de los patrones de prioridad espermática sugeridos por Austad (1984), posiblemente como consecuencia de diferencias en la morfología de las espermatecas y su funcionamiento. El diseño entelegino no funcionaría como “conduit” en algunos casos, particularmente cuando los conductos de inseminación y fertilización desembocan juntos en la cavidad de la espermateca (Elgar 1998). Asimismo, tanto los patrones de inserción palpar como la duración de la cópula han demostrado ser muy variables aún en especies muy emparentadas, pertenecientes a la misma familia (Elgar 1995), sugiriendo un buen marco para la discusión de hipótesis de elección críptica femenina (Thornhill 1983; Eberhard 1985) y competencia espermática (Parker 1970), evaluando el grado de cooperación y conflicto entre los sexos.

#### Aislamiento reproductor.

De acuerdo a la definición de Mayr (1942), las especies son grupos de poblaciones naturales que son real o potencialmente capaces de entrecruzarse, y que están aisladas reproductivamente de otros grupos de igual carácter. Los mecanismos de aislamiento reproductor pueden implicar diferencias en la distribución espacial y temporal, mecanismos de aislamiento etológico o aislamiento mecánico. De fallar los mecanismos anteriores, se recurrirá a mecanismos postcopulatorios de aislamiento como la incompatibilidad gamética, inviabilidad cigótica y generación de individuos inviables o estériles. En general, los mecanismos de aislamiento precopulatorio serán priorizados por la selección, ya que los mecanismos postcopulatorios son más costosos (Mayr 1968). Por lo tanto, el cortejo se considera

fundamental para el reconocimiento intraespecífico, sobre todo cuando se trata de especies simpátricas, sintópicas y/ o sincrónicas. En estos casos, y cuando las características morfológicas no son suficientes para distinguir entre grupos o especies, será posible recurrir a experiencias que pongan a prueba el aislamiento reproductivo por mecanismos etológicos. En arañas, el aislamiento reproductivo etológico ha demostrado ser un mecanismo efectivo en condiciones de laboratorio, concretamente en licósidos (Hollander & Dijkstra 1974; Uetz & Dondale 1979; Uetz & Denterlein 1979; Stratton & Uetz 1981; Costa & Capocasale 1984).

### Las arañas blancas de los médanos

En la últimas décadas, la zona costera de Uruguay se ha visto drásticamente reducida y modificada por la urbanización, turismo, e introducción de vegetación exótica (Evia & Gudynas 2000). En la angosta franja de 150 a 200 metros de arenales aún persistente, habitan especies adaptadas a soportar las condiciones extremas de variación de temperaturas, azote de vientos y escasez de refugios de las dunas. Estudios realizados en la zona costera de Canelones (Costa et al., en prensa) confirman que los médanos costeros se habrían transformado en relictos de fauna específica persistente y corredores de animales de ambiente arenosos, constituyendo un importante reservorio de biodiversidad.

*Allocosa brasiliensis* (Petrunkevitch, 1910)(Araneae, Lycosidae) se distribuye a lo largo de las costas del Río Uruguay, Río de la Plata y Océano Atlántico, así como costas de ríos y lagunas interiores de nuestro país (Capocasale 1990). Poseen coloración blanquecina, que las torna crípticas en el ambiente de arenales. Su actividad es mayoritariamente nocturna, construyendo cuevas de paredes recubiertas con seda, en las que permanecen durante el período diurno y los meses más fríos del año, mostrando su pico máximo de actividad durante los meses de verano (Costa 1995).

Estudios previos realizados sobre *A. brasiliensis* utilizando la técnica de trampeo pitfall (Costa 1995; Costa et al., en prensa) sugirieron la existencia de dos patrones diferenciados de tamaño y diseño cromático en los adultos de esta especie, que de ahora en más llamaremos individuos de la forma pequeña o grande. Así, surgieron dudas acerca de si las variaciones observadas corresponden a una especie polimórfica con individuos intermedios fuertemente contraseleccionados, o dos especies aisladas reproductivamente.

Asimismo, resultados de estudios previos realizados en *A. brasiliensis* (Costa 1995; Costa et al., en prensa) y observaciones personales realizadas a campo, indicaban una mayor ocurrencia de caída de hembras en las trampas, sugiriendo una mayor movilidad femenina para ambas formas de esta especie y/ o una proporción sexual primaria sesgada hacia las hembras, sumados a un mayor tamaño de hembras que de machos. Estos resultados pueden ser considerados llamativos si se considera que las hembras de arañas, en general y de acuerdo con el esquema previsible, suelen ser sedentarias y grandes y los machos livianos y rápidos, adaptados a ser buenos ‘buscadores’ de parejas potenciales (Vollrath & Parker 1992; Moya-Laraño et al. 2002; Huber 2005). Por otra parte, en arañas existen muy escasos

reportes de sesgo en las proporciones sexuales primarias, coincidiendo con casos en arañas sociales y un solo ejemplo en arañas solitarias (Avilés et al. 2000). Los canales de comunicación utilizados por ambos sexos para facilitar su encuentro se desconocen, pero podrían involucrar la utilización de señales vibratorias y/ o químicas por parte del macho que ayuden a la hembra a orientarse hacia la cueva. Teniendo en cuenta las características anteriormente citadas, ambas formas del género *Allocosa* se presentan como buenas candidatas para poner a prueba la hipótesis de Inversión de Roles Sexuales durante el cortejo.

### Objetivo general

La presente tesis planteó como objetivo principal, estudiar la biología reproductiva de las arañas blancas de los médanos *Allocosa brasiliensis*. Se enfatizó en el comportamiento sexual y estrategias reproductoras a la luz de la hipótesis de Inversión de Roles Sexuales, determinando si se trata de una especie polimórfica o dos especies aisladas reproductivamente.

### Estructura de la tesis

La tesis se organizó en cuatro capítulos, donde se analizaron comparativamente características del desarrollo, comportamiento sexual y morfología somática y genital, de ambas formas de *Allocosa*. El primer capítulo investiga características del desarrollo de individuos de *A. brasiliensis* en condiciones de laboratorio, determinando la proporción sexual y analizando comparativamente ambas formas. El segundo capítulo describe cortejo y cópula, y analiza el dimorfismo sexual en ambas formas, discutiendo la inversión de roles sexuales. El tercer capítulo pone a prueba el aislamiento reproductivo entre ambas formas de *Allocosa*, presentando y discutiendo resultados experimentales obtenidos en el laboratorio y resultados de análisis somáticos y genitales. El capítulo cuarto pone a prueba la capacidad de detección de cuevas por parte de las hembras e investiga la existencia de feromona sexual masculina asociada a hilos de seda. Se concluye la tesis con una discusión global de los resultados, un análisis de las perspectivas para futuros estudios y las referencias bibliográficas correspondientes a todos los capítulos.

## **CAPÍTULO 1: DESARROLLO Y PROPORCIÓN SEXUAL**

## INTRODUCCIÓN

La bimodalidad de tamaños, o sea la aparición de formas diferenciales en la distribución de tamaños de una especie, es relativamente frecuente tanto en el Reino Animal como Vegetal. Las causas de tal distribución de tamaños pueden incluir evasión de competencia, dimorfismo sexual, canibalismo y predación (Moya-Laraño & Cabeza 2003). Sin embargo, cuando esta bimodalidad implica individuos adultos de ambos sexos, puede estar sugiriendo ya sea la ocurrencia de individuos con estrategias alternativas de comportamiento, o que las formas consideradas como pertenecientes a una única especie, sean en realidad especies distintas.

En Sudamérica existen varias especies de arañas del género *Allocosa* Banks 1901 adaptadas a la vida en los arenales (Capocasale 1990). En nuestro país hay una única especie citada, *Allocosa brasiliensis*, que se distribuye a lo largo de toda la costa de Uruguay, incluyendo orillas de ríos y lagunas interiores (Capocasale 1990). Estudios previos (Costa 1995; Costa et al, en prensa) realizados en la zona de Marindia, Canelones, con trampas de caída (pitfall traps), mostraron la coexistencia de dos tamaños de adultos (pequeño y grande), en ambos sexos. Los individuos de formas distintas presentaban diferencias en el diseño cromático del dorso de su abdomen, pudiendo identificarse inequívocamente a los individuos de la forma grande por el color blanquecino uniforme de su cuerpo y diseño abdominal en colores claros, a diferencia de la forma pequeña, de coloración corporal más oscura y diseño abdominal más marcado (Figura 1.1). Además, se encontraron diferencias en la distribución espacial de las dos formas, siendo la forma grande más frecuente en las dunas más cercanas a la costa, y la forma pequeña en zonas de vegetación abundante y más alejadas de la costa (Costa 1995; Simó et al. 2005). Así se generaron dudas acerca de si se trataba de una especie con dos formas, o dos especies distintas aisladas reproductivamente. Ambas formas mostraron un pico máximo de actividad durante los meses de enero y febrero (Costa 1995; Costa et al., en prensa), y observaciones personales en campo y en el laboratorio indican que serían capaces de realizar hasta cuatro puestas sucesivas de ootecas durante el período reproductivo.

Asimismo, los resultados de los estudios de Costa (1995) y Costa et al., (en prensa), mostraron claramente una mayor frecuencia de capturas de hembras que de machos con la técnica de pitfalls. En la forma pequeña las proporciones de captura fueron 18 hembras: 1 macho, y en la forma grande aproximadamente 2: 1 hembras por macho. Esto resulta sumamente llamativo si se lo compara con resultados de captura de licósidos en Sierra de las Ánimas, Maldonado, utilizando la misma técnica, que mostraron una proporción sexual de 1.4 machos por cada hembra (Costa et al. 1991). Ambas formas de *Allocosa* podrían presentar una inversión de los roles sexuales típicos en arañas – machos vagabundos y hembras más sedentarias- pero a su vez, las capturas podrían estar reflejando una proporción sexual primaria sesgada hacia las hembras para ambas formas de la araña blanca de los médanos. La gran mayoría de ejemplos de proporciones sexuales sesgadas drásticamente hacia las hembras han sido reportados en organismos con sistemas con determinación sexual haplodiploide (Hardy 1992). En

arañas, organismos diploides con determinación sexual heterogamética, se han reportado proporciones sexuales sesgadas hacia las hembras en especies sociales (Avilés et al. 2000) y solamente un caso en arañas solitarias (Gunnarsson & Andersson 1992). Teniendo en cuenta las implicaciones que tiene la proporción sexual primaria (primary sex-ratio) sobre la proporción sexual operativa -número de individuos aptos para el apareamiento en un momento dado- y sobre la determinación de las estrategias sexuales y el sistema de apareamiento resultante de la especie (Owens & Thompson 1994; Bonduriansky 2001), investigar la proporción sexual de ambas formas de *Allocosa* se entendió como un punto necesario hacia una mejor comprensión del comportamiento sexual de estas arañas.

Se plantea como objetivo específico investigar el desarrollo de individuos de ambas formas de *A. brasiliensis* desde su primer muda hasta adultos, evaluando el número y período de mudas, tamaño final como adultos, longevidad y proporción sexual en condiciones de laboratorio, comparando con los resultados obtenidos en campo y discutiendo la plausibilidad de la hipótesis de dos especies distintas en base a los resultados obtenidos.



Figura 1.1. Ejemplares adultos de la forma pequeña (arriba) y grande (abajo) de *A. brasiliensis*. Las hembras se presentan a la derecha y los machos a la izquierda.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se capturaron dos hembras adultas de *Allocosa brasiliensis* con sus ootecas (hembras madres), una identificada como perteneciente a la forma pequeña, capturada en enero del 2004, y la otra de la forma grande capturada en febrero del 2004, en la zona costera de Marindia, Canelones.

La cría de las hembras madres fue llevada a cabo en el Laboratorio de Etología, Ecología y Evolución del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo. Ambas hembras fueron transportadas al laboratorio, medidas bajo lupa y criadas en forma individual en recipientes de vidrio de 9 cm de diámetro y 14 cm de altura, con arena como sustrato y agua *ad libitum*. Fueron controladas diariamente y alimentadas semanalmente con larvas de *Tenebrio sp.* (Coleoptera, Tenebrionidae).

La emergencia de las crías desde la ooteca para la hembra pequeña ocurrió el 12 de enero del 2004 y para la hembra grande el 11 de marzo del 2004. Luego de la emergencia desde la ooteca, se esperaron diez días, período aproximado de dispersión de las crías en la naturaleza, y todos los individuos fueron retirados del dorso de su madre, contabilizados y transportados a recipientes individuales para su cría. Los juveniles de ambas formas fueron criadas inicialmente en cajas de Petri de 3.5 cm de diámetro y 0.9 cm de alto, con arena como sustrato y un algodón humedecido en agua. Al crecer, fueron trasladadas a cajas de 9.5 cm de diámetro y 1.5 cm de alto, con arena y un algodón humedecido en agua. Todos los ejemplares fueron revisados diariamente, registrando la existencia de mudas, muertes y otros eventos significativos. Una vez adultos, los individuos fueron medidos (largo y ancho del cefalotórax) bajo lupa estereoscópica, sexados y criados hasta su muerte.

La temperatura media en el laboratorio durante el período de cría fue  $22.81 \pm 2.88$  ° C (rango: 15-31 ° C), y la progenie fue criada bajo un ciclo de 12 hs luz – 12 hs oscuridad. Todos los individuos fueron alimentados con las mismas presas e idéntica frecuencia (tres veces a la semana). Durante los primeros estadios, las presas ofrecidas fueron ejemplares de *Drosophila melanogaster* (Diptera), intercaladas con pequeñas larvas de tenebrio. Los juveniles más grandes fueron alimentados con larvas grandes de tenebrio y juveniles de cucarachas *Blaptica dubia* (Blaberidae).

### Muestreos en el campo

Para comparar los resultados de proporción sexual obtenidos en el laboratorio y mediante trapeo pitfall, se realizaron dos muestreos en los médanos de la franja costera de Marindia, el 6 y 22 de setiembre del 2005. Se siguió la técnica de tamizado de arena descrita en Ramírez (1995). Se seleccionaron aleatoriamente las áreas de trabajo y se trazaron dos cuadrículas de 6 m<sup>2</sup>. Se procedió al filtrado de la arena, utilizando tamices rectangulares de 30 cm por 38 cm y 0.5 cm<sup>2</sup> de entramado de malla, hasta una profundidad de 20 cm. Esta profundidad fue determinada a partir de la reportada para cuevas de adultos de *Allocosa* (aproximadamente 10 cm, Capocasale 1990) y de observaciones personales (F. G. Costa, A.

Aisenberg). Ambos muestreos se realizaron durante el período diurno, totalizando 24 horas hombre en cada uno (6 recolectores, durante 4 horas). Los individuos recolectados fueron llevados al laboratorio, identificados y clasificados por estadio y sexo.

Especímenes representativos criados en el laboratorio y capturados en el campo fueron depositados en la colección aracnológica de la Sección Entomología, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Montevideo.

### Análisis estadísticos

Los análisis de los resultados fueron llevados a cabo con el programa *Past Palaeontological Statistics* versión 1.18 (Hammer et al. 2003), y el programa *Statistica* versión 6.0. Se analizó normalidad de los valores y distribución homogénea de varianzas mediante los tests de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Ante normalidad y homogeneidad de varianzas, se aplicó el test de t de Student (test paramétrico). En caso contrario, se aplicó el test de Kruskal-Wallis (global, cuando se compararon más de dos grupos) y el test de la U de Mann-Whitney. Para comparar frecuencias, se utilizó el test de Chi cuadrado para dos muestras independientes. Todos los tests utilizados fueron de dos colas.

## RESULTADOS

Se obtuvieron 26 individuos adultos a partir de la hembra chica y 21 a partir de la hembra de la forma grande. Solamente tres individuos de la forma pequeña y cuatro individuos de la forma grande murieron antes de llegar a la adultez. Al comparar el número de individuos adultos obtenidos de cada camada, no se encontraron diferencias significativas ( $\chi^2_1 = 0.38$ ,  $P = 0.54$ ).

Con respecto a la proporción sexual de la descendencia, de los 26 individuos de la forma pequeña todos fueron hembras, mientras que de los de la hembra grande 9 fueron hembras y 12 fueron machos, siendo éstas frecuencias significativamente distintas ( $\chi^2_1 = 19.95$ ,  $P < 0.0001$ ).

En la Tabla 1.1 se muestran los valores medios del número de mudas para cada forma y sexo. En la Figura 1.2 se muestra el número de mudas que necesitaron los individuos de cada camada para llegar a estado adulto. No se encontraron diferencias significativas en el número de mudas hasta adultos entre hembras y machos en la forma grande ( $t_{19} = 0.82$ ,  $P = 0.42$ ). En cambio, las hijas de la hembra pequeña necesitaron un número significativamente menor de mudas que las hijas de la hembra grande para llegar a adultas ( $U = 19$ ,  $N_1 = 26$ ,  $N_2 = 9$ ,  $P = 0.0002$ ).

Tabla 1.1. Número de mudas hasta llegar a adultos, discriminado según el sexo para cada forma. Los números figuran como medias con su correspondiente desvío estándar y rango de variación.

|                  | Número de mudas    |
|------------------|--------------------|
| Hembras pequeñas | 7.38 ± 0.98 (6- 9) |
| Hembras grandes  | 9.44 ± 1.01 (8-11) |
| Machos grandes   | 9.83 ± 1.11 (8-12) |

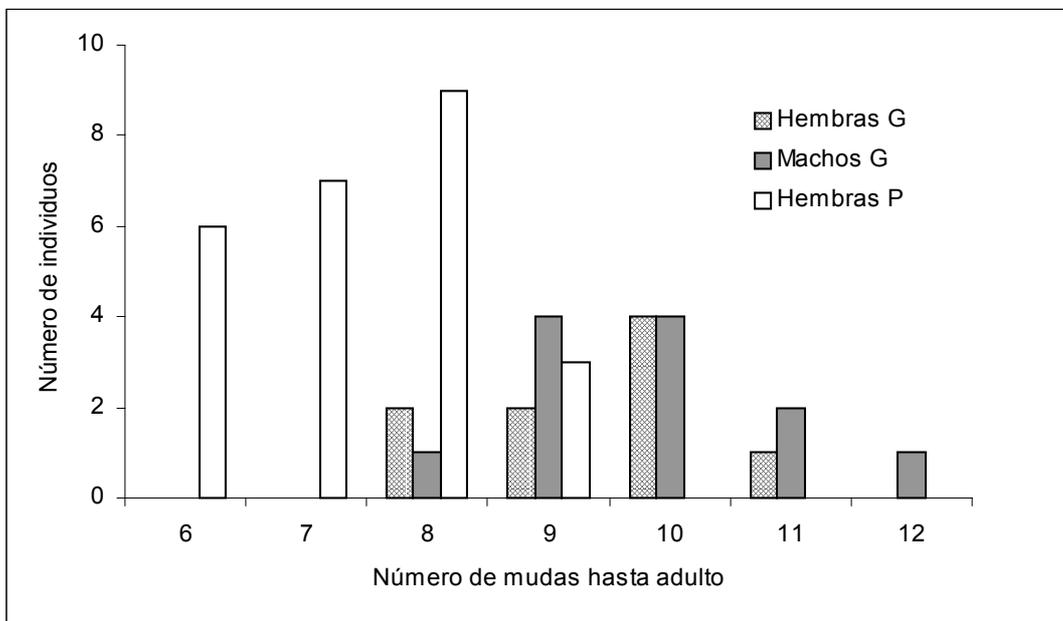


Figura 1. 2. Distribución del número de mudas realizadas hasta llegar a estado adulto en las camadas de la forma pequeña (P) y grande (G) de *Allocosa*.

Ambas formas mostraron solapamiento en la época de maduración, con un pico máximo en el mes de diciembre (Figura 1.3). La frecuencia máxima de acceso a la adultez se observó en diciembre, para ambas formas y sexos. Las hembras de ambas camadas tuvieron un pico menor pero importante de acceso a la adultez en noviembre, mientras que la mayoría los machos de la forma grande accedieron sincrónicamente en diciembre.

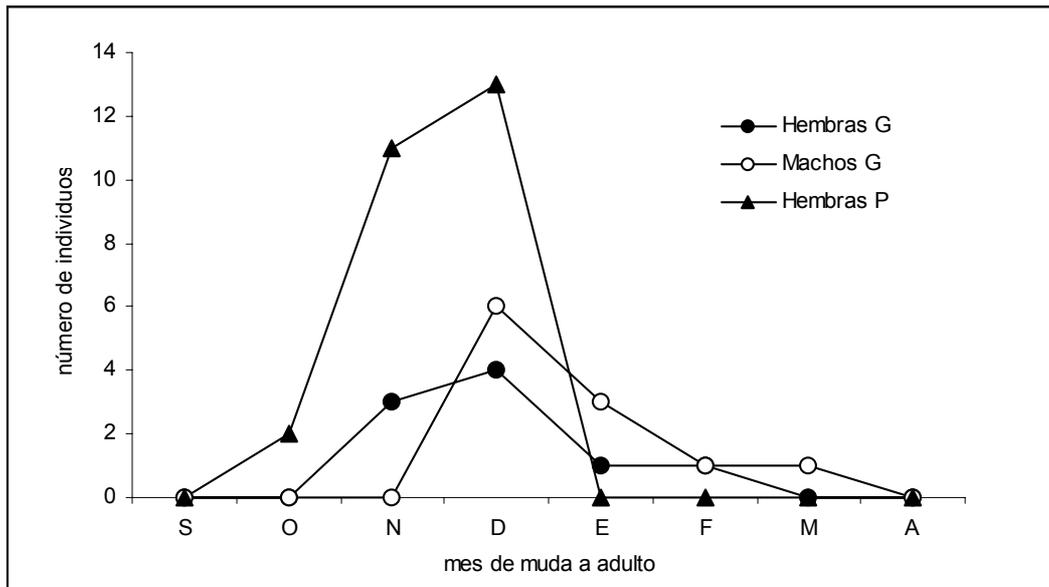


Figura 1.3. Distribución temporal de la última muda (adulterez) de la progenie de las dos formas de *Allocosa*.

Se calcularon los valores medios de duración del período juvenil extra ooteca (tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la muda a adulto) para los individuos de cada forma, que variaron entre 9 y 11 meses . Los resultados se resumen en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Períodos transcurridos desde la emergencia desde la ooteca hasta la muda a adultos, discriminados por forma y sexo. Los resultados se muestran como media, desvío estándar y valores extremos.

|           | Período hasta la muda (días) |
|-----------|------------------------------|
| Hembras P | 323.19 ± 17.51 (287- 347)    |
| Hembras G | 268.22 ± 24.46 (236- 318)    |
| Machos G  | 300.58 ± 34.09 (264- 362)    |

Se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos de individuos (hembras pequeñas, hembras grandes y machos grandes) en el tiempo de maduración ( $H_2 = 18.48$ ,  $P < 0.0001$ ). Las hembras pequeñas demoraron más tiempo en mudar a adultas con respecto a las hembras grandes ( $U = 11$ ,  $N_1 = 26$   $N_2 = 9$ ,  $P < 0.0001$ ), pese a que presentaron un menor número de mudas. A su vez, lo machos grandes demoraron más tiempo en llegar adultos que las hembras grandes ( $U = 20.5$ ,  $N_1 = 9$   $N_2 = 12$ ,  $P = 0.02$ ).

Los resultados de las medidas de largo y ancho de cefalotórax de la hembra madre pequeña y de su progenie, así como de la hembra madre grande y su progenie se resumen en la Tabla 1.3. Las hijas

de la madre pequeña mostraron un tamaño menor que las hijas de la madre grande, con valores estadísticamente significativos tanto al comparar largo ( $t_{34} = 18.76$ ,  $P < 0.0001$ ), como ancho de cefalotórax ( $t_{34} = 15.81$ ,  $P < 0.0001$ ). Al comparar las medidas de hembras y machos hijos de la hembra grande, se encontró que los machos poseían un tamaño de cefalotórax mayor, tanto en largo ( $U = 18$ ,  $N_1 = 9$ ,  $N_2 = 12$ ,  $P = 0.01$ ) como en ancho ( $t_{19} = 3.05$ ,  $P = 0.006$ ). Para ambas formas, y como se aprecia en la Tabla 1.3, los valores de largo y ancho de cefalotórax de las hembras madres prácticamente coinciden con los valores medios de sus hijas, pero escapan de los valores medios de las medidas de la camada de la otra forma más o menos sus desvíos. A su vez, la progenie de cada forma exhibió el diseño dorso-abdominal semejante al de su progenitora y diferente al de los individuos de la otra forma.

Tabla 1.3. Medidas de largo y ancho de cefalotórax de las hembras madres de cada forma y su progenie. Los valores de las camadas se representan como media con su correspondiente desvío estándar, rango y coeficientes de variación (CV).

|                    | largo cefalotórax (mm)             | ancho cefalotórax (mm)            |
|--------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Hembra P madre     | 3.80                               | 2.60                              |
| Hembras progenie P | 3.82 ± 0.30 (3.4- 4.5) CV = 7.9 %  | 2.85 ± 0.27 (2.4- 3.3) CV = 9.5 % |
| Hembra G madre     | 6.10                               | 4.60                              |
| Hembras progenie G | 5.93 ± 0.31 (5.5- 6.5) CV = 5.2 %  | 4.83 ± 0.47 (4.5- 5.1) CV = 9.7 % |
| Machos progenie G  | 6.90 ± 0.88 (5.8- 7.8) CV = 12.7 % | 5.41 ± 0.43 (4.9- 6.5) CV = 7.9 % |

Se estimó la longevidad (período entre emergencia desde la ooteca hasta la muerte) de la progenie de cada forma (Tabla 1.4). No se encontraron diferencias significativas en longevidad de las hijas de la hembra pequeña en comparación con las hijas de la hembra grande ( $U = 89$ ,  $P = 0.56$ ), ni tampoco entre hembras y machos hijos de la hembra grande ( $t_{17} = 0.36$ ,  $P = 0.72$ ).

Tabla 1.4. Longevidad de la progenie de la hembra pequeña y de la hembra grande. Los resultados se representan como media con su desvío estándar y rango.

|           | Longevidad (días)         |
|-----------|---------------------------|
| Hembras P | 437.69 ± 88.97 (142- 536) |
| Hembras G | 478 ± 88.71 (388- 669)    |
| Machos G  | 491 ± 79.29 (305- 577)    |

En cuanto a los muestreos realizados filtrando la arena de los médanos, los resultados se detallan en la Tabla 1.5. Las capturas muestran la presencia de machos adultos y fundamentalmente penúltimos en setiembre, enterrados en la arena. Se destaca que en la forma chica los machos presentaron estados más avanzados de desarrollo que las hembras. Los individuos de la forma grande mostraron menor grado de desarrollo, predominando juveniles no sexables.

Tabla 1.5. Número de individuos capturados en el filtrado de médanos y sus totales, clasificados por estadio y sexo, para cada muestreo (6 y 29 de setiembre del 2005).

|                      | Muestreo 1 | Muestreo 2 | Total |
|----------------------|------------|------------|-------|
| Hembras P penúltimas | 0          | 1          | 1     |
| Hembras P adultas    | 1          | 0          | 1     |
| Machos P penúltimos  | 6          | 8          | 14    |
| Machos P adultos     | 1          | 0          | 1     |
| Juveniles P          | 7          | 11         | 18    |
| Hembras G penúltimas | 0          | 0          | 0     |
| Hembras G adultas    | 2          | 0          | 2     |
| Machos G penúltimos  | 0          | 0          | 0     |
| Machos G adultos     | 0          | 0          | 0     |
| Juveniles G          | 13         | 14         | 27    |

## DISCUSIÓN

Los descendientes de ambas formas de *Allocosa brasiliensis* presentaron tamaño y diseño cromático similares a los de su progenitora, siendo distintos a los tamaños y diseños de la progenie de la otra forma, a pesar de haber sido criadas bajo las mismas condiciones en el laboratorio. De esta manera, se confirmó la existencia de dos tamaños distintos y consistentes de *A. brasiliensis*, que estarían determinados al nacimiento. A su vez, las diferencias en el diseño cromático, número de mudas hasta llegar a adultos, período transcurrido hasta la muda a adultos y en la proporción sexual de la camada, concordarían con la existencia de dos especies distintas de *Allocosa*, simpátricas y sincrónicas. Los resultados no sugieren la existencia de individuos intermedios entre ambas formas, dada la uniformidad de la descendencia. Estos resultados respaldan lo sugerido por Costa (1995) y Costa et al. (en prensa), con respecto al estatus específico de las dos formas.

La llamativa proporción sexual sesgada hacia las hembras en la forma pequeña, no puede ser explicada en términos de mortalidad diferencial de machos durante la cría. La mortalidad fue muy baja, y aún asumiendo que todos los individuos muertos fueran machos, se estaría manteniendo este marcado sesgo. El resultado encontrado coincidiría con los escasos reportes de machos de la forma pequeña capturados a campo con trampas pitfall (Costa 1995; Costa et al., en prensa). Adicionalmente, los resultados del filtrado de los médanos y observaciones a campo de este trabajo, sugieren que los machos de la forma pequeña serían muy sedentarios, alejándose de sus cuevas únicamente para alimentarse. Este hecho, sumado a su menor representación en número de individuos, podrían explicar su baja ocurrencia en las trampas pitfall, que sesgan la captura hacia individuos corredores y caminadores. Si comparamos el número de machos pequeños encontrados filtrando los médanos en el presente estudio con los caídos en trampas pitfall en un muestreo de dos años realizado en la misma zona (Costa et al., en prensa), encontramos que utilizando la técnica de filtrado se obtuvo en el primer muestreo un 75 % y en el segundo un 100 % de los machos pequeños obtenidos durante el muestreo de dos años con trampas pitfall, a pesar de que en términos generales la técnica de trampas fue más efectiva si se considera la captura total de individuos de *Allocosa*.

Una posibilidad alternativa es que el sesgo hacia las hembras no sea constante durante todo el período reproductivo, sino que sesguen hacia los machos en la primer ooteca, y hacia las hembras en las ootecas sucesivas, permitiendo a los machos ubicarse en lugares preferenciales en los médanos, que les permitan construir cuevas profundas, mientras esperan por la maduración de las hembras. Este tipo de estrategia ha sido reportada para avispa y ha sido considerada en modelos de evolución de proporciones sexuales sesgadas hacia hembras (Wakano 2005). De cualquier manera, el sesgo hacia las hembras encontrado en la cría de la camada pequeña en laboratorio, resulta un hecho muy llamativo que futuros estudios corroborarán para un número de camadas mayor. De confirmarse, constituiría el segundo caso reportado para arañas solitarias (Avilés et al. 2000), abriendo una amplio abanico de oportunidades para futuras investigaciones sobre el mecanismo utilizado para determinar las

proporciones resultantes de cada sexo en animales no haplodiploides. La posibilidad de las hembras de sesgar optativamente la proporción sexual de la descendencia tendría implicancias evolutivas, impactando sobre la proporción sexual operacional y sobre las estrategias comportamentales de la forma pequeña de *Allocosa*. Asimismo, la confirmación de las diferencias entre las proporciones sexuales de la forma pequeña y grande, permitirá un buen marco para la discusión de las semejanzas y diferencias entre ambas formas y la relevancia de la proporción sexual sobre la determinación de las estrategias sexuales resultantes de las arañas blancas de los médanos.

Las diferencias encontradas en el número de mudas entre ambas formas concordarían con las diferencias en el tamaño final de los adultos de *Allocosa*. Especies con ejemplares más pequeños, requieren menor cantidad de mudas para alcanzar el estado adulto (Foelix 1996). *Schizocosa malitiosa* es un licósido generalista de tamaño similar a los adultos de la forma grande (ancho de cefalotórax, en hembras 65 mm y en machos 60 mm), que habita zonas aledañas a las estudiadas y presenta un promedio de 10 mudas hasta llegar a adulto, sin presentar diferencia entre los sexos. Al comparar el número de mudas de ambas formas de *Allocosa*, se constata que a pesar de poseer la forma grande un tamaño final similar a *S. malitiosa*, el número de muda hasta adultos sería menor, reflejando un mayor crecimiento en cada muda. Se sugiere que un animal mudando dentro de un lugar seguro y microclimáticamente estable, como la cueva de *Allocosa*, permitiría un tiempo más prolongado del mismo con la cutícula nueva sin endurecerse, facilitando el crecimiento sin mayores riesgos, como podrían tener especies más vagabundas como *S. malitiosa*.

La época del año donde ambas formas acceden a la adultez coincidió con el pico máximo de actividad reproductiva reportado en el campo para ambas formas de *Allocosa* (Costa 1995; Costa et al., en prensa). El mayor período juvenil detectado en los filtrados, de la forma pequeña en comparación con la forma grande, a pesar de su menor cantidad de mudas y menor tamaño final, sugiere una menor velocidad en el desarrollo de ésta forma. Éstas diferencias podrían ser consecuencia de su distribución espacial. De acuerdo con Costa (1995) y Simó et al. (2005), la forma grande sería más frecuente hacia la costa, en zonas de dunas abiertas, mientras que la forma pequeña estaría más relacionada a arena fijada por pastos, lo cual estaría influyendo sobre la localización y características de sus cuevas. Las diferencias en la distribución espacial implican diferencias en factores bióticos como competencia con otras especies, predación o acceso a refugios, y abióticos como temperatura, humedad o radiación solar, que podrían estar determinando las patrones de desarrollo encontrados. A su vez, podría tratarse de una estrategia de los individuos de la forma pequeña para demorar su muda a adultos hasta el verano, o para los individuos de la forma grande de acelerar su muda a adultos de manera que ésta ocurra durante el verano, período más favorable para su reproducción.

En la forma grande, se encontraron diferencias entre hembras y machos tanto en el número de mudas como en el tamaño final. En general en arañas, las hembras son más grandes que los machos (Vollrath & Parker 1992; Foelix 1996; Coddington et al. 1991), considerándose que este patrón de dimorfismo estaría explicado por diferencias en la historia de vida y estrategias de cada sexo, siendo las

hembras las cargadoras de grandes gametos, sedentarias, y los machos los ágiles buscadores de pareja (Vollrath & Parker 1992). Sin embargo, los machos de la forma grande de *Allocosa* presentaron un tamaño mayor que las hembras. Asimismo, de acuerdo a las medidas obtenidas de los machos capturados a campo, en la forma pequeña también se presentaría este mismo patrón de dimorfismo sexual. Esta inversión en los tamaños típicos de cada sexo en las dos formas podría ser resultado del cambio en las estrategias típicas de cortejo sugerido para ambas formas de *Allocosa*. El dimorfismo sexual en *Allocosa* será tratado con mayor profundidad en el Capítulo 2, luego del análisis de medidas de individuos de ambos sexos capturados a campo y del estudio de las estrategias de cada sexo durante el cortejo y cópula.

En conclusión, del presente estudio se desprenden diferencias entre ambas formas de *Allocosa*, que sugieren claramente la existencia de dos especies simpátricas y sincrónicas distintas. Esta hipótesis será puesta a prueba con experiencias de aislamiento reproductor y comparación más detallada de medidas de tamaño corporal y genitalia de las dos formas en el Capítulo 3.

## **CAPÍTULO 2: COMPORTAMIENTO SEXUAL E INVERSIÓN DE ROLES SEXUALES**

## INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, se considera que la Selección Sexual como fuerza evolutiva (Darwin 1871), actuará con diferente intensidad en hembras y machos. Los roles de cada sexo estarán determinados por las contribuciones femeninas y masculinas en el tamaño de gametos, inversión parental, provisión de recursos, esfuerzo en búsqueda y localización de potenciales parejas para el apareamiento, competencia intrasexual, esfuerzo de cortejo y esfuerzo de cópula (Trivers 1972; Owens & Thompson 1994; Bonduriansky 2001). En general, las asimetrías precopulatorias en inversión de gametos, promoverán asimetrías en la inversión copulatoria, y postcopulatoria de cada sexo (Arnqvist & Rowe 2005). A su vez y en general, factores como la mayor incertidumbre de paternidad por parte de los machos y posible menor representación en la progenie con respecto a las hembras, favorecerán la tendencia de los machos a maximizar el número de apareamientos y minimizar la inversión en la progenie, volviéndose los machos el sexo competitivo y las hembras, con una mayor inversión en gametos y progenie, el sexo selectivo.

Sin embargo, ante una alta contribución masculina en la reproducción, los roles sexuales típicos y el dimorfismo sexual pueden invertirse, tornándose los machos selectivos y las hembras el sexo más activo durante el cortejo, compitiendo entre ellas por acceder a los machos. La teoría predice que en estos casos, existirá una mayor variación femenina en el éxito de apareamiento y que las hembras podrán desarrollar rasgos sexuales secundarios y despliegues durante el cortejo (Andersson 1994). En especies en las cuales no exista inversión parental, los cambios se reflejarán sólo en los roles típicos de cada sexo durante el cortejo (Gwynne 1991). Estas inversiones en los roles sexuales han sido reportadas en insectos, crustáceos, peces, anfibios y aves (Eens & Pinxten 2000), y pueden ser totales, cuando sólo los machos son selectivos, o parciales, cuando ambos sexos seleccionan. Los cambios en los roles típicos en general surgen asociados con inversión por parte de los machos de dos maneras: cuidado parental (como ocurren en vertebrados o en algunos grupos de insectos), o provisión de regalos nupciales durante el cortejo, con los cuales el macho provee de nutrientes a la hembra que se alimenta durante la cópula o son absorbidos con el eyaculado. La mayor inversión masculina en la progenie, con la consiguiente reducción en la tasa de apareamiento de los machos, comprometiendo su posibilidad de reproducción futura, los cambios resultantes en la proporción sexual operativa y el grado de competencia espermática de la especie, serían factores determinantes para el surgimiento de la inversión de roles sexuales en el Reino Animal (Lorch 2002).

El grado de dimorfismo sexual en tamaño de una especie refleja diferencias en la historia evolutiva de cada sexo, determinadas por las presiones selectivas impuestas por la Selección Sexual, Selección Natural o ambas. Asimismo, este dimorfismo sexual estará determinado por los roles de cada sexo, el sistema de apareamiento y el grado y tipo de inversión parental de hembras y machos de la especie (Fairbairn 1997). Por ejemplo, en insectos que proveen de costosos regalos nupciales a la hembra, el tamaño del recurso obtenido podrá ser dependiente del tamaño corporal del macho,

generando la presión hacia un valor de tamaño corporal mayor en los machos que en hembras (Karlsson et al. 1997).

En arañas, en la gran mayoría de especies las hembras poseen un tamaño mayor que los machos, siendo esta disparidad extrema en algunos casos. La gran mayoría de estudios sobre dimorfismo sexual extremo corresponden a arañas de tela (Vollrath & Parker 1992; Hormiga et al. 2000). Existen varias interpretaciones acerca del origen del dimorfismo sexual extremo que implican ya sea el enanismo en machos como consecuencia de la mayor movilidad y mortalidad de individuos de este sexo (Vollrath & Parker 1992), el gigantismo de las hembras (Hormiga et al. 2000), o la ventaja de ser machos pequeños en especies en las cuales los machos necesitan trepar hasta la tela de la hembra para aparearse (Moya-Laraño et al. 2002). Hasta el momento, existen muy escasos ejemplos reportados de inversión del dimorfismo sexual clásico en arañas, en los cuales los machos presenten mayor porte que las hembras (Lang 2001; Schutz & Taborsky 2005).

*Allocosa brasiliensis*, es una araña lobo adaptada a la vida en los arenales costeros. Estas arañas presentan color amarillo blanquecino, críptico, y poseen hábitos nocturnos. Habitan cuevas en las que permanecen durante el día y los meses más fríos del año, volviéndose activas particularmente durante las noches de verano (Costa 1995). Estudios realizados en el área costera de Marindia, Canelones, empleando trampas pitfall (Costa 1995; Costa et al., en prensa), sugieren la existencia de dos patrones diferenciados de tamaño, diseño cromático y distribución espacial en los adultos de esta especie (forma pequeña y forma grande), que sugieren la existencia de una especie polimórfica con individuos intermedios fuertemente contraseleccionados, o dos especies distintas aisladas reproductivamente. Asimismo, los resultados de trampas pitfall (Costa 1995; Costa et al., en prensa; resultados del Capítulo 1), indican un mayor tamaño de machos que de hembras y una mayor movilidad de hembras que de machos, ambos hechos que pueden considerarse muy llamativos para arañas.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, ambas formas de *Allocosa* se postulan como candidatos promisorios para poner a prueba la inversión en los roles sexuales típicos durante el cortejo. Se plantean como objetivos del presente estudio analizar el dimorfismo sexual de tamaño en ambas formas de *Allocosa*, describir el cortejo y la cópula en condiciones de laboratorio, analizando posibles diferencias entre la forma pequeña y grande, e investigar la posible inversión de roles sexuales para ambas formas de esta especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La recolección de individuos de ambas formas de *Allocosa* se realizó durante el período octubre - enero de los años 2005 y 2006, en la zona costera de Marindia, Canelones. Los ejemplares fueron capturados durante la noche, utilizando linternas de minero. Se capturaron individuos caminando o asomados en la boca de sus cuevas. Se recolectaron en total 103 individuos de la forma pequeña y 90 individuos de la forma grande.

Los individuos fueron inmediatamente transportados al laboratorio, donde fueron identificados por forma y sexados. En la forma pequeña se identificaron 43 hembras subadultas, 31 machos adultos, 14 machos penúltimos y 15 juveniles no sexables; en la forma grande se reconocieron 41 hembras subadultas, 33 machos adultos y 16 juveniles no sexables. Todos los ejemplares fueron criados en forma individual en cajas de petri de 9.5 cm de diámetro y 1.5 cm de alto, con arena como sustrato y un algodón con agua. Fueron controlados diariamente, registrando la fecha de muda, y alimentados tres veces a la semana con larvas de *Tenebrio sp.* (Coleoptera, Tenebrionidae) y juveniles de cucarachas *Blaptica dubia* (Blaberidae). La temperatura media en el laboratorio durante el período de cría fue de  $22.81 \pm 2.88$  ° C (rango: 15-31). Se midió largo y ancho de cefalotórax de todos los individuos y largo de quelíceros (segmento basal, excluyendo la uña), luego de su muerte.

Para las experiencias se utilizaron solamente hembras vírgenes capturadas como subadultas, o criadas en el laboratorio desde su emergencia de la ooteca. Los machos utilizados fueron criados desde subadultos, desde la emergencia de la ooteca, o fueron capturados como adultos a campo. Machos y hembras de cada forma fueron distribuidos aleatoriamente dentro de los grupos experimentales. En todos los casos, se utilizaron individuos de al menos diez días de edad adulta, o transcurridos diez días luego de su captura en el campo como adultos. En ningún caso, los individuos fueron reutilizados.

Se crearon dos grupos experimentales, y se realizaron 20 experiencias en cada uno. En uno de los grupos se enfrentaron hembra y macho de la forma pequeña, y en el otro, hembra y macho de la forma grande. Para los encuentros sexuales, macho y hembra fueron ubicados separadamente en un terrario de vidrio, 48 horas antes de la experiencia. Cada terrario medía 30 cm por 16 cm de base y 20 cm de altura, con una capa de 15 cm de arena como sustrato; el terrario se dividió en dos partes iguales mediante una barrera, donde fue depositado cada individuo de la pareja. Observaciones previas habían mostrado que los individuos de ambas formas construían sus cuevas contra las paredes de vidrio, permitiendo su observación dentro de las cuevas. Cada experiencia se inició levantando la barrera y finalizó luego de la cópula, o transcurrida una hora desde su inicio.

Las experiencias se realizaron entre el 20 de enero y el 29 de abril de 2005, y entre el 6 de febrero y el 10 de marzo del 2006. Todas fueron iniciadas luego de las 18 hs, horario de mayor actividad de estos individuos en el campo (Costa 1995), realizando observación directa bajo luz roja. La temperatura media durante las experiencias de la forma pequeña fue de  $25.11 \pm 1.28$  ° C (rango: 22-27) ° C y durante las experiencias de la forma grande fue de  $23.96 \pm 2.03$  ° C (rango: 21-28). En todos los

casos, se registró la hora de la experiencia, temperatura, presencia y dimensiones de la cueva (diámetro y largo) de cada individuo. Se registraron en detalle los comportamientos de los individuos durante el cortejo, la cópula y posteriormente a la cópula, y se describieron las unidades de comportamiento en cada caso. En casos en los cuales los comportamientos fueron muy rápidos (por ejemplo, entrada a la cueva), se registró la ocurrencia de los sucesos pero no su duración. El número de eyaculaciones por cada inserción se registro indirectamente, por la erección de las espinas de las patas de los machos. Para un análisis más exhaustivo, se registraron 4 experiencias de cortejo y cópula de cada forma con videocámara (Panasonic S-VHS, NV-M9500EN).

Especímenes representativos criados en el laboratorio y capturados a campo fueron depositados en la colección aracnológica de la Sección Entomología, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Montevideo.

### Análisis estadísticos

Los resultados fueron analizados con el programa *Past Palaeontological Statistics* versión 1.18 (Hammer et al. 2003), y el programa *Statistica* versión 6.0. Se estimó normalidad de los valores y distribución homogénea de varianzas mediante los tests de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Ante normalidad y homogeneidad de varianzas, se aplicó el test de t de Student (test paramérico). En caso contrario, se aplicó el test de la U de Mann-Whitney. Para comparar frecuencias, se utilizaron los tests de probabilidad exacta de Fisher y Chi cuadrado para dos muestras independientes, de acuerdo a si el número de datos fuera menor o mayor de 15, respectivamente. Todos los tests utilizados fueron de dos colas. Se investigó correlación lineal entre variables y se aplicó ANCOVA para investigar dimorfismo sexual de largo de quelíceros. Se halló el índice de dimorfismo sexual para cada forma de acuerdo a Hormiga et al. (2000).

## RESULTADOS

### Dimorfismo sexual

Las medias de la largo y ancho de cefalotórax de hembras y machos, se resumen en la Tabla 2.1 y los resultados de las comparaciones se encuentran en las Figuras 2.1 y 2.2 . Los machos presentaron un tamaño significativamente mayor de largo y de ancho de cefalotórax que el de las hembras. Las comparaciones de los tamaños entre formas se tratarán en el Capítulo 3.

Tabla 2.1. Medidas de largo y ancho de cefalotórax para hembras y machos de la forma pequeña y grande. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango.

|                           | <u>largo de cefalotórax (mm)</u> | <u>ancho de cefalotórax (mm)</u> |
|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Hembras pequeñas (n = 84) | 3.82± 0.39 (3.0 - 4.5)           | 2.95± 0.28 (2.4 - 3.8)           |
| Machos pequeños (n = 45)  | 4.45± 0.49 (3.4 - 6.7)           | 3.16± 0.46 (2.6 - 4.8)           |
| Hembras grandes (n = 52)  | 5.58± 0.39 (4.7- 7.0)            | 4.65± 0.49 (3.7 - 6.5)           |
| Machos grandes (n = 52)   | 6.90± 0.53 (5.5 - 9)             | 5.66± 0.52 (4.5- 8.2)            |

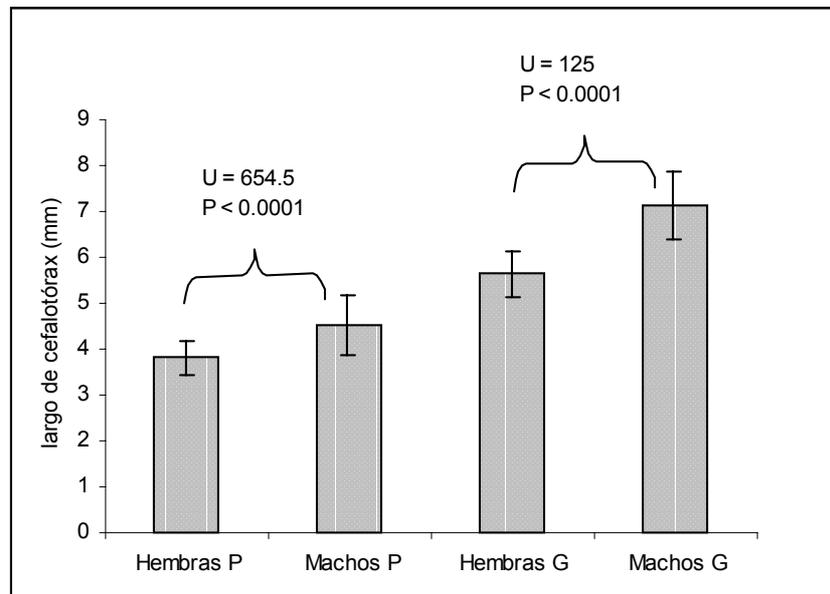


Figura 2.1. Comparación entre largo de cefalotórax de individuos de ambos sexos, para la forma pequeña (P) y grande (G). Los resultados se muestran en milímetros, como media con su correspondiente desvío estándar. Las comparaciones se indican con una llave (test de la U de Mann Whitney).

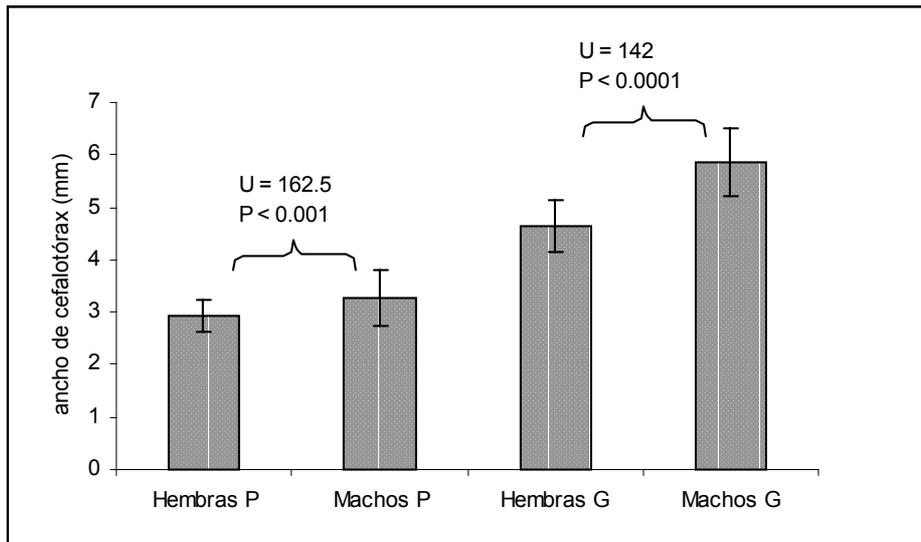


Figura 2.2. Comparación entre ancho de cefalotórax de individuos de ambos sexos, para la forma pequeña (P) y grande (G). Las comparaciones se indican con una llave (test de la U de Mann Whitney).

Las medidas de largo de quelíceros para hembras y machos de cada forma se muestran en la Tabla 2.2. El tamaño de los quelíceros se correlacionó directamente con el ancho de cefalotórax, tanto en hembras ( $R = 0.52$ ,  $F = 19.29$ ,  $P < 0.0001$ ) como en machos ( $R = 0.84$ ,  $F = 74.71$ ,  $P < 0.0001$ ) de la forma pequeña, así como en hembras ( $R = 0.63$ ,  $F = 23.55$ ,  $P < 0.0001$ ) y en machos ( $R = 0.65$ ,  $F = 31.54$ ,  $P < 0.0001$ ) de la forma grande. El test ANCOVA utilizando valores de largo de quelíceros y ancho de cefalotórax como covariables y el sexo como factor, mostró diferencias significativas en la forma pequeña ( $F_{1,84} = 51.46$ ,  $P < 0.0001$ ) y en la grande ( $F_{1,80} = 19.145$ ,  $P < 0.0001$ ), siendo los quelíceros mayores en los machos.

Se calculó el índice de dimorfismo sexual para cada forma siguiendo a Hormiga et al. (2000), (cociente entre el ancho medio del cefalotórax de las hembras sobre el de los machos), obteniéndose 0.9 para la forma chica y 0.8 para la forma grande.

Tabla 2.2. Medidas de largo de quelíceros para hembras y machos de la forma pequeña y grande. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango.

|                          | Largo quelíceros (mm)   |
|--------------------------|-------------------------|
| Hembras pequeñas (n= 55) | 1.97 ± 0.28 (1.3 - 2.6) |
| Machos pequeños (n= 32)  | 2.77± 0.54 (1.9 - 4.3 ) |
| Hembras grandes (n=38)   | 3.17± 0.41 (2.5 - 4.4)  |
| Machos grandes (n= 45)   | 4.51± 0.66 (3.0 - 6.0)  |

Comportamiento constructor y experiencias de cortejo

Al comparar la construcción de cuevas por hembras y machos después de ser ubicados en las cajas, se encontró que los machos cavan sus cuevas con mayor frecuencia que las hembras, en ambas formas (comparaciones en Fig. 2.3). Las frecuencias de construcción de cuevas no fueron diferentes entre hembras pequeñas y grandes ( $X^2 = 0.09$ ,  $P = 0.76$ ), pero entre machos fueron idénticas. La temperatura durante las experiencias no presentó diferencias significativas entre los grupos ( $U = 182.5$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.07$ ).

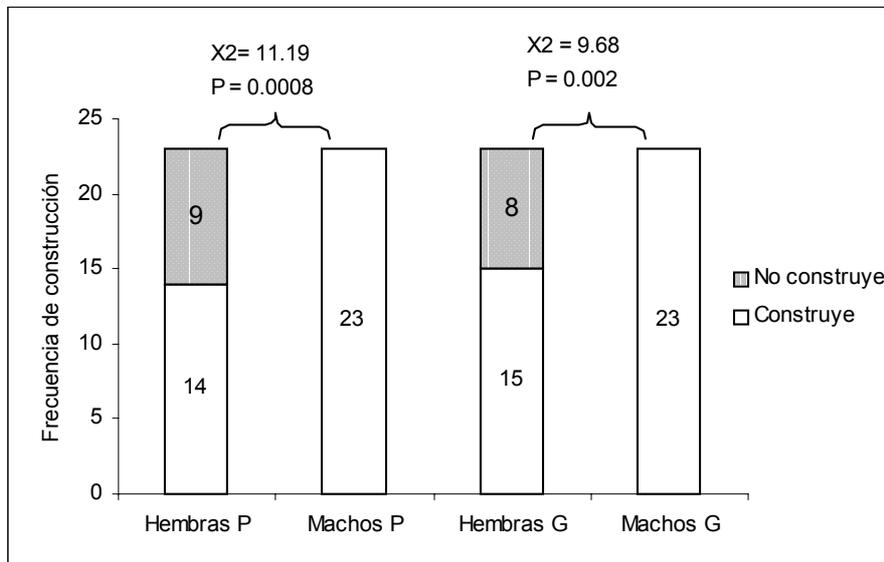


Fig. 2.3. Frecuencia de construcción de cuevas para hembras y machos de cada forma. Los resultados de las comparaciones entre hembras y machos de cada forma figuran con el valor de  $X^2$  y la probabilidad correspondiente.

Se comparó el largo y ancho de las bocas de las cuevas de hembras y machos de cada forma, y el largo y ancho de cefalotórax de todos los individuos que participaron de las experiencias. Las medias se presentan en la Tabla 2.3 y los resultados de las comparaciones entre los grupos se presentan en la Figura 2.4. Las cuevas de las hembras presentaron menor longitud y menor ancho que las de los machos en la forma pequeña. En la forma grande, las cuevas de las hembras presentaron menor longitud pero anchos indiferenciables estadísticamente a las de los machos (Fig. 2.4). No se observaron diferencias en la longitud de las cuevas de hembras de formas distintas ( $U = 94, N_1 = 14, N_2 = 15, P = 0.65$ ); en cambio, los machos de la forma grande construyeron cuevas más largas que los machos pequeños ( $t_{44} = 2.72, P = 0.01$ ). El ancho de las cuevas de la forma pequeña fue menor al de las cuevas de la forma grande, presentando valores significativamente diferentes tanto para hembras ( $U = 24.5, N_1 = 14, N_2 = 15, P < 0.0001$ ) como para machos ( $U = 94, N_1 = N_2 = 23, P = 0.0004$ ).

Tabla 2.3. Medidas de largo y ancho de cuevas, y de largo y ancho de cefalotórax para hembras y machos de la forma pequeña (P) y grande (G) que participaron de las experiencias. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango. Se midieron 14 cuevas de hembras pequeñas y 15 cuevas de las grandes; los restantes datos corresponden a 23 medidas.

|           | Largo cuevas (cm)      | Ancho cueva (cm)      | largo cefalotórax (mm) | ancho cefalotórax (mm) |
|-----------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Hembras P | 3.76 ± 2.25 (1.0-8.5)  | 0.67 ± 0.10 (0.5-0.8) | 3.84 ± 0.37 (3.0-4.4)  | 2.96 ± 0.27 (2.0-3.6)  |
| Machos P  | 8.43 ± 1.61(5.0-11.3)  | 0.77 ± 0.15 (0.5-1)   | 4.49 ± 0.48 (4.0-5.5)  | 3.21 ± 0.45 (2.2-4.3)  |
| Hembras G | 3.93 ± 2.00 (1.5-9.0)  | 0.85 ± 0.11 (0.7-1.0) | 5.68 ± 0.40 (5.0-6.3)  | 4.77 ± 0.50 (3.9-5.4)  |
| Machos G  | 9.89 ± 1.99 (13.5-5.0) | 0.93 ± 0.13 (0.7-1.2) | 7.03 ± 0.53 (6.0-8.0)  | 5.72 ± 0.56 (5.1-7.3)  |

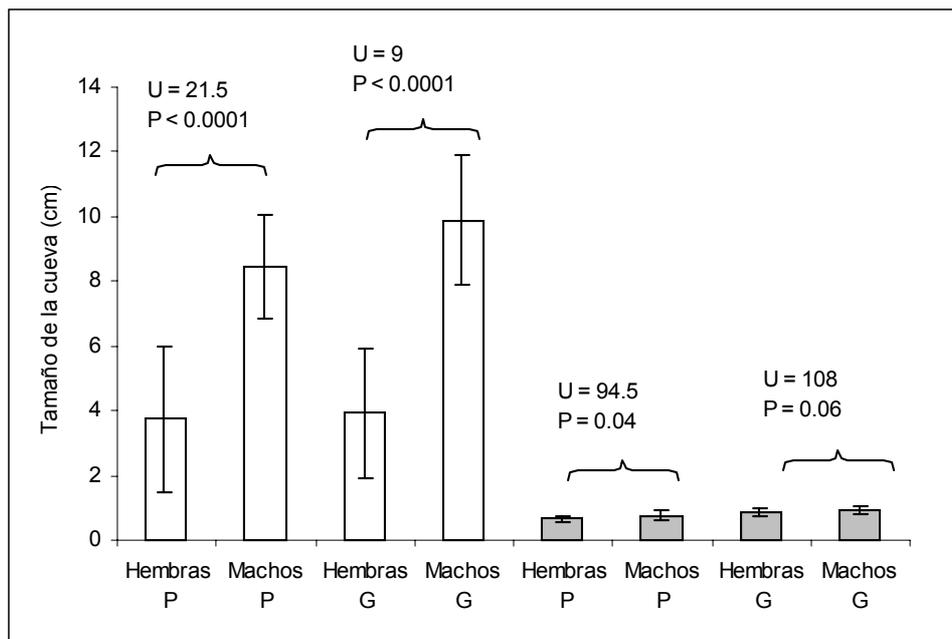


Fig. 2.4. Comparación del largo y ancho de las cuevas de hembras y machos para cada forma, presentados como media y desvío estándar. Las comparaciones se realizaron con el test de la U de Mann Whitney.

Los machos de la forma pequeña presentaron mayor largo de cefalotórax ( $t_{44} = 5.07$ ,  $P < 0.0001$ ) y mayor ancho de cefalotórax ( $U = 162.5$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.02$ ) que las hembras. Asimismo, en la forma grande los machos presentaron mayor tamaño que las hembras, tanto en el largo ( $t_{44} = 9.74$ ,  $P < 0.0001$ ) como en el ancho del cefalotórax ( $t_{44} = 6.06$ ,  $P < 0.0001$ ). Las hembras grandes presentaron mayor largo de cefalotórax ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ) y mayor ancho de cefalotórax ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ) que las pequeñas. Los machos grandes presentaron mayor largo de cefalotórax ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ) y mayor ancho de cefalotórax ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ) que los pequeños.

Se analizó una posible correlación entre el largo de la cueva y el tamaño de los individuos. En los machos de la forma pequeña, no existió correlación significativa entre el largo de la cueva y el largo del cefalotórax ( $R = 0.048$ ,  $F = 0.048$ ,  $P = 0.829$ ), ni tampoco con el ancho de cefalotórax ( $R = 0.123$ ,  $F = 0.323$ ,  $P = 0.576$ ). En las hembras, tampoco se encontró correlación entre las cuevas y el largo cefalotórax ( $R = 0.338$ ,  $F = 2.72$ ,  $P = 0.114$ ), o con el ancho de cefalotórax ( $R = 0.263$ ,  $F = 1.563$ ,  $P = 0.225$ ). En la forma grande, no se encontró correlación entre el tamaño de los individuos y el largo de la cueva ni en los machos (largo cefalotórax:  $R = 0.008$ ,  $F = 0.0013$ ,  $P = 0.972$ ; ancho cefalotórax:  $R = 0.126$ ,  $F = 0.338$ ,  $P = 0.567$ ) ni en las hembras (largo cefalotórax:  $R = 0.053$ ,  $F = 0.059$ ,  $P = 0.809$ ; ancho cefalotórax:  $R = 0.174$ ,  $F = 0.653$ ,  $P = 0.428$ ).

En la Figura 2.5 se resumen las frecuencias de salida de la cueva de cada forma y sexo y los resultados de las comparaciones estadísticas entre los grupos (test de probabilidad exacta de Fisher), descartando aquellas hembras que no construyeron cueva. Las hembras fueron el sexo móvil en ambas formas, saliendo de sus cuevas con mayor frecuencia que los machos. Sólo dos machos de la forma grande salieron de sus cuevas, tomaron agua y volvieron inmediatamente a sus cuevas. No se encontraron diferencias en las frecuencias de salida de las cuevas entre hembras de formas distintas (test de Fisher,  $P = 0.259$ ), ni entre los machos (Fisher,  $P = 0.244$ ).

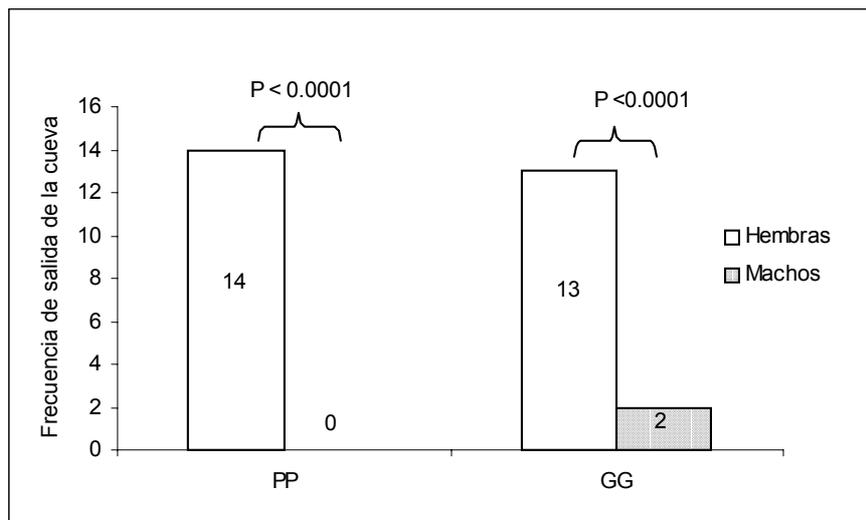


Fig. 2.5. Frecuencias de salida de hembras y machos desde sus cuevas, en experiencias dentro de la forma pequeña (PP) o dentro de la forma grande (GG). Para las comparaciones estadísticas entre hembras y machos se utilizó el test de probabilidad exacta de Fisher.

En 13 de 14 casos, las hembras de la forma pequeña tenían las bocas de sus cuevas abiertas al comenzar la experiencia, mientras que en la forma grande 9 de 15 hembras presentaban las bocas de sus cuevas abiertas al inicio de la experiencia. Los machos presentaron la boca de sus cuevas abiertas en 17 de 23 casos en la forma pequeña y en 14 de 23 casos en la forma grande. No existieron diferencias significativas de frecuencias de bocas de cuevas abiertas entre hembras y machos de la forma pequeña (Fisher,  $P = 0.161$ ), o de la forma grande (Fisher,  $P = 0.610$ ). Las hembras de la forma pequeña mostraron mayor frecuencia (en el límite de significación) de cuevas abiertas respecto a las hembras de la forma grande (Fisher,  $P = 0.049$ ), mientras que los machos de ambas formas no presentaron diferencias entre sí al respecto ( $X_1^2 = 0.89$ ,  $P = 0.345$ ).

Las hembras se aproximaron a las cuevas de los machos con mayor frecuencia que en la situación inversa, en ambas formas (Figura 2.6). Las hembras de ambas formas se acercaron y asomaron en las cuevas de los machos, e inclusive abrieron cuevas obturadas (5 casos), tanto en la forma pequeña como en la grande. En ningún caso los machos salieron de sus cuevas para acercarse a las cuevas de las hembras. No se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias de acercamiento de las hembras de ambas formas a la cueva de los machos ( $X_1^2 = 1.10$ ,  $P = 0.295$ ). Las hembras de la forma pequeña tardaron  $6.1 \pm 4.6$  min (rango: 0.9-14.5) en detectar la cueva del macho y las hembras grandes demoraron  $10.2 \pm 9.9$  min (rango: 0.3 -26.6). No se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de detección de cuevas de machos entre hembras pequeñas y grandes ( $U = 186.5$ ,  $N_1 = 22$   $N_2 = 20$ ,  $P = 0.406$ ).

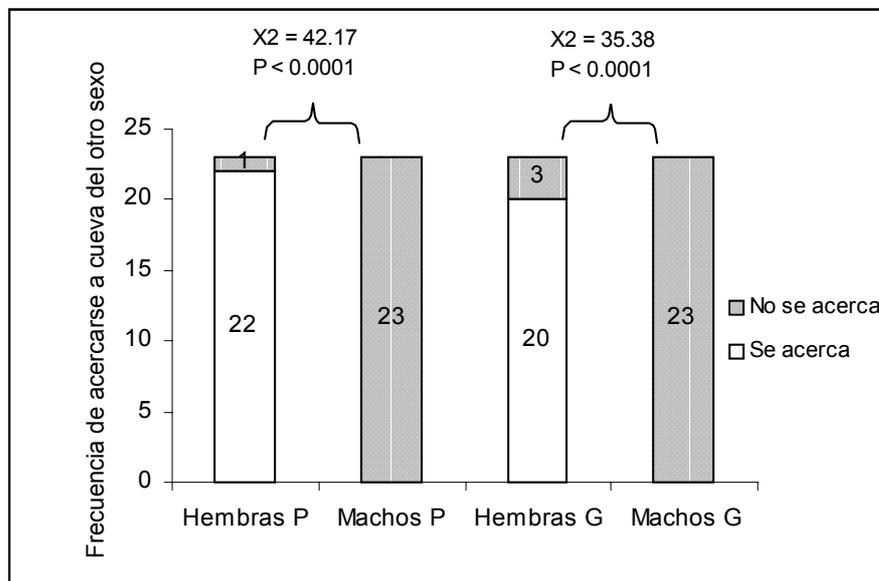


Fig. 2.6. Frecuencias de acercamiento hacia la cueva del individuo del otro sexo, para hembras y machos de la forma pequeña (PP) y de la grande (GG). Las comparaciones se indican con una llave (test de probabilidad exacta de Fisher).

Se consideró como inicio del cortejo: 1) cuando la hembra se asomó hacia adentro de la cueva del macho y realizó sacudidas con las patas I y II; 2) cuando el macho comenzó a realizar sacudidas corporales desde su cueva. Las hembras iniciaron el cortejo con mayor frecuencia que los machos

(Figura 2.7), tanto en la forma pequeña como en la grande, pero sin mostrar diferencias entre las formas ( $X_1^2 = 1.58$ ,  $P = 0.209$ ).

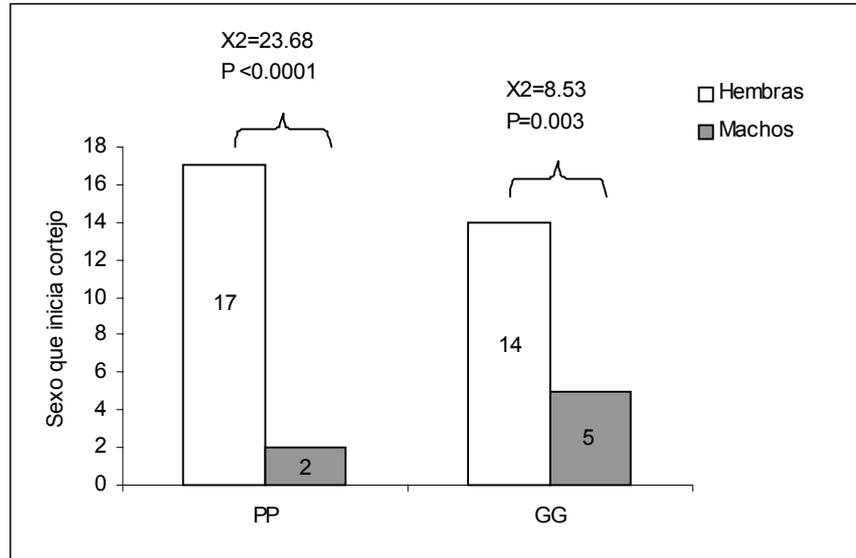


Fig. 2.7. Frecuencias de inicio de cortejo por sexo en las experiencias de la forma pequeña (PP) y grande (GG). Las comparaciones entre hembras y machos de cada forma se indican con una llave (Chi cuadrado).

El cortejo mostró patrón general y unidades comportamentales similares entre ambas formas, que se resumen en la Figura 2.8.

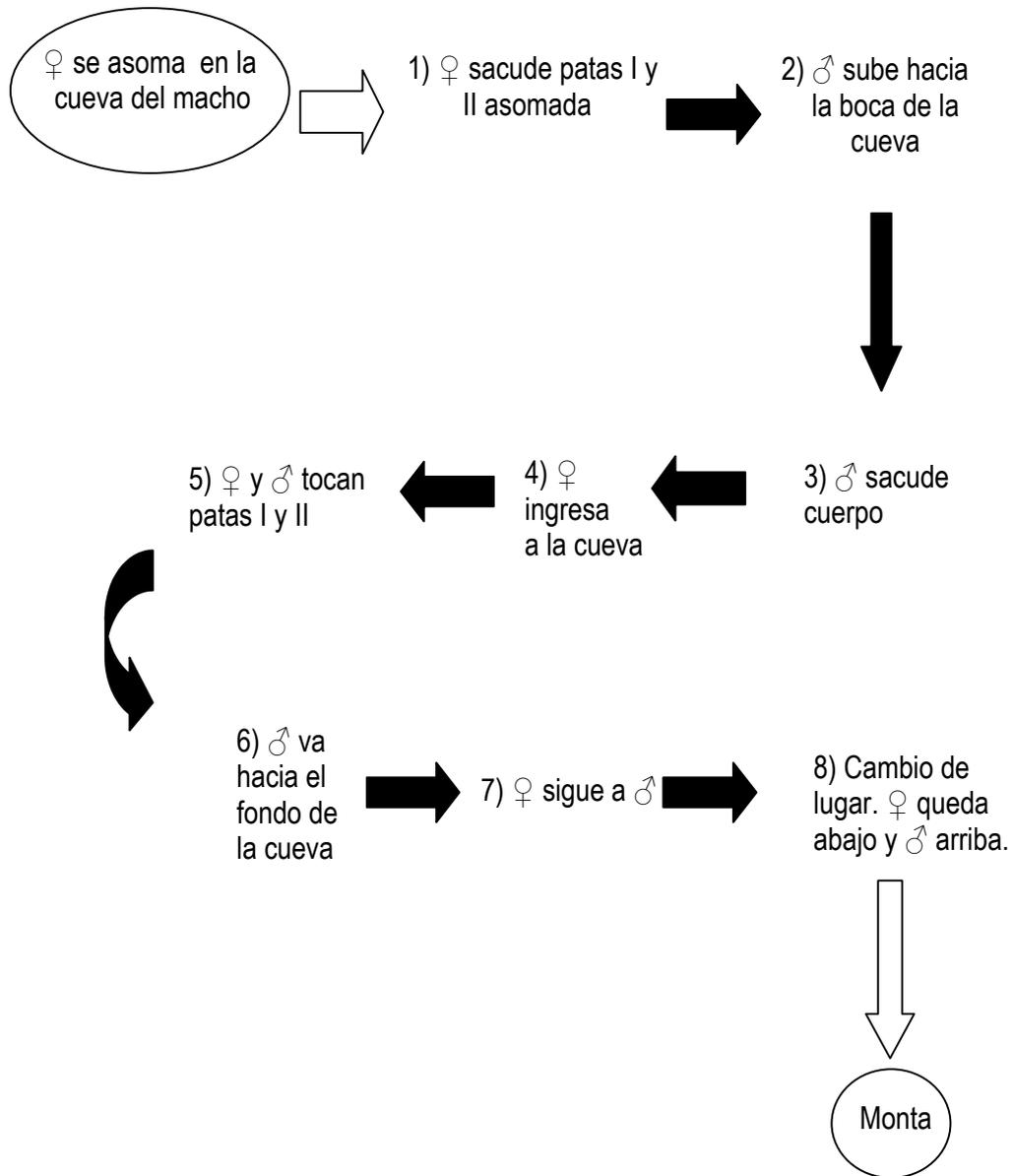


Figura 2.8. Diagrama del comportamiento de ambos sexos durante el cortejo. Las flechas en blanco representan el inicio y fin del cortejo. Cuando el macho inició el cortejo (7 casos), la unidad 3 se intercaló antes de la unidad 1 del diagrama.

El cortejo usualmente se inicia con la hembra asomada en la boca de la cueva del macho, sacudiendo sus patas I y II en forma alternada hacia el fondo de la cueva (unidad 1); en ocasiones la hembra suma vibración del abdomen hacia arriba y abajo. En la unidad 2, el macho sube hacia la boca de su cueva y se acerca a la hembra. Durante la unidad 3, el macho sacude su cuerpo hacia arriba-abajo, enfrentado a la hembra. La duración de esta unidad se midió hasta el ingreso de la hembra en la cueva (unidad 4), aunque el macho continuó realizando sacudidas corporales. Durante la unidad 5, la hembra se acerca hacia el macho y ambos realizan toqueteos con las patas I y II y enfrentados, entrando y saliendo de contacto sucesivas veces. El macho retrocede y desciende hacia el fondo de su cueva, siempre enfrentado a la hembra, realizando esporádicamente sacudidas de cuerpo (unidad 6). La hembra finalmente sigue al macho y baja hacia el fondo de la cueva (unidad 7). Durante esta unidad la hembra desciende y realiza sacudidas esporádicas de sus patas I y II, intercaladas con vibración del abdomen hacia arriba y abajo. Por último, en la unidad 8 el macho intercambia su ubicación con la hembra, desplazándose ya sea por debajo o por encima de ella, quedando entonces el macho arriba y la hembra abajo en la cueva, y enfrentados nuevamente al girar ambos. El macho luego intenta la monta. La duración de la unidad 8 se calculó desde el cambio de posiciones hasta la monta (si existió). La frecuencia de aparición de cada unidad se representan en la Figura 2.9, para las experiencias de la forma pequeña y de la forma grande. No se encontraron diferencias significativas de frecuencias entre ambas formas, en ninguna unidad: en la unidad 1 (frecuencias iguales), unidades 2 ó 3 ( $X_1^2 = 0.14$ ,  $P = 0.710$ , para ambas), unidad 4 ( $X_1^2 = 0.89$ ,  $P = 0.345$ ), unidad 5 ( $X_1^2 = 0.84$ ,  $P = 0.359$ ), unidad 6 ( $X_1^2 = 0.81$ ,  $P = 0.369$ ), unidad 7 ( $X_1^2 = 0.35$ ,  $P = 0.552$ ) o unidad 8 ( $X_1^2 = 0.35$ ,  $P = 0.555$ ).

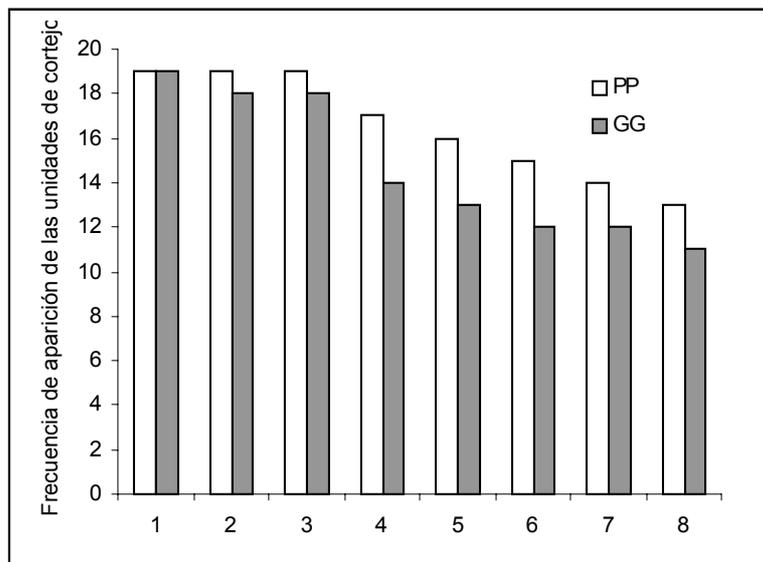


Fig. 2.9. Frecuencia de aparición de cada unidad de cortejo, para la forma pequeña (PP) y grande (GG). Los números se corresponden con las unidades de comportamiento de la Figura 2.8.

Las duraciones de las unidades 1, 3, 5 y 8 para la forma pequeña y grande, se resumen en la Tabla 2.4. Como se explicó en Materiales y Métodos, las otras duraciones fueron muy breves y no fueron registradas. No se encontraron diferencias entre las formas ni en la duración de la unidad 1 ( $U = 120.5$ ,  $N_1 = N_2 = 19$ ,  $P = 0.33$ ), ni en la duración de la unidad 5 ( $U = 85.5$ ,  $N_1 = 16$ ,  $N_2 = 13$ ,  $P = 0.59$ ). En la unidad 3, la forma pequeña presentó una duración menor ( $U = 71$ ,  $N_1 = 19$ ,  $N_2 = 18$ ,  $P = 0.04$ ), y en la unidad 8 una duración mayor ( $U = 18$ ,  $N_1 = 11$ ,  $N_2 = 10$ ,  $P = 0.02$ ) respecto a la forma grande.

Tabla 2.4. Duración de las unidades (en minutos) del cortejo 1, 3, 5 y 8 para las experiencias de la forma pequeña (PP) y de la forma grande (GG), en minutos. Los números corresponden a las unidades de comportamiento del diagrama de la Figura 2.8. Los resultados se presentan como media, desvío estándar, rango y n.

|     | Unidad 1                    | Unidad 3                      | Unidad 5                    | Unidad 8                    |
|-----|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| P-P | 0.9 ± 0.5 (0.3-2.0), n = 19 | 6.8 ± 12.8 (0.2-52.4), n = 19 | 1.4 ± 1.2 (0.5-4.4), n = 16 | 2.4 ± 1.5 (0.7-2.9), n = 11 |
| GG  | 1.0 ± 1.3 (0.2-4.3), n = 19 | 9.3 ± 7.7 (0.8-29.8), n = 18  | 1.5 ± 1.0 (0.5-3.4), n = 13 | 1.4 ± 2.2 (0.4-7.7), n = 10 |

Las frecuencias de cortejo entre ambas formas fueron similares (4 casos sin cortejo en cada forma). Se analizó también en ambas formas si luego de que la hembra inicia el cortejo, el macho responde cortejando. Los machos respondieron al cortejo de las hembras en todos los casos (17 de 17 en la forma pequeña, 14 de 14 en la grande). No se encontraron diferencias entre estas respuestas entre la forma pequeña y grande (Fisher,  $P = 0.60$ ).

Se comparó la duración del cortejo entre ambas formas en aquellas experiencias que culminaron con monta. En estos casos, la duración de cortejo en la forma pequeña fue  $19.61 \pm 15.43$  min (rango: 6.2-53.3), y en la forma grande  $13.91 \pm 11.22$  min (rango: 2.3- 3.4). No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos ( $U = 41$ ,  $N_1 = 11$ ,  $N_2 = 10$ ,  $P = 0.34$ ). Se analizó la posible correlación entre el largo de las cuevas y la duración de cortejo para ambas formas, no encontrándose una relación significativa en la forma pequeña ( $R = 0.103$ ,  $F = 0.096$ ,  $P = 0.764$ ), pero sí en la forma grande ( $R = 0.413$ ,  $F = 5.627$ ,  $P = 0.04$ ).

En la forma pequeña, en dos casos existió el cruce macho-hembra (unidad 8) y no hubo cópula; en uno de ellos existió monta con desmonta, sin inserción de palpos. En la forma grande, solamente en un caso hubo cruce sin cópula. El intercambio de posiciones (cruce) mostró ser un buen indicador de cópula: las parejas que se cruzaron mostraron frecuencias de cópula superiores respecto al azar, tanto para la forma pequeña (Fisher,  $P < 0.0001$ ) como para la grande (Fisher,  $P < 0.0001$ ).

## Cópula

Se obtuvieron 11 cópulas en la forma pequeña y 10 cópulas en la forma grande, no encontrándose diferencias significativas en éxito de cópula entre las dos formas ( $X_1^2 = 0.09$ ,  $P = 0.76$ ). La cópula en todos los casos tuvo lugar dentro de la cueva del macho y se describió por medio de cinco unidades comportamentales (Fig. 2.10). La primera unidad es la monta del macho sobre el dorso de la hembra, en sentidos opuestos. La unidad 2 se define por la inserción del órgano palpar masculino, realizando múltiples eyaculaciones manteniendo el órgano insertado. La unidad 3 es el cambio de lado del macho: el macho gira sobre el dorso de la hembra y se reubica para insertar con el otro órgano palpar. Las unidades 2 y 3 se suceden varias veces hasta la desmonta (unidad 4). Durante la desmonta el macho retrocede y se ubica frontal a la hembra, dentro de la cueva. La unidad 5 comprende el aseo de ambos palpos del macho desmontado, llevándolos a la boca y realizando movimientos del tipo masticatorio. Mientras el macho realiza esta unidad, la hembra se acerca al macho y agita su primer y segundo par de patas, hacia arriba y hacia abajo, acompañadas por vibraciones de su abdomen. Luego de esta unidad, se repite la secuencia de unidades 1, 2, 3, 4 y 5 un número variable de veces (ver el número de montas durante la cópula en la Tabla 2.5), hasta la desmonta y aseo final. Inmediatamente luego de la última desmonta, el macho retrocede y sale de la cueva. Entonces, procede al tapado de la boca de la cueva, liberando seda, transportando seda utilizando los quelíceros, y arrastrando arena con las patas I y II hasta ocluir totalmente la cueva. La hembra permanece en el interior, y colabora para tapar la boca de la cueva y las paredes internas con seda.

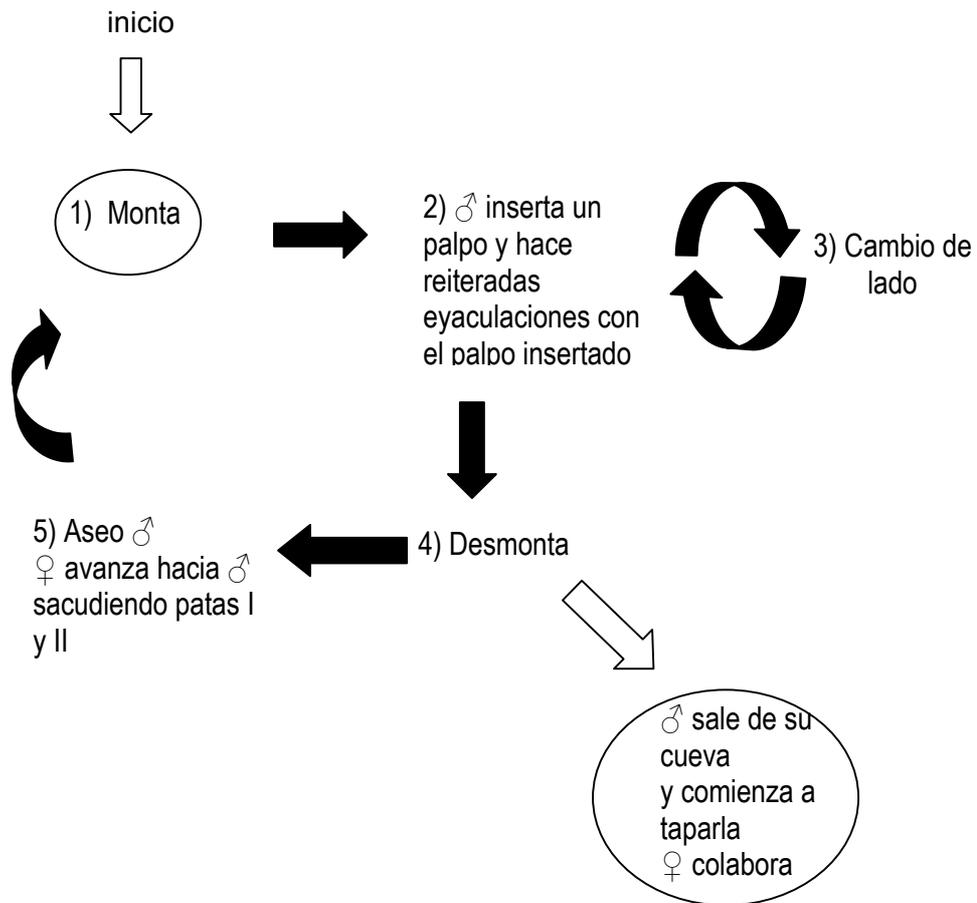


Figura 2.10. Diagrama de flujo mostrando la secuencia de unidades de comportamiento de ambos sexos durante la copula. Las flechas en blanco representan el inicio y fin del cortejo, las flechas en negro indican las secuencias repetidas.

En la Tabla 2.5 se resumen los valores medios de las características copulatorias analizadas. No se encontraron diferencias en la duración de la cópula entre ambas formas ( $U = 34.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.15$ ), ni tampoco en el número de montas durante la cópula ( $U = 54.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.97$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el número de inserciones totales ( $U = 43.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.42$ ), número de eyaculaciones totales ( $U = 40.5$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.32$ ), duración total del período de aseo ( $U = 43.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.42$ ), frecuencia de inserción ( $U = 28.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.06$ ), frecuencia de eyaculación ( $t_{19} = 1.11$ ,  $P = 0.28$ ), o número de eyaculaciones por inserción ( $t_{19} = 1.54$ ,  $P = 0.14$ ), entre las cópulas de ambas formas.

Tabla 2.5. Características de las cópulas obtenidas para ambas formas (pequeña, PP, y grande, GG). Los resultados se muestran como media con su desvío estándar y rango correspondiente.

|                                    | PP                       | GG                       |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Duración de cópula (min)           | 21.1 ± 5.9 (1.7- 31.1)   | 33.6 ± 16.9 (15.0- 62.4) |
| N° de montas                       | 7.6 ± 1.7 (6.0 - 11.0)   | 8.9 ± 4.4 (5.0 - 17.0)   |
| N° de inserciones                  | 11.0 ± 2.6 (7.0-17)      | 11.20 ± 6.1 (4.0- 22.0)  |
| N° de eyaculaciones                | 52.1 ± 13.9 (25.0- 70.0) | 66.4 ± 26.6 (28.0- 99.0) |
| Duración total del aseo (min)      | 8.9 ± 3.1 (4.2- 14.4)    | 14.9 ± 12.8 (1.2- 30.8)  |
| Frecuencia de inserción (ins/min)  | 1.0 ± 0.5 (0.6- 2.3)     | 0.7 ± 0.3 (0.2-1.2)      |
| Frecuencia de eyaculación (ey/min) | 4.9 ± 2.0 (2.3- 8.3)     | 4.0 ± 2.0 (2.1- 9.0)     |
| Número de eyaculaciones/inserción  | 5.0 ± 2.1 (2.8- 7.8)     | 6.5 ± 2.4 (3.9-10.6)     |

La duración del tapado de la cueva fue de  $16.9 \pm 8.7$  min (rango: 4.2-28.8) en la forma pequeña y  $7.1 \pm 4.7$  min (rango: 2.0-15.8) en la forma grande, siendo significativamente menor en la forma pequeña ( $U = 21.0$ ,  $N_1 = 11$   $N_2 = 10$ ,  $P = 0.02$ ).

Se investigó la influencia de distintas variables sobre la duración de la cópula y la duración del tapado en ambas formas. No se encontró correlación entre la duración de cortejo y duración de cópula ni en la forma pequeña ( $R = 0.293$ ,  $F = 0.845$ ,  $P = 0.381$ ), ni en la grande ( $R = - 0.113$ ,  $F = 0.104$ ,  $P = 0.755$ ). Se investigó la posible influencia del largo de la cueva del macho y del tamaño de machos y hembras sobre la duración de la cópula. No se encontró relación significativa con el largo de la cueva de los machos (pequeños:  $R = - 0.231$ ,  $F = 0.509$ ,  $P = 0.493$ ; grandes:  $R = 0.122$ ,  $F = 0.121$ ,  $P = 0.737$ ), largo de cefalotórax de los machos (pequeños:  $R = - 0.169$ ,  $F = 0.267$ ,  $P = 0.618$ ; grandes:  $R = - 0.493$ ,  $F = 2.572$ ,  $P = 0.147$ ) o con el ancho de cefalotórax de los machos (pequeños:  $R = 0.189$ ,  $F = 0.333$ ,  $P = 0.578$ ; grandes:  $R = - 0.350$ ,  $F = 1.115$ ,  $P = 0.322$ ). Se encontró correlación significativa inversa entre el tamaño y la duración de la cópula de las hembras pequeñas, tanto con el largo de cefalotórax ( $R = - 0.759$ ,  $F = 12.237$ ,  $P = 0.007$ ) como con el ancho ( $R = - 0.727$ ,  $F = 10.072$ ,  $P = 0.011$ ); no encontrándose correlación significativa para las hembras grandes, ni con el largo del cefalotórax ( $R = 0.410$ ,  $F = 1.616$ ,  $P = 0.166$ ).

= 0.239) ni el ancho ( $R = - 0.546$ ,  $F = 3.390$ ,  $P = 0.103$ ). Adicionalmente, y teniendo en cuenta los resultado anteriormente citados, en la forma pequeña se analizó si la correlación entre tamaño y duración de la cópula se debía al tiempo de monta real, descartando el tiempo de aseo intermedio. Se encontró nuevamente una correlación significativa con el largo de cefalotórax ( $R = - 0.609$ ,  $F = 5.313$ ,  $P = 0.047$ ) y con el ancho ( $R = - 0.815$ ,  $F = 17.883$ ,  $P = 0.002$ ). Los valores de las correlaciones ensayadas entre el número de inserciones, el número de eyaculaciones, y la duración de la cópula con respecto al tiempo de tapado de la boca de la cueva, se muestran en la Tabla 2.6. No se encontró correlación significativa en ninguno de los casos.

Tabla 2.6. Correlaciones entre el número de inserciones, número de eyaculaciones y duración de la cópula, con respecto al tiempo de tapado de la cueva del macho. Cada resultado figura con su coeficiente R, coeficiente F y probabilidad correspondiente.

|                             | Duración del tapado                       |
|-----------------------------|---|
| Número de inserciones P-P   | $R = - 0.242$ ; $F = 0.558$ ; $P = 0.474$ |
| Número de eyaculaciones P-P | $R = 0.294$ ; $F = 0.852$ ; $P = 0.380$   |
| Duración de la cópula P-P   | $R = 0.129$ ; $F = 0.153$ ; $P = 0.704$   |
| Número de inserciones G-G   | $R = - 0.348$ ; $F = 1.106$ ; $P = 0.324$ |
| Número de eyaculaciones G-G | $R = - 0.342$ ; $F = 1.058$ ; $P = 0.334$ |
| Duración de la cópula G-G   | $R = 0.093$ ; $F = 0.07$ ; $P = 0.797$    |

Se investigaron posibles causas que determinaran la existencia o no de la cópula. Se compararon largo y ancho de las cuevas, largo y ancho de cefalotórax de los machos y de las hembras, en los casos en que hubo y no hubo cópula, para cada forma. Los resultados se resumen en las Figuras 2.11 y 2.12. La cuevas de los machos que copularon fueron más largas que las de los que no copularon, tanto en los pequeños como en los grandes. En el resto de los casos, no hubo diferencias significativas entre las cuevas de los que copularon y los que no copularon. El tamaño de machos y hembras, no fue significativamente distinto en las experiencias que resultaron en cópula y en las que no, tanto en la forma pequeña como en la grande.

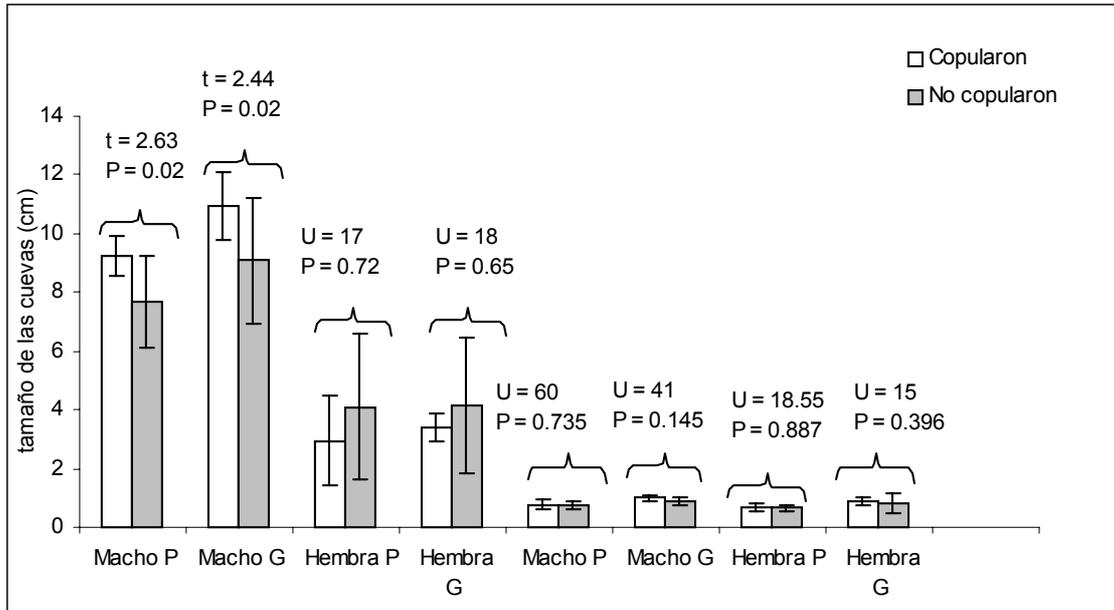


Figura 2.11. Comparación entre el tamaño de las cuevas de machos y hembras de cada forma, en experiencias en las que hubo cópula y no hubo cópula. Las primeras cuatro comparaciones corresponden al largo de las cuevas y las últimas cuatro, al ancho de las cuevas. Los resultados de las comparaciones se presentan con el coeficiente U o t, y su probabilidad correspondiente.

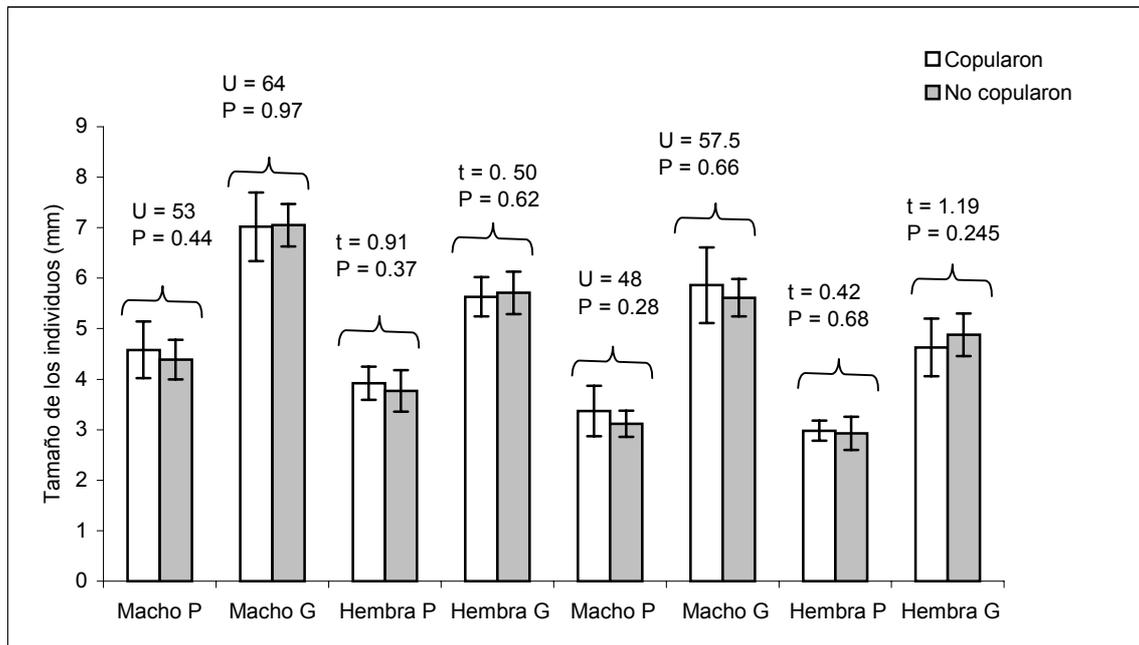


Figura 2.12. Comparación entre el tamaño de machos y hembras de cada forma, en experiencias en las que hubo cópula y no hubo cópula. Las primeras cuatro comparaciones corresponden al largo de cefalotórax y las últimas cuatro, al ancho. Los resultados de las comparaciones se presentan con el coeficiente U o t, y su probabilidad correspondiente.

Se comparó la frecuencia bocas abiertas en las cuevas de hembras y machos, entre las experiencias en las que hubo y no hubo cópula, para ambas formas. Las frecuencias se resumen en la Figura 2.13. No se encontraron frecuencias de cópula distintas cuando las cuevas están abiertas, tanto en las hembras pequeñas ( $X_1^2 = 1.45$ ,  $P = 0.23$ ) como en las grandes (Fisher,  $P = 0.51$ ). Los machos no copularon con frecuencia diferente cuando las bocas de sus cuevas están abiertas, ni en la forma pequeña ( $X_1^2 = 0.68$ ,  $P = 0.41$ ) ni en la forma grande (Fisher,  $P = 0.36$ ). Finalmente, se comparó la frecuencia de cópula entre hembras que habían construido y no habían construido cueva. Se encontró que las hembras que no construyeron cueva, copularon con mayor frecuencia que las que sí lo hicieron, tanto en la forma pequeña como en la grande (Figura 2.14).

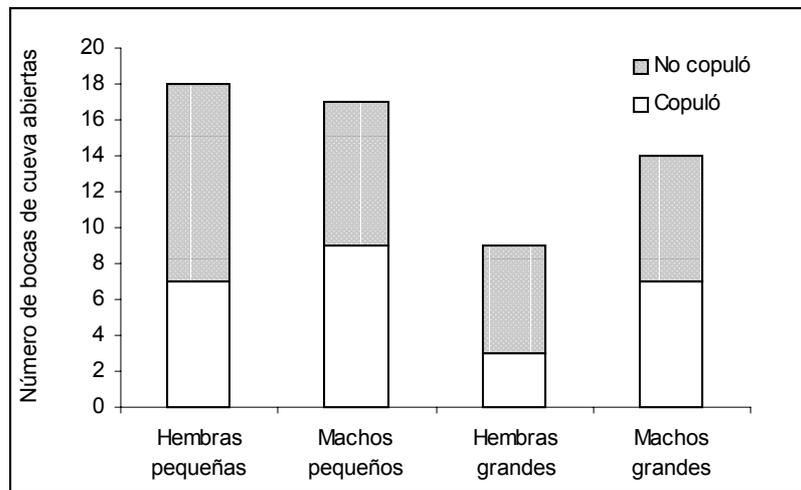


Figura 2.13. Número de cuevas abiertas de cada forma y sexo, para experiencias con y sin cópula.

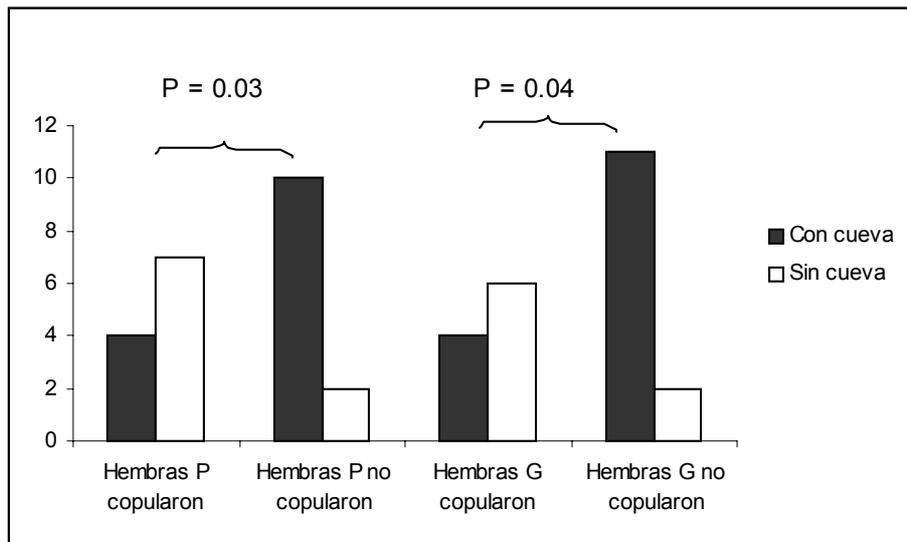


Figura 2.14. Frecuencia de cópula en hembras que construyeron o no construyeron cuevas. Los resultados de las comparaciones se expresan con su probabilidad correspondiente (test de Fisher).

## DISCUSIÓN

Las hembras de ambas formas presentaron un menor tamaño con respecto a los machos, un hecho considerado excepcional en arañas (Vollrath & Parker 1992; Coddington et al. 1997; Hormiga et al. 2000; Moya-Laraño et al. 2002). De acuerdo al índice de dimorfismo utilizado, no se puede considerar dimorfismo sexual extremo. Los escasos reportes de machos de mayor tamaño en arañas, han sido discutidos en base a la competencia intrasexual por el acceso a hembras o territorios (Lang 2001), o como consecuencia de diferentes presiones adaptativas a la vida locomotora en cada sexo (Schutz & Taborsky 2005). El menor tamaño en machos de arañas ha sido a menudo explicado en base a su mayor movilidad (Vollrath & Parker 1992; Foelix 1996), o ventajas para acceder a la hembra siendo pequeño y/o liviano (Moya-Laraño et al. 2002).

En ambas formas de *Allocosa*, las hembras fueron el sexo móvil. El dimorfismo sexual podría estar determinado por la adaptación de las hembras a ser el sexo caminador. En sistemas en los cuales las estrategias sexuales convencionales están invertidas, la mayor movilidad durante la búsqueda de pareja expondría a las hembras a un mayor riesgo de predación (Gwynne & Bussière 2002). Un posible mecanismo de evasión de predación podría ser tener un tamaño final menor, que les permita a las hembras pasar desapercibidas, sin limitar su movilización. Sin embargo, la mayor variación en tamaño de los machos sugiere que éste sería el sexo que varió su tamaño. Por otra parte, el mayor tamaño de los machos podría estar relacionado con su capacidad constructora. En especies con inversión de roles sexuales, se ha detectado que el tamaño sería una señal honesta de la condición del macho, reflejando su posible futura inversión en regalos nupciales o recursos (Karlsson et al. 1997). Si bien no se encontró relación entre el tamaño de los machos y el largo de las cuevas, quizá el plazo establecido para la construcción (48 horas) fue muy breve para evidenciar esta tendencia. Por otra parte, el dimorfismo sexual encontrado en el tamaño de los quelíceros podría estar reflejando su mayor utilización durante los procesos de construcción de las cuevas, o su condición de caracteres sexuales secundarios utilizados durante competencias macho-macho.

Los resultados indican que hembras y machos tienen estrategias distintas con respecto a la construcción de cuevas. Las hembras construyen cuevas con menor frecuencia y son más cortas que las de los machos. Las hembras de la forma pequeña presentaron un tamaño de diámetro de la boca de la cueva menor con respecto al de los machos, lo que posiblemente se explique por su menor tamaño corporal. Adicionalmente, las hembras sin cueva copularon con mayor frecuencia, lo que sugiere una tendencia en hembras vírgenes a adaptarse a una vida más errante durante su período de búsqueda de potenciales parejas reproductoras.

Las hembras se acercaron a las cuevas de los machos e iniciaron el cortejo en la amplia mayoría de los casos, para ambas formas de *Allocosa*. El cortejo de ambas formas de *Allocosa* involucró señales que implicarían comunicación acústica y sísmica principalmente, como ocurre en otras arañas nocturnas que habitan en cuevas (Costa & Pérez-Miles 2002; Quirici & Costa 2005). La arena ha demostrado ser un

sustrato eficiente para la transmisión de señales sísmicas en artrópodos (Brownell & Van Hemmen 2001; Henschel 2002). Las sacudidas que realiza el macho durante el cortejo mostraron ser registrables por geófono (observaciones no publicadas), sugiriendo la transmisión sísmica de las señales, sin descartar la transmisión simultánea de señales acústicas como ocurre en otras especies de licósidos (Uetz & Stratton 1982). Estas señales podrían estar involucradas no solamente en el reconocimiento hembra-macho, sino también en la estimación de la pareja y aislamiento reproductor entre ambas formas, como ocurre en otras arañas de la misma familia (Elias et al. 2006).

Las hembras demostraron ser exitosas en la detección de cuevas de machos, aún antes de que éstos exhibieran comportamiento alguno que sugiera la transmisión de señales que ayuden a la hembra en la localización de cuevas. Por lo tanto, se sugiere la existencia de señales químicas asociadas a la seda de la boca de la cueva del macho, que colaborarían en la detección de las mismas por las hembras. La localización de individuos del otro sexo por señales químicas liberadas por las hembras, ha sido ampliamente reportada en arañas lobo (Tietjen & Rovner 1982; Costa & Capocasale 1984; Roberts & Uetz 2004; Schulz 2004). Adicionalmente, las hembras podrían ser capaces de detectar no exclusivamente las señales químicas emitidas por los machos, sino también características de la seda, como su estructura (Tietjen & Rovner 1980). La duración del cortejo fue muy variable para ambas formas. En la forma grande se encontró una correlación positiva entre el largo de la cueva y la duración del cortejo, que podría estar explicada por el mayor tiempo transcurrido en los movimientos de los individuos dentro de la cueva y sus interacciones.

Las hembras mostraron ser selectivas en lo que respecta a la longitud de las cuevas de los machos, prefiriendo copular con los machos poseedores de las cuevas de mayor longitud. En animales nocturnos que copulan dentro de cuevas, más que las señales visuales, el largo de las cuevas podría resultar un buen estimador del tamaño y la habilidad constructora del macho. Las cuevas más largas posiblemente provean a los individuos de ambas formas de un medio hidrófilo y termófilo, hecho reportado para cuevas de ambas formas de *Allocosa* (Simó et al. 2005). Al mismo tiempo, cuevas más largas les brindan a los individuos mayor protección contra ataques de predadores, por ejemplo otras arañas. La evasión de predación intragremio por medio de estrategias comportamentales ha sido reportada para arañas lobo (Persons et al. 2001; Lehmann et al. 2004). La elección por parte de las hembras estaría indicando que se trataría de una inversión parcial de los roles sexuales (Andersson 1994), ya que las hembras se mantendrían como sexo selectivo. No hubo evidencias de selección por parte de los machos, aunque tampoco se descarta. Los machos podrían seleccionar hembras de acuerdo a su status reproductivo, situación que no fue evaluada en el presente estudio. Observaciones ocasionales de la autora mostraron dos casos en los cuales los machos rechazaron hembras de su misma forma, expulsando a las hembras de sus cuevas e inclusive cerrando las bocas con seda. Este punto requiere de un análisis más exhaustivo en el futuro.

La cópula no presentó diferencias significativas entre ambas formas, siendo sumamente variable en lo que respecta a duración, número de inserciones y número de eyaculaciones. El patrón de inserción

palpar, con una inserción y múltiples eyaculaciones con un palpo y otro sucesivamente, ha sido reportado para varias familias de arañas lobo y se considera el patrón primitivo en Lycosidae (Costa & Sotelo 1994; Stratton et al. 1996). La existencia de repetidas montas y desmontas durante el proceso de cópula se reporta por primera vez para arañas de esta familia, estando posibilitada por las características del lugar de cópula -una cueva- que mantiene a los individuos protegidos de la predación y previene el alejamiento de la pareja. Efectivamente, durante la cópula los machos de ambas formas de *Allocosa* se ubican en la sección superior de la misma y las hembras por debajo, con la cual el patrón de montar y desmontar no implica correr riesgos de perder a la hembra, ya sea por su alejamiento o acercamiento de otros machos. El número de montas y desmontas podría estar reflejando una mayor estimulación y cortejo copulatorio hacia las hembras en un contexto de elección críptica femenina, como ha sido descrito para otras especies (Eberhard 1985, 1996).

Al buscar la relación entre distintas variables y la duración de cópula, se encontró que el tamaño (largo y ancho de cefalotórax) de las hembras pequeñas esta correlacionado negativamente con la duración de la cópula. Un análisis posterior indicó que este aumento en la duración de cópula también estaba correlacionado con un mayor tiempo de inserción. El tamaño menor de las hembras podría aparejar problemas en la inserción o un mayor número de inserciones fallidas. Adicionalmente, la correlación negativa podría estar reflejando un mayor tiempo necesario para transferir el esperma debido al menor diámetro del conducto de copulación (Eberhard 1996). Los demás factores analizados, duración de cortejo y tamaño de las cuevas, no demostraron estar relacionados con la duración de la cópula en ninguna de las dos formas.

El tapado de la boca de la cueva por parte del macho, y colaboración femenina desde el interior de la cueva, asegurarían a ambos un mejor camuflaje de la cueva, dificultando la detección de la seda de la boca por avispas pompilidas del género *Anoplius*, muy frecuentes en el área durante el período diurno (Costa 1995). Observaciones en el campo (Fernando G. Costa, comunicación personal y reportes de la autora), indican que estas avispas predarían sobre individuos de *Allocosa* capturados caminando en las horas de la tarde o en sus cuevas, cuando éstas permanezcan abiertas. El comportamiento observado en los machos de ambas formas de *Allocosa*, de ocluir las bocas de sus cuevas luego se la cópula, con seda y arena, desplazando la arena con las patas I y II hasta cubrir toda la zona de la boca, colaboraría en no dejar rastros de seda que puedan ser detectados por avispas. A su vez, para el macho sería un mecanismo de asegurar su paternidad, evitando la detección de la cueva y de la hembra por parte de otros machos que se encontraran caminando luego de una cópula o que hubieran salido de sus cuevas para alimentarse.

Se desconoce el período durante el cual la hembra permanece en la cueva del macho, pero la ausencia en trampas pitfall de hembras de *Allocosa* cargando ooteca (Costa 1995; Costa et al., en prensa) y observaciones a campo sugieren que las hembras serían extremadamente sedentarias durante este período, posiblemente permaneciendo en la cueva del macho hasta la dispersión de la descendencia. Por lo tanto, el macho proveería de un recurso costoso, limitando su posterior tasa de

apareamiento y corriendo riesgos de predación, pero aumentando las posibilidades de supervivencia de la hembra copulada y posiblemente de su progenie. De acuerdo con Simmons & Parker (1989), la inversión parental se define como cualquier aumento en la supervivencia de la progenie, ya sea invirtiendo directamente en cuidados a las crías o, indirectamente, mejorando la condición reproductiva de la hembras, a expensas de poder invertir en nueva progenie. Se considera que la inversión parental dependerá del grado de certeza de paternidad (Trivers 1972), y teniendo en cuenta los hechos citados, al ceder las cuevas y taparlas, los machos de ambas formas de *Allocosa* aumentarían la certeza de paternidad, por lo menos de la primer camada de las hembras.

Siguiendo a Vahed (1998), los regalos nupciales reflejan esfuerzo de cortejo y cópula o inversión paterna, siendo las dos hipótesis no excluyentes. En *Allocosa*, la cesión de la cueva luego de la cópula se sugiere como un extraño caso de inversión paterna, nunca descrito para arañas (Vahed, in litt.), y esfuerzo de cortejo y cópula, ya que las hembras seleccionaron a los machos de acuerdo a su cueva y la presencia de la cueva es imprescindible para la cópula.

La mayor movilidad femenina, activa participación de las hembras durante el cortejo y dimorfismo sexual invertido, sumado a la cesión por parte del macho de un recurso importante como es su propia cueva, concuerdan con la hipótesis de Inversión parcial de Roles Sexuales durante el cortejo (Gwynne & Simmons 1990, Gwynne 1991), para ambas formas de *Allocosa*. La cueva entregada por el macho luego de la cópula a modo de regalo nupcial, podría ser un recurso valioso que le permitiría a la hembra ya copulada mantenerse protegida de posibles ataques de la avispa, obligando al macho a cavar una nueva cueva rápidamente luego de la cópula, o quedar expuesto a la avispa. Más aún, en estas condiciones el macho estaría reduciendo drásticamente su potencial reproductor, limitando sus posibilidades de volver a copular hasta la construcción de otra cueva.

Para concluir este capítulo, ambas formas de *Allocosa* mostraron inversión en los roles típicos de cortejo y dimorfismo sexual invertido, sugiriendo influencias del ambiente duro e impredecible en el que habitan. Ambientes impredecibles, con períodos de escasez de presas y/ o recursos, han sido reportados como generadores de ejemplos de Inversión de roles sexuales, regalos nupciales e inversión paterna (Karlsson et al. 1997; Lorch 2002) y aumento de dimorfismo (Wilson 1980). A partir de los resultados del presente estudio, se abren múltiples puertas hacia futuras investigaciones sobre los determinantes de la Inversión de Roles sexuales, el grado de inversión parental de cada sexo y el sistema de apareamiento resultante en las especies.

### **CAPÍTULO 3: AISLAMIENTO REPRODUCTOR ENTRE DOS FORMAS DE ALLOCOSA**

## INTRODUCCIÓN

El entrecruzamiento entre especies distintas estará impedido por los mecanismos de aislamiento reproductivo (Mayr 1968). Numerosos estudios sobre el comportamiento reproductivo de especies animales, han sugerido que las secuencias de comportamientos que llevan hacia la cópula, tienen la función de asegurar el entrecruzamiento intraespecífico (Uetz & Denterlein 1979; Costa & Gudynas 1995). En especies simpátricas y sincrónicas, en las cuales no existe aislamiento temporal o de hábitat, el comportamiento sexual es fundamental para asegurar el reconocimiento entre individuos de una misma especie.

Las especies aisladas reproductivamente de otras por mecanismos etológicos durante la reproducción, se denominan etoespecies (Hollander et al. 1973). Teniendo en cuenta que numerosas especies distintas han demostrado ser morfológicamente indiferenciables (especies sinmórficas), los estudios del comportamiento sexual se vuelven herramientas clave hacia una correcta identificación de las especies dentro del Reino Animal (Uetz & Denterlein 1979). En las arañas lobo, el aislamiento etológico entre especies gemelas ha demostrado ser un mecanismo exitoso en condiciones de laboratorio (Hollander & Dijkstra 1974; Uetz & Dondale 1979; Uetz & Denterlein 1979; Stratton & Uetz 1981; Costa & Capocasale 1984).

*Allocosa brasiliensis* es una araña lobo nocturna adaptada a la vida en los arenales, que se distribuye a lo largo de la costa del Río Uruguay, Río de la Plata, Océano Atlántico, y costas de ríos y lagunas interiores de nuestro país (Capocasale 1990). Estudios realizados con trampas pitfall en la zona de Marindia, Canelones, y observaciones en la misma zona en el campo, mostraron la presencia de dos formas de adultos (pequeños y grandes), simpátricas y sincrónicas, con diferencias en su coloración y diseño cromático del dorso abdominal, y distribución espacial diferencial (Costa 1995; Costa et al., en prensa; Simó et al. 2005). Así surgieron dudas acerca de si se trataba de una especie polimórfica, donde la selección disruptiva favoreciera tamaños extremos y castigara los tamaños intermedios, o dos especies aisladas reproductivamente. Estudios de desarrollo criando prole de hembras de cada forma mostraron uniformidad dentro de cada forma y diferencias entre las formas en el número de mudas, tamaño final y proporción sexual, que apoyarían la hipótesis de dos especies diferentes (Capítulo 1). Los patrones de cortejo y cópula, no presentaron grandes diferencias entre individuos de la forma pequeña y grande, pero las diferencias en el ancho de las cuevas, teniendo en cuenta que las cópulas tienen lugar únicamente dentro de la cueva de los machos (Capítulo 2), podrían estar determinando la existencia de un mecanismo de aislamiento etológico entre individuos de distintas formas. Adicionalmente, la identificación entre individuos de formas distintas podría implicar mayoritariamente la utilización de señales químicas o vibratorias. De acuerdo a los resultados del Capítulo 2, el cortejo y la cópula incluyen vibraciones abdominales, hacia arriba y hacia abajo, que podrían estar reflejando la existencia de un aparato de estridulación del tipo a (con el abdomen que raspa contra el prosoma), o del tipo b (el pedicelo raspa contra el abdomen) (Uetz & Stratton 1982).

El presente estudio pretende determinar mediante experiencias mixiológicas si existe aislamiento reproductor entre individuos de ambas formas de *Allocosa*, comparando los resultados con los correspondientes de las experiencias realizadas en las mismas condiciones entre individuos de la misma forma (Capítulo 2). Adicionalmente, se analizarán comparativamente entre ambas formas los resultados del análisis morfométrico de la genitalia externa femenina y masculina, y del tamaño de individuos capturados en el campo, bajo la hipótesis de dos especies distintas. Se investigará la existencia de un aparato de estridulación del tipo a ó b, en ambos sexos y en las dos formas de *Allocosa*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron individuos capturados en los muestreos en la zona de Marindia, Canelones, que fueron criados y controlados en condiciones semejantes a las reportadas en el Capítulo 2. La temperatura media en el laboratorio durante el período de cría fue de  $22.81 \pm 2.88$  ° C (rango: 15-31). Se midió largo y ancho máximo de cefalotórax de todos los individuos.

Para las experiencias mixiológicas se utilizaron hembras adultas vírgenes, capturadas como subadultas y mudadas a adultas en el laboratorio, o criadas desde su emergencia de la ooteca en condiciones de laboratorio (ver Capítulo 1 de la tesis). Se utilizaron machos capturados como adultos en el campo, capturados como subadultos o criados en el laboratorio desde la ooteca, como las hembras. Todos los individuos adultos fueron distribuidos aleatoriamente en los grupos experimentales. Se utilizaron individuos de al menos diez días de edad adulta, o transcurridos diez días luego de su captura en el campo. En ningún caso, los individuos fueron reutilizados.

Se crearon dos grupos experimentales, con 20 experiencias cada uno. En uno de los grupos se enfrentaron parejas de una hembra de la forma pequeña y un macho de la forma grande (hP- mG); en el otro grupo experimental, se enfrentaron parejas formadas por una hembra de la forma grande y un macho de la forma pequeña (hG - mP). Los individuos fueron ubicados 48 horas antes de la experiencia, en una caja de vidrio de 30 cm por 16 cm de base y 20 cm de altura (terrario) con arena como sustrato. Las experiencias fueron llevadas a cabo en las mismas condiciones a las descritas en el Capítulo 2, para las experiencias entre individuos de la misma forma.

Las experiencias se realizaron entre el 23 de noviembre y el 26 de abril del 2005, y entre el 24 de enero y el 8 de marzo del 2006. Las experiencias se realizaron desde las 18 hs y se observó directamente bajo luz roja, con una lámpara de 60w, ubicada a 50 cm. La temperatura media durante las experiencias hP- mG fue  $24.65 \pm 1.34$  ° C (rango: 22 - 26), y durante las experiencias hG - mP fue  $24.61 \pm 1.21$  ° C (rango: 21- 26). Se registró la hora de la experiencia, temperatura y presencia y dimensiones de la cueva (diámetro y largo) de cada individuo. Los resultados fueron comparados con los correspondientes a las experiencias entre individuos de la misma forma, realizados en las mismas condiciones.

Se seleccionaron al azar 15 individuos adultos de cada sexo y forma, y se midió el largo (l) y ancho (a) del epigino y diámetro del orificio copulatorio (oc) en las hembras; en los machos, se realizaron medidas del largo (l) y ancho del bulbo (a), y largo (la) y ancho del alvéolo palpar (aa) (Figura 3.1).

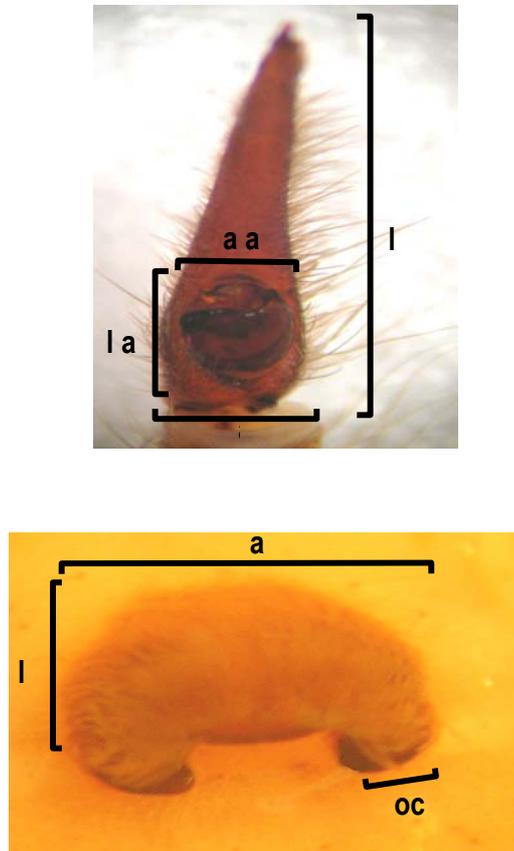


Figura 3.1. Medidas de las características del órgano copulatorio femenino (foto inferior) y masculino (foto superior). Las medidas registradas se muestran con una llave. Abreviaturas: largo del epigino = le, ancho del epigino = ae, diámetro del orificio copulatorio = oc, largo del bulbo = l, ancho del bulbo = a, largo del alvéolo = la, ancho del alvéolo = aa.

Se utilizó Microscopía Electrónica de Barrido para investigar la existencia de estructuras del tipo estridulatorias ubicadas en áreas próximas al pedicelo, tanto en el cefalotórax como en el abdomen, de individuos adultos pequeños y grandes. Se utilizaron individuos preservados en etanol al 70 %. Se diseccionaron las zonas cercanas al pedicelo y se deshidrató siguiendo el procedimiento standard (alcohol 75 % durante 10 minutos y alcohol absoluto por 5 minutos). Se montaron las piezas, se realizó el metalizado y se observaron las muestras bajo el Microscopio Electrónico de Barrido (Jeol JSM-5900LV), en Servicio de Microscopía, Facultad de Ciencias, Montevideo.

Especímenes representativos fueron depositados en la colección aracnológica de la Sección Entomología, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Montevideo.

### Análisis estadísticos

Los resultados fueron analizados con el programa *Past Palaeontological Statistics* versión 1.18 (Hammer et al. 2003), y el programa *Statistica* versión 6.0. Se estimó normalidad de los valores y distribución homogénea de varianzas mediante los tests de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Se utilizó el test global de Kruskal-Wallis (test no paramétrico), para comparar más de dos variables. Se utilizaron también el test de t de Student (test paramétrico) y el test de la U de Mann-Whitney (test no paramétrico). Para comparar frecuencias entre cuatro variables, se utilizó el test de Chi cuadrado global para muestras independientes. Para comparar frecuencias entre dos variables, se utilizaron el test de probabilidad exacta de Fisher, y el test de Chi cuadrado para dos muestras independientes de acuerdo los datos fueran menores o mayores de 15. Todos los tests utilizados fueron de dos colas.

## **RESULTADOS**

### Experiencias mixiológicas

Los resultados de las comparaciones entre las frecuencias de construcción de cuevas para hembras y machos, en ambos grupos experimentales, se muestran en la Figura 3.2. En los dos grupos, la frecuencia de construcción de cuevas por las hembras fue menor a la de los machos. No se encontraron diferencias en la frecuencia de construcción de cuevas por las hembras de las experiencias mixiológicas y las hembras de la misma forma, de las experiencias PP y GG del Capítulo 2 ( hembras pequeñas:  $X_1^2 = 0.38$ ,  $P = 0.54$  ; hembras grandes:  $X_1^2 = 0.10$ ,  $P = 0.75$ ). Los machos en todos los casos habían construido su cueva al inicio de las experiencias, de forma similar a lo observado en las experiencias PP y GG mencionadas.

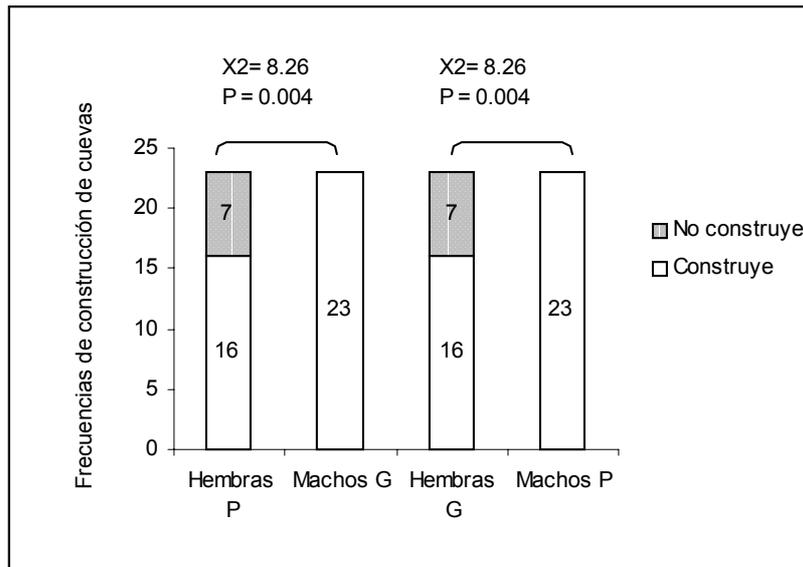


Figura 3.2. Frecuencia de construcción de cuevas para hembras y machos en las experiencias Hembra pequeña - Macho grande (izquierda) y en las experiencias Hembra grande y Macho pequeño. Abreviaturas: Pequeño = P, Grande = G. Los resultados de las comparaciones entre hembras y machos de cada forma figuran con el valor de  $X^2$  y la probabilidad correspondiente.

Se comparó el largo y ancho de las bocas de las cuevas de hembras y machos de ambos grupos experimentales. Las medidas se presentan en la Tabla 3.1 y los resultados de las comparaciones entre hembras y machos de cada grupo experimental se presentan en la Figuras 3.3 y 3.4. Las cuevas de las hembras presentaron menor longitud y menor ancho que las de los machos, tanto en las experiencias hP-mG como en las experiencias hG - mP (Fig. 3.3). Se compararon las medidas de las cuevas de individuos de las experiencias mixiológicas con las cuevas de individuos del mismo sexo y forma, de las experiencias PP y GG, sin encontrarse diferencias significativas en el largo de las cuevas de las hembras (pequeñas:  $U = 105$ ,  $N_1 = 16$   $N_2 = 15$ ,  $P = 0.79$ ; grandes:  $t_{29} = 0.72$ ,  $P = 0.47$ ). Al comparar el ancho, las hembras pequeñas no presentaron diferencias con las experiencias PP ( $U = 28.5$ ,  $N_1 = 16$   $N_2 = 15$ ,  $P = 0.59$ ), mientras que las grandes mostraron cuevas más anchas que las de las experiencias GG ( $U = 42.5$ ,  $N_1 = 16$   $N_2 = 15$ ,  $P = 0.002$ ). Los machos de las experiencias mixiológicas no presentaron diferencias en el largo de las cuevas (pequeños:  $t_{44} = 0.48$ ,  $P = 0.63$ ; grandes:  $t_{44} = 1.36$ ,  $P = 0.18$ ) ni en el ancho (pequeños:  $U = 234$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.51$ ; grandes:  $U = 194$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.12$ ), respecto a las cuevas de los machos de las experiencias PP y GG.

Tabla 3.1. Medidas de largo y ancho de las cuevas, y de largo y ancho de cefalotórax para hembras y machos de la forma pequeña (P) y grande (G) que participaron de las experiencias mixiológicas. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango. Se midieron 16 cuevas de hembras pequeñas y 16 cuevas de las grandes; los restantes datos corresponden a 23 medidas.

|           | largo cuevas (cm)      | ancho cueva (cm)      | largo cefalotórax (mm) | ancho cefalotórax (mm) |
|-----------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
| Hembras P | 3.21 ± 1.53 (1.0-6.0)  | 0.66 ± 0.09 (0.5-0.8) | 3.80 ± 0.41 (3.1-4.4)  | 2.96 ± 0.27 (2.0-3.6)  |
| Machos G  | 7.47 ± 2.39 (3.0-11.5) | 1.00 ± 0.10 (0.7-1.2) | 6.68 ± 0.47 (7.8-5.8)  | 3.21 ± 0.45 (2.2-4.3)  |
| Hembras G | 4.37 ± 1.34 (2.0-7.0)  | 0.98 ± 0.04 (0.9-1.0) | 5.49 ± 0.37 (4.8-6.5)  | 4.77 ± 0.50 (3.9-5.4)  |
| Machos P  | 8.68 ± 3.39 (4.5-12.0) | 0.81 ± 0.06 (0.7-1.0) | 4.41 ± 0.51 (3.4-5.5)  | 5.72 ± 0.56 (5.1-7.3)  |

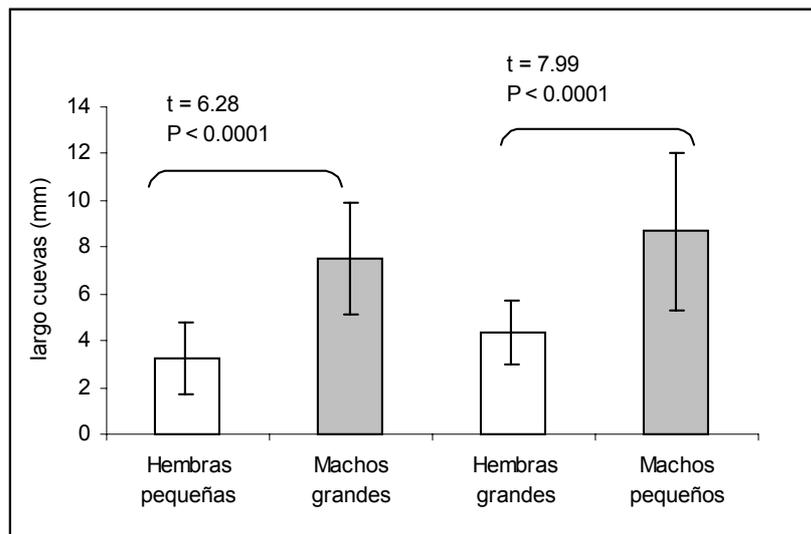


Fig. 3.3. Comparación del largo de las cuevas de hembras y machos de las experiencias hP- mG (izquierda) y hG - mP (derecha), presentados como media y desvío estándar. Las comparaciones se muestran en la llave y se realizaron con el test de t.

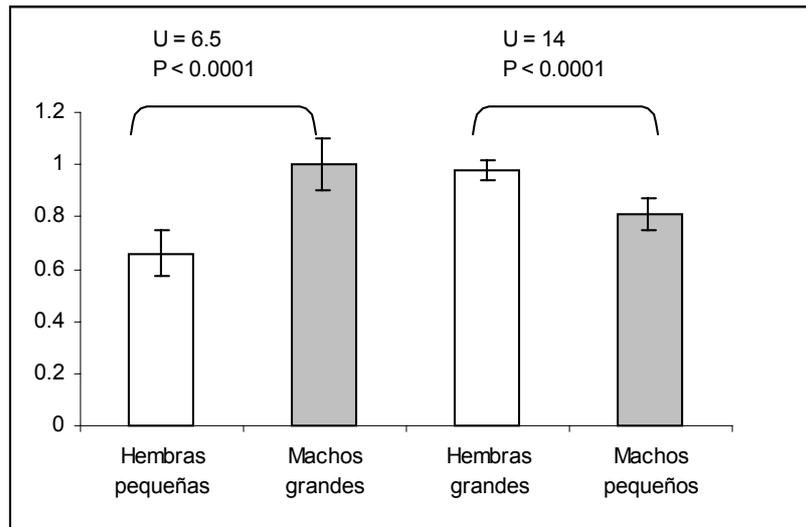


Fig. 3.4. Comparación ancho de las cuevas de hembras y machos de las experiencias de las experiencias hP- mG (izquierda) y hG - mP (derecha), presentados como media y desvío estándar. Las comparaciones se muestran en la llave y se realizaron con el test de la U de Mann-Whitney

Al comparar los tamaños de los individuos, las hembras identificadas como pertenecientes a la forma pequeña mostraron un tamaño significativamente menor que las hembras de la forma grande, tanto en largo ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ) como en ancho de cefalotórax ( $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ); los machos de la forma pequeña presentaron menor tamaño que los machos de la forma grande (largo cefalotórax:  $U = 0$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ; ancho cefalotórax:  $U = 1$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P < 0.0001$ ). Las hembras presentaron menor largo de cefalotórax que los machos de su propia forma (pequeñas:  $t_{44} = 4.43$ ,  $P < 0.0001$ ; grandes:  $t_{44} = 9.58$ ,  $P < 0.0001$ ) y menor ancho (pequeñas:  $U = 158$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.02$ ; grandes:  $t_{44} = 9.38$ ,  $P < 0.0001$ ). No se encontraron diferencias significativas entre el tamaño de las hembras pequeñas utilizadas en las experiencias mixiológicas con respecto a las hembras de las experiencias PP (largo cefalotórax:  $U = 251$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.78$ ; ancho cefalotórax:  $t_{44} = 1.10$ ,  $P = 0.92$ ), ni entre las hembras grandes de las experiencias mixiológicas y las de las experiencias GG (largo cefalotórax:  $t_{44} = 1.64$ ,  $P = 0.11$ ; ancho cefalotórax:  $t_{44} = 1.76$ ,  $P = 0.09$ ). Tampoco se encontraron diferencias en el tamaño de los machos pequeños (largo cefalotórax:  $U = 255$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.85$ ; ancho cefalotórax:  $U = 196$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.14$ ), ni en los tamaños de los machos grandes (largo cefalotórax:  $t_{44} = 1.78$ ,  $P = 0.08$ ; ancho cefalotórax:  $U = 242.5$ ,  $N_1 = N_2 = 23$ ,  $P = 0.64$ ).

En la Figura 3.5 se resumen las frecuencias de salida de la cueva de cada forma y sexo y los resultados de las comparaciones estadísticas entre los grupos, descartando aquellas hembras que no construyeron cueva. Las hembras fueron el sexo móvil en ambas formas, saliendo de sus cuevas con mayor frecuencia que los machos. No se encontraron diferencias en las frecuencias de salida de las cuevas entre las hembras de formas distintas ( $X_1^2 = 1.03$ ,  $P = 0.31$ ), ni entre los machos ( $X_1^2 = 0.36$ ,  $P = 0.55$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias de salida de la cueva en las experiencias mixiológicas y las experiencias entre individuos de la misma forma (Capítulo 2), ni para

hembras (pequeñas: frecuencias iguales; grandes:  $X_1^2 = 0.44$  ,  $P = 0.50$ ) ni para machos (pequeños:  $X_1^2 = 2.09$  ,  $P = 0.15$ ; grandes: frecuencias iguales) .

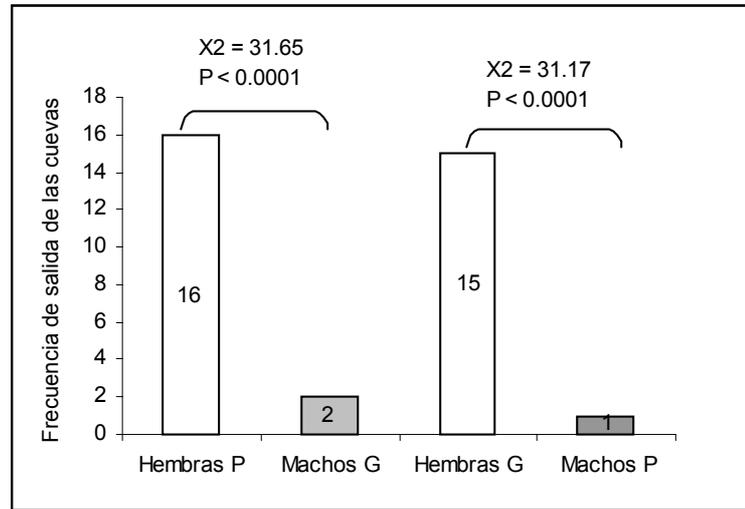


Figura 3.5 Frecuencias de salida de la cueva para hembras y machos de cada grupo experimental. Para las comparaciones se aplicó el test de  $X^2$ .

La temperatura no varió significativamente entre los dos grupos experimentales, ni tampoco fue diferente comparada con la temperatura de las experiencias entre individuos de la misma forma (experiencias PP y GG, Capítulo 2) (Kruskal-Wallis:  $H = 4.64$ ,  $P = 0.20$ ).

Se comparó el número de cuevas con las bocas abiertas entre hembras y machos de cada experiencia, no encontrándose diferencias significativas en ninguno de los grupos experimentales (Figura 3.6) .También se comparó el número de cuevas abiertas que mostraron los individuos de las experiencias mixiológicas, con la frecuencia de cuevas abiertas de individuos del mismo sexo y forma de las experiencias del Capítulo 2. No se encontraron diferencias ni para hembras (pequeñas: Fisher,  $P = 0.53$ ; grandes: Fisher,  $P = 0.18$ ) ni para machos (pequeños:  $X_1^2 = 0.41$ ,  $P = 0.52$ ; grandes:  $X_1^2 = 0.38$ ,  $P = 0.54$ ).

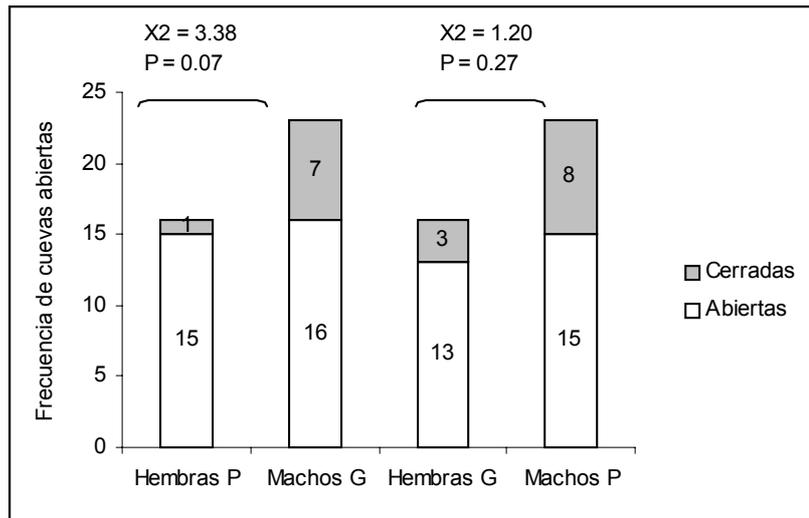


Figura 3.6. Frecuencia de bocas abiertas de cuevas para individuos de ambos sexos de cada grupo experimental. Las llaves indican las comparaciones realizadas con el test de  $\chi^2$  y la probabilidad correspondiente.

Las hembras se aproximaron a las cuevas de los machos con mayor frecuencia que en la situación inversa, en ambas formas (Figura 3.7). No se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias de acercamiento de las hembras de ambas formas a la cueva de los machos ( $\chi^2 = 0.09$ ,  $P = 0.76$ ), ni tampoco entre las frecuencias de acercamiento a las cuevas de los machos entre las hembras de las experiencias mixiológicas y las de las experiencias PP y GG, respectivamente (pequeñas:  $\chi^2 = 1.80$ ,  $P = 0.18$ ; grandes:  $\chi^2 = 0.89$ ,  $P = 0.35$ ). Las hembras de la forma pequeña tardaron  $27.40 \pm 14.4$  min (rango: 5.7- 54.5) en detectar la cueva del macho y las hembras grandes demoraron  $11.0 \pm 11.5$  min (rango: 0.4- 43.3), siendo el tiempo de detección de las hembras pequeñas significativamente mayor ( $U = 45$ ,  $N_1 = 15$   $N_2 = 14$ ,  $P = 0.001$ ). El tiempo de detección de cuevas de machos por las hembras pequeñas de las experiencias mixiológicas fue significativamente mayor que el de las hembras de las experiencias PP ( $U = 40.5$ ,  $N_1 = 15$   $N_2 = 22$ ,  $P < 0.0001$ ); no se encontraron diferencias significativas al comparar los tiempos de detección de las hembras grandes de las experiencias mixiológicas con las hembras de las experiencias GG ( $U = 114.5$ ,  $N_1 = 14$   $N_2 = 20$ ,  $P = 0.15$ ).

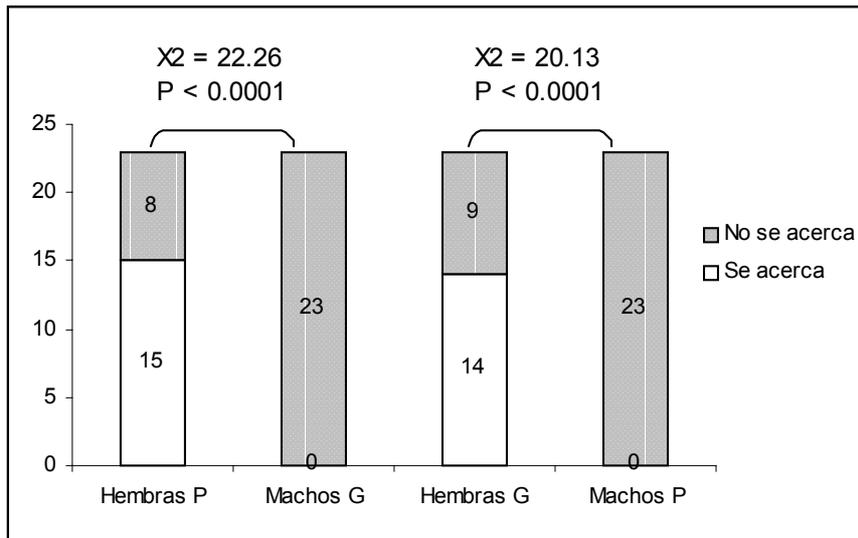


Figura 3.7. Frecuencia de acercamiento a la cueva del otro sexo en cada grupo experimental. Las llaves indican las comparaciones realizadas con el test de  $X^2$  y la probabilidad correspondiente.

Las hembras pequeñas se asomaron en las cuevas de los machos grandes en 8 casos, y las hembras grandes se asomaron en las cuevas de los machos pequeños en 12 casos. Al comparar estos resultados con las veces que se asomaron las hembras en las experiencias ante machos de su misma forma, se encontró que las hembras pequeñas tienden a asomarse con mayor frecuencia en las cuevas de los machos de su misma forma ( $X_1^2 = 11.67$ ;  $P < 0.0001$ ), pero no se encontraron diferencias significativas en las hembras grandes ( $X_1^2 = 2.74$ ;  $P = 0.09$ ).

Las hembras de la forma pequeña en ningún caso abrieron cuevas cerradas de los machos grandes, pero las hembras grandes en 5 casos abrieron cuevas cerradas por machos pequeños, encontrándose diferencias significativas ( $X_1^2 = 6.56$ ;  $P = 0.01$ ). Se comparó para hembras pequeñas y grandes la frecuencia de apertura de cuevas ante machos de la misma forma (experiencias PP y GG, Capítulo 2) y de distinta forma; las hembras pequeñas tienden a abrir con mayor frecuencia las cuevas de machos de su misma forma (Fisher,  $P < 0.0001$ ), pero no se encontró esa tendencia en las hembras grandes (Fisher,  $P = 0.40$ ).

Se analizó la presencia de cortejo, sea cuando la hembra realizó sacudidas de patas asomada a la cueva o cuando el macho realizó sacudidas del cuerpo (ver Capítulo 2). Las frecuencias de presencia de cortejo para cada grupo experimental y los resultados de las comparaciones entre machos y hembras, se muestran en la Figura 3.8. Las frecuencias de cortejo fueron significativamente distintas a las de individuos de la misma forma (Capítulo 2), tanto para hembras (pequeñas:  $X_1^2 = 23.37$ ,  $P < 0.0001$ ; grandes:  $X_1^2 = 32.37$ ,  $P < 0.0001$ ) como para machos (pequeños:  $X_1^2 = 17.89$ ,  $P < 0.0001$ ; grandes:  $X_1^2 = 22.65$ ,  $P < 0.0001$ ). No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de inicio de cortejo para hembras pequeñas con respecto a los machos grandes ( $X_1^2 = 0.36$ ,  $P = 0.55$ ), ni tampoco entre hembras grandes y machos pequeños ( $X_1^2 = 2.09$ ,  $P = 0.15$ ). Las frecuencias de inicio de cortejo por las hembras

mostraron ser significativamente menores a las frecuencias observadas en las experiencias PP ( $X_1^2=5.49$ ,  $P = 0.02$ ) y GG ( $X_1^2 = 9.39$ ,  $P = 0.002$ ) del Capítulo 2.

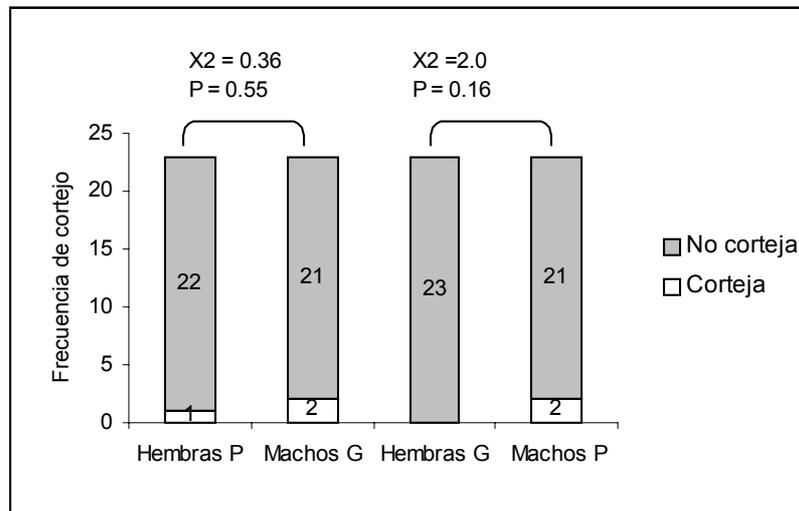


Figura 3.8. Frecuencias de cortejo de individuos de ambos sexos, para cada grupo experimental. Las comparaciones fueron realizadas con el test de  $X^2$ .

En ningún caso las hembras ingresaron a la cueva del macho, siendo significativamente distintas a las frecuencias de ingreso a las cuevas de machos de su misma forma, tanto en la forma pequeña ( $X_1^2=2.09$ ,  $P = 0.15$ ) como en la grande (Capítulo 2) ( $X_1^2= 2.09$ ,  $P = 0.15$ ). Las hembras grandes intentaron ingresar a las cuevas de los machos pequeños en 7 casos, sin éxito pero provocando el derrumbe de la cueva en todos los casos. La frecuencia de derrumbe mostró ser significativamente mayor en hembras grandes ante machos pequeños que en hembras pequeñas ante machos grandes ( $X_1^2 = 8.26$ ,  $P = 0.004$ ), y también mayor que ante machos de su misma forma ( $X_1^2 = 8.26$ ,  $P = 0.004$ ).

No existió cópula en ninguna experiencia mixiológica, siendo estas frecuencias significativamente distintas a las observadas entre hembras y machos pequeños ( $X_1^2= 14.46$ ,  $P = 0.0001$ ), y entre hembras y machos grandes ( $X_1^2= 12.78$ ,  $P = 0.0004$ ). En dos casos, la hembra grande dio muerte al macho pequeño. En ambos, la hembra se asomó a la boca de la cueva del macho y éste se acercó a la boca, siendo mordido por la hembra en sus quelíceros y arrastrado hacia afuera de su cueva, donde le dio muerte. Esos fueron los únicos casos de canibalismo observados.

### Medidas morfológicas

Las medidas de los tamaños (largo y ancho de cefalotórax) de individuos adultos de ambas formas capturados en el campo como adultos se muestran en la Tabla 3.2. Las comparaciones estadísticas entre estas medidas de individuos del mismo sexo y distinta forma se muestran en las Figuras 3.9 y 3.10. Las comparaciones entre el tamaño de hembras y machos de la misma forma fueron hechas previamente en

el Capítulo 2. Los individuos adultos de la forma pequeña, tanto hembras como machos, mostraron largo y ancho de cefalotórax menores que los individuos del mismo sexo de la forma grande.

Tabla 3.2. Medidas de largo y ancho de cefalotórax para hembras y machos de la formas pequeña y grande. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango.

|                           | largo de cefalotórax (mm) | ancho de cefalotórax (mm) |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Hembras pequeñas (n = 84) | 3.82± 0.39 (3.0 - 4.5)    | 2.95± 0.28 (2.4 - 3.8)    |
| Hembras grandes (n = 52)  | 5.58± 0.39 (4.7- 7.0)     | 4.65± 0.49 (3.7 - 6.5)    |
| Machos pequeños (n = 45)  | 4.45± 0.49 (3.4 - 6.7)    | 3.16± 0.46 (2.6 - 4.8)    |
| Machos grandes (n = 52)   | 6.90± 0.53 (5.5 - 9)      | 5.66± 0.52 (4.5- 8.2)     |

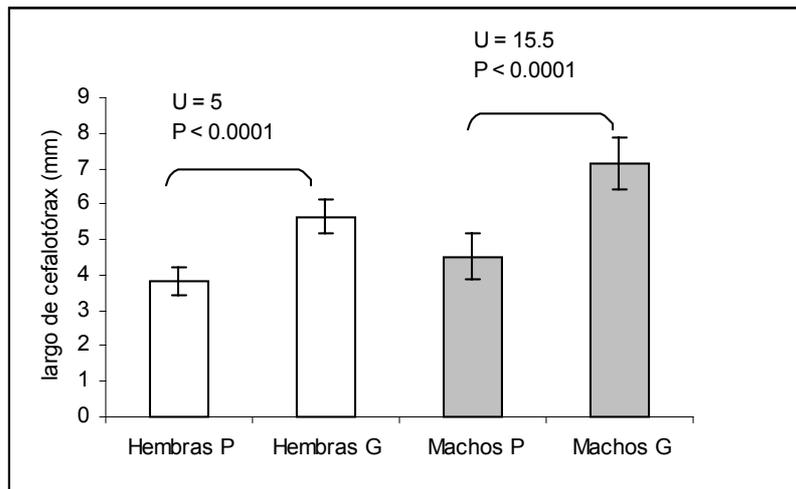


Figura 3.9. Comparación entre largo de cefalotórax de individuos del mismo sexo y formas distintas. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar. Las comparaciones se indican con una llave (test de la U de Mann-Whitney).

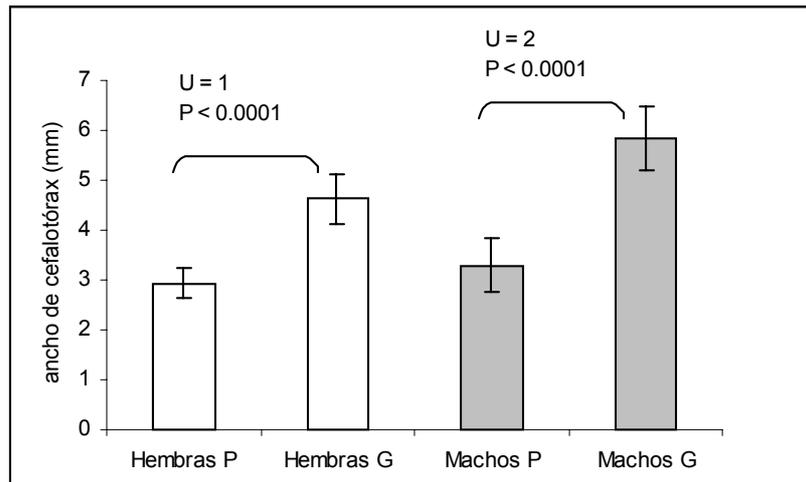


Figura 3.10. Comparación entre ancho de cefalotórax entre individuos del mismo sexo y formas distintas. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar. Las comparaciones se indican con una llave (test de la U de Mann-Whitney).

Las medidas del largo y ancho del epigino, y del diámetro del orificio copulatorio se muestran en la Tabla 3.3. Las comparaciones de estas características entre hembras pequeñas y grandes se muestran en la Figura 3.11. Las hembras pequeñas mostraron un tamaño significativamente menor de largo de epigino, ancho de epigino y diámetro de orificio copulatorio en comparación con las hembras grandes.

Tabla 3.3. Medidas del largo y ancho del epigino, y diámetro del orificio copulatorio, para hembras de ambas formas. Cada resultado figura como media con su desvío estándar y rango.

|                          | largo epigino (mm)      | ancho epigino (mm)      | diám. oc (mm)           |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Hembras Pequeñas (n =15) | 0,39± 0.03 (0.33- 0.44) | 0,60± 0.05 (0.51- 0.68) | 0,10± 0.01 (0.08- 0.11) |
| Hembras Grandes (n = 15) | 0,51± 0.05 (0.45- 0.64) | 0,86± 0.06 (0.78- 0.95) | 0,14± 0.01(0.13- 0.17)  |

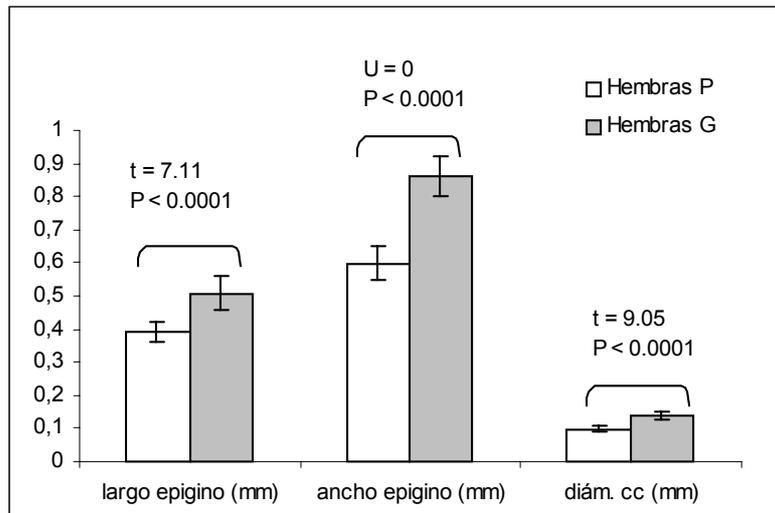


Figura 3.11. Comparación entre el largo y ancho del epigino, y diámetro del conducto copulatorio (cc), entre hembras de la forma pequeña (P) y de la forma grande (G). Las comparaciones se realizaron con el test de t ó con el test de la U de Mann-Whitney.

Las medidas morfológicas del largo y ancho del bulbo, y del largo y ancho del alvéolo palpar para cada forma, se muestran en la Tabla 3.4. Las comparaciones estadísticas entre estas características para machos pequeños y grandes se muestran en la Figura 3.12. Los machos pequeños mostraron dimensiones significativamente menores a los machos grandes de largo y ancho del cymbium palpar, y de largo y ancho del alvéolo palpar.

Tabla 3.3. Medidas del largo y ancho del bulbo, y largo y ancho del alvéolo palpar, para machos pequeños (P) y grandes (G). En todos los casos se realizaron 15 medidas. Cada resultado figura como media con su desvío estándar y rango.

|          | largo bulbo (mm)        | ancho bulbo (mm)        | largo alvéolo (mm)      | ancho alvéolo (mm)      |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Machos P | 1,28± 0.13 (1.10- 1.52) | 0,49± 0.07 (0.42- 0.66) | 0,45± 0.05 (0.38- 0.56) | 0,36± 0.04 (0.31- 0.44) |
| Machos G | 2,18± 0.22 (1.69- 2.59) | 0,76± 0.07 (0.62- 0.87) | 0,66± 0.05 (0.56- 0.75) | 0,54± 0.04 (0.44- 0.62) |

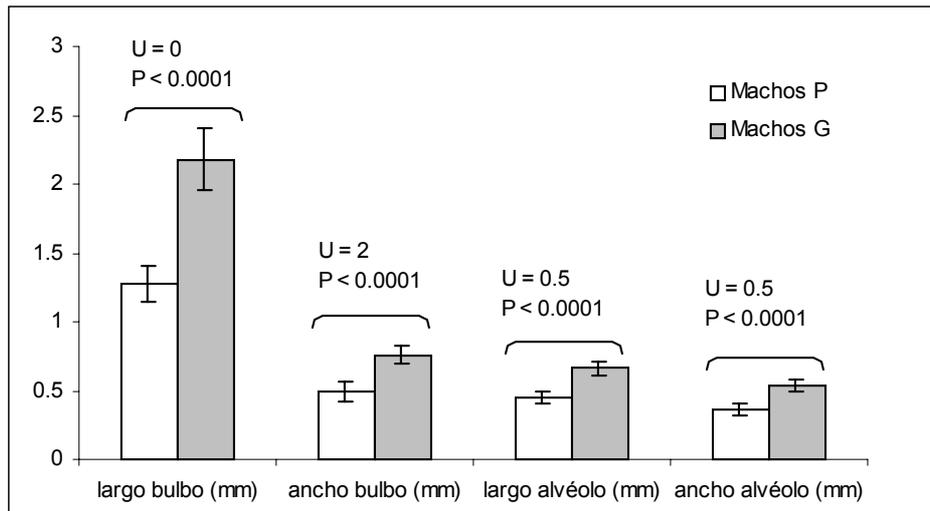


Figura 3.12. Comparación entre el largo y ancho del bulbo, y largo y ancho del alvéolo palpar, entre machos de la forma pequeña (P) y de la forma grande (G). Las comparaciones se realizaron con el test de la U de Mann-Whitney.

Estudio de posible aparato de estridulación

En hembras y machos de ambas formas, se encontró una estructura corrugada diferencial ubicada en el la zona posterior del cefalotórax, enfrentada al pedicelo. Sin embargo, no se encontró en ninguno de los casos, una estructura que pueda ser identificada claramente como raspador (Figuras 3.13 y 3.14).

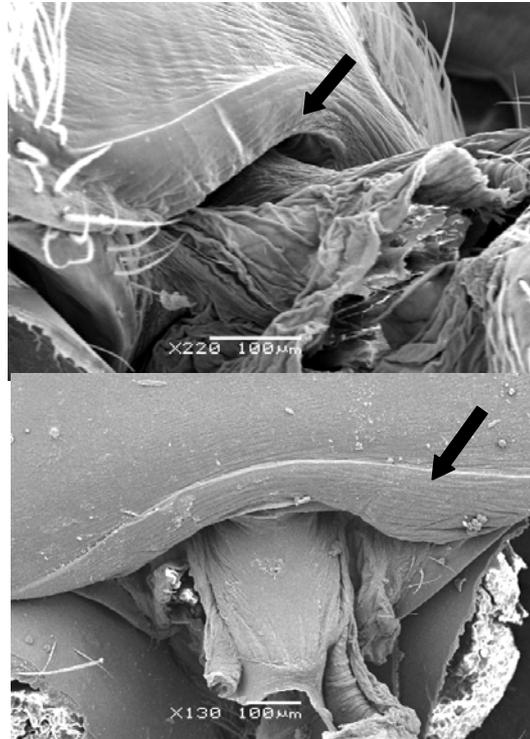


Figura 3.13. Las flechas indican la estructura tipo lima localizada en la zona posterior del cefalotórax, cercana al pedicelo, en una hembra pequeña (superior) y macho pequeño (inferior).

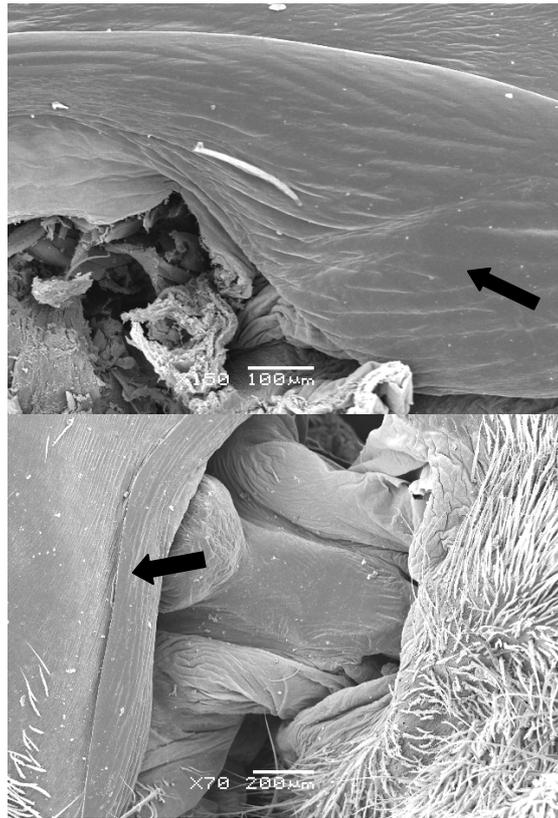


Figura 3.14. Las flechas indican la estructura tipo lima localizada en la zona posterior del cefalotórax, cercana al pedicelo, en una hembra grande (superior) y macho grande (inferior).

## DISCUSIÓN

Los resultados anteriormente expuestos indican que las formas pequeña y grande de *Allocosa* están aisladas reproductivamente, confirmando la existencia de dos especies distintas. Dado que no hubo ninguna cópula ni interacción atractiva entre las dos formas, estos resultados podrían deberse a influencias negativas que pudieran tener las condiciones ambientales de observación en el laboratorio sobre la comunicación entre los sexos. Sin embargo, se descarta esta hipótesis porque sí hubo comunicación y cópulas dentro de cada una de las dos formas en las mismas condiciones ambientales (Capítulo 2). La conclusión de que son biológicamente dos especies surge de los resultados descritos en los Capítulos 2 y el presente, a los que se agregan las diferencias morfométricas de cuerpo y genitales, diferencias que no aparecen entre individuos de la misma camada criados en el laboratorio (Cap. 1), reforzando la conclusión.

Los mecanismos que estarían posibilitando la discriminación intraespecífica posiblemente involucren mayoritariamente señales químicas y señales vibratorias, como ocurre en otros licósidos (Uetz & Denterlein 1979; Costa & Capocasale 1984). La baja frecuencia de cortejo tanto de hembras como de machos en las experiencias mixiológicas, reflejan un alto reconocimiento intraespecífico y aislamiento interespecífico previo al inicio del cortejo, o en sus primeras unidades. Considerando las diferencias en tamaño corporal y del consecuente ancho de las cuevas, y que las cópulas tienen lugar exclusivamente dentro de la cueva de los machos (Capítulo 2), las cuevas estarían restringiendo el acceso de hembras grandes hacia los machos pequeños, reforzando los mecanismos de aislamiento previos.

Aunque no se encontraron diferencias entre las experiencias mixiológicas y las intraespecíficas (Capítulo 2) en las frecuencias de construcción de cuevas, largo y diámetro de la boca de las cuevas y frecuencias con que las hembras se acercaron a las cuevas de los machos, en la forma pequeña se encontró un mayor tiempo en la detección de cuevas de machos grandes con respecto a las cuevas de los machos de su misma forma, y en ningún caso abrieron cuevas cerradas o ingresaron a las cuevas de los machos. En cambio, las hembras de la forma grande no presentaron diferencias en el tiempo de detección de las cuevas de los machos pequeños con respecto a la detección de cuevas de machos de su misma forma, e intentaron infructuosamente ingresar en varias oportunidades a las cuevas de los machos pequeños, provocando derrumbes de la cueva. Las diferencias en las estrategias de las hembras de distinta forma podrían estar determinadas por un mayor riesgo de predación para las hembras pequeñas, y un mayor interés de preda en las hembras grandes. Estrategias similares de evasión de predación entre licósidos simpátridas han sido reportadas entre *Hogna helluo* y *Pardosa milvina* por Balfour et al. (2003) y Walker & Rypstra (2003), en las cuales las diferencias en los tamaños como adultos determinarían diferencias en las estrategias comportamentales y tiempos de maduración de individuos de cada especie.

Si bien existieron dos casos de ataques y canibalismo de hembras grandes hacia machos pequeños, los machos grandes en ningún caso atacaron a las hembras pequeñas cuando se asomaron

en la cueva. Los machos pequeños expuestos ante las hembras grandes, en la gran mayoría de los casos se albergaron en el fondo de las cuevas, fuera del acceso de las hembras grandes. En ambientes costeros como el que habitan individuos de la forma grande de *Allocosa*, durante el verano -período de mayor actividad para los adultos- existen presas menos costosas para estos individuos en lo que respecta a su manipulación y captura (Costa et al. 2003; en prensa). Sin embargo, teniendo en cuenta que se trata de especies simpátricas y sincrónicas no se descarta que individuos de la forma pequeña sean predados ocasionalmente en períodos de escasez de presas.

Si bien las hembras de ambas formas presentaron una frecuencia de cortejo muy baja, la frecuencia en que detectaron las cuevas de los machos de distinta forma fue alta, sin presentar diferencias con la detección de machos de su misma forma. Una posible explicación es que las hembras detectaran la presencia de seda o de feromonas masculinas asociadas a la seda de las bocas de las cuevas y fueran capaces de discriminar entre las cuevas de machos de su misma u otra forma. La identificación táctil de la seda de individuos del otro sexo y misma especie, ha sido reportada en licósidos (Tietjen & Rovner 1980). Existen muy escasos reportes de utilización de feromonas masculinas asociadas a la seda (Ayyagari & Tietjen 1987; Ross & Smith 1979). Otra opción posible sería que las hembras pequeñas fueran capaces de detectar rastros químicos de la boca de la cueva de los individuos de la otra forma, como un mecanismo de evasión de la predación intragremio. La detección de señales químicas de predadores ha sido reportado para arañas lobo simpátricas y sincrónicas por Persons et al. (2001).

Una hipótesis alternativa sería que los machos emitieran feromonas volátiles que las hembras detecten al acercarse a las cuevas, permitiendo el reconocimiento intraespecífico, la discriminación entre cuevas de machos y hembras (las de hembra serían identificadas por la ausencia de feromona), y promoviendo el inicio del cortejo exclusivamente ante las cuevas de machos de su misma forma. La utilización de feromonas volátiles masculinas durante la cópula ha sido reportada para el agelénido *Agelenopsis aperta* (Becker et al. 2005). Además, las hembras de esta araña del desierto atraen a los machos hacia su tela utilizando feromonas volátiles (Papke et al. 2001). Por lo tanto, teniendo en cuenta la inversión parcial de roles sexuales en ambas formas de *Allocosa* descrita en el Capítulo 2 de la tesis, no se descarta la emisión por parte del macho de feromonas sexuales, sea asociadas a la seda o volátiles. Con respecto a los sistemas de comunicación implicados en la detección de cuevas de machos de la misma especie, se investigará la emisión de feromonas masculinas asociadas a la seda de la boca de la cueva, o a las paredes internas, en el Capítulo 4.

Si bien las sacudidas corporales de los machos fueron observadas en contextos sexuales ante hembras de su misma forma, también se registraron sacudidas corporales de los machos durante las experiencias mixiológicas. Esto podría implicar errores de los machos en la identificación de las hembras, confundiéndolas con hembras coespecíficas o la utilización del mismo tipo de señal, tal vez con diferente intensidad o frecuencia, en contexto sexual ante hembras y en contexto agonístico ante machos. Animales psamófilos son capaces de detectar vibraciones transmitidas por el sustrato desde centímetros

hasta metros (Narins et al. 1997). De acuerdo con Brownell (1977), la arena sería un buen conductor de ondas Rayleigh originadas del movimiento de animales sobre o debajo de la arena. La arena ha mostrado ser un buen transmisor de señales vibratorias en artrópodos adaptados a la vida en estos ambientes (Brownell & Van Hemmen 2001), lo que tornaría más efectivo el uso de señales vibratorias que la utilización de otros canales usados más frecuentemente en encuentros agonísticos como el visual o el táctil. Henschel (2002) reportó esta doble función de las sacudidas corporales en *Leucorchestris arenicola*, una araña vagabunda del desierto.

En las experiencias mixiológicas y para ambos sexos, en ningún caso se reportaron vibraciones abdominales durante el cortejo, por lo tanto las señales estridulatorias no estarían involucradas en el reconocimiento interespecífico, como ha sido reportado en otros licósidos (Uetz & Stratton 1982). Sin embargo, no se descarta la utilización de señales vibratorias en la comunicación hembra-macho entre individuos de la misma especie, y se considera necesario un estudio más detallado de las posibles zonas involucradas en la estridulación. En este caso, de comprobarse el raspado de la zona posterior abdominal contra el pedicelo o la zona anterior abdominal (del tipo a ó b) para emitir señales vibratorias, se trataría del primer reporte de utilización de este tipo de aparato en Lycosidae (Uetz & Stratton 1982).

Las diferencias en el tamaño de los adultos de ambas formas confirman los reportes previos (Costa 1995; Costa et al., en prensa). También se encontraron diferencias en los tamaños de los órganos copulatorios de ambos sexos para las dos formas, que teniendo en cuenta que se trata de caracteres sexuales podrían estar reflejando incompatibilidad copulatoria entre individuos de ambas formas, lo que podría estar actuando como mecanismo de aislamiento de fallar los mecanismos anteriores, mecanismo de aislamiento que ha sido descrito para otros licósidos (Costa & Francescoli 1991; Simó et al. 2002).

A partir de la presente tesis, se postula la existencia de dos especies de *Allocosa*, aisladas reproductivamente entre sí, con diferencias en su desarrollo, proporción sexual, comportamiento sexual y morfología. Observaciones preliminares de especímenes tipo y reportes de campo (Miguel Simó y Luiz Ernesto Costa Schmidt, comunicaciones personales), indican que los ejemplares de *Allocosa brasiliensis* encontrados en Brasil poseen un tamaño intermedio respecto a las dos formas de nuestro país. Estos datos generan dudas acerca de si la mayor de nuestras dos formas coincide con el holotipo que le da nombre, o si en territorio brasileño existieron fenómenos de hibridación que generaron formas intermedias.

Se necesitarán estudios futuros para confirmar si la forma grande coincide con el tipo de *Allocosa brasiliensis*, y realizar un estudio exhaustivo dentro del género para determinar si la forma pequeña es una especie nueva citada para nuestro país, o una especie nueva para la ciencia.

## **CAPÍTULO 4: DISCRIMINACIÓN FEMENINA DE LAS CUEVAS**

## INTRODUCCIÓN

En el Reino Animal, el reconocimiento entre individuos de una misma especie y la elección entre posibles compañeros de cópula durante el cortejo se basan en la utilización de señales múltiples (Candolin 2003). La comunicación durante el cortejo en arañas también se considera multimodal (Uetz & Roberts 2002; Elias et al. 2006), implicando la emisión y recepción de señales visuales, vibratorias, táctiles y químicas. Teniendo en cuenta que las arañas en general son cazadoras nocturnas con visión pobre, la comunicación se centra mayoritariamente en los canales vibratorios, táctiles y químicos (Huber 2005).

La utilización de señales químicas en arañas ha sido identificada en el contexto de desencadenamiento de cortejo, reconocimiento interespecífico y atracción intersexual (Tietjen & Rovner 1982; Uetz 2000; Barth 2002; Uetz & Roberts 2002). Las pistas químicas pueden estar asociadas a rastros de seda o tratarse de compuestos volátiles. La gran mayoría de ejemplos citados corresponden a feromonas que las hembras depositan en sus telas o en la seda de las “drag-lines” que liberan al trasladarse (Schulz 2004). Existen muy escasos reportes de la utilización de feromonas masculinas en arañas (Roberts & Uetz 2004; Huber 2005). Ayyagari & Tietjen (1987) encontraron que los machos de *Schizocosa ocreata* utilizan feromonas asociadas a su seda, que resultan repelentes hacia otros machos. Otro caso reportado es el de los machos del teridio *Latrodectus hesperus*, tratándose de feromonas masculinas de estimulación femenina, asociadas a un velo nupcial de seda con el que cubren a las hembras durante la cópula (Ross & Smith 1979). Por último, Becker et al. (2005) encontraron que los machos del agelénido desértico *Agelenopsis aperta*, son capaces de emitir feromonas volátiles que inducen la quiescencia de las hembras durante la cópula (Papke et al. 2001).

Las dos especies de *Allocosa* que habitan en nuestro país se caracterizan por presentar Inversión parcial de Roles Sexuales durante el cortejo, caracterizado por dimorfismo sexual invertido con hembras errantes que se acercan a las cuevas de los machos, inician el cortejo y luego de la cópula permanecen en las cuevas de los machos, que éstos ceden a modo de regalo nupcial (Capítulo 2). Las hembras de ambas formas mostraron una gran efectividad en la detección de las cuevas de los machos, tanto de su forma como de la otra forma, iniciando el cortejo e ingresando únicamente a las cuevas de los machos de su propia especie (Capítulos 2 y 3). Esta habilidad discriminatoria podría estar reflejando la capacidad de identificación de las cuevas de los individuos de su misma especie, como está ampliamente descrita en arañas con los actores invertidos – machos que detectan sedas de hembras- (Huber 2005). También podría estar reflejando la capacidad de detección de señales químicas de potenciales predadores, hecho ya reportado para arañas lobo simpátridas y sincrónicas (Persons et al. 2001). La predación intragremio podría tener un impacto importante entre ambas formas de *Allocosa*, como ha sido reportado entre otras especies de arañas lobo (Polis & Mc Cormick 1986; Wise & Chen 1999).

La inversión en los roles planteada estaría afectando el sistema de encuentro entre ambos sexos, pudiendo implicar la utilización de señales químicas por parte de los machos que permitan a las hembras localizar las cuevas y discriminar entre las cuevas de machos y hembras de su misma especie, así como diferenciarlas de las cuevas de la otra especie de *Allocosa*. La discriminación de este tipo de señales aseguraría el encuentro sexual y al mismo tiempo protegería a las hembras, especialmente a las pequeñas, de ser predadas por individuos de la otra forma de *Allocosa*.

Para investigar si la discriminación de cuevas se debe a la existencia de señales químicas, se planteó realizar experiencias ante cuevas vacías para descartar la posible transmisión de otro tipo de señales, estridulatorias o señales sísmicas, por los habitantes de las cuevas. El objetivo es investigar la utilización de feromonas masculinas asociadas a la seda de las cuevas de los machos y la discriminación por parte de las hembras entre cuevas de individuos de su mismo sexo y del sexo opuesto para las especies de *Allocosa* analizadas en este estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los individuos fueron capturados, identificados y criados en el laboratorio, en condiciones semejantes a las descritas en los capítulos anteriores. La temperatura media en el laboratorio durante el período de cría fue de  $24.0 \pm 2.0$  °C (rango: 18- 28).

Se crearon dos grupos experimentales, en los cuales 15 hembras vírgenes adultas de cada especie (hembras detectoras) fueron expuestas a cuevas construidas por hembras y machos adultos de su misma y de la otra especie (individuos constructores), de tal manera que cada hembra se expuso a 4 situaciones distintas y cada grupo experimental totalizó 60 experiencias. Se utilizaron recipientes cilíndricos de plástico transparente, de 9 cm de diámetro y 14 cm de alto, con una capa de 10 cm de arena como sustrato y provisión de agua. En los recipientes se colocaron individualmente especímenes adultos de ambos sexos y especies, y se aguardó hasta la construcción de la cueva por un período no mayor a una semana. Transcurrido ese plazo, si los individuos no habían construido fueron descartados para las experiencias. Se utilizaron individuos de al menos diez días de edad adulta, o transcurridos diez días luego de su captura a campo, y no se reutilizaron. Aprovechando que los individuos construyen sus cuevas contra la pared de los recipientes, se agujereó el plástico del recipiente a nivel de la base de la cueva y se rodeó este recipiente con otro de mayor diámetro. Se aguardó que el individuo espontáneamente saliera de su cueva por el agujero, obteniendo así una cueva intacta sin araña.

Las observaciones experimentales se realizaron 24 hs después que el espécimen abandonó la cueva. Se introdujo una hembra virgen sobre la superficie de arena y se registraron en detalle sus comportamientos. Estas hembras tenían al menos 10 días de edad adulta, y no se reutilizaron. Cuando los comportamientos fueron muy rápidos (por ejemplo, entrada a la cueva), se registró la presencia del suceso pero no su duración. Cada hembra fue expuesta sucesivamente y azarosamente ante las 4

situaciones experimentales, con al menos dos días de intervalo entre cada una y durante un período total no mayor a un mes.

Las experiencias se realizaron entre el 9 de noviembre del 2005 y el 1° de marzo del 2006. Fueron iniciadas luego de las 18:00 hs, período de mayor actividad de estos individuos en el campo (Costa 1995), realizando observación directa bajo luz roja. Las experiencias tuvieron una duración de una hora, a partir de la introducción de la hembra en el recipiente con la cueva abandonada. En todos los casos, se registró comienzo y fin de la experiencia, temperatura y dimensiones de la cueva (diámetro y largo) de cada individuo

Se depositaron especímenes representativos criados en el laboratorio y capturados en el campo en la colección aracnológica de la Sección Entomología, Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias, Montevideo.

#### Análisis estadísticos

Los resultados fueron analizados con el programa *Past Palaeontological Statistics* versión 1.18 (Hammer et al. 2003), y el programa *Statistica* versión 6.0. Se estimó normalidad de los valores y distribución homogénea de varianzas mediante los tests de Shapiro-Wilk y de Levene, respectivamente. Se aplicó el test global de Kruskal- Wallis (no paramétrico) y el test de Anova (paramétrico) para comparaciones entre más de dos variables. Para comparaciones entre dos variables, se aplicó el test de la U de Mann-Whitney (no paramétrico) y test de t de Student (paramétrico). Para comparar frecuencias, se utilizaron los tests de probabilidad exacta de Fisher y Chi cuadrado para dos muestras independientes, de acuerdo a si el número de datos fuera menor o mayor de 15, respectivamente. Se utilizó el test de Cochran Q para comparar frecuencias entre muestras dependientes. Todos los tests utilizados fueron de dos colas.

## RESULTADOS

Los valores de largo y ancho de las cuevas para cada enfrentamiento, y la temperatura de las experiencias se muestran en la Figura 4.1 para las hembras pequeñas y en la Figura 4.2. para las hembras grandes. La temperatura no presentó diferencias significativas entre los grupos (Kruskall-Wallis:  $H_6 = 4.12$ ,  $P = 0.77$ ). Al comparar el largo de las cuevas de hembras y machos de ambas formas en las que se colocaron las hembras detectoras de la especie pequeña, no se encontraron diferencias significativas entre las cuatro situaciones experimentales (ANOVA:  $F_3 = 2.172$ ,  $P = 0.10$ ). En cambio, en las experiencias con las hembras grandes, se encontraron diferencias significativas en el largo de las cuevas entre las cuatro situaciones ( $H_3 = 11.38$ ,  $P = 0.01$ ). En este caso, el largo de las cuevas de las hembras constructoras pequeñas fue menor al de los machos de su misma forma ( $U = 39$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.002$ ), y el de los machos constructores pequeños mayor al de las hembras grandes ( $U = 49$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.01$ ). Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas entre el largo de las cuevas de hembras constructoras de distinta especie ( $U = 98$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.56$ ), machos de distinta especie ( $U = 69$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.07$ ), hembra grande y macho grande ( $U = 93.5$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.44$ ), y hembra pequeña y macho grande ( $U = 79$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.17$ ).

Al comparar entre sí las cuevas donde discriminaron hembras pequeñas y grandes, no se encontraron diferencias significativas en el largo en ninguno de los casos (hembras pequeñas:  $t_{28} = 1.53$ ,  $P = 0.14$ ; hembras grandes:  $t_{28} = 0.76$ ,  $P = 0.45$ ; machos pequeños:  $t_{28} = 0.15$ ,  $P = 0.88$ ; machos grandes:  $U = 84$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.25$ ).

Tabla 4.1. Medidas de las cuevas de hembras y machos de cada forma, y de la temperatura, para las experiencias de las hembras pequeñas. Se realizaron 15 experiencias en cada caso.

|                  | largo (cm)            | ancho (cm)           | temperatura (C)         |
|------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| Hembras pequeñas | 6.0 ± 2.0 (3.5- 10.0) | 0.7 ± 0.1 (0.6- 0.9) | 24.7 ± 1.3 (22.0- 26.0) |
| Machos pequeños  | 7.4 ± 2.0 (3.9- 11.0) | 0.8 ± 0.1 (0.7-1.0)  | 24.8 ± 1.0 (22.0- 26.0) |
| Hembras grandes  | 5.8 ± 1.7 (3.3- 9.0)  | 1.0 ± 0.1 (0.9- 1.0) | 25.2 ± 1.1 (23.0- 27.0) |
| Machos grandes   | 6.6 ± 1.7 (4.5- 10.0) | 1.0 ± 0.1 (1.0- 1.2) | 25.3 ± 0.6 (25.0- 27.0) |

Tabla 4.2. Medidas de las cuevas de hembras y machos de cada forma, y de la temperatura, para las experiencias de las hembras grandes. Se realizaron 15 experiencias en cada caso.

|                  | largo (cm)           | ancho (cm)             | temperatura (C)         |
|------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|
| Hembras pequeñas | 4.9 ± 1.6 (3.0- 8.0) | 0.74 ± 0.07 (0.6- 0.8) | 25.4 ± 0.6 (25.0- 27.0) |
| Machos pequeños  | 7.5 ± 2.1 (4.0-10.5) | 0.80 ± 0.07 (0.7- 0.9) | 24.9 ± 1.1 (22.0- 27.0) |
| Hembras grandes  | 5.3 ± 1.6 (3.0- 8.4) | 0.94 ± 0.13 (0.6-1.2)  | 25.1 ± 0.8 (24.0- 26.0) |
| Machos grandes   | 6.1 ± 2.2 (3.5-11.0) | 1.0 ± 0.1 (0.8-1.2)    | 25.1 ± 0.9 (24.0- 27.0) |

Se comparó el ancho de las cuevas para las experiencias de las hembras pequeñas y grandes. Los resultados se muestran en la Tabla 4.3. Se encontraron diferencias significativas en el ancho de las cuevas, tanto en las experiencias de las hembras pequeñas ( $H_3 = 43.15$ ,  $P < 0.0001$ ) como las de las grandes ( $H_3 = 34.98$ ,  $P < 0.0001$ ). En el grupo experimental con hembras pequeñas, las cuevas de las hembras pequeñas constructoras fueron más estrechas que las de los machos pequeños, hembras grandes y machos grandes, mientras que las cuevas de los machos pequeños presentaron un ancho menor que las de hembras y machos grandes. En el grupo experimental con hembras grandes, el ancho de cueva de las hembras y machos pequeños fue menor que el de hembras y machos grandes. Al comparar el ancho de las cuevas entre individuos del mismo sexo y forma, no se encontraron diferencias significativas entre las experiencias con hembras pequeñas y grandes de ancho de cuevas en ningún caso (hembras pequeñas:  $U = 86.5$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.29$ ; hembras grandes:  $U = 86$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.29$ ; machos pequeños:  $U = 103$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.71$ ; machos grandes:  $U = 95.5$ ,  $N_1 = N_2 = 15$ ,  $P = 0.49$ ).

Tabla 4.3. Resultados de las comparaciones entre el ancho de las cuevas para las experiencias de las hembras pequeñas y hembras grandes. Las comparaciones se realizaron con el test de la U de Mann-Whitney.

Abreviaturas: hp = hembra pequeña; hg = hembra grande; mp = macho pequeño; mg = macho grande; vs. = versus

|           | ancho cuevas experiencias hp                | ancho cuevas experiencias hg                |
|-----------|---|---|
| hp vs. mp | $U = 44.5$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P = 0.005$ | $U = 66.5$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P = 0.06$  |
| hp vs. hg | $U = 2$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$   | $U = 23$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$  |
| hp vs. mg | $U = 0$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$   | $U = 3.5$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$ |
| mp vs. hg | $U = 19$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$  | $U = 36$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$  |
| mp vs. mg | $U = 10$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$  | $U = 7.5$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P < 0.0001$ |
| hg vs. mg | $U = 65$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P = 0.06$    | $U = 69.5$ , $N_1 = N_2 = 15$ , $P = 0.08$  |

En las experiencias con hembras pequeñas detectoras, las cuevas abiertas fueron: 11 de hembras pequeñas, 9 de machos pequeños, 4 de hembras grandes y 6 de machos grandes. No se encontraron diferencias significativas entre estas frecuencias ( $X_3^2 = 7.73$ ,  $P > 0.05$ ). En las experiencias con hembras grandes detectoras, las hembras pequeñas constructoras presentaron 6 cuevas abiertas, los machos pequeños 9, las hembras grandes 7 y los machos grandes 7, no existiendo diferencias significativas entre estas frecuencias ( $X_3^2 = 1.27$ ,  $P > 0.05$ ).

Las hembras detectaron frecuentemente las cuevas (se detuvieron sobre ellas y detectaron seda y bordes de las cuevas con patas y palpos). Las hembras pequeñas detectaron 11 cuevas de hembra pequeña, 13 de macho pequeño, 11 de hembra grande y 13 de macho grande, de un total de 15 en cada caso, sin encontrarse diferencias significativas entre estas frecuencias (Cochran Q,  $Q_3 = 1.71$ ,  $P > 0.05$ ). Las hembras grandes detectaron 11 cuevas de hembra pequeña, 13 de macho pequeño, 10 de hembra grande y 11 de macho grande, sin encontrarse diferencias significativas entre estas frecuencias ( $Q_3 = 1.54$ ,  $P > 0.05$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias de detección totales de hembras detectoras pequeñas y grandes ( $X_1^2 = 0.43$ ,  $P = 0.51$ ). En ningún caso hubo cortejo, tal cual fue descrito en el Capítulo 2.

Las hembras pequeñas penetraron en 5 cuevas de hembra pequeña, en 6 de macho pequeño, 6 de hembra grande y 6 de macho grande, sin encontrarse diferencias significativas entre estas frecuencias (Cochran Q,  $Q_3 = 3.93$ ,  $P > 0.05$ ). Las hembras grandes penetraron en 6 cuevas de hembra pequeña, en 6 de macho pequeño, 5 de hembra grande y 7 de macho grande, sin mostrar diferencias significativas entre si ( $Q_3 = 0.26$ ,  $P > 0.05$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las frecuencia totales de penetración en cuevas de hembras pequeñas y grandes ( $X_1^2 = 0.30$ ,  $P = 0.58$ ). Las hembras tendieron a entrar con mayor frecuencia en las cuevas abiertas que en las cerradas, tanto las pequeñas ( $X_1^2 = 18.22$ ,  $P < 0.0001$ ), como las grandes ( $X_1^2 = 17.55$ ,  $P < 0.0001$ ). De las 11 cuevas de individuos de la forma pequeña en las que entraron hembras grandes, en las 11 existió un derrumbe de arena de las paredes de la cueva, mientras que las hembras pequeñas no causaron derrumbe en ningún caso ( $X_1^2 = 14.46$ ,  $P = 0.0001$ ).

En las hembras pequeñas detectoras, las cinco que penetraron en la cueva de hembra pequeña permanecieron en ella por más de 5 min, mientras que en las cuevas de machos pequeños permanecieron 5 de 6 que penetraron, y 6 de las 6 que penetraron en cuevas de hembras y de machos grandes. No se encontraron diferencias significativas entre estas frecuencias ( $Q_3 = 0.35$ ,  $P > 0.05$ ). Las hembras grandes permanecieron en las 6 cuevas de hembras pequeñas en las que penetraron, en 3 de 6 cuevas de machos pequeños, en 3 de 5 cuevas de hembras grandes, y en 7 de 7 cuevas de machos grandes, no existiendo diferencias significativas entre estas frecuencias ( $Q_3 = 4.7$ ,  $P > 0.05$ ). Tampoco se encontraron diferencias en la permanencia total de hembras pequeñas y grandes en la cuevas ( $X_1^2 = 1.58$ ,  $P = 0.21$ ). Al analizar las frecuencias de permanencia en relación al largo de las cuevas (mayores o

menores respecto al valor medio), se encontró que tanto las hembras pequeñas como las grandes tienden a permanecer con mayor frecuencia en las cuevas más largas (ver Figura 4.1).

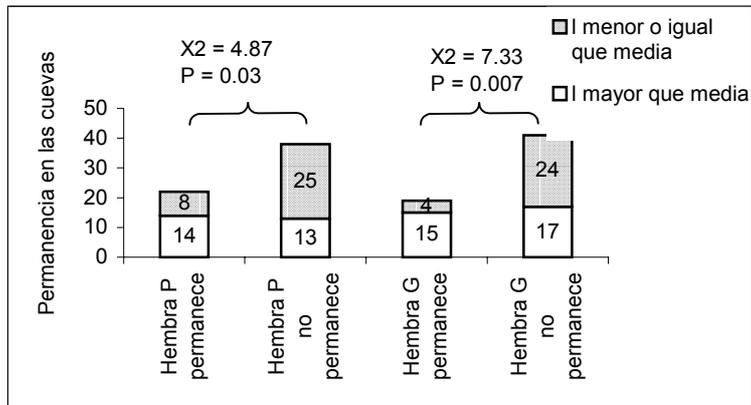


Figura 4.1. Frecuencia de permanencia en las cuevas para hembras pequeñas(P) y grandes (G), para longitudes de cueva (i) mayores o menores e iguales que la media. Las comparaciones se indican con una llave y se realizaron con el test de  $X^2$ .

Las hembras pequeñas modificaron las cuevas, tapizando con seda las paredes o la boca en 3 casos en cuevas de hembras pequeñas, en 2 cuevas de machos pequeños, en 4 de hembras grandes y en 4 cuevas de machos grandes, sin encontrarse diferencias significativas entre estas frecuencias ( $Q_3 = 1.74$ ,  $P > 0.05$ ). Las hembras grandes modificaron en 1 caso la cueva de machos pequeños, en 2 las cuevas de hembras grandes, en 2 las cuevas de machos grandes, y en ningún caso las cuevas de hembras pequeñas, sin presentar diferencias significativas entre las frecuencias ( $Q_3 = 1.74$ ,  $P > 0.05$ ). Tampoco hubo diferencias significativas entre las frecuencias de modificación de cuevas entre hembras pequeñas y grandes ( $X_1^2 = 1.71$ ,  $P = 0.19$ ). Nuevamente, al comparar las frecuencias de modificación respecto al largo de la cueva (mayores o menores que la media), se encontró que las hembras de ambas formas modificaron más frecuentemente las cuevas más largas (Figura 4.2).

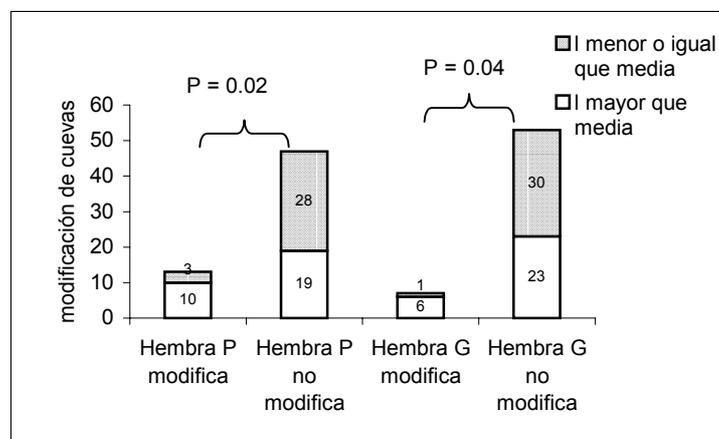


Figura 4.2. Frecuencia de modificación de las cuevas por las hembras pequeñas(P) y grandes (G), para longitudes de cueva (i) mayores o menores e iguales que la media. Las comparaciones se indican con una llave y se realizaron con el test de  $X^2$ .

## DISCUSIÓN

Las hembras de ambas formas de *Allocosa* mostraron una alta eficiencia en la detección de cuevas de individuos de ambos sexos de su misma y de la otra forma. Se confirma que la localización de las cuevas se basa en señales químicas asociadas a la seda de la boca de la cueva o provenientes de su interior, y/o detección mecánica de la seda, como ya ha sido reportado para otras especies de arañas lobo (Tietjen & Rovner 1980; Roberts & Uetz 2004). A diferencia de lo ocurrido en las experiencias mixiológicas (Capítulo 3), las hembras pequeñas ingresaron indistintamente en cuevas de su forma como en las cuevas de hembras y machos de la forma grande.

Teniendo en cuenta estos resultados, las hembras pequeñas serían capaces de estimar la presencia de los individuos de la forma grande dentro de las cuevas. Observaciones preliminares indicarían que las hembras pequeñas tampoco ingresarían a las cuevas de hembras de su propia forma, cuando éstas se encuentran ocupándolas. No parece probable que la presencia del ocupante se perciba visualmente por la hembra al asomarse hacia adentro de la cueva, ya que se trata de arañas de actividad nocturna y que sólo perciben movimientos (Foelix 1996), difícilmente observables dentro de una cueva. Adicionalmente, durante las experiencias se trabajó bajo luz roja, longitud de onda a la cual las arañas lobo poseerían muy baja recepción de estímulos visuales (Barth 2002). Considerando que las hembras pequeñas en las experiencias mixiológicas no ingresaron en las cuevas luego de asomarse hacia adentro, y que los machos no realizaron ningún comportamiento registrable que pudiera inducir su respuesta, se sugiere que podría estar involucrada la detección de señales químicas volátiles emitidas por los individuos.

La utilización de feromonas volátiles por arañas para atraer a individuos del otro sexo ha sido reportada exclusivamente en hembras (Tietjen 1979; Searcy et al. 1999; Papke et al. 2001), aunque fue sugerida para machos territoriales en *Leucorchestris arenicola* (Henschel 2002), todas éstas especies de ambientes abiertos. Siguiendo a Schulz (2004), la utilización de feromonas volátiles en arañas estaría restringida debido a que la vegetación hace difícil la detección y localización de las “plumas odoríferas” (trenes de químicos transportados en el aire). Sin embargo, en ambientes arenosos abiertos, como es el hábitat de ambas formas de *Allocosa* (Costa et al. 2003), se tornarían señales eficaces y de bajo costo. La presencia de tricobotrias y pelos quimiosensitivos les permitiría no solamente la detección del estímulo sino también la localización del emisor de acuerdo a la dirección del viento (Barth et al. 1995). A su vez, la utilización de este tipo de señales podría estar influyendo sobre la elección de la zona de construcción de la cueva por los machos, optando por zonas más abierta de vegetación. La señal volátil informaría sobre el sexo y posiblemente el estado fisiológico del individuo habitante de la cueva, permitiendo a la hembra discriminar entre posible compañeros de cópula, o posibles predadores. La discriminación entre señales volátiles de hembras en distinta condición reproductiva como mecanismo de evasión de predación ha sido reportado en arañas lobo por Papke et al. (2001).

Otra posibilidad a considerar sería que existieran feromonas asociadas a la seda de las paredes internas de la cueva y de la boca, que hubieran perdido actividad durante el período transcurrido entre el desalojo de los individuos de la cueva y la exposición de la hembra (24 horas). Si bien este efecto ha sido citado para arañas lobo (Richter et al.1971; Baruffaldi & Costa 2005), al ser un período muy breve no se considera probable para explicar las drásticas diferencias encontradas.

La mayor permanencia y deposición de seda en la boca y paredes de las cuevas más largas apoyan la tendencia encontrada en los estudios previos (Capítulos 2 y 3), de que estas cuevas son preferidas por las hembras de ambas formas, posiblemente porque generan un ambiente más estable de temperatura y humedad (Foelix 1996), y adicionalmente las protege de posibles predadores. No se descarta la posibilidad, de acuerdo a los resultados del Capítulo 2, que las hembras permanezcan en las cuevas a la espera del regreso del macho constructor de ese recurso valioso.

El hecho que las hembras grandes construyeran cuevas más largas que las reportadas en las experiencias ante machos de su misma forma (Capítulo 2), podría estar reflejando que al utilizarse hembras adultas sin pasado reproductivo conocido para la construcción de las cuevas, algunas de estas hembras fueran copuladas, las que profundizarían más las construcciones para obtener un lugar más seguro y termo e higroestable para realizar su puesta. De acuerdo a los resultados, las hembras permanecen en las cuevas más largas y por lo tanto si se repitieran las experiencias con hembras vírgenes como constructoras, de acuerdo a los resultados de los Capítulos 2 y 3, se esperaría una menor permanencia en las cuevas de hembras que la encontrada.

Las hipótesis planteadas en el presente capítulo necesitan de nuevos estudios para ser mejor respaldadas. De existir una feromona volátil emitida por los machos de ambas especies de *Allocosa*, sería uno de los escasos ejemplos en arañas de la utilización de este tipo de señales en un contexto sexual.

## **DISCUSIÓN GENERAL Y PROYECCIONES**

A partir de los presentes estudios se confirma la existencia de dos especies del género *Allocosa*, simpátricas y sincrónicas, aisladas reproductivamente entre sí y ambas con Inversión parcial de Roles Sexuales. Ambas especies mostraron diferencias en el número de mudas hasta la maduración, velocidad de desarrollo, tamaño final y proporción sexual primaria. Adicionalmente, de acuerdo a sus diferencias en el tamaño, la forma pequeña y grande de *Allocosa* estarían sometidas a diferentes riesgos de predación, lo cual estaría determinando una mayor cautela de la especie pequeña en el ingreso a las cuevas de potenciales compañeros de cópula.

El dimorfismo sexual de tamaño invertido, el acercamiento de las hembras de ambas especies hasta la cueva de los machos, el inicio del cortejo por parte de la hembra, y la cesión del macho de un recurso costoso como es su cueva, quedando expuesto a predación y limitando su tasa de apareamiento hasta la construcción de una nueva cueva, coinciden con la hipótesis de Inversión parcial de Roles Sexuales durante el cortejo, para ambas especies (Gwynne 1991; Andersson 1994). La hipótesis predice que los machos podrían ser selectivos y las hembras competitivas al momento de la reproducción, hecho que requerirá de análisis más exhaustivos en el futuro, por ejemplo, exponiendo simultáneamente hembras de distintas edades y / o status reproductivo, registrando los comportamientos entre las hembras y evaluando las respuestas del macho.

La proporción sexual sesgada hacia las hembras en la forma pequeña, también estaría apoyando los cambios en los roles sexuales citados, volviendo a los machos recursos aún más escasos y valiosos para las hembras. La proporción sexual primaria, sus influencias sobre la determinación de la proporción sexual operativa, y sus influencias sobre la determinación de los roles sexuales se consideran factores claves hacia una mejor comprensión de las especies que presentan inversión en los roles típicos de cada sexo (Gwynne 1991; Bonduriansky 2001; Kokko & Johnstone 2002). A partir del presente estudio surge la necesidad de confirmar la proporción sexual de ambas especies de *Allocosa* para un número de ootecas mayor, discriminando entre ootecas tempranas y tardías, y discutiendo las diferencias entre ambas especies y sus estrategias sexuales resultantes. También se considera necesario estudiar la reluctancia postcopulatoria de la hembra, para determinar la variación de la proporción sexual operacional a lo largo del tiempo.

El inusual dimorfismo sexual encontrado, con machos de mayor porte que las hembras, podría estar implicando ventajas en la construcción de cuevas. Si bien esta posibilidad no fue apoyada por los resultados de estos estudios, podría darse en un plazo mayor para la construcción de las cuevas, o la existencia de competencia entre machos por el acceso a determinados lugares dentro del médano que le permitan la construcción de cuevas más estables o profundas. De acuerdo con Andersson (1994), machos de mayor tamaño reflejan competencia intersexual por el acceso a recursos, territorios o elección femenina. Teniendo en cuenta que las hembras no mostraron preferencia por los machos de mayor tamaño, posiblemente en este caso se trataría de la competencia por el acceso a territorios preferidos.

Sin embargo, en la forma pequeña, de confirmarse la proporción sexual drásticamente sesgada hacia las hembras, se descartaría una intensa competencia macho-macho, favoreciendo la evolución de otro tipo de sistemas de apareamiento como el de arena de apareamiento o lek, con los machos compitiendo por ubicaciones preferenciales e intensificando su atracción de las hembras mediante el reforzamiento de las señales de atracción, como ha sido reportado para otras especies de artrópodos (Krebs & Davies 1996). Considerando que las cuevas son esenciales para el apareamiento, y que las condiciones de humedad, temperatura, vientos y radiación solar a la que estarán sometidos los individuos dependerán de la localización de las cuevas, se sugiere como plausible la posibilidad de competencia por el acceso a las zonas que presenten las mejores condiciones para la construcción de las cuevas. Observaciones personales en el campo indican agrupamientos de cuevas formando clusters pero se desconoce la distribución por sexo y estadio de los habitantes de dichas cuevas. Se requieren de nuevos estudios en el campo para determinar la distribución espacial de los machos de ambas formas en los médanos, y analizar de acuerdo a la ubicación agregada o espaciada, las implicancias sobre las estrategias de los machos y el sistema de apareamiento resultante en cada especie.

Con respecto a los mecanismos selectivos de cada sexo, se considera necesario ahondar sobre las señales de hembras y machos utilizadas durante el cortejo. Se considera de relevancia discriminar entre la transmisión sísmica o auditiva de las señales emitidas por el macho aislando cada canal, y la caracterización y comparación de las señales. Estudios de esta índole han sido realizados en arañas terafósidas cursoriales (Quirici & Costa 2005), en las cuales las señales sísmicas han mostrado estar involucradas en los mecanismos de selección intersexual y aislamiento reproductivo entre especies simpátricas y sincrónicas. A su vez, la posible existencia de feromonas masculinas requerirá de un mayor análisis futuro, confirmando la utilización de las señales químicas mediante la exposición de hembras ante cuevas artificiales con y sin machos en su interior, ante extractos de seda provenientes de cuevas de machos de su misma y de la otra especie y finalmente, de confirmarse los resultados anteriores, proceder a la identificación química de las sustancias involucradas.

Antes de asignarles nombres científicos a estas dos especies, será necesario realizar estudios comparados de la genitalia femenina y masculina y realizar una revisión exhaustiva de las especies sudamericanas del género *Allocosa*, a la búsqueda de posibles coincidencias con especies ya descritas. Esta revisión se encuentra en curso (Miguel Simó, comunicaciones personales).

El análisis realizado en el Capítulo 2 se transforma en uno de los escasos ejemplos de Inversión parcial de Roles Sexuales estudiado exhaustivamente, y el primer caso claro e inequívoco en arañas. Ejemplos de esta índole han sido a menudo reportados en otros animales habitantes de ambientes duros e impredecibles, con períodos de escasez de presas y/ o refugios, sometidos a condiciones extremas de temperatura, radiación solar, y exposición a fuertes vientos. Karlsson et al. (1997) y Lorch (2002) han propuesto al hábitat como un factor crucial en la determinación de roles de cada sexo en el Reino Animal. Asimismo, se debe destacar la importancia del estudio de especies de nuestra fauna autóctona como las presentes, que presentan fenómenos biológicos tal vez únicos y que se encuentran afectadas

drásticamente por el impacto humano. Ambas especies de *Allocosa* se postulan como buenos indicadores del grado de conservación de los ambientes costeros (Simó et al. 2005), como ha sido reportado para otras arañas lobo pertenecientes a ambientes costeros afectados por la antropización (Marshall et al. 2000). Se considera esencial conocer características del desarrollo y estrategias reproductivas de dichas especies, para la implementación de las medidas correctas de conservación.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Aisenberg A. and F. G. Costa. 2005. Females mated without sperm transfer maintain high sexual receptivity in the spider *Schizocosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae). *Ethology*, 111: 545-558.

Andersson M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Arnqvist G. 1992. Courtship behavior and sexual and sexual cannibalism in the semi-aquatic fishing spider, *Dolomedes fimbriatus* (Clerck) (Araneae: Pisauridae). *Journal of Arachnology*, 20: 222-226.

Arnqvist G. & L. Rowe. 2005. *Sexual conflict*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Austad S. N. 1984. Evolution of sperm priority patterns in spiders. In: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (Smith, R. L., ed.). Academic Press, San Diego, California, pp. 223-249.

Avilés L. J., J. McCormack, A. Cutter & T. Bukowski. 2000. Precise, highly female-biased sex ratios in a social spider. *Proceedings of the Royal Society of London*, 267: 1445-1449.

Ayyagary L.R. & W.J. Tietjen. 1987. Preliminary isolation of male inhibitory pheromone of the spider *Schizocosa ocreata* (Araneae, Lycosidae). *Journal of Chemical Ecology*, 13 : 237- 244.

Balfour R. A., C. M. Buddle, A. L. Rypstra, S.E. Walker & S. D. Marshall. 2003. Ontogenetic shifts in competitive interactions and intra-guild predation between two wolf spiders species. *Ecological Entomology*, 28: 25- 30.

Barth F. G. 2002. *A spider's world. Senses and behavior*. Springer, Berlin.

Barth F. G. , J. A. C. Humphrey, U. Wastl , J. Halbriter & W. Brittinger. 1995. Dynamics of arthropod filiform hairs, III, flow patterns related to air movement detection in a spider (*Cupiennius salei* Keys). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, 347: 397- 412.

Baruffaldi L. & F. G. Costa. 2005. La feromona sexual de *Schizocosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae): un análisis primario de su naturaleza y propiedades biológicas. Actas del Primer Congreso Latinoamericano de Aracnología y Quinto Encuentro de Aracnólogos del Cono Sur, Minas, Uruguay, 161p.

Becker E., S. Riechert & F. Singer. 2005. Male induction of female quiescence/catalepsis during courtship in the spider, *Agelenopsis aperta*. Behaviour, 142: 57-70.

Brownell P. H. 1977. Compressional and surface waves in sand: used by desert scorpions to locate prey. Science, 197: 479- 482.

Brownell P.H. & J. L. Van Hemmen. 2001. Vibration sensitivity and a computational theory for prey-localizing behavior in sand scorpions. American Zool., 41: 1229- 1240.

Bonduriansky R. 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. Biol Rev., 76: 305-339.

Candolin U. 2003. The use of multiple cues in mate choice. Biological Reviews, 78: 575-595.

Capocasale R. M. 1990. Las especies de la subfamilia Hippasinae de América del Sur Araneae, Lycosidae). Journal of Arachnology, 18: 131-134.

Coddington J. A., C. Griswold, D. Silva Dávila, E. Peñaranda & S. F. Larcher, 1991. Designing and Testing Sampling Methods Protocols to Estimate Biodiversity in Tropical Ecosystems. The Unity of Evolutionary Biology: Proceedings of the Fourth International Congress of Systematic and Evolutionary Biology, Dioscorides Press, Portland OR., 2 vols: 44- 60.

Coddington J. A., G. Hormiga & N. Scharff. 1997. Giant female or dwarf male spiders? Nature, 385: 687-688.

Costa F. G. 1975. El comportamiento precopulatorio de *Lycosa malitiosa* Tullgren (Araneae, Lycosidae). Revista Brasileira de Biología, 35: 359- 378.

Costa F. G. 1979. Análisis de la cópula y de la actividad postcopulatoria de *Lycosa malitiosa* Tullgren (Araneae, Lycosidae). Revista Brasileira de Biología, 39: 361- 376.

Costa F. G. 1995. Ecología y actividad diaria de las arañas de la arena *Allocosa* spp. (Araneae, Lycosidae) en Marindia, localidad costera del sur del Uruguay. Revista Brasileira de Biología, 55(3):457-466.

Costa F. G. & R. M. Capocasale. 1984. *Lycosa carbonelli*, sp. nov.: una etoespecie simpátrida, sibilina de *Lycosa thorelli* (Keyserling)(Araneae, Lycosidae). Journal of Arachnology, 11: 423-431.

Costa F. G. & G. Francescoli. 1991. Analyse expérimentale de l' isolement reproductif entre deux espèces jumelles et sympatriques d' araignées: le *Lycosa thorelli* (Keyserling) et le *Lycosa carbonelli* Costa et Capocasale. Canadian Journal of Zoology, 69: 1768- 1776.

Costa F. G & E. Gudynas. 1995. Sexo y cortejo. Editorial Fin de siglo, Montevideo.

Costa F. G. & F. Pérez-Miles. 2002. Reproductive biology of Uruguayan Theraphosids (Araneae, Mygalomorphae). The Journal of Arachnology, 30: 571- 587.

Costa F. G., F. Pérez-Miles, E. Gudynas, L. Prandi & R. M. Capocasale, 1991. Ecología de los arácnidos criptozoicos, excepto ácaros, de Sierra de las Ánimas (Uruguay). Órdenes y Familias. Aracnología, 13/15:1-41.

Costa F. G. & V. Quirici (en prensa). Cortejo y aislamiento reproductor en arañas. En: Ecología e Comportamiento de Arañas. M. O. Gonzaga, H. Gonzaga, H. Japyassú & A. J dos Santos Eds., Editora Interciencia, R. J, Brasil.

Costa F. G., M. Simó & A. Aisenberg. 2003. Distribución espacial de las arañas de las dunas costeras del Río de la Plata, Uruguay: un análisis de las especies más afectadas por el impacto humano. Actas del IV Encontro de Aracnólogos do Cone Sul, Sao Paulo, Brasil, 169 p.

Costa F. G., M. Simó & A. Aisenberg. (en prensa). Faunística y ecología de la fauna costera de Marindia (Canelones, Uruguay) con especial énfasis en las arañas: un estudio de dos años con trampas de intercepción. En: Bases para la conservación y manejo de la costa Uruguaya. D. Conde, L. Rodríguez, R. Menafra, F. Scarabino Eds.

Costa F. G. & J. R. Sotelo. 1994. Stereotypy and versatility of the copulatory pattern of *Lycosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae) at cool versus warm temperatures. *Journal of Arachnology*, 22: 200- 204.

Darwin C. 1871. *The descent of man and selection in relation to sex*. Murray, London (El origen del hombre, Albatros, Buenos Aires 1973).

Eberhard W. G. 1985. *Sexual Selection and Animal Genitalia*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

Eberhard W. G. 1996. *Female control: Sexual Selection by Cryptic Female choice*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Eberhard W. G. 2004. Why study spider sex: special traits of spiders facilitate studies of sperm competition and cryptic female choice, 32: 545- 556.

Eens M. & R. Pinxten. 2000. Sex-role reversal in vertebrates: behavioural and endocrinal accounts. *Behavioural Processes*, 51: 135-147.

Elgar M. A. 1995. The duration of copulation in spiders: comparative patterns. *Records of the Western Australian Museum Supplement*, 52: 1- 11.

Elgar M. A. 1998. Sperm competition and sexual selection in spiders and other arachnids. In *Sperm competition and Sexual Selection* (eds. T.R. Birkhead and A.P. Moller), Academic Press, pp 307-339.

Elias D.O., N. Lee, E. A. Hebets & A. C. Mason. 2006. Seismic signal production in a wolf spider: parallel versus serial multi-component signals. *The Journal of Experimental Biology*, 209: 1074- 1084.

Evia G. & E. Gudynas, 2000. *Ecología del Paisaje en Uruguay. Aportes para la conservación de la Diversidad Biológica*. DINAMA & Junta de Andalucía, Montevideo, Uruguay.

Fairbairn D. J. 1997. Allometry for sexual size dimorphism: pattern and process in the coevolution of body size in males and females. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 28: 659- 687.

Foelix R. F. 1996. Biology of spiders. Oxford University Press, New York.

Gunnarsson B. & A. Andersson. 1992. Skewed primary sex ratio in the solitary spider *Pityohyphnates phrygianus*. *Evolution*, 46: 841- 845.

Gwynne D.T. 1991. Sexual competition among Females: What Causes Courtship-role Reversal? *Trends in Ecology and Evolution*, vol 6, no. 4: 118-121.

Gwynne D.T. & L.W. Simmons. 1990. Experimental reversal of courtship roles in an insect. *Nature*, 346: 172-174.

Gwynne D.T. & L. F. Bussière. 2002. Female mating swarms increase predation risk in a 'role reversed' dance fly (Diptera: Empididae: *Rhamphomyia longicauda* Loew). *Behaviour*, 139: 1425- 1430.

Hammer O., D. A.T. Harper & P.D. Ryan. 2003. Past Palaeontological Statistics, ver. 1.18. (<http://folk.uio.no/ohammer/past>)

Hardy, I. C.W. 1992. Non-binomial sex allocation and brood sex ratio variances in the parasitoid Hymenoptera. *Oikos*, 65: 143- 158.

Henschel J. R. 2002. Long-distance wandering and mating by the dancing white lady spider (*Leucorchestris arenicola*) (Araneae, Sparassidae) across Namib dunes. *The Journal of Arachnology*, 30: 321- 330.

Hollander J., H. Dijkstra, H. Alleman & L. Vlijm. 1973. Courtship behavior as species barrier in the *Pardosa pullata* group (Araneae, Lycosidae). *Tijdschr. Entomol.*, 116: 1- 22.

Hollander J. & H. Dijkstra. 1974. *Pardosa vlijmi* sp. nov., a new ethospecies sibling *Pardosa proxima* (C.L. Koch, 1948), from France, with description of courtship display (Araneae, Lycosidae). *Beaufortia*, 22: 57- 65.

Hormiga G., N. Scharff & J. A. Coddington. 2000. The phylogenetic basis of sexual size dimorphism in orb-weaving spiders (Araneae, Orbiculariae). *Systematics Biology*, 49(3): 435- 462.

Huber B. 2005. Sexual selection research on spiders: progress and biases. *Biol. Rev.*, 80: 363-385.

Karlsson B., O. Leimar & C. Wiklund. 1997. Unpredictable environments, nuptial gifts and the evolution of size dimorphism in insects: an experiment. *Proceedings of the Royal Society of London*, 264: 475- 479.

Kokko H. & R. A. Johnstone. 2002. Why is mutual mate choice not the norm? Operational sex ratios, sex roles and the evolution of sexually dimorphic and monomorphic signalling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, 357: 319- 330.

Krebs J. R. & Davies, N. B. 1996. *An Introduction to Behavioural Ecology*. Third Edition. Blackwell, Oxford Science, London.

Lang G. H. P. 2001. Sexual size dimorphism and juvenile growth rate in *Linyphia triangularis* (Linyphiidae, Araneae). *The Journal of Arachnology*, 29: 64- 71.

Lehmann L. M., S. E. Walker & M. H. Persons. 2004. The influence of predator sex on chemically mediated antipredator response in the wolf spider *Pardosa milvina* (Araneae: Lycosidae). *Ethology*, 110: 1-17.

Lorch P. 2002. Understanding reversals in the relative strength of Sexual Selection on males and females: a role for sperm competition? *The American Naturalist*, 6: 645- 657.

Marshall S.D., W.R. Hoeh & M. A. Deyrup. 2000. Biogeography and conservation biology of Florida's *Geolycosa* wolf spiders: threatened spiders in endangered ecosystems.

Mayr E. 1942. *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press, New York.

Mayr E. 1968. *Especies animales y Evolución*. Universidad de Chile y Ed. Ariel, Barcelona.

Michalik P. & G. Uhl. 2005. The male genital system of the cellar spider *Pholcus phalangioides* (Fusselin, 1775 (Pholcidae, Araneae): development of spermatozoa and seminal secretions. *Frontiers in Zoology*, 2: 12 (doi: 10.1186/1742-9994-2-12).

Moya-Laraño J. & M. Cabeza. 2003. Bimodality in the body size distribution of Mediterranean tarantula juveniles: Humphreys' Russian roulette revisited. *Revista Ibérica de Aracnología*, 7: 211- 219

Moya-Laraño J., J. Halaj & D. H. Wise. 2002. Climbing to reach females: Romeo should be small. *Evolution*, 56 (2): 420- 425.

Narins P. M., E. R. Lewis, J. U. M. Jarvis & J. O' Riain. 1997. The use of seismic signals by fossorial southern African mammals: a neuroethological gold mine. *Brain Research Bulletin*, 44: 641- 646.

Owens I. P. F. & D. B. A. Thompson. 1994. Sex differences, sex ratios and sex roles. *Proceedings of the Royal Society of London*, 258: 93- 99.

Papke M. D., S. Riechert & S. Schulz. 2001. An airborne female pheromone associated with male attraction and courtship in a desert spider. *Animal Behaviour*, 61: 877- 886.

Parker G. A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*, 45: 525-567.

Parker G. A., R.R. Baker & V.G.F. Smith. 1972. The origin and evolution of gamete dimorphism and the mal-female phenomenon. *Journal of Theoretical Biology*, 36: 529- 553.

Persons M. H., S.E. Walker, A.L. Rypstra & S. D. Marshall. 2001. Wolf spider predator avoidance tactics and survival in the presence of diet-associated predator cues (Araneae: Lycosidae). *Animal Behaviour*, 61, 43- 51.

Polis G. A. & S. J. McCormick . 1986. Scorpions, spiders and solpugids: predation and competition among distantly related taxa. *Oecologia*, 71: 111- 116.

Quirici V. & F. G. Costa. 2005. Seismic communication during courtship in two burrowing tarantula spiders: an experimental study on *Eupalaestrus weijenberghi* and *Acanthoscurria suina*. *Journal of Arachnology*, 33: 159- 166.

Ramirez M. G. 1995. Natural history of the spider genus *Lutica* (Araneae, Zodariidae). *The Journal of Arachnology*, 23: 111-117.

Richter C. J. J., H. C. J. Stolting & L. Vlijm. 1971. Silk production in adult females of the wolf spider *Pardosa amentata* (Lycosidae, Araneae). *Journal of Zoology*, 165: 285- 290.

Roberts J. A. & G. W. Uetz. 2004. Chemical signaling in a wolf spider: a test of ethospecies discrimination. *Journal of Chemical Ecology*, 30: 1271- 1284.

- Ross K & R. L. Smith. 1979. Aspects of the courtship behavior of the black widow spider, *Latrodectus hesperus* (Araneae: Theridiidae), with evidence for the existence of a contact sex pheromone. *Journal of Arachnology*, 7: 69- 77.
- Roughgarden, J., Oishi M. & Akcay E. 2006. Reproductive Social Behavior: Cooperative Games to replace Sexual Selection. *Science, Review*, 311: 965- 969
- Rovner J. S. 1975. Sound production by Nearctic wolf spiders: A substratum- coupled stridulatory mechanism. *Science*, 190: 1309-1310.
- Rovner J. S. 1980. Vibration in *Heteropoda venatoria* (Sparassidae)- a 3rd method of sound production in spiders. *Journal of Arachnology*, 8: 193-200.
- Schulz S. 2004. Semiochemistry of spiders. En: *Advances in Insect Chemical Ecology*, Vol 1. Eds. R.T. Cardé and J.G. Millar, Cambridge University Press, Cambridge, 110-150.
- Schutz D. & M. Taborsky. 2005. Mate choice and sexual conflict in the size dimorphic water spider *Argyroneta aquatica* (Araneae, Argyronetidae). *The Journal of Arachnology*, 33: 767- 775.
- Searcy L. E., A. L. Rypstra & M. H. Persons. 1999. Airborne chemical communication in the wolf spider *Pardosa milvina*. *Journal of Chemical Ecology*, 25: 2527- 2533.
- Simmons L.W. & G. A. Parker. 1989. Nuptial feeding in insects: mating effort versus paternal investment. *Ethology*, 81: 332- 343.
- Simó M., J. J. Col, M. Viglioni & A. Laborda. 2005. Actividad, distribución espacial y fragmentación del hábitat en dos especies de *Allocosa* Banks, de la costa sur del Uruguay (Araneae, Lycosidae). *Actas del Primer Congreso Latinoamericano de Aracnología y Quinto Encuentro de Aracnólogos del Cono Sur*, Minas, Uruguay, 148 p.
- Simó M., R. Seguí & F. Pérez- Miles. 2002. The copulatory organs of the cryptic species *Lycosa thorelli* and *Lycosa carbonelli* and their hybrid progeny, with notes on their taxonomy (Araneae, Lycosidae). *The Journal of Arachnology*, 30: 140-145.
- Stratton G. E., E. A. Hebets, P. R. Miller & G. L. Miller. 1996. Pattern and duration of copulation in wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *The Journal of Arachnology*, 24: 186- 200.

Stratton G.E. & G. Uetz. 1981. Acoustic communication and reproductive isolation in two species of wolf spiders. *Science*, 214 (4520): 575- 577.

Thornhill, R. 1983. Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly *Harpobittacus nigriceps*. *American Naturalist*, 122: 765-788.

Tietjen W.J. 1979. Is the sex pheromone of *Lycosa rabida* deposited (Araneae: Lycosidae) deposited on a substratum? *Journal of Arachnology*, 6: 207- 212.

Tietjen W. J. & J. Rovner. 1980. Trail-following behaviour in two species of wolf spiders: sensory and etho-ecological concomitants. *Animal Behaviour*, 28: 735- 741.

Tietjen W. J. & J. Rovner. 1982. Chemical communication in lycosids and other spiders. En: *Spider communication. Mechanisms and ecological significance*. P.N. Witt & J.S. Rovner eds. Princeton University press, Princeton, New York. 249- 279.

Trivers, R.L. 1972. Parental investment and sexual selection. En: *Sexual selection and the descent of man 1871-1971* (B. Campbell, Ed.), pp. 136-179. Aldine, Chicago.

Uetz G. W. 2000. Signals and multi-modal signalling in spider communication. En: *Animal signals: Signalling and signal design in animal communication*. Y. Espmark, T. Amundsen & G. Rosenqvist Eds., Tapir Academic Press, Trondheim, Norway. 387- 405.

Uetz G. W. & G. Denterlein. 1979. Courtship behavior, habitat, and reproductive isolation in *Schizocosa rovnerei* Uetz and Dondale (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 7: 121-128.

Uetz G. W. & C. D. Dondale. 1979. A new wolf spider in the genus *Schizocosa* (Araneae: Lycosidae) from Illinois. *Journal of Arachnology*, 7: 86-88.

Uetz G. W. & J. A. Roberts. 2002. Multisensory cues and multimodal communication in spiders: insights from video/audio playback studies. *Brain Behav. Evol.*, 59: 222- 230.

Uetz G.W. & G. E. Stratton. 1982. Acoustic communication and reproductive isolation in spiders. En: *Spider communication. Mechanisms and ecological significance*. P.N. Witt & J.S. Rovner Eds., Princeton University press, Princeton, New York. 123- 159 pp.

Vahed K. 1998. The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. *Biological Reviews*, 73: 43-78.

Vollrath F. & G. A. Parker. 1992. Sexual dimorphism and distorted sex ratios in spiders. *Nature*, 360: 156-159.

Wakano J. Y. 2005. Evolution of extraordinary female-biased sex ratios: The optimal schedule of sex ratio in local mate competition. *Journal of Theoretical Biology*, 237: 193- 202.

Walker S. E. & A. L. Rypstra. 2003. Sexual dimorphism and the differential mortality model: is behaviour related to survival? *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 97- 103.

Wilson E. O. 1980. *Sociobiología, la nueva síntesis*. Ediciones Omega, Barcelona.

Wise D. H. & B. Chen. 1999. Impact of intraguild predators on survival of a forest-floor wolf spider. *Oecologia*, 121: 129- 137.