

Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Universidade Federal de Mato Grosso Do Sul

**Eficácia do padrão de coloração Preto-Laranja-Preto como
estratégia aposemática em formigas-feiticeiras (Hymenoptera:
Mutillidae)**

Alan do Nascimento Leite



Campo Grande

março de 2025

Eficácia do padrão de coloração Preto-Laranja-Preto como estratégia aposemática em formigas-feiticeiras (Hymenoptera: Mutillidae)

Alan do Nascimento Leite

Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do título de **Mestre em Ecologia**, pelo
Programa de Pós Graduação em Ecologia e
Conservação, Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Graciolli

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Aranda

Banca Avaliadora

Dr. Vinicius Marques Lopez

Universidade de São Paulo – FFCLRP/USP

Dra. Gisela Barbosa Sobral de Oliveira

Universidade Federal de Rondonópolis - UFR

Dr. Rhainer Guillermo Nascimento Ferreira

Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

Agradecimentos

A conclusão desta dissertação foi possível graças ao apoio, incentivo e colaboração de diversas pessoas e instituições, às quais expresso minha sincera gratidão.

Agradeço aos meus orientadores Gustavo Gracioli e Rodrigo Aranda por terem me aceitado, tornado possível essa jornada acadêmica e pelas inúmeras contribuições importantíssimas para o trabalho.

Aos professores e colegas do programa de pós-graduação, pelas trocas de ideias e pelos momentos de aprendizado, que foram essenciais para o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço também à CNPq pelo apoio financeiro indispensável para a realização desta pesquisa.

Por fim, mas não menos importante, agradeço a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória e contribuíram para que eu alcançasse este marco tão importante.

Índice

Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Métodos	7
<i>Descrição dos organismos modelo</i>	7
<i>Descrição das coletas</i>	9
<i>Descrição dos experimentos</i>	13
<i>Análise de dados</i>	15
Resultados	16
Discussão	19
Literatura citada	21

Resumo

Algumas espécies de Mutillidae exibem um padrão de coloração característico comum em micro-himenópteros, denominado Preto-Laranja-Preto (BOB, do inglês “Black-Orange-Black”). O padrão BOB observado nos mutilídeos está correlacionado com o tamanho do corpo, sendo mais comum em espécies de menor tamanho. É especulado que os indivíduos menores possuam um tegumento menos resistente, tornando-os mais vulneráveis a ataques predatórios. Portanto, essas espécies poderiam se beneficiar significativamente de um sinal que reduzisse as chances de serem alvos de predadores. O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia da coloração BOB como estratégia antipredatória via aposematismo em fêmeas de Mutillidae. Foram realizados testes de alimentação com 31 aranhas sendo: papa-moscas *Plexippus paykulli* (10), aranhas-lobo (10) e *Nothroctenus* sp. (11). Cada aranha foi submetida a dois testes com a vespa com padrão BOB, onde foram registrados os dados: I – se houve investida (sim/não), II – tempo para a primeira investida na presa (s), III – número de investidas (n), e IV – se houve sucesso na predação (sim/não). Após cada um dos testes era oferecido um inseto típico da alimentação das aranhas para verificar se havia predação. Nenhuma aranha conseguiu consumir a vespa oferecida, possivelmente por não conseguirem perfurar o exoesqueleto. As aranhas-lobo evitaram as vespas com padrão BOB, indicando uma possível adaptação inata ou aprendido prévio. Não houve diferença significativa no tempo para primeiro ataque entre encontros com a vespa, porém a quantidade de ataques entre encontros foi significativamente diferente para as *P. paykulli*. Os resultados trazem indícios de uma defesa aposemática eficaz contra os predadores invertebrados testados. Pesquisas adicionais com outros predadores e em outros contextos serão essenciais para entender mais a fundo o padrão de coloração BOB em Mutillidae.

Palavras-chave: Aposematismo, Predação, Sinalização defensiva.

Abstract

Some Mutillidae species exhibit a characteristic coloration pattern common in microhymenopterans, known as Black-Orange-Black (BOB). The BOB pattern observed in mutillids is correlated with body size, being more common in smaller species. It has been suggested that smaller individuals have a less resistant integument, making them more vulnerable to predatory attacks. Therefore, these species could significantly benefit from a signal that reduces their chances of being targeted by predators. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of BOB coloration as an antipredator strategy via aposematism in female Mutillidae. Feeding trials were conducted with 31 spiders, including jumping spiders *Plexippus paykulli* (10), wolf spiders (10), and *Nothroctenus* sp. (11). Each spider was subjected to two trials with a BOB-patterned wasp, and the following data were recorded: (I) whether an attack occurred (yes/no), (II) time to the first attack on the prey (s), (III) number of attacks (n), and (IV) whether predation was successful (yes/no). After each trial, a typical prey item from the spiders' diet was offered to verify if predation occurred. None of the spiders were able to consume the wasp offered, possibly due to their inability to pierce its exoskeleton. Wolf spiders avoided BOB-patterned wasps, suggesting a possible innate adaptation or prior learning. There was no significant difference in the time to the first attack between encounters with the wasp. However, the number of attacks between encounters was significantly different for *P. paykulli*. The results provide evidence of an effective aposematic defense against the tested invertebrate predators. Additional research, involving other predators and different contexts, will be essential to further understand the BOB coloration pattern in Mutillidae.

Keywords: Aposematism, Defensive signaling, Predation.

Introdução

As relações interespecíficas, ou seja, entre indivíduos de diferentes espécies, são um dos principais temas de estudo da Ecologia. Elas influenciam o comportamento dos organismos, as dinâmicas populacionais, a estrutura das comunidades e, conseqüentemente, a evolução das espécies (Werner 1983, Thompson 1994, Horton et al. 1999, Harmon et al. 2009, Barraclough 2015). Essas relações podem ser classificadas conforme o efeito causado nos indivíduos envolvidos, podendo ser negativo, positivo ou neutro. Como exemplos de relações interespecíficas, temos as interações consumidor-recurso, que inclui as interações predador-presa, herbívoro-planta e parasita-hospedeiro; além da competição, do mutualismo, do comensalismo e do amensalismo (Ricklefs 2010).

A interação predador-presa é um exemplo de relação interespecífica na qual uma espécie é beneficiada e a outra é prejudicada (Ricklefs 2010). Nesse contexto, a predação representa um perigo à sobrevivência das presas e exerce uma intensa pressão evolutiva, favorecendo o surgimento de estratégias de defesa antipredador (Brodie III & Brodie Jr. 1999, Hofstede & Ratcliffe 2016). Essas estratégias de defesa podem ser classificadas em primárias, quando ocorrem antes do predador entrar em contato com a presa, ou secundárias, quando ocorrem durante ou depois do contato (Ruxton et al. 2018). Elas podem se manifestar de diversas formas, por exemplo, como mudanças comportamentais (Lima & Dill 1990, Brodie Jr. et al. 1991, Creel & Christianson 2008), adaptações morfológicas (Vignieri et al. 2010, Caro & Ruxton 2019, Sugiura & Tsujii 2022), fisiológicas (Williams et al. 2004) e/ou bioquímicas (Veldman et al. 2007). Essa diversidade de estratégias evidencia a complexidade das interações predador-presa.

Um dos mais clássicos exemplos de estratégia antipredatória presente em diversas espécies é o aposematismo. O termo foi proposto por Poulton (1890) após estudos sobre as cores dos animais. A estratégia consiste na combinação de dois mecanismos: uma

defesa secundária repelente junto com uma defesa primária que serve de sinal de alerta (Ruxton et al. 2018). Apesar de também ser chamado de coloração de alerta em alguns casos, o sinal do aposematismo não se restringe às cores, podendo ser também sons, odores etc. (Rojas et al. 2015). Por fim, nem todos os animais conspícuos são aposemáticos (Rojas et al. 2015), dado que sinais chamativos podem surgir por diferentes pressões seletivas (Cuthill et al. 2017).

Colorações com bastante contraste, como preto com vermelho, laranja e/ou amarelo, podem servir como bons sinais de alerta para predadores visualmente orientados (Arenas et al. 2014), sendo normalmente evitadas por algumas espécies mesmo sem exposições prévias (Smith 1977, Schuler & Hesse 1985, Gamberale-Stille & Tullberg 2001). Predadores que não apresentam essa aversão inata, podem aprender a evitar presas aposemáticas caso sejam expostos suficientemente a elas (Gittleman et al. 1980, Roper & Wistow 1986, Taylor et al. 2016). A facilidade e a duração do aprendizado, além de serem influenciadas pelas próprias características cognitivas do predador (Ruxton et al. 2018), estão relacionadas com a conspicuidade da presa (Roper & Redston 1987). Ou seja, quanto mais fácil for para o predador identificar e diferenciar a presa aposemática de outros tipos de presas, melhor e mais duradouro será o aprendizado.

Dentre os insetos, diversos grupos apresentam um padrão de coloração que também aparece em himenópteros conhecido como Preto-Laranja-Preto (traduzido do inglês, “Black-Orange-Black” - BOB). Esse padrão se resume em cabeça preta, mesossoma laranja/vermelho e metassoma preto (Mora & Hanson 2019). Consiste em um padrão de mimetismo cromático convergente presente em pelo menos 15 famílias dentro de Hymenoptera, principalmente nos micro-himenópteros (Masner 1988, Mora & Hanson 2019). É comumente encontrado em Scelionidae, Evaniidae e Mutillidae, e relativamente raro em Cynipoidea, Diaprioidea, Chalcidoidea e Apoidea (Mora & Hanson 2019).

O padrão de coloração BOB apresenta uma grande prevalência em diversos grupos, apesar disso, a função biológica do mesmo ainda é discutida (Mora & Hanson 2019). O aposematismo entra como uma das principais funções que esse padrão pode apresentar, sendo inclusive testado em micro-himenópteros da família Scelionidae, uma das três famílias onde a coloração BOB é mais encontrada (Mora-Castro et al. 2021). No entanto, até o momento, estudos como esse ainda não foram realizados nas outras famílias onde essa coloração também é frequente.

Vespas da família Mutillidae (Hymenoptera: Vespoidea), popularmente chamadas de formiga feiticeira, são parasitoides que possuem dimorfismo sexual extremo, onde machos são normalmente macrópteros, raramente braquípteros ou ápteros, e as fêmeas ápteras (Brothers 2006). Os adultos geralmente são densamente pubescentes e predominantemente pretos, marrons ou avermelhados, com manchas que podem ser brancas, amarelas ou avermelhadas (Brothers & Finnamore 1993). A família é composta por aproximadamente 4.600 espécies descritas e, na região Neotropical, encontramos cerca de 1.500 espécies que estão presentes nos táxons Sphaerophthalminae, Mutillini e Trogaspidiini (Brothers & Lelej 2017, Pagliano et al. 2020, Fernández 2022).

Elas apresentam uma gama de adaptações de defesa contra predação, como um ferrão grande e móvel nas fêmeas, que possibilita ferroadas que causam bastante dor; uma cutícula extremamente resistente e escorregadia; capacidade de efetuar uma rápida fuga da maioria dos predadores; coloração de alerta; estridular audível e/ou liberam uma secreção exócrina (Schmidt & Blum 1977, Brothers 2006, Borjon et al. 2025). Diversos estudos demonstraram que as defesas dos mutilídeos são altamente eficazes, evitando a predação por diferentes grupos de potenciais predadores vertebrados, inclusive os insetívoros (Schmidt & Blum 1977, Manley 1984, Vitt & Cooper Jr. 1986, Gall et al.

2018). Graças a tantas estratégias eficazes de defesa, ainda não se sabe quem são os predadores desses animais.

As vespas Mutillidae formam complexos de mimetismo mulleriano (Wilson et al. 2015, Wilson et al. 2018, Boutin & Vilhelmsen 2024), um fenômeno que aumenta a frequência dos padrões aposemáticos e que, conseqüentemente, também aumenta a capacidade de sobrevivência dos mímicos (Kapan 2001). A coloração BOB pode ser encontrada em alguns desses complexos de mimetismo mulleriano de Mutillidae já formalmente descritos, como, por exemplo, no “Black-headed Timulla” da América do Norte (Wilson et al. 2015), no “Pan-African” do continente africano (Wilson et al. 2018) e no “Black-headed colour syndrome” do continente asiático (Boutin & Vilhelmsen 2024).

O padrão BOB dos mutilídeos apresenta indícios de estar relacionado com o tamanho corpóreo, sendo encontrado com maior frequência em espécies que possuem um menor tamanho, entre 4,5 e 7,5 mm (Melo & Aranda 2025). É especulado que espécies de menor tamanho corporal, como em *Pseudomethoca frigida* (Smith, 1855), também apresentam um tegumento menos rígido, podendo ser mais facilmente feridas durante uma tentativa de predação (Schmidt et al. 2021). Nesse sentido, essas espécies seriam beneficiadas por um sinal que diminuísse as chances de serem atacadas por predadores.

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a eficácia da coloração BOB como estratégia antipredatória via aposematismo em fêmeas de Mutillidae. Espera-se que, caso a coloração aposemática seja efetiva, os predadores exibirão uma aversão inerente a elas ou que aprenderão a evitá-las. Nesse contexto, as hipóteses testadas no presente trabalho foram: I) predadores visualmente orientados tendem a evitar atacar Mutillidae com padrão BOB; e II) predadores visualmente orientados aprendem a evitar

indivíduos com padrão BOB após o primeiro encontro, demorando mais tempo para atacar ou atacando menos no próximo encontro.

Métodos

Descrição dos organismos modelo

Foram utilizadas fêmeas de Mutillidae dos táxons *Timulla* cf. *seducta* (Cresson, 1902) e *Darditilla* sp. Casal, 1965 (Figura 1-A) com aproximadamente 7mm de tamanho corporal como modelos de presa com padrão de coloração de advertência BOB. Para os predadores, como organismos modelo, foram escolhidas aranhas de diferentes níveis de acuidade visual considerando o potencial de percepção do padrão de coloração de advertência das presas para se testar as hipóteses de capacidade e aprendizado em identificação do padrão aposemático.

O primeiro modelo foi a aranha-saltadora da espécie *Plexippus paykulli* (Audouin, 1826) (Salticidae) (Figura 1-B), uma aranha sinantrópica que apresenta visão bem desenvolvida e utiliza quase exclusivamente essa visão para captura de presas (Richman & Jackson 1992, Pupin & Brescovit 2023). O segundo modelo foi aranhas-lobo (Lycosidae) (Figura 1-C), que utiliza a visão junto com outras modalidades, para captura de presas (Lizotte & Rovner 1988, Rovner 1993). O último modelo de predador foi a aranha errante do gênero *Nothroctenus* Badcock, 1932 (Ctenidae) (Figura 1-D), que não apresenta uma visão muito bem desenvolvida e utiliza principalmente vibrações no substrato e no ar para captura de presas (Foelix 2011).

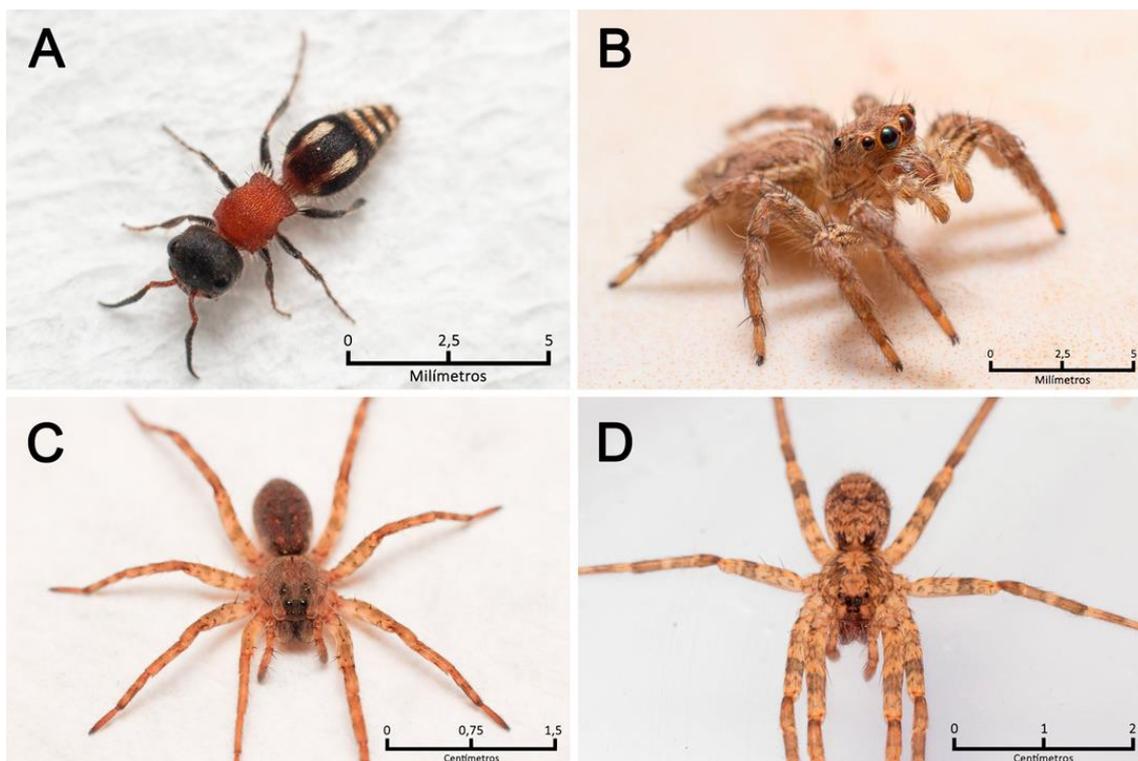


Figura 1 – Modelos utilizados nos testes de alimentação. **(A)** Fêmea de Mutillidae do gênero *Darditilla* com padrão de coloração BOB como modelo de presa. **(B)** Papa-moscas *P. paykulli* da família Salticidae utilizada como modelo de predador visualmente orientado. **(C)** Aranha-lobo da família Lycosidae utilizada como modelo de predador que utiliza múltiplas modalidades sensoriais. **(D)** Aranha *Nothroctenus* sp. da família Ctenidae que utiliza principalmente sinais vibratórios para captura de presas.

Apenas aranhas de tamanho corporal maior ou igual ao das vespas BOB ($\geq 7\text{mm}$, no máximo até aproximadamente 5cm) foram coletadas, tanto machos quanto fêmeas. Alguns dos indivíduos não identificados foram armazenados em álcool 70% para posterior identificação e confirmação das espécies, o restante dos animais utilizados, após os experimentos, foram devolvidos aos locais onde foram coletados (Tabela 1).

Foram utilizados baratas (Blattaria: Blattellidae), grilos (Orthoptera: Gryllidae) e dípteros (Diptera: Culicidae e Psychodidae) de coloração testácea (tons marrons-claro ou terrosos) como controle em comparação ao modelo aposemático, pois são insetos típicos da alimentação das aranhas (Nentwig 1986, Nyffeler 1999, Nyffeler et al. 1990). Para as aranhas maiores, eram utilizados grilos ou baratas adultos, e para aranhas menores, dípteros ou ninfas de grilos/baratas.

Descrição das coletas

As coletas das presas e dos predadores foram realizadas na reserva da Universidade Federal de Rondonópolis (UFR, -16.459376, -54.581281) e em diversas áreas no município de Rondonópolis, Mato Grosso. A reserva da UFR apresenta uma vegetação típica do bioma Cerrado em regeneração.

Tabela 1 – Predadores utilizados, sua quantidade (N), se consumiu grupo controle (insetos testáceos), qual gênero de vespa com padrão de coloração BOB foi oferecida e destinação após os experimentos. CInE-Lab = material depositado na coleção do laboratório de Ecologia de Comunidade de Insetos para posterior identificação.

Predador	Quantidade	Consumiu grupo controle?	Vespa BOB oferecida	Destinação
Salticidae				
<i>Plexippus paykulli</i>	3	Sim	<i>Timulla cf. seducta</i>	Soltura
<i>Plexippus paykulli</i>	7	Sim	<i>Darditilla</i> sp.	Soltura
Lycosidae				
Aranha-lobo	3	Sim	<i>Timulla cf. seducta</i>	Soltura
Aranha-lobo	1	Sim	<i>Darditilla</i> sp.	Soltura
Aranha-lobo	6	Sim	<i>Darditilla</i> sp.	CInE-Lab
Ctenidae				
<i>Nothroctenus</i> sp.	9	Sim	<i>Darditilla</i> sp.	Soltura
<i>Nothroctenus</i> sp.	2	Sim	<i>Darditilla</i> sp.	CInE-Lab
Total	31			

Para os modelos de presas, foram utilizadas apenas 4 fêmeas de Mutillidae, sendo 3 indivíduos de *Darditilla* sp. e 1 de *Timulla* cf. *seducta*. O método de coleta das vespas foi a busca ativa, sendo este o método realizado para coleta de fêmeas de Mutillidae devido a sua natureza solitária e comportamento de busca por hospedeiros (Aranda & Gracioli 2016). Após coletados, os indivíduos foram armazenados vivos em recipientes de plástico com areia e galhos (Figura 2-A), simulando o habitat natural e contendo uma solução adocicada (água com açúcar, concentração de aprox. 33%) como fonte de alimento durante a realização dos experimentos.

A coleta dos predadores foi realizada por meio de busca ativa, onde após coletadas, as aranhas foram armazenadas individualmente em recipientes plásticos transparentes com tampa (Figura 2-B) onde eram mantidas até a realização dos experimentos. Foram coletadas 31 aranhas (Tabela 1), sendo 10 indivíduos para *P. paykulli* e aranhas-lobo e 11 para *Nothroctenus* sp. Foram utilizados três modelos de recipientes diferentes de acordo com o tamanho da aranha: I – recipiente de 70ml para aranhas *P. paykulli*; II – recipiente de 200ml para aranhas-lobo e *Nothroctenus* sp. pequenas e médias; e, por fim, III – recipiente de 500ml para aranhas maiores.

Por fim, os insetos utilizados como controle na alimentação das aranhas foram igualmente coletados por meio de busca ativa e mantidos individualmente em recipientes plásticos até a realização dos experimentos. As coletas dos animais utilizados no estudo foram autorizadas pelo documento SISBIO nº 90444/2.

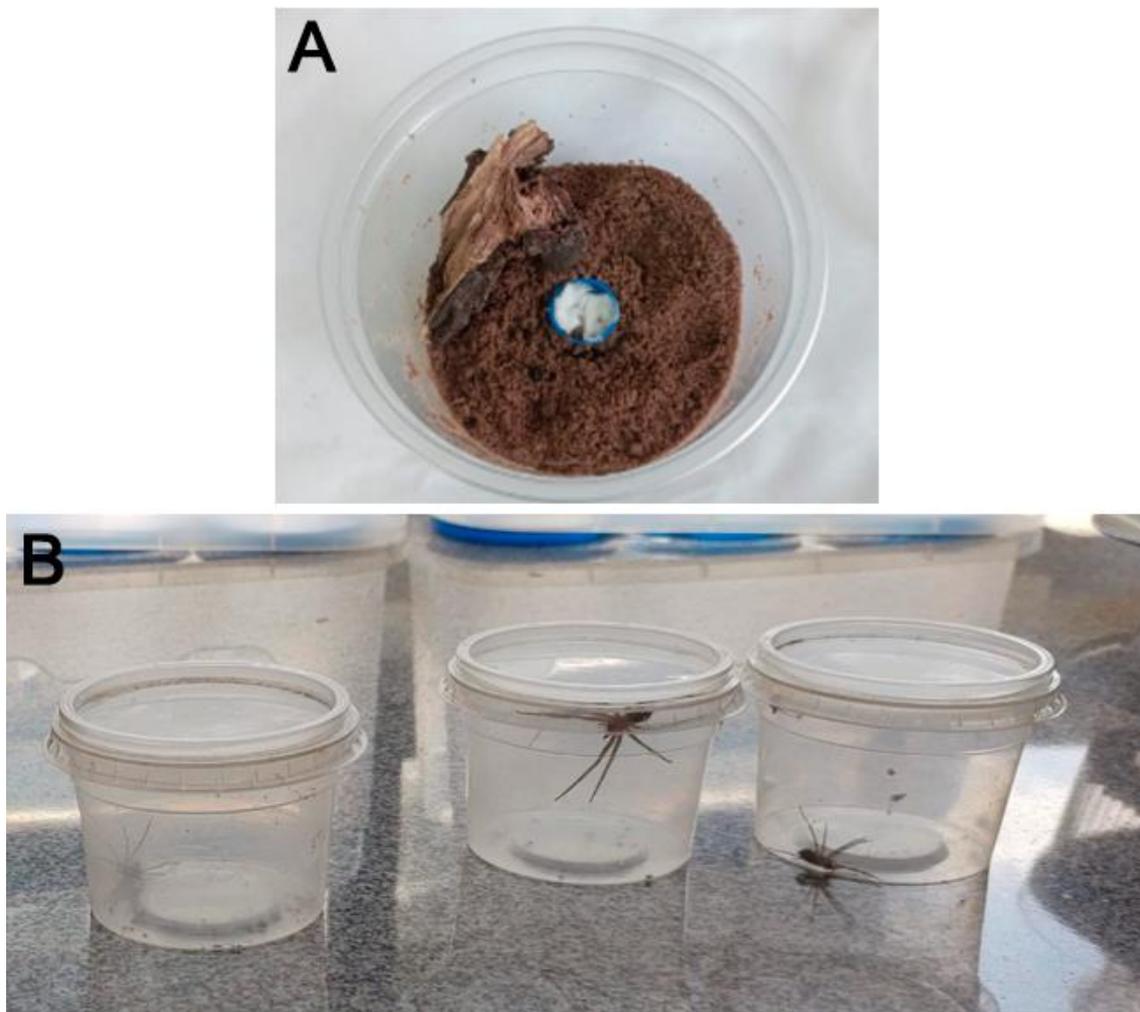


Figura 2 – Recipientes onde eram mantidos os indivíduos utilizados nos experimentos. **(A)** recipiente onde eram mantidas as vespas com padrão BOB. **(B)** exemplos de recipientes onde eram mantidas as aranhas.

Descrição dos experimentos

Os experimentos consistiam em dois testes de alimentação com cada aranha, sendo o segundo teste realizado dois dias depois do primeiro. O tempo entre a coleta do predador e o primeiro teste era diferente para cada modelo de predador, uma vez que em testes piloto foi verificado que as aranhas-lobo e *Nothroctenus* sp. necessitavam de uma maior frequência alimentar do que as papa-moscas *P. paykulli*, não sobrevivendo mais do que dois dias sem alimento.

Para *P. paykulli*, o primeiro teste era realizado três dias após a coleta e o segundo teste dois dias após o primeiro (Figura 3-A). Para aranhas-lobo e *Nothroctenus* sp., o primeiro teste era realizado um dia após a coleta, e o segundo teste dois dias depois do primeiro teste (Figura 3-B). Durante o intervalo da captura até a execução do experimento, as aranhas não eram alimentadas. Foi verificado em testes piloto que as aranhas não demoravam mais que dois minutos para atacar presas típicas de sua alimentação após serem introduzidas em seus recipientes, sendo esse tempo utilizado como parâmetro para determinação do tempo padrão de observação do comportamento de ataque das presas pelas aranhas.

PROCOLO DE COLETA E EXPERIMENTAÇÃO

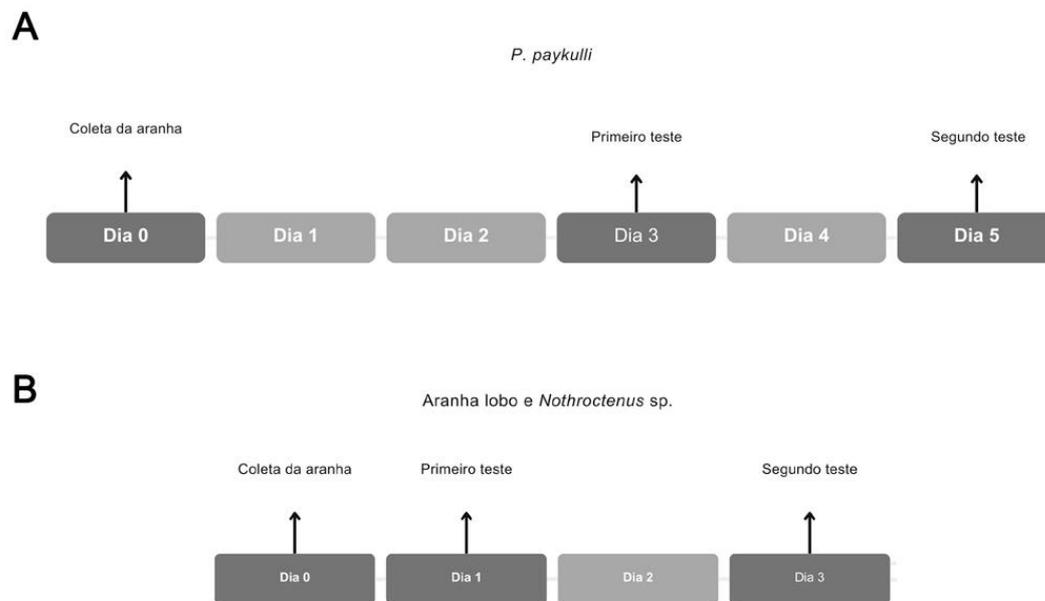


Figura 3 – Protocolo de coleta e experimentação das aranhas. **(A)** Para *Plexippus paykulli*. **(B)** Para aranhas-lobo e *Nothroctenus* sp.

Assim, os testes de alimentação aconteceram da seguinte forma: uma vespa Mutillidae com padrão de coloração BOB era inserida no recipiente com a aranha e observada durante dois minutos e meio, sendo retirada do recipiente caso não tenha sido predada dentro deste período. A partir do experimento, eram registradas informações de: I – se houve investida por parte do predador (sim/não), II – tempo para a primeira investida na presa (s), III – número de investidas (n), e IV – se houve sucesso na predação (sim/não). Após aproximadamente 10 minutos da retirada da vespa, era inserido um inseto típico da alimentação da aranha, sem padrão aposemático como descrito, durante o mesmo intervalo de tempo como controle, verificando se ocorria a predação (sim/não). O teste então era repetido após dois dias, resultando em dois testes de alimentação para cada indivíduo de aranha. Os mesmos indivíduos de vespas Mutillidae foram reutilizadas ao longo dos experimentos, sempre que possível, sendo que cada um dos indivíduos fora utilizado em média 7 vezes.

Análise de dados

A fim de determinar se as aranhas evitam atacar a vespa com padrão BOB, foi realizado teste exato de Fisher com as variáveis de se houve investida (sim/não) e tipo de presa (BOB/controle). Para testar se os predadores aprendem evitar indivíduos BOB em um segundo encontro, foram realizados dois testes de Wilcoxon: I – teste com as variáveis número de investidas (n) e encontro (primeiro/segundo); e II – teste com as variáveis tempo para investida (s) e encontro (primeiro/segundo). Também foi realizado teste exato de Fisher com os dados de investida (sim/não) e encontro (primeiro/segundo).

O teste exato de Fisher foi escolhido para analisar as variáveis categóricas, pois as amostras são pequenas e boa parte das frequências esperadas do Qui-quadrado eram menores que cinco. O teste de Wilcoxon foi realizado, pois as amostras eram pareadas e não seguiam uma distribuição normal. As análises estatísticas foram realizadas utilizando

o R 4.2.2 (R Core Team 2023) e os gráficos foram gerados utilizando o programa Past 5.0 (Hammer et al. 2001). Cada grupo de aranha foi analisado separadamente e foi estabelecido o alfa de 0,05.

Resultados

Em todos os 31 experimentos realizados, nenhuma aranha conseguiu predar com sucesso a fêmeas de Mutillidae ofertadas, porém todas consumiram o grupo controle de insetos. As aranhas que mais investiram contra a Mutillidae no primeiro teste foram as *P. paykulli*, com 90% dos indivíduos desferindo pelo menos um ataque contra a vespa. Em contrapartida, aproximadamente 63% das aranhas *Nothroctenus* sp., e 30% das aranha-lobo realizaram investidas contra a vespa. O teste exato de Fisher não demonstrou uma relação significativa entre o comportamento da aranha atacar a presa e o tipo de presa para *P. paykulli* ($p = 1$) e *Nothroctenus* sp. ($p = 0,090$). Porém, foi encontrada uma evidência de associação entre essas variáveis para as aranhas-lobo ($p = 0,003$).

As *P. paykulli* que investiram contra a vespa com padrão BOB levaram, em média 29,88s (DP \pm 23,96s), para realizar a investida no primeiro encontro e 24,33s (DP \pm 21,10s) no segundo encontro. As aranhas-lobo levaram em média 24,66s (DP \pm 4,04s) no primeiro encontro e 54,50s (DP \pm 61,13s) no segundo. Já as aranhas *Nothroctenus* sp. levaram em média 26,71s (DP \pm 36,41s) no primeiro encontro e 37s (DP \pm 37,39s) no segundo.

O modelo de predador que obteve a maior média de ataques contra as vespas com padrão BOB no primeiro encontro foi a papa-moscas *P. paykulli* (média = 1,5; DP \pm 0,97), seguido das *Nothroctenus* sp. (média = 0,81; DP \pm 0,87) e, por último, as aranhas-lobo (média = 0,4; DP \pm 0,69). No segundo encontro com a vespa com padrão BOB, o modelo com a maior média de ataques foi a *P. paykulli* (média = 0,8; DP \pm 0,78), seguido das

Nothroctenus sp. (média = 0,72; DP \pm 0,64) e, por último, as aranhas-lobo (média = 0,4; DP \pm 0,51).

O teste de Wilcoxon indicou que não há diferença significativa entre o tempo para investir contra a presa no primeiro e no segundo encontro com a BOB para *P. paykulli* (V = 10; p = 0,15; Figura 4-A), aranha-lobo (V = 8; p = 1; Figura 4-C) e *Nothroctenus* sp. (V = 9; p = 0,23; Figura 4-E). Já, com relação à quantidade de investidas à presa, o teste indicou uma diferença significativa para *P. paykulli* (V = 15; p = 0,05; Figura 4-B), porém não significativo para aranhas-lobo (V = 3; p = 1; Figura 4-D) e *Nothroctenus* sp. (V = 6, p = 0,85, Figura 4-F).

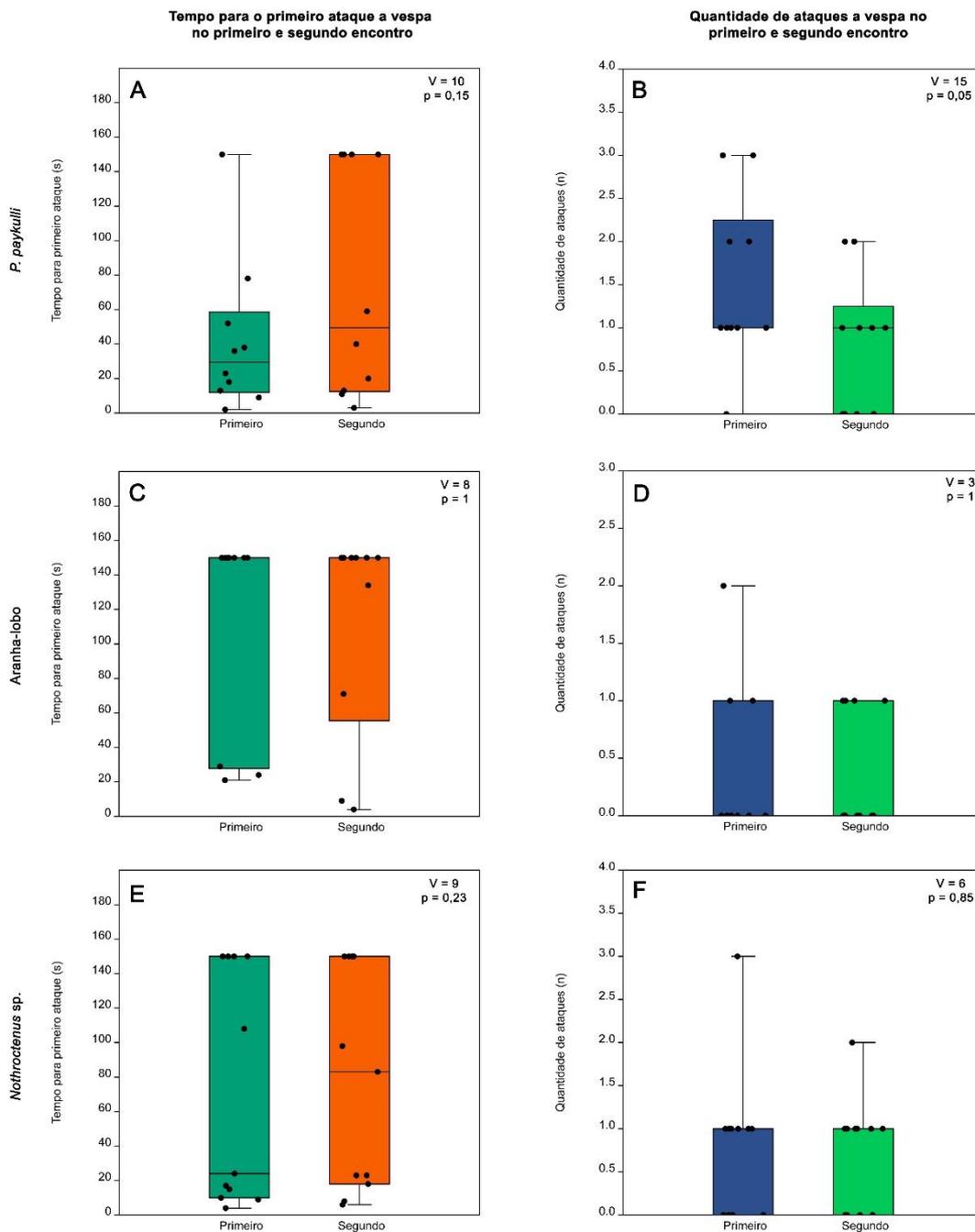


Figura 4 – Resultados dos testes para cada modelo. **(A)** Tempo de *Plexippus paykulli* para realizar o primeiro ataque contra a vespa. **(B)** Quantidade de ataques que *P. paykulli* desferiu contra a vespa. **(C)** Tempo de aranha-lobo para realizar o primeiro ataque contra a vespa. **(D)** Quantidade de ataques que aranha-lobo desferiu contra a vespa. **(E)** Tempo de *Nothroctenus sp.* para realizar o primeiro ataque contra a vespa. **(F)** Quantidade de ataques que *Nothroctenus sp.* desferiu contra a vespa.

Por fim, o teste exato de Fisher indicou que a associação entre o comportamento da aranha atacar a presa (sim/não) e o encontro (primeiro ou segundo) com a vespa BOB não é estatisticamente significativa para nenhum dos modelos de predador (*P. paykulli* $p = 0,303$; aranhas-lobo $p = 1$ e *Nothroctenus* sp. $p = 1$).

Discussão

Nenhum dos modelos testados foi capaz de consumir a fêmea de Mutillidae oferecida, mesmo após múltiplas investidas. O aparente motivo foi que as aranhas não conseguiam perfurar o exoesqueleto da vespa, uma das principais formas de defesa desses animais (Brothers 2006). Os indivíduos com padrão BOB, mesmo possuindo menor tamanho corporal e presumivelmente um tegumento menos rígido, demonstraram resistência suficiente para evitar a predação pelas aranhas testadas. Esse resultado é consistente com estudos prévios que indicam a dificuldade de aranhas em se alimentar de artrópodes com exoesqueletos mais rígidos (Dias & Willemart 2013).

Os resultados do teste exato de Fisher com as variáveis (atacou/tipo de presa) indicam que as aranhas-lobo evitaram as vespas com padrão de coloração BOB, atacando significativamente menos a vespa do que o grupo controle, corroborando em parte a primeira hipótese. As aranhas-lobo (Lycosidae), em sua maioria, procuram suas presas no chão (Dias et al. 2010), o mesmo local onde fêmeas de Mutillidae são normalmente encontradas em sua busca por hospedeiros. A sobreposição de habitat pode ter favorecido uma adaptação para evitar essas vespas, possivelmente por reconhecê-las como perigosas. Essa adaptação pode ser tanto inata, resultante de processos evolutivos, quanto adquirida, resultante de aprendizado com encontros anteriores. Estudos com indivíduos nascidos em laboratório podem ajudar responder essa questão.

As *P. paykulli* e as *Nothroctenus* sp., ao contrário das aranhas-lobo, não evitaram as Mutillidae com padrão BOB. Para as *P. paykulli*, esse resultado pode ser explicado

pelo fato de serem aranhas sinantrópicas, encontradas em ambientes urbanos (Pupin & Brescovit 2023). Graças a isso, muito provavelmente elas nunca tiveram encontros prévios com as vespas e não são adaptadas a evitá-las. Já para *Nothroctenus* sp., o resultado deve ser decorrente da sua forma de captura de presas, que depende muito pouco da visão e é, principalmente, baseada em emboscadas a partir de sinais vibratórios (Dias et al. 2010, Foelix 2011, Willemart & Lacava 2017), o que dificultaria diferenciar presas aposemáticas em que o sinal de alerta é uma cor.

Não houve uma diferença significativa no tempo para o primeiro ataque entre primeiro e segundo encontro para nenhum dos modelos, já para quantidade de ataques, foi significativo apenas para as *P. paykulli*, indicando que elas atacaram menos a Mutillidae no segundo encontro. Esse resultado corrobora a hipótese de que predadores visualmente orientados aprenderiam evitar a vespa. Além disso, esse resultado está de acordo com vários estudos que demonstram que aranhas da família Salticidae são capazes de aprender evitar presas específicas (Skow & Jakob 2005, Taylor et al. 2014, Taylor et al. 2016). Essas aranhas apresentam uma visão muito bem desenvolvida (Winsor et al. 2023) o que pode ajudar no reconhecimento do padrão BOB.

O padrão BOB é amplamente encontrado em Mutillidae e possivelmente representa uma característica ancestral dentro da família (Boutin & Vilhelmsen 2024). Os resultados aqui encontrados ajudariam a explicar sua persistência em diversas linhagens ao longo da evolução do grupo. Além disso, a função da coloração nos animais depende do contexto, podendo desempenhar múltiplas funções de acordo com fatores como fundo, iluminação e distância do observador (Cuthill et al. 2017). Nesse sentido, é possível que a coloração BOB possua outras funções ainda não estudadas, o que poderia explicar ainda mais seu sucesso evolutivo. Além disso, estudos com predadores vertebrados também

serão imprescindíveis, uma vez que lagartos são apontados como os principais predadores de algumas espécies de Mutillidae com coloração BOB (Pan et al. 2017).

As fêmeas de Mutillidae com padrão de coloração BOB foram evitadas por um dos modelos de predador (aranhas-lobo) e elucidaram aprendizado em um predador visualmente orientado (*P. paykulli*). Com esses resultados, as hipóteses foram corroboradas, trazendo indícios que o padrão BOB funciona como uma estratégia de defesa via aposematismo eficaz. Por fim, esse estudo também demonstrou a viabilidade do uso de invertebrados como organismos modelo para compreensão de interações ecológicas.

Literatura citada

Aranda R & Gracioli G. 2016. Protocol for collecting Mutillidae (Hymenoptera, Aculeata) in ecological studies: species–area effects on Mutillidae communities. *Revista Brasileira de Entomologia* 60: 312–318.

Arenas LM, Troscianko J & Stevens M. 2014. Color contrast and stability as key elements for effective warning signals. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2: 1-12.

Barraclough TG. 2015. How do species interactions affect evolutionary dynamics across whole communities? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 46: 25-48.

Borjon LJ, Ferreira LCA, Trinidad JC, Sasic S, Hohmann AG & Tracey WD. 2025. Multiple mechanisms of action for an extremely painful venom. *Current Biology* 35: 444-453.

Boutin M & Vilhelmsen L. 2024. Colour pattern diversity and evolution in Oriental velvet ants (Hymenoptera: Aculeata: Mutillidae). *Biological Journal of the Linnean Society* blae064: 1-16.

Brodie III ED & Brodie Jr. ED. 1999. Predator-Prey Arms Races. *BioScience* 49: 557–568.

Brodie Jr. ED, Formanowicz Jr. DR & Brodie III ED. 1991. Predator avoidance and antipredator mechanisms: distinct pathways to survival. *Ethology Ecology and Evolution* 3: 73–77.

Brothers DJ. 2006. Familia Mutillidae. In: *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical* (Eds. F Fernández & MJ Sharkey), pp. 577–594. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Brothers DJ & Finnamore AT. 1993. Superfamily Vespoidea. In: *Hymenoptera of the World: an Identification Guide to Families* (Eds. H Goulet & JT Huber), pp. 161–278. Agriculture Canada Publication 1894/E, Ottawa.

Brothers DJ & Lelej AS. 2017. Phylogeny and higher classification of Mutillidae (Hymenoptera) based on morphological reanalyses. *Journal of Hymenoptera Research* 60: 1-97.

Caro T & Ruxton G. 2019. Aposematism: Unpacking the defences. *Trends in Ecology & Evolution* 34: 595-604.

Creel S & Christianson D. 2008. Relationships between direct predation and risk effects. *Trends in Ecology & Evolution* 23: 194–201.

Cuthill IC, Allen WL, Arbuckle K, Caspers B, Chaplin G, Hauber ME, Hill GE, Jablonski NG, Jiggins CD, Kelber A, Mappes J, Marshall J, Merrill R, Osorio D, Prum R, Roberts NW, Roulin A, Rowland HM, Sherratt TN, Skelhorn J, Speed MP, Stevens M, Stoddard MC, Stuart-Fox D, Talas L, Tibbetts E & Caro T. 2017. The biology of color. *Science* 357: eaan0221.

Dias SC, Carvalho LS, Bonaldo AB & Brescovit AD. 2010. Refining the establishment of guilds in Neotropical spiders (Arachnida: Araneae). *Journal of Natural History* 44: 219-239.

Dias BC & Willemart RH. 2013. The effectiveness of post-contact defenses in a prey with no pre-contact detection. *Zoology* 116: 168-174.

Fernández F. 2022. On the diversity of Neotropical Hymenoptera. *Caldasia* 44: 502–513.

Foelix RF. 2011. Locomotion and Prey Capture. In: *Biology of Spiders* (Ed. RF Foelix), pp. 188-217. 3^a ed. Oxford University Press, New York.

Gall BG, Spivey KL, Chapman TL, Delph RJ, Brodie Jr. ED & Wilson JS. 2018. The indestructible insect: Velvet ants from across the United States avoid predation by representatives from all major tetrapod clades. *Ecology and Evolution* 8: 5852–5862.

Gamberale-Stille G & Tullberg BS. 2001. Fruit or aposematic insect? Context-dependent colour preferences in domestic chicks. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 268: 2525–2529.

- Gittleman JL, Harvey PH & Greenwood PJ. 1980. The Evolution of Conspicuous Coloration: Some Experiments in Bad Taste. *Animal Behaviour* 28: 897-899.
- Hammer Ø, Harper DAT & Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4: 1-9.
- Harmon JP, Moran NA & Ives AR. 2009. Species Response to Environmental Change: Impacts of Food Web Interactions and Evolution. *Science* 323: 1347-1350.
- Hofstede HM & Ratcliffe JM. 2016. Evolutionary escalation: the bat-moth arms race. *Journal of Experimental Biology* 219: 1589-1602.
- Horton TR, Bruns TD & Parker T. 1999. Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany* 77: 93-102.
- Kapan DD. 2001. Three-butterfly system provides a field test of Müllerian mimicry. *Nature* 409: 338-340.
- Lima SL & Dill LM. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* 68: 619-640.
- Lizotte RS & Rovner JS. 1988. Nocturnal capture of fireflies by lycosid spiders: visual versus vibratory stimuli. *Animal Behaviour* 36: 1809-1815.
- Manley DG. 1984. Predation upon velvet ants of the Genus *Dasymutilla* in California (Hymenoptera: Mutillidae). *Pan-Pacific Entomologist* 60: 219-226.
- Masner L. 1988. Convergent chromatic mimicry among some Neotropical Hymenoptera: a search for the model. In: *Proceedings XVIII International Congress of Entomology, 3-9 July 1988. Proceedings [...]*, p. 12. Vancouver, B.C., Canada.
- Melo LP & Aranda R. 2025. Are size-dependent aposematic patterns shaped by evolutionary pressures in 'indestructible' velvet ants (Hymenoptera Mutillidae)? A case study of neotropical species. *Ethology Ecology & Evolution* 1-12.
- Mora-Castro R, Alfaro-Córdoba M, Hernández-Jiménez M, Otárola MF, Méndez-Rivera M, Ramírez-Morales D, Rodríguez-Rodríguez CE, Durán-Rodríguez A & Hanson PE. 2021. First evidence for an aposematic function of a very common color pattern in small insects. *PLoS ONE* 16: e0237288.
- Mora R & Hanson PE. 2019. Widespread occurrence of Black-Orange-Black color pattern in Hymenoptera. *Journal of Insect Science* 19: 1-12.
- Nentwig W. 1986. Non-webbuilding spiders: prey specialists or generalists?. *Oecologia* 69: 571-576.

- Nyffeler M. 1999. Prey Selection of Spiders in the Field. *The Journal of Arachnology* 27: 317-324.
- Nyffeler M, Breene RG & Dean DA. 1990. Facultative monophagy in the jumping spider, *Plexippus paykulli* (Audouin) (Araneae: Salticidae). *PECKHAMIA* 2: 92-96.
- Pagliano G, Brothers DJ, Cambra R, Lelej AS, Cascio PL, Palmerini MM, Scaramozzino PL, Williams KA & Romano M. 2020. Checklist of names in Mutillidae (Hymenoptera), with illustrations of selected species. *Bollettino del Museo Regionale di Scienze Naturali* 36: 5-425.
- Pan AD, Williams KA & Wilson JS. 2017. Are diurnal iguanian lizards the evolutionary drivers of New World female velvet ant (Hymenoptera: Mutillidae) Müllerian mimicry rings?. *Biological Journal of the Linnean Society* 120: 436-447.
- Poulton EB. 1890. *The colours of animals: their meaning and use especially considered in the case of insects*. D. Appleton and company, New York, 337 pp.
- Pupin GB & Brescovit AD. 2023. The alien synanthropic Salticidae in Brazil (Araneae). *Iheringia - Série Zoologia* 113: e2023002.
- R Core Team. 2023. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.
- Richman DB & Jackson RR. 1992. A review of the ethology of jumping spiders (Araneae, Salticidae). *Bulletin of the British Arachnological Society* 9: 33-37.
- Ricklefs RE. 2010. *A Economia da Natureza*. 6 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 534 pp.
- Rojas B, Valkonen J & Nokelainen O. 2015. Aposematism. *Current biology* 25: R350-R351.
- Roper TJ & Redston S. 1987. Conspicuousness of distasteful prey affects the strength and durability of one-trial avoidance learning. *Animal Behaviour* 35: 739-747.
- Roper TJ & Wistow R. 1986. Aposematic Colouration and Avoidance Learning in Chicks. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology* 38B: 141-149.
- Rovner JS. 1993. Visually mediated responses in the lycosid spider *Rabidosa rabida*: the roles of different pairs of eyes. *Memoirs of the Queensland Museum* 33: 635-638.
- Ruxton GD, Sherratt TN & Speed MP. 2018. *Avoiding Attack: the Evolutionary Ecology of Crypsis, Aposematism and Mimicry*. 2 ed. Oxford University Press, Oxford, 249 pp.

- Schmidt JO & Blum MS. 1977. Adaptations and responses of *Dasymutilla occidentalis* (Hymenoptera: Mutillidae) to predators. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 21: 99–111.
- Schmidt JO, Schmidt LS & Schmidt DK. 2021. The paradox of the velvet-ant (Hymenoptera, Mutillidae). *Journal of Hymenoptera Research* 84: 327-337.
- Schuler W & Hesse E. 1985. On the function of warning coloration: A black and yellow pattern inhibits prey-attack by naive domestic chicks. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 16: 249–255.
- Skow CD & Jakob EM. 2005. Jumping spiders attend to context during learned avoidance of aposematic prey. *Behavioral Ecology* 17: 34-40.
- Smith SM. 1977. Coral-snake pattern recognition and stimulus generalisation by naive great kiskadees (Aves: Tyrannidae). *Nature* 265: 535–536.
- Sugiura S & Tsujii M. 2022. Male wasp genitalia as an anti-predator defense. *Current Biology* 32: R1325-R1337.
- Taylor LA, Maier EB, Byrne KJ, Amin Z & Morehouse NI. 2014. Colour use by tiny predators: Jumping spiders show colour biases during foraging. *Animal Behaviour* 90: 149-157.
- Taylor LA, Amin Z, Maier EB, Byrne KJ & Morehouse NI. 2016. Flexible color learning in an invertebrate predator: *Habronattus* jumping spiders can learn to prefer or avoid red during foraging. *Behavioral Ecology* 27: 520-529.
- Thompson JN. 1994. Specialization within Darwin's Entangled Bank. In: *The Coevolutionary Process* (Ed. JN Thompson), pp. 7-22. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Veldman JW, Murray KG, Hull AL, Garcia-C JM, Mungall WS, Rotman GB, Plosz MP & McNamara LK. 2007. Chemical Defense and the Persistence of Pioneer Plant Seeds in the Soil of a Tropical Cloud Forest. *Biotropica* 39: 87-93.
- Vignieri SN, Larson JG & Hoekstra HE. 2010. The selective advantage of crypsis in mice. *Evolution* 64: 2153-2158.
- Vitt LJ & Cooper Jr. WE. 1986. Foraging and diet of a diurnal predator (*Eumeces laticeps*) feeding on hidden prey. *Journal of Herpetology* 20: 408–415.
- Werner EE, Gilliam JF, Hall DJ & Mittelbach GG. 1983. An experimental test of the effects of predation risk on habitat use in fish. *Ecology* 64: 1540-1548.
- Willemart RH & Lacava M. 2017. Foraging strategies of cursorial and ambush spiders. In: *Behaviour and Ecology of Spiders: Contributions from the Neotropical*

Region (Eds. C Vieira & MO Gonzaga), pp. 227-245. Springer International Publishing AG, Cham, Switzerland.

Williams BL, Brodie Jr. ED & Brodie III ED. 2004. A resistant predator and its toxic prey: Persistence of newt toxin leads to poisonous (not venomous) snakes. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1901-1919.

Wilson JS, Jahner JP, Forister ML, Sheehan ES, Williams KA & Pitts JP. 2015. North American velvet ants form one of the world's largest known Müllerian mimicry complexes. *Current Biology* 25: R693–R710.

Wilson JS, Pan AD, Limb ES & Williams KA. 2018. Comparison of African and North American velvet ant mimicry complexes: Another example of Africa as the ‘odd man out’. *PLoS ONE* 13: e0189482.

Winsor AM, Morehouse NI & Jakob EM. 2023. Distributed vision in spiders. In: *Distributed vision: From simple sensors to sophisticated combination eyes* (Eds. E Buschbeck & M Bok), pp. 267-318. Springer Nature Switzerland AG, Cham, Switzerland.