

Guilherme Ferreira Pagoti

Influências de pistas químicas e fatores microclimáticos na
escolha e utilização da planta *Psychotria suterella* (Rubiacea)
pelo opilião *Jussara* sp. (Arachnida, Opiliones)



São Paulo

2015

Guilherme Ferreira Pagoti

Influências de pistas químicas e fatores microclimáticos na escolha e utilização da planta *Psychotria suterella* (Rubiacea) pelo opilião *Jussara* sp. (Arachnida, Opiliones)

Influence of chemical cues and microclimatic factors in the choice and use of the plant *Psychotria suterella* (Rubiacea) by the harvestman *Jussara* sp. (Arachnida, Opiliones)

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências Biológicas, na Área de Zoologia.

Orientador:

Prof. Dr. Rodrigo Hirata Willemart

São Paulo

2015

Ficha Catalográfica

Pagoti, Guilherme F.

Influências de pistas químicas e fatores microclimáticos na escolha e utilização da planta *Psychotria suterella* (Rubiacea) pelo opilião *Jussara* sp. (Arachnida, Opiliones).

V+30 p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia.

1. Sclerosomatidae 2. Olfato 3. Escolha de habitat I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Zoologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Rodrigo Hirata Willemart

Orientador

Dedico esta dissertação aos meus pais, Carlos e Neusa, pelo incentivo e apoio em todas minhas escolhas e decisões.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

- Agradeço aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado me ajudando e me apoiando em todos os momentos da minha vida.
- Agradeço ao meu orientador e amigo Rodrigo Hirata Willemart pela orientação ao longo de todos esses anos, pela paciência e pelos ensinamentos.
- Agradeço à minha namorada e amiga Lilian Ponce pelo apoio nos momentos mais difíceis na realização dessa dissertação
- Agradeço ao meu grande amigo Norton pela amizade e a intensa ajuda na realização deste trabalho.
- Agradeço ao pessoal do núcleo Engordador do Parque Estadual da Serra da Cantareira pelo acolhimento e ajuda na realização desse trabalho.
- Agradeço aos amigos Luiz Gustavo, André, George, Felipe, William e Yuri pela amizade e confiança.
- Agradeço aos professores e amigos do Colégio Nossa Senhora de Fátima pelos ensinamentos, conselhos e apoio.
- Agradeço à co-autora deste trabalho Maria Fernanda Peñaflor pela excelente revisão de conteúdo e ajuda nas etapas de coleta de dados.
- Agradeço aos co-autores Prof. Dr. José Maurício Simões Bento e ao Dr. Mauro Marabessi pela ajuda na idealização do trabalho e pelo equipamento cedido para coleta de dados.
- Agradeço à Prof. Dra. Silvana Godoy pela identificação das plantas e à Dr. Ana Tourinho pela identificação dos opiliões.
- Agradeço aos amigos do laboratório LESCA: Gabriel Murayama, Guilherme Gainett, Jessica Dias, João, Julio Segovia, Nathalia Fernandes, Norton Felipe dos Santos Silva, Thaiany Costa pelo companheirismo e ajuda ao longo de todos esses anos de trabalho juntos.
- Agradeço ao Prof. Dr. Ricardo Pinto-da-Rocha por ter aceitado me orientar no início deste trabalho.
- Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida a mim durante o período de mestrado.
- Agradeço pelo apoio FAPESP 2010/00915-0, ao laboratório (LESCA) coordenado pelo professor Rodrigo Hirata Willemart.

INDÍCE

1. RESUMO/ABSTRACTS.....	1
2. INTRODUÇÃO.....	5
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	7
3.1 Área de estudo.....	7
3.2 Pistas utilizadas para encontrar <i>P. suterella</i>	7
3.2.1 Caminho utilizado para atingir o solo e retornar às plantas.....	7
3.3.2 Químicos de co-específicos.....	7
3.3.3 Olfacção utilizando extratos de químicos de plantas e análises químicas.....	8
3.3.4 Olfacção utilizando as próprias plantas.....	9
3. 4 Possíveis benefícios associados a <i>P. suterella</i>	11
3.4.1 Transpiração foliar	13
3.4.2 Passagem de luz através das folhas.....	14
4. RESULTADOS.....	15
4.1 Pistas utilizadas para encontrar <i>P. suterella</i>	15
4.1.1 Caminho utilizado para atingir o solo e retornar às plantas.....	15
4.1.2 Químicos de co-específicos.....	15
4.1.3 Olfacção utilizando extratos de químicos de plantas e análises químicas.....	16
4.1.4 Olfacção utilizando as próprias plantas.....	16
4. 2 Possíveis benefícios associados a <i>P. suterella</i>	17
4.2.1 Transpiração foliar.....	17
4.2.2 Passagem de luz através das folhas.....	17
5. DISCUSSÃO.....	17
6. AGRADECIMENTOS.....	20
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
8. FIGURAS.....	26
9. TABELAS.....	29

INFLUÊNCIAS DE PISTAS QUÍMICAS E FATORES MICROCLIMÁTICOS NA ESCOLHA E UTILIZAÇÃO DA PLANTA *Psychotria suterella* (RUBIACEA) PELO OPILIÃO *Jussara* sp. (ARACHNIDA, OPILIONES)

Guilherme Ferreira Pagoti,^{1,2} Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor,³ Mauro Alexandre Marabesi,⁴ José Maurício Simões Bento³ & Rodrigo Hirata Willemart^{1,2,5,*}

1 Laboratório de Ecologia Sensorial e Comportamento de Artrópodes Escola de Artes Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil;

2 Programa de Pós Graduação em Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil;

3 Departamento de Entomologia e Acarologia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil;

4 Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, São Paulo, Brasil;

5 Programa de Pós Graduação em Ecologia e Evolução, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil. E-mail: willemart@usp.br

Palavras-chave: Sclerosomatidae, quimiorrecepção, olfato, escolha de habitat

1. RESUMO

A interação envolvendo artrópodes e plantas é uma das mais antigas e importantes interações ecológicas da natureza. As estratégias adotadas pelos artrópodes para reconhecer a sua planta hospedeira são bastante variáveis e pistas químicas desempenham um papel importante nessa relação. Opiliões (Arachnida, Opiliones) são altamente dependentes de quimiorrecepção para encontrar recursos e são particularmente dependentes de umidade. O opilião *Jussara* sp. possui uma clara preferência por repousar em *Psychotria suterella* (Rubiaceae), uma planta com uma arquitetura foliar complexa com folhas sobrepostas. Nada se sabe sobre como o opilião chega a ela ou quais as vantagens que ela proporciona ao opilião. Neste trabalho verificamos quais pistas são utilizadas pelo opilião para encontrar *P. suterella* e ainda quais os possíveis benefícios para o opilião nessa interação. Para verificação de como o opilião encontra a planta, partimos de duas hipóteses não excludentes: 1 – pistas de co-específicos são utilizadas; 2 – pistas químicas provenientes da planta são utilizadas. Para a primeira hipótese, montamos um experimento em campo com um grupo de plantas de *P. suterella* contendo químicos de *Jussara* sp. e um grupo sem químicos de *Jussara* sp. no caule principal e comparamos como os tratamentos afetaram o número de opiliões nas plantas de cada grupo. Para a hipótese da utilização de químicos da planta, realizamos dois experimentos visando verificar a preferência do opilião pelos

voláteis de *P. suterella*. No primeiro utilizamos extratos de químicos voláteis de *P. suterella* e de mais dois controles em uma arena triangular com os 3 estímulos oferecidos simultaneamente. No segundo experimento utilizamos a própria planta *P. suterella*, pareada com uma planta controle ou um controle branco em um olfatômetro em Y. Para verificar os benefícios da associação também partimos de duas hipóteses não excludentes relacionadas a possíveis diferenças microclimáticas geradas por *P. suterella* em relação às demais plantas do local: 1– as folhas de *P. suterella* oferecem maior umidade do que outras plantas; 2 – as folhas de *P. suterella* fornecem um microambiente mais sombreado do que o de outras plantas. Para primeira hipótese, quantificamos o fluxo de transpiração foliar de *P. suterella* e mais 3 espécies de plantas do habitat do opilião. Já para segunda hipótese, quantificamos o bloqueio à passagem de luz através das folhas em *P. suterella* e das mesmas 3 espécies do teste anterior. Não obtivemos evidências claras de que os opiliões *Jussara* sp. utilizem químicos de co-específicos para selecionar *P. suterella*. Pistas químicas olfativas não parecem ser utilizadas de forma isolada para atrair *Jussara* sp., mas nossos resultados sugerem que talvez em combinação com outras plantas o odor possa ser utilizado. Em relação aos benefícios fornecidos por *P. suterella*, nós não encontramos evidências de que a transpiração foliar seja importante na interação. Contudo, o maior bloqueio de passagem de luz através da folha em comparação às demais espécies aliado a arquitetura foliar de *P. suterella* pode gerar microclimas benéficos para os opiliões que geralmente são altamente sensíveis a umidade.

ABSTRACT

Interactions between arthropods and plants are among the oldest and important ecological interactions in nature. Strategies adopted by arthropods to recognize its host plant are very variable and volatiles often mediate the encounter between both parts. Harvestmen (Arachnida, Opiliones) are arachnids highly dependent on chemicals to find resources and particularly dependent on high humidity. The harvestman *Jussara* sp. clearly prefers to rest on *Psychotria suterella* (Rubiaceae), a plant with a complex architecture with overlapping leaves. We know nothing about how the harvestmen find the plant or the advantages that such plant offers to the harvestmen. In this paper we investigate the cues used to find *P. suterella* by these harvestmen and how the harvestman benefits from this interaction. To test how the harvestman finds the plant, we raised two non-excludent hypotheses: 1 - conspecific chemicals are used; 2 - plant chemicals are used. For the first hypothesis, we conducted a field experiment with a group of *P. suterella* with chemicals of *Jussara* sp. and another without chemicals of *Jussara* sp. on the main stem and compared how that affected the number of harvestmen on them. To test the importance of plant chemicals, we conducted two experiments to test the use of volatiles of *P. suterella*. We first used volatile extracts of *P. suterella* and two other plants in a triangular arena with the three stimuli offered simultaneously. In the second experiment, we used actual individuals of *P. suterella* paired with either a control plant of a white control in a Y maze. To investigate how *Jussara* sp. benefits by choosing *P. suterella*, we raised two non-excludent hypotheses related to microclimatic conditions potentially offered by *P. suterella* in comparison to other plants of the area: 1 - The leaves of *P. suterella* offer higher humidity than those of other plants; 2 - The leaves of *P. suterella* provide a better shadow than that of other plants. For the first hypothesis, we quantified the transpiration rate of the leaves of four local species including *P. suterella*. For the second hypothesis, we quantified how much light passes through the leaves of these four species. We did not find clear evidences that *Jussara* sp. uses conspecific chemicals to select *P. suterella*. Plant volatiles do not seem to be used at least isolated to attract *Jussara* sp., but our results suggest that maybe in combination with other plants such volatiles may be used. As for the benefits provided by *P. suterella*, we did not find evidence that the transpiration rate is important. However, the leaves of *P. suterella* do provide better shadows in comparison with the other plants, which in combination with the complex architecture with overlapping

leaves may provide better microclimatic conditions to these very humidity sensitive animals.

2. INTRODUÇÃO

A interação envolvendo plantas e artrópodes é uma das mais antigas e importantes interações ecológicas existentes na natureza, sendo essencial na evolução do ecossistema terrestre (Labandeira, 2006; Gong & Zhang, 2014). Uma das mais conhecidas interações envolvendo artrópodes e plantas é a herbivoria, mas artrópodes também selecionam plantas como abrigo (Nyffeler et al., 1994; Morison & Hay, 2011), sítio de oviposição (Lundgren et al., 2008; Seagraves & Lundgren, 2010), para encontrar de presas (Turlings et al., 1990; Meiners & Hilker, 2000) e parceiros sexuais (Reddy & Guerrero, 2004). Os artrópodes utilizam pistas de diferentes naturezas na busca e seleção de plantas hospedeiras (Thorsteinson, 1960), dentre as quais pistas externas às plantas, como luminosidade, temperatura e umidade ou provenientes da própria planta hospedeira, como características físicas, olfativas e gustativas (Coley & Barone, 1996; Dicke, 2000). Em alguns casos, a utilização de uma única pista ambiental, como por exemplo, arquitetura foliar é suficiente para encontrar e escolher a planta (Romero & Vasconcellos-Neto, 2005). Em outras situações, artrópodes podem fazer uso de uma combinação de pistas ambientais e provenientes da própria planta para selecionar sua hospedeira (Burger et al., 2010).

Os artrópodes são capazes de detectar químicos voláteis emitidos pelas plantas a longas distâncias e, por isso, exploram essas pistas logo nas primeiras etapas da seleção da hospedeira (Johnson, 2011; Colazza et al., 2014; Gong & Zhang, 2014). Os odores de animais co-específicos podem interagir com os voláteis da planta hospedeira e promover um efeito mais intenso na atração dos indivíduos, ou até de repelência, dependendo da densidade (Turlings et al., 1990; Meiners & Hilker, 2000). As agregações dos artrópodes nas plantas podem ser vantajosas para vencer a resistência da planta, no caso de insetos herbívoros, ou então para formar sítios de acasalamento (Jaffé et al., 1993). Embora insetos sejam largamente conhecidos por suas interações com plantas, aracnídeos na ordem Opiliones também podem apresentar relações estreitas com algumas plantas.

A ordem Opiliones é a terceira em número de espécies descritas entre os aracnídeos, com 6.565 espécies. (Kury, 2014). São animais onívoros que podem se alimentar de uma grande variedade de plantas e animais e também de fungos (Acosta & Machado, 2007). Opiliones podem se abrigar em locais úmidos como serapilheira, na

vegetação, sobre rochas, troncos de árvores ou frestas (Curtis & Machado, 2007). Esses animais utilizam quimiorrecepção em diversos contextos como para detecção de alimentos (Willemart & Chelini, 2007; Costa & Willemart, 2013), de co-específicos (Willemart & Hebets, 2012), de feromônio de alarme (Machado et al., 2002) e na busca por abrigo (Donaldson & Grether, 2007; Grether & Donaldson, 2007; Teng et al., 2012; Santos et al., 2013).

Recentemente, Pagoti & Willemart (2015) identificaram uma clara preferência do opilião *Jussara* sp. pela planta *Psychotria suterella* (Rubiaceae) como sítio para repouso: embora esta planta ocupasse 3% da área foliar do transecto que continha 18 morfo-espécies de plantas, aproximadamente um quarto dos opiliões estavam sobre indivíduos de *P. suterella* entre novembro e março, meses em que adultos são abundantes na mata. Durante esses meses, a formação de agrupamentos (definido por um grupo de no mínimo 4 indivíduos compartilhando a planta), era frequente principalmente sobre indivíduos de *P. suterella*. Aparentemente, não existe nenhuma vantagem sexual ou alimentar oferecida por *P. suterella* em relação às demais plantas do local, uma vez que esses opiliões se alimentam e copulam na serapilheira durante a noite (Pagoti & Willemart, 2015). Os locais onde indivíduos de *P. suterella* permaneciam no transecto não pareciam diferir em relação aos fatores abióticos, como luminosidade, temperatura e umidade, dos locais onde outras espécies estavam. Embora o padrão de preferência esteja claro, nada se sabe sobre como os opiliões detectam tais plantas em meio às demais.

Devido às várias evidências de uso de químicos do ambiente em Opiliones (ver Willemart et al., 2009), testamos aqui se o opilião *Jussara* sp. utiliza pistas químicas para encontrar e reconhecer *P. suterella*. Para isso, elaboramos duas hipóteses não excludentes. A primeira hipótese é de que os opiliões acessam químicos de co-específicos depositados na planta para encontrá-la. A segunda hipótese é de que os opiliões acessam químicos provenientes da própria *P. suterella* para encontrá-la. Além das questões proximais da interação, também procuramos analisar quais os benefícios dessa interação para o opilião. Opiliões podem ser bastante sensíveis à perda de água (Santos, 2003, 2007) e é comum utilizarem locais com alta retenção de umidade (Santos, 2007), como locais próximos a corpos d'água (Requena et al., 2012), folhas ou rochas próximas a riachos (Buzatto et al., 2011). Além disso, a maioria dos opiliões apresenta fototaxia negativa, buscando abrigo em locais protegidos de luz, como sob

rochas e frestas (Curtis & Machado, 2007; Santos, 2003; Willemart et al., 2009). Em contraste, opiliões *Jussara* sp. são tipicamente observados repousando sobre as folhas de *P. suterella* em bordas de trilhas abertas (Pagoti & Willemart 2015; GF Pagoti, observação pessoal), nas quais ocorrem predominantemente plantas arbustivas com altura máxima de 3 metros. Como não há formação de dossel, há alta incidência de luminosidade sobre as plantas mais baixas. Elaboramos, então, duas hipóteses relacionadas a possíveis diferenças microclimáticas geradas por *P. suterella* que estariam beneficiando o opilião *Jussara* sp.: a primeira hipótese é a de que as folhas de *P. suterella* oferecem maior umidade do que as de outras plantas, conferindo assim uma vantagem hídrica para os opiliões em repouso sobre as folhas. A segunda hipótese é a de que as folhas de *P. suterella* fornecem um microambiente mais sombreado do que o de outras plantas. Dessa maneira, apesar dos opiliões estarem expostos sobre as folhas, poderiam escolher ficar sob uma sombra de uma folha da própria *P. suterella*. Isso ocorreria devido à arquitetura de *P. suterella*, que possui muitos galhos e folhas dispostos uns sobre os outros. Dessa maneira, a escolha dessa espécie de planta seria vantajosa para o opilião devido às condições de temperatura mais amena, possivelmente implicando em menor perda d'água pelo opilião.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

Realizamos este trabalho no Parque Estadual Serra da Cantareira situado na zona norte de São Paulo, inserido em áreas dos municípios de São Paulo, Mairiporã, Guarulhos e Caieiras. Com uma área de aproximadamente 8.000 ha, possui fragmentos bem preservados da Mata Atlântica. O parque se divide em quatro núcleos principais; núcleos Cabuçu, Engordador, Águas Claras e Pedra Grande. O núcleo Engordador (23° 22' 44" S, 46° 31' 38" W) foi o local onde realizamos as coletas e parte dos experimentos do presente estudo e também onde se verificou a preferência de *Jussara* sp. por *P. suterella* (Pagoti & Willemart, 2015).

3.2 Pistas utilizadas para encontrar *P. suterella*

3.2.1 Caminho utilizado para atingir o solo e retornar às plantas

Observações preliminares do comportamento de seleção da planta pelo opilião revelaram que os animais desciam ao anoitecer e subiam ao amanhecer da serapilheira.

Os opiliões utilizavam o caule e/ou as folhas próximas à serapilheira e pareciam raspar alguma parte do corpo no substrato enquanto caminhavam. Tal comportamento sugeriria a marcação química de substrato, como previamente observado em outras espécies de opiliões (Willemart & Hebets, 2012; Fernandes & Willemart, 2014; Murayama & Willemart, 2015). Para confirmar esta observação, selecionamos, no campo, plantas de *P. suterella* com grupos de mais de 4 opiliões em repouso. Os indivíduos de *P. suterella* escolhidos estavam a uma distância de no mínimo 10 m entre si, para minimizarmos a chance de amostrarmos o mesmo indivíduo de opilião mais de uma vez. Realizamos as observações até conseguirmos um total de 10 machos e 10 fêmeas descendo e 7 fêmeas e 8 machos subindo. Para visualizar a descida dos opiliões das plantas, colocamos 3 lampiões de luz vermelha a aproximadamente 1 m do caule de cada planta antes de anoitecer. Filmamos em modo *nightshot* (Sony Handycam HDXR550V, Tóquio, Japão) os indivíduos que estavam sobre uma folha a, no mínimo, 20 cm do solo. Iniciamos a filmagem a partir do momento em que o opilião iniciou um movimento em direção à serapilheira até 1 min após tocarem a serapilheira. Para observação do momento em que os animais subiam nas plantas para repousarem, reposicionamos, 1 hora antes do amanhecer, os lampiões ao redor de alguns indivíduos de plantas de *P. suterella*. Ao encontrarmos um opilião a menos de 10 cm da planta, filmamos o mesmo até 1 min após subir na planta ou entrar em postura de repouso (parado e com o ventre encostado na folha).

3.3.2 Químicos de co-específicos

Neste experimento testamos a hipótese de que químicos de co-específicos são utilizados pelos opiliões no comportamento de seleção de *P. suterella* como sítio de repouso. Em experimento feito em campo, comparamos o número de indivíduos que subiram, após o forrageio, em plantas com ou sem químicos de opiliões co-específicos. Prevemos que mais opiliões repousariam em indivíduos de *P. suterella* com químicos de opiliões co-específicos do que em plantas sem esses químicos.

Selecionamos 10 indivíduos de *P. suterella* para o grupo tratamento e outros 10 para grupo controle, todas as plantas com ao menos 4 opiliões em repouso. Para a preparação do grupo tratamento, cortamos todos os ramos laterais das plantas iniciando da região da inserção do caule no solo até uma altura de 20 cm. Dessa forma, os animais teriam que passar pelo caule central para descerem até o solo, facilitando nosso controle

e possibilitando o experimento. Em seguida, o caule principal da planta foi envolto por uma camada de papel filme e outra, mais externa, de papel filtro (essa combinação evita que o caule da planta umidifique o papel filtro) na região de onde retiramos os ramos até 0,5 cm do solo. Não deixamos que o papel tocasse a serapilheira para que não absorvesse água. Esse procedimento foi realizado com os animais em repouso sobre a planta, durante a tarde (entre 15:00 e 17:00 h). Repetimos os procedimentos nas plantas do grupo controle com algumas alterações: esperamos anoitecer (após 18:00 h) para que todos os animais saíssem do repouso e descessem das plantas, para depois envolver o caule com papel filme e papel filtro. Somente colocamos papel filtro após nos certificarmos de que não havia indivíduos de *Jussara* sp. sobre as plantas. Assim, tivemos a mesma manipulação, mas com um papel filtro livre de marcações nas plantas do grupo controle. Na manhã do dia seguinte anotamos a quantidade de opiliões *Jussara* sp. em repouso em cada uma das plantas de ambos os tratamentos. Não havia diferença na quantidade inicial de indivíduos nas plantas do grupo experimental (mediana = 6; min: 4; max: 12) e do controle (mediana = 6; min: 4; max: 11) ($t = 0,4894$; $df = 9$; $P = 0,6362$). Os resultados foram analisados pelo teste *t*-student, comparando a quantidade de animais em repouso em cada uma das plantas após a manipulação.

Realizamos estes experimentos em janeiro e fevereiro de 2014, por 2 dias consecutivos em cada mês. O experimento ocorreu entre 15:00 h do primeiro dia e terminou as 7:00 h do dia seguinte. Registramos a temperatura e umidade relativa do ar as 19:00 h no dia da preparação dos experimentos e as 6:00 h no dia seguinte. Em janeiro, a temperatura média foi de 24,5°C (min: 17°C; max: 32°C; desv pad = 4,27; n = 4) e de umidade relativa 84,4% (min:82%; max: 88%; desv pad = 2,19; n = 4). Em fevereiro, a temperatura média foi de 25°C (min: 21°C; max: 30°C; desv pad = 3,24; n = 4) e de umidade relativa 85,3% (min:82%; max: 88%; desv pad = 2,02; n = 4).

3.3.3 Olfacção utilizando extratos de químicos de plantas e análises químicas

Neste experimento testamos a hipótese de que químicos voláteis isolados das plantas são utilizados pelos opiliões para selecionar *P. suterella* como sítio de repouso. Após extrairmos voláteis de plantas em diclorometano, aplicamos esses extratos em papel filtro que era em seguida enrolado em um bastão de madeira. Testamos os opiliões em uma arena triangular com três bastões de madeira contendo extratos de

plantas ou controle. Prevemos que os opiliões passariam mais tempo em contato e/ou próximo ao tratamento contendo o extrato de *P. suterella*.

Utilizamos três extratos como estímulos: *P. suterella*; *Impatiens walleriana* (Balsaminaceae); diclorometano (controle branco). Selecionamos *I. walleriana* como uma planta controle, já que foi comumente encontrada no transecto onde trabalhamos, além de também ser utilizada por *Jussara* sp. Os extratos foram oferecidos simultaneamente na arena triangular. Utilizamos 15 machos e 15 fêmeas, testados uma única vez. Para o experimento, utilizamos uma arena em formato de triângulo equilátero com 55 cm de lado. Em cada extremidade do triângulo foi colocado um bastão de madeira com papel filtro enrolado e uma tela na extremidade oposta ao substrato, que serviu de plataforma caso os animais subissem no bastão. Demarcamos, no substrato, um círculo de 8 cm de diâmetro ao redor de cada bastão, para termos informação da proximidade dos animais em relação aos bastões. Aplicamos 50 µl de cada um dos extratos no papel filtro de cada bastão em um dos testes. Utilizamos o extrato de uma mesma planta em 3 repetições. Em cada teste, colocamos um opilião no centro da arena coberto com um pote durante 2 minutos para aclimação, depois disso ele era liberado e o teste iniciava. Ao final de cada teste, os estímulos eram trocados de lugar e a arena rotacionada 90° para evitar qualquer influência do ambiente na escolha dos opiliões pelos tratamentos. Filmamos cada teste durante 10 minutos em modo nigh-shot com auxílio de uma filmadora Sony Handycam HXR550V. Analisamos o tempo que os opiliões passaram em contato e o tempo que passaram próximos (< 8 cm) a cada um dos 3 bastões teste. Esses dados foram analisados por uma ANOVA-Friedman, seguida pelo teste post-hoc de Tukey.

Para a extração dos químicos, utilizamos 10 plantas de *P. suterella* e 10 de *I. walleriana*, com altura entre 20-30 cm retiradas do próprio habitat dos opiliões, replantadas em vasos com terra do local e mantidas durante 5 dias em laboratório antes da realização da extração sob temperatura e umidade do ambiente. Realizamos a extração por 2 consecutivos dias no mês de março de 2014, utilizando um dia para a extração de cada espécie de planta. A extração ocorreu entre 8:00-18:00h sob temperatura de 25° C e umidade constante de 90%. Acondicionamos as plantas em câmaras de vidros (10 cm de diâmetro, 5 cm de altura) fechadas e acopladas ao sistema de coleta de voláteis ARS. Regulamos o fluxo de entrada para 1,1L/min, assim como o de saída, que foi estabelecido com uma bomba de vácuo conectada aos filtros de

polímero adsorvente Haysep® (30 mg, Supelco, PA, USA) conectados às câmaras com as plantas. Coletamos os voláteis dessas plantas durante 7h da fotofase (10:00 - 17:00). Posteriormente à coleta, eluímos os filtros com 150 µl de solvente diclorometano e armazenamos os extratos em frascos de vidro vedados mantidos em um freezer a -30°C, até a análise. Realizamos as análises em um equipamento CG-MS Varian, modelo 3800, usando Hélio como gás de arraste. Injetamos uma alíquota de 2 µl de cada amostra em uma coluna capilar apolar HP5-MS (JeW Scientific, Folsom, CA; 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). Após a injeção, mantivemos a temperatura da coluna a 35°C por 1 min, elevada a uma taxa de 4°C/min até atingir 140°C e depois a 20°C/min até 220°C. Estimamos a quantificação relativa de cada composto com base na área do pico de acetato de nonila como padrão externo na concentração de 10 ng/µl. Identificamos os compostos comparando-se os espectros de massa com os da biblioteca NIST08 e dos padrões sintéticos quando disponíveis.

Realizamos os experimentos em laboratório por 8 dias consecutivos no mês de março de 2014. Utilizamos os químicos extraídos no mesmo mês e mantidos refrigerados a - 30°C até o momento de sua utilização. A média da temperatura e umidade relativa do ar durante os dias de experimento foi de, respectivamente: 23,2°C (min: 22°C; max: 26°C; desv pad= 1,63) e 86,3% (min: 82%; max: 88%; desv pad = 2,81).

3.3.4 Olfacção utilizando as próprias plantas

Neste experimento testamos a mesma hipótese do item 3.3.3, mas com um método alternativo em que utilizamos as plantas em si e não extratos de seus voláteis. Para isso, avaliamos a resposta dos opiliões em um olfatômetro em “Y” (dimensões: 30 cm de eixo principal e 15 cm em cada um dos braços do Y. A largura e altura de todo o olfatômetro é de 10 cm), com dois estímulos oferecidos simultaneamente. Prevemos que os opiliões escolheriam mais vezes o lado do Y contendo estímulos de *P. suterella*.

Foram utilizadas as próprias plantas como fonte de odor, que foram retiradas do mesmo local de estudo, replantadas em vasos e mantidas em laboratório, sob temperatura e umidade do ambiente, por uma semana antes dos testes. Todas as plantas utilizadas tinham uma altura entre – min: 20 cm e max: 30 cm; área foliar similar com largura – min: 3 cm e max: 7 cm; e comprimento – min: 10 cm e max: 15 cm As combinações de estímulos oferecidos foram: *P. suterella* x *I. walleriana*; *P. suterella* x

branco (planta de papel); *I. walleriana* x branco. A planta de papel teve o objetivo de simular o formato e tamanho das plantas de *P. suterella* e *I. walleriana*, de modo a causar uma resistência no fluxo de ar semelhante. Para cada combinação de estímulos utilizamos um total de 20 machos e 20 fêmeas, que foram testados individualmente e uma única vez. Na base do Y e também em ambos os braços, existia um espaço de 5 cm, delimitado por uma porta feita com um tecido de elastano (30 fios) de cor preta, que permitia a passagem de fluxo de ar, mas não de luz. Utilizamos essa porta para minimizar a influência de possíveis estímulos visuais. Na extremidade de cada braço do Y também havia uma porta que impedia que o opilião entrasse em contato com as plantas. Acoplado à base colocamos uma ventoinha a uma distância de 1 cm da porta da base fixada com um suporte. Todo esse equipamento foi montado sobre uma bancada de granito para minimizar possíveis transferências de vibração para o Y (ver Elias et al., 2004; Hebets, 2005). A ventoinha puxava o ar em sua direção, gerando um fluxo de ar contínuo. Colocamos cada estímulo ao final de um dos braços do Y, os lados foram alternados em cada um dos testes e o Y era rotacionado 90° a cada teste para verificar qualquer interferência ambiental sobre a escolha dos opiliões, ou tendências de lado. Forramos as superfícies internas do Y com papel filtro, trocados após cada teste. Anteriormente ao início do teste, colocamos um opilião em aclimatização no espaço da base do Y, durante 2 min com a ventoinha ligada. Em seguida, retiramos vagarosamente a porta da base, permitindo o acesso do opilião a toda a extensão do Y. Com auxílio de uma filmadora Sony Handycam HDXR550V em modo night-shot, filmamos a movimentação do opilião até ele tocar uma das portas de um dos braços do Y. Caso após 10 min, ele não tocasse uma das portas, parávamos a gravação e considerávamos como “escolha” o braço em que o animal entrou com todo o corpo primeiro. Para a análise estatística utilizamos o teste de qui-quadrado que comparou as proporções de escolhas dos opiliões por cada um dos lados do Y com o resultado esperado de 50% para cada lado. Realizamos essa análise separadamente para cada sexo, e também com a soma das escolhas de machos e fêmeas para cada uma das 3 combinações.

Realizamos esses experimentos em laboratório por 7 dias no mês de fevereiro de 2014 e por 5 dias em março de 2015. Todos os experimentos foram realizados entre 4:00 – 7:00 h, horário que os animais voltam do forrageio na serapilheira e sobem na vegetação (Pagoti & Willemart, 2015). Registramos a temperatura e umidade relativa do ar no início e no final de cada filmagem. Em 2014, registramos uma média de

temperatura de 26°C (min: 23°C; max: 29°C; desv pad = 1,93; n = 14) e de umidade relativa 85,4% (min: 82; max: 91; desv pad = 3,59; n = 14). Em 2015, registramos uma média de temperatura de 23°C (min: 22°C; max: 26°C; desv pad = 1,60; n = 10) e de umidade relativa 86,3% (min: 82%; max: 88%; desv pad = 2,21; n = 10).

3.4 Possíveis benefícios associados a *P. suterella*

Como opiliões são muito dependentes de umidade mas *Jussara* sp. passa o dia em local aberto sobre folhas e por vezes sob incidência direta de luz solar (Pagoti & Willemart 2015; Pagoti GF, observação pessoal), testamos se a preferência por *P. suterella* se deve, ao menos em parte, a um melhor balanço hídrico. Para isso nós realizamos, em campo, medidas de transpiração foliar e incidência de luz através de folhas no Parque Estadual Serra da Cantareira, entre os meses de janeiro a abril do ano 2015.

3.4.1 Transpiração foliar

Nessa etapa testamos a hipótese de que as folhas de *P. suterella* oferecem maior umidade do que as de outras plantas do habitat do opilião *Jussara* sp. Prevemos que as folhas de *P. suterella* apresentariam um fluxo de transpiração foliar maior do que das demais espécies de plantas.

As plantas escolhidas estavam na borda de uma trilha aberta, no mesmo local onde foi detectado a preferência de *Jussara* sp. por *P. suterella* (Pagoti & Willemart, 2015). As espécies amostradas frequentemente utilizadas para repouso por opiliões são: *P. suterella*, *I. walleriana*, *Leandra amplexicaulis* (Melastomataceae) e *Urera nitida* (Urticaceae). Para cada espécie de planta, amostramos 3 folhas/indivíduo de 3 indivíduos diferentes. Escolhemos indivíduos com altura variando de 1 m a 1,5 m. Optamos por amostrar as folhas expandidas mais próximas ao ápice da planta. A primeira folha coletada foi sempre a folha adulta mais alta da planta. Em seguida, amostrávamos as duas folhas mais distante da primeira no mesmo ramo. Para medir a transpiração utilizamos um equipamento medidor de fotossíntese, modelo LI-6400 da LI-COR, Inc. (NE, USA). Este aparelho, entre outras análises, também mede o fluxo de transpiração foliar através de analisadores de gases por infravermelho (IRGA) em sistema aberto. A análise consiste em manter uma única folha, presa a um sensor de fluxo de gases, por aproximadamente 2 min. Esse sensor está conectado a um

computador portátil que verifica o fluxo de saída de água da folha sobre incidência de luz saturada. Na tentativa de minimizarmos possíveis alterações da hora e do clima, as espécies foram amostradas de modo alternado, deixando dessa forma, o horário da amostragem bem distribuído entre as espécies. Primeiramente, obtivemos uma média das 3 folhas para cada um dos indivíduos de cada espécie, obtendo assim a média de cada indivíduo. Este valor correspondeu a uma linha em nossos testes estatísticos. Os dados de transpiração de cada espécie foram analisados por uma ANOVA 1 fator seguida de um teste de Dunnet utilizando *P. suterella* como referência. Realizamos amostras no dia 17 de março de 2015, entre 10:00 – 12:00 h, sob temperatura de 24°C e de umidade relativa do ar de 83% .

3.4.2 Passagem de luz através das folhas

Aqui visamos testar a hipótese de que as folhas de *P. suterella* fornecem um microambiente mais sombreado do que o de outras plantas do habitat do opilião *Jussara* sp. Prevemos que folhas de *P. suterella* permitiriam um fluxo de passagem de luz menor do que o de outras plantas.

Utilizamos as mesmas 4 espécies de plantas das análises de transpiração: *P. suterella*, *I. walleriana*, *L. amplexicaulis* e *U. nitida*. Para a amostragem das folhas utilizamos o mesmo método descrito na seção anterior (3.4.1 Transpiração Foliar). Cortamos essas folhas com uma tesoura de poda e colocamos em um saco com vedação hermética para evitar perda d'água. Em seguida, levamos as folhas para uma bancada em local aberto, onde realizamos as medidas. Para analisar a passagem de luz através dessas folhas, utilizamos um luxímetro portátil (Intrutemp – Lux2212IJJ SP, BR) e a luminosidade do próprio ambiente. Apoiamos as folhas individualmente sobre um cano de pvc preto de 5 cm de comprimento e 0,5cm de diâmetro que por sua vez foi colocado sobre o sensor de luz do luxímetro. Em seguida um segundo cano de iguais características, mas com apenas 1 cm de comprimento foi colocado sobre a folha, alinhado com o cano de baixo da folha. Os canos evitavam entrada lateral da luz. As folhas sempre foram colocadas com a face abaxial na direção do sensor, e deixadas sobre ele até o aparelho estabilizar a medida (aproximadamente 10 segundos). Após cada três folhas amostradas, fazíamos o registro de luminosidade do ambiente como controle. Para evitar diferença dos resultados devido à mudança de luminosidade do ambiente, realizamos as amostras de modo intercalado entre as espécies, sendo que

amostramos uma folha de cada espécie por vez. Assim, possíveis alterações de luminosidades tinham efeito diluído sobre todas as amostras. Para análise dos dados, primeiro tiramos uma média das 3 folhas para cada um dos indivíduos de cada espécie, obtendo assim a média de cada indivíduo. Este valor correspondeu a uma linha em nossos testes estatísticos. Utilizamos o teste de Kruskal-Wallis, para verificar a diferença entre a passagem de luz através da folha em cada espécie. Comparamos os dados posteriormente utilizando o teste post-hoc de Dunn. Realizamos as amostras no dia 17 do mês de Abril de 2015, entre 15:00 – 16:00 h, sob temperatura de 19°C e umidade relativa do ar de 82% .

4. RESULTADOS

4.1 Pistas utilizadas para encontrar *P. suterella*

4.1.1 Caminho utilizado para atingir o solo e retornar às plantas

Registramos um total de 837 minutos de filmagens de opiliões subindo e descendo de *P. suterella*. Os comportamentos observados foram categorizados e descritos em um etograma (Tabela 1). Descrevemos abaixo, separadamente, os comportamentos observados para descida e subida dos opiliões em *P. suterella*.

Durante o trajeto dos opiliões saindo do repouso em *P. suterella* em direção ao substrato foram observados os seguintes comportamentos: ‘Scraping’ (N = 3 ♂ e N = 2 ♀), ‘Rubbing behavior’ (N = 2 ♀), ‘Bobbing’ (N = 7 ♂ e N = 4 ♀), ‘Leg-threading’ (N = 2 ♂ e N = 2 ♀), ‘Pedipalp tapping’ (N = 3 ♂ e N = 4 ♀), ‘Tateamento intenso de perna I e II’ (N = 3 ♂ e N = 1 ♀), ‘Interação com co-específicos’ (N = 2 ♂) e ‘Liberação de secreção oral’ (N = 2 ♂).

Durante o trajeto dos opiliões retornando do forrageio no substrato até subirem em *P. suterella* para repousarem foram observados os seguintes comportamentos: ‘Scraping’ (N = 1 ♂ e N = 1 ♀), ‘Rubbing behavior’ (N = 1 ♀), ‘Bobbing’ (N = 2 ♂), ‘Leg-threading’ (N = 4 ♂ e N = 2 ♀), ‘Pedipalp tapping’ (N = 4 ♂ e N = 2 ♀), ‘Tateamento intenso de perna I e II’ (N = 3 ♂ e N = 3 ♀) e ‘Interação com co-específicos’ (N = 4 ♂ e N = 3 ♀).

4.1.2 Químicos de co-específicos

O número médio de opiliões encontrados em repouso nas plantas de cada um dos grupos foi de 1,5 (mediana, min: 0; max: 6) no grupo tratamento, e 0 no controle (mediana = 0; min: 0; max: 2). Não encontramos diferenças entre os grupos ($U = 28,50$; $N_{\text{tratamento, controle}} = 10$; $P = 0,1041$).

4.1.3 Olfacção utilizando extratos de químicos de plantas e análises químicas

Como não houve diferença significativa entre os sexos no tempo em que os animais passaram em contato ou próximos aos estímulos ($P > 0,05$), realizamos as análises combinando os resultados para machos e fêmeas. Indivíduos de *Jussara* sp. permaneceram 20 s próximos a *P. suterella* (mediana; min: 0s; max: 308s); 33 s a *I. walleriana* (mediana; min: 0s; max: 287s); e 23 s ao controle branco (mediana; min: 0s; max: 170s). Portanto não temos evidência de que *Jussara* sp. é capaz de discriminar os químicos voláteis da sua planta hospedeira ($Fr = 0,4667$; $df = 2$; $P = 0,4667$). Quando considerado somente o tempo que os opiliões passaram em contato com os estímulos, também não verificamos preferência de indivíduos de *Jussara* sp. aos odores da planta preferida. Os opiliões passaram 2,5 s em contato com o estímulo de *P. suterella* (mediana; min: 0s; max: 35s); 2 s com o estímulo de *I. walleriana* (mediana; min: 0s; max: 25s); e 3 s com o estímulo branco (mediana; min: 0s; max: 20s) ($Fr = 1,2167$; $df = 2$; $P = 0,5443$).

A análise química dos extratos usados nos bioensaios mostrou que *P. suterella* emite uma mistura de voláteis composta pelo majoritário cis-ocimeno e, em menores quantidades, α -copaeno, um monoterpene não identificado e metóxi-fenil de oxima (Tabela 2).

4.1.4 Olfacção utilizando as próprias plantas

Como em nenhuma das combinações tivemos diferença significativa entre os sexos na escolha pelos tratamentos ($P > 0,05$), realizamos as análises em cada uma das combinações agrupando os resultados de ambos os sexos. Houve uma tendência de preferência de *Jussara* sp. pelos odores de *P. suterella* frente a *I. walleriana* ($x^2 = 3,60$; $df = 1$; $P = 0,0578$). Porém, não obtivemos evidência de que *Jussara* sp. foi atraída pelos odores de *P. suterella* isolados, já que não discriminou os odores de sua planta hospedeira do ar limpo (controle branco) ($x^2 = 2,50$; $df = 1$; $P = 0,1138$). De maneira

semelhante, *Jussara* sp. não apresentou preferência aos odores de *I. walleriana* quando contrastados com o ar limpo (controle branco) ($x^2 = 2,50$; $df = 1$; $P = 0,1138$).

4.2 Possíveis benefícios associados a *P. suterella*

4.2.1 Transpiração foliar

Os valores médios de fluxo de transpiração foliar gerados para cada uma das espécies amostradas foram: *P. suterella*: 3,72 mmolH₂O/m² s (média; min: 2,96; max: 5,05; desv pad = 0,785); *I. walleriana* 5,67 mmolH₂O/m² s (média; min: 3,86; max: 6,90; desv pad = 1,180); *U. nitida*: 4,97 mmolH₂O/m² s (média; min:4,67; max: 5,56; desv pad = 0,333); e *L. amplexicaulis*: 2,81 mmolH₂O/m² s (média; min: 1,72; max: 3,60; desv pad = 0,907) ($H = 7,9231$; $Df = 3$; $P = 0,0476$). Embora tenha havido diferença significativa no fluxo de transpiração foliar entre as plantas amostradas (ANOVA 1 fator, $F = 5,52$; $P = 0,024$), *P. suterella* não apresenta diferença no fluxo de transpiração em relação às outras plantas amostradas (teste de Dunnet $P > 0,05$).

4.2.2 Passagem de luz através das folhas

Os valores médios de passagem de luz através das folhas para cada uma das espécies amostradas foi de: *P. suterella* 27 lux (média; min: 15 lux; max: 36 lux; desv pad = 7,258); *I. walleriana* 57 lux (média; min: 39,6 lux; max: 72 lux; desv pad = 9,375); *U. nitida* 50,9 lux (média; min:31 lux; max: 62 lux; desv pad = 11,08); *L. amplexicaulis* 62,3 lux (média; min: 51,6 lux; max: 85,6; desv pad = 10,27) ($H = 34,83$; $df = 3$; $P < 0,0001$). Verificamos que a passagem de luz através das folhas de *P. suterella* foi menor em relação às outras 3 espécies, *I. waleriana*, *U. nitida* e *L. amplexicaulis* (teste de Dunn, $P < 0,05$) (Fig. 1)

5. DISCUSSÃO

Os opiliões *Jussara* sp. realizam movimentos de raspagem do corpo e das pernas ao subirem e ao descerem de *P. suterella*. Também realizam movimentos de tateamento com as pernas I e II e pedipalpos quando estão em folhas ou no caule de *P. suterella*. Não obtivemos evidências claras de que *Jussara* sp. explora químicos de co-específicos na seleção da planta para repouso ou que utilize, ao menos de maneira isolada, pistas químicas voláteis de *P. suterella*. Benefícios hídricos obtidos a partir da transpiração foliar de *P. suterella* também não parecem determinar a interação com *Jussara* sp.

Porém, os nossos resultados da passagem de luz solar pelas folhas sugerem que *Jussara* sp. pode se beneficiar de *P. suterella* pela maior proteção contra a luz solar em relação a outras espécies de plantas do local.

Movimentos de raspagem de alguma parte do corpo contra o substrato sugerem marcação química como observado em diversos taxa de invertebrados (insetos: Jarau et al., 2004; Roux et al., 2010) e vertebrados (anfíbios: Teodecki et al., 1998; mamíferos: Kruuk et al., 1984; Mertl-Millhollen, 2007). Em opiliões, tanto o comportamento de raspagem de pernas como do restante do corpo tem sido observado em vários grupos (Willemart & Hebets, 2012; Fernandes & Willemart, 2014; Murayama & Willemart, 2015). O movimento de raspagem do ventre observados por nós em *Jussara* sp. sugere uma marcação química de substrato. Já o comportamento de tatear com o pedipalpo e a perna I quando em contato com *P. suterella*, sugerem uma tentativa de obter informações sobre a planta, dentre as quais eventuais pistas químicas, uma vez que esses apêndices possuem diversas estruturas quimiorreceptoras (Willemart et al., 2009; Wijnhoven, 2013).

Em trabalho com opiliões da mesma subordem (Eupnoi), Donaldson & Grether (2007) e Teng et al. (2012) observaram não apenas o comportamento de raspagem de corpo contra o substrato, mas também de retorno preferencial às plantas anteriormente utilizadas como abrigo. Em ambos os trabalhos, os autores evidenciaram que o retorno para o abrigo é mediado por pistas químicas de co-específicos. Em nosso estudo, não obtivemos evidência claras de que *Jussara* sp. selecione preferencialmente plantas de *P. suterella* marcadas por co-específicos. Porém, não descartamos essa hipótese visto que a diferença entre os tratamentos foi marginalmente significativa ($P = 0,104$). É possível que o isolamento das pistas químicas e físicas do caule das plantas pela cobertura do papel de filtro no experimento tenha dificultado o reconhecimento pelo opilião da planta colonizada pelos co-específicos. A integração das informações obtidas pelas pistas das plantas (sejam estas químicas ou físicas) e dos co-específicos pode ser necessária para a resposta positiva de *Jussara* sp. na seleção de *P. suterella*.

Quando utilizamos as próprias plantas como fonte de voláteis, obtivemos um resultado marginalmente significativo ($P = 0,0578$ para *P. suterella* x *I. walleriana*) e não houve significância para as combinações de *P. suterella* x branco nem para *I. walleriana* x branco. Assim, é possível que os opiliões *Jussara* sp. reconheçam os

odores de *P. suterella* somente quando contrastados com odores de outras plantas. No experimento de olfação com os extratos de voláteis aplicados em bastão de madeira, não detectamos diferença significativa no tempo de interesse dos opiliões pelos diferentes bastões e os opiliões não subiram nos bastões. Terpenos, identificados em nossas análises, são compostos bastante utilizados por insetos para identificar e selecionar suas plantas hospedeiras (Nehlin, 1996; Paré & Tumilson, 1999). Entretanto, a integração de informações provindas de pistas químicas, visuais e de textura da planta hospedeira pode ser importante (Thompson & Pellmyr, 1991; Nava et al., 2005). Dessa forma, talvez os opiliões precisem fazer uso de múltiplas pistas, e/ou pistas de diferentes naturezas (ex. químicas ou físicas) para escolher *P. suterella*. Nada sabemos sobre detecção de formas e texturas em opiliões, mas outros aracnídeos como amblipígeos distinguem texturas diferentes (Santer & Hebets, 2009).

Opiliões possuem uma grande sensibilidade à perda d'água e é comum se abrigarem em locais com baixa incidência de luz e de alta umidade (Santos, 2003; Santos, 2007; Requena et al., 2012; Buzatto et al., 2011). Alternativamente, repousam em folhas perto de rios (Buzatto et al., 2011; Requena et al., 2012). No entanto, em *Jussara* sp. não se observa nenhum desses hábitos, já que os animais repousam sobre folhas, longe de rios e em local sem dossel contínuo. O fato dos opiliões estarem expostos sobre as folhas pode gerar uma perda excessiva de água devido ao calor e falta de umidade. Nossa análise na taxa de transpiração foliar evidenciou diferenças entre as espécies amostradas, mas *P. suterella* não foi a espécie que apresentou a maior taxa de transpiração foliar. A taxa de transpiração diferencial entre espécies, portanto, não parece explicar a preferência de *Jussara* sp. por *P. suterella* de acordo com os nossos resultados. Entretanto, nossas análises de passagem de luz através das folhas corroboraram nossa hipótese. As folhas de *P. suterella* apresentaram um bloqueio maior à passagem de luz solar em relação às outras plantas amostradas (Fig. 1). Dessa forma, os opiliões *Jussara* sp. talvez se beneficiem desta característica das folhas de *P. suterella*. Como a trilha onde encontramos os opiliões é um local relativamente aberto, em diversos momentos a luz pode atingir diretamente os opiliões sobre as folhas (Fig. 2; Pagoti GF, observações pessoais). A arquitetura dos ramos de *P. suterella* permite a formação de locais com diferentes luminosidades na área ocupada por um único indivíduo de planta (Fig. 3). Os opiliões podem dessa maneira se mover sobre a mesma planta nos diferentes ramos pra fugir da luz direta, sem ter que descer para o solo. Além

disso, as folhas em *P. suterella* bloqueiam uma maior quantidade de luz do que as folhas de outras plantas do local, possivelmente fornecendo um microclima menos quente se comparado a um local sombreado em outra planta. Aranhas que se abrigam em folhas de plantas, por exemplo, podem torcer algumas dessas folhas para construir um abrigo protegido de luz (Fahey & Elgar, 1997). Pressupondo que locais menos sombreados são mais secos, *Jussara* sp. poderia então estar minimizando a perda d'água ao escolher *P. suterella*.

Nosso estudo sugere que os opiliões *Jussara* sp. realizam marcação de substrato mas não obtivemos evidências claras de que pistas de co-específicos são importantes na escolha por *P. suterella* como sítio de repouso. Pistas olfativas provenientes da própria planta não parecem ser utilizadas ao menos de forma isolada na seleção de *P. suterella* por *Jussara* sp. Entre os benefícios associados à preferência por *P. suterella*, o maior bloqueio à passagem de luz oferecido pelas folhas de *P. suterella* em relação às outras plantas do local deve gerar um microclima adequado para *Jussara* sp. Revelamos, portanto, um possível sistema com potencial para se testar preferência por plantas em artrópodes que não se alimentam dela ou colocam seus ovos nela.

6. AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos os membros do LESCA (Laboratório de Ecologia Sensorial e Comportamento de Artrópodes) por revisarem cuidadosamente o manuscrito: Gabriel Murayama, Guilherme Gainett, Jessica Dias, Julio Segovia, Nathalia Fernandes, Norton Felipe dos Santos Silva, Thaiany Costa. Silvana Godoy e Ana Tourinho gentilmente identificaram plantas e opiliões, respectivamente. Norton F S Santos pela grande ajuda no trabalho de campo. Também gostaríamos de agradecer todo o estafe do Núcleo Engordador do Parque Estadual Serra da Cantareira, em especial ao Gustavo Barros por todo o suporte logístico. Ao professor Nicolas Chaline que nos apresentou referências fundamentais sobre o tema.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta LE & Machado G (2007) Diet and foraging. Harvestmen: The Biology of Opiliones. (ed. By R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet). Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, pp. 309-338.

- Burger H, Ayasse M, Häberlein CM, Schulz S & Dötterl S (2010) *Echium* and *Pontechium* specific floral cues for host-plant recognition by the oligolectic bee *Hoplitis adunca*. South African Journal of Botany 76: 788-795.
- Buzatto BA, Requena GS, Rafael S, Lourenço RS, Munguía-Steyer R & Machado G (2011) Conditional male dimorphism and alternative reproductive tactics in a Neotropical arachnid (Opiliones). Evolutionary Ecology. 25:331-349.
- Colazza S, Cusumano A, Lo Giudice D & Peri E (2014) Chemo-orientation responses in hymenopteran parasitoids induced by substrate-borne semiochemicals. BioControl 59:1-17.
- Coley PD & Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. Annual Review of Ecology and Systematics. 27: 305-35.
- Costa TM & Willemart RH (2013) First experimental evidence that a harvestman (Arachnida, Opiliones) detects odors of nonrotten dead prey by olfaction. Zoologia 30: 359-361.
- Curtis DJ & Machado G (2007) Ecology. Harvestmen: The Biology of Opiliones. (ed. By R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet). Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, pp. 290-308.
- Dicke M (2000) Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective. Biochemical Systematics and Ecology 28: 601-617.
- Donaldson ZR & Grether GF (2007) Tradition without social learning: scent-mark based communal roost formation in a Neotropical harvestman (*Prionostema* sp.). Behavioral Ecology and Sociobiology 61:801-809.
- Elias DO, Mason AC & Hoy RR (2004) The effect of substrate on the efficacy of seismic courtship signal transmission in the jumping spider *Habronattus dossenus* (Araneae: Salticidae). The Journal of Experimental Biology 207: 4105-4110.
- Fahey BF & Elgar MA (1997) Sexual cohabitation as mate-guarding in the leaf-curling spider *Phonognatha graeffei* Keyserling (Araneoidea, Araneae). Behavioral Ecology and Sociobiology 40: 127-133.

- Fernandes NS & Willemart RH (2014) Neotropical harvestmen (Arachnida, Opiliones) use sexually dimorphic glands to spread chemicals in the environment. *Comptes Rendus Biologies* 337: 269-275.
- Gong B & Zhang GG (2014) Interactions between plants and herbivores: A review of plant defense. *Acta Ecologica Sinica* 34: 325-336.
- Grether GF & Donaldson ZR (2007) Communal roost site selection in a Neotropical harvestman: habitat limitation vs. tradition. *Ethology* 113: 290-300.
- Hebets EA (2005) Attention-altering interactions among signals in multimodal wolf spider courtship displays. *Behavioral Ecology* 16: 75-82.
- Jaffé K, Sánchez P, Cerda H, Hernández JV, Jaffé R, Urdaneta N, Guerra G, Martínez R & Miras B (1993) Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae): attraction to host plants and to a maleproduced aggregation pheromone. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1703-1720.
- Jarau S, Hrcir M, Zucchi R & Barth FG (2004) A stingless bee uses labial gland secretions for scent trail communication (*Trigona recursa* Smith 1863). *Journal of Comparative Physiology* 190: 233-239.
- Johnson MTJ (2011) Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. *Functional Ecology* 25: 305-311.
- Kruuk H, Gorman M & Leitch A (1984) Scent-marking with the subcaudal gland by the European badger, *Meles meles* L. *Animal Behaviour* 32: 899-907.
- Kury AB (2014) Classification of Opiliones. Museu Nacional/UFRJ website. Online at: <http://www.museunacional.ufrj.br/mndi/Aracnologia/opiliones.html>
- Labandeira CC (2006) The four phases of plant-arthropod associations in deep time. *Geologica Acta* 4: 409-438.
- Lundgren JG, Fergen JK & Riedell WE (2008) The influence of plant anatomy on oviposition and reproductive success of the omnivorous bug *Orius insidiosus*. *Animal Behaviour* 75: 1495 -1502.

- Machado G, Bonato V & Oliveira P (2002) Alarm communication: a new function for the scent gland secretion in harvestmen (Arachnida: Opiliones). *Naturwissenschaften*. 89: 357-360.
- Meiners T & Hilker M (2000) Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *Journal of Chemical Ecology* 26: 221-232.
- Mertl-Millhollen AS (2007) Lateral bias to the leading limb in an olfactory social signal by male ring-tailed lemurs. *American Journal of Primatology* 69: 635-640.
- Morrison WE & Hay ME (2011) Herbivore preference for native vs. exotic plants: generalist herbivores from multiple continents prefer exotic plants that are evolutionarily naïve. *PLoS ONE* 6: e17227.
- Murayama GP & Willemart RH (2015) Mode of use of sexually dimorphic glands in a Neotropical harvestman (Arachnida: Opiliones) with paternal care. *Journal of Natural History* 49: 1937-1947.
- Nava DE, Parra JRP, Diez-Rodriguez GI & Bento JMS (2005) Oviposition behavior of *Stenoma catenifer* (Lepidoptera: Elachistidae): chemical and physical stimuli and diel pattern of egg laying. *Annals of the Entomological Society of America*, 98:409-414.
- Nehlin G, Valterovfi I & Borg-Karlson A (1996) Monoterpenes released from Apiaceae and the egg-laying preferences of the carrot psyllid, *Trioza apicalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 83-86.
- Nyffeler M, Sterling WL & Dean A (1994) How spiders make a living. *Environmental Entomology* 23: 1357-1367.
- Pagoti GF & Willemart RH (2015) Strong seasonality and clear choice of resting plant in a Neotropical harvestman (Arachnida, Opiliones). *Journal of Arachnology*. 43: 207-213.
- Paré PW & Tumlinson JH (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology* 121: 325-331.

- Reddy GVP & Guerrero A (2004) Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Sciences* 9: 253-261.
- Requena GS, Buzatto BA, Martins EG & Machado G (2012) Paternal care decreases foraging activity and body condition, but does not impose survival costs to caring males in a Neotropical arachnid. *Plos One*. 7:e46701.
- Romero GQ & Vasconcellos-Neto J (2005) The effects of plant structure on the spatial and microspatial distribution of a bromeliad-living jumping spider (Salticidae). *Journal of Animal Ecology* 74: 12-21.
- Roux O, Billen J, Orivel J & Dejean A (2010) An overlooked mandibular-rubbing behavior used during recruitment by the African weaver ant *Oecophylla longinoda*. *Plos One* 5: 1-6.
- Santer RD & Hebets EA (2009) Prey capture by the whip spider *Phrynus marginemaculatus* C.L. Koch. *Journal of Arachnology* 37: 109-112.
- Santos FH (2003) Estudo de parâmetros fisiológicos relacionados ao modo de vida cavernícola em Goniosomatinae (Opiliones, Gonyleptidae). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Santos FH (2007) Ecophysiology. Harvestmen: The Biology of Opiliones. (ed. By R. Pinto-da-Rocha, G. Machado & G. Giribet). Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, pp. 473-488.
- Santos GC, Hogan JA & Willemart RH (2013) Associative learning in a harvestman (Arachnida, Opiliones). *Behavioural Processes* 100: 64-66.
- Seagraves MP & Lundgren JG (2010) Oviposition response by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) to plant quality and prey availability. *Biological Control* 55: 174-177.
- Teodecki EE, Brodie Jr ED, Formanowicz Jr DR & Nussbaum RA (1998) Head dimorphism and burrowing speed in the African caecilian *Schistometopum thomense* (Amphibia: Gymnophiona). *Herpetologica*. 54: 154-160.

- Teng B, Dao S, Donaldson ZR & Grether GF (2012) New communal roosting tradition established through experimental translocation in a Neotropical harvestman. *Animal Behaviour* 84:1183-1190.
- Thompson JN & Pellmyr O (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36: 65-89.
- Thorsteinson AJ (1960) Host selection in phytophagous insects. *Annual review of entomology* 5:193-218.
- Turlings TCJ, Tumlinson JH & Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250: 1251- 1253.
- Wijnhoven H (2013) Sensory structures and sexual dimorphism in the harvestman *Dicranopalpus ramosus* (Arachnida: Opiliones). *Arachnologische Mitteilungen* 46: 27-46.
- Willemart RH & Chelini MC (2007) Experimental demonstration of close-range olfaction and contact chemoreception in the Brazilian harvestman *Iporangaia pustulosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 123: 73-79.
- Willemart RH, Farine JP & Gnaspini P (2009) Sensory biology of Phalangida harvestmen (Arachnida, Opiliones): a review, with new morphological data on 18 species. *Acta Zoologica* 90: 209-227.
- Willemart RH & Hebets EA (2012) Sexual differences in the behavior of the harvestman *Leiobunum vittatum* (Opiliones, Sclerosomatidae) towards conspecific cues. *Journal of Insect Behavior* 25: 12-23.

8. FIGURAS

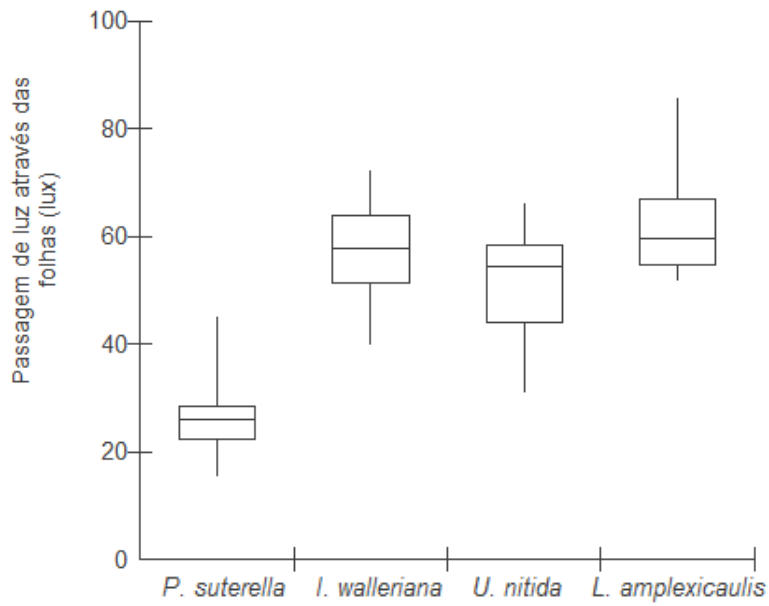


Figura 1. Passagem de luz através das folhas das espécies *Psychotria suterella*, *Impatiens walleriana*, *Urera nitida*, *Leandra amplexicaulis*. Todas essas plantas são utilizadas para repouso pelo opilião *Jussara* sp. no Parque Estadual da Serra da Cantareira. As barras horizontais correspondem ao 1º quartil, à mediana e ao 3º quartil. As barras verticais correspondem ao valores máximos e mínimos.



Figura 2. Parte da trilha onde se realizou o estudo. Flechas apontam indivíduos de *P. suterella* ao longo da trilha. Clareiras permitem a entrada de luz em diferentes horários do dia.



Figura 3. Indivíduo de *Psychotria suterella* na trilha de estudo, evidenciando a sobreposição de folhas que formam microambientes com diferença na luminosidade.

9. TABELAS

Tabela 1: Repertório comportamental do opilião *Jussara* sp. quando em interação com a planta *Psychotria suterella*.

Categoria Comportamental	Descrição
<i>Scraping</i>	A região ventral do tarso da perna I é raspada contra o substrato de modo repetitivo (cf Willemart & Hebets 2012).
<i>Rubbing behavior</i>	A região ventral e/ou lateral do animal é raspada contra o substrato no sentido cefalotórax-abdome (cf Willemart & Hebets 2012).
<i>Bobbing</i>	Movimento vibratório do corpo no sentido dorso-ventral (cf Gnaspini & Hara 2007).
<i>Leg-threading</i>	Opilião passa pernas I, II ou pedipalpos entre as quelíceras (cf. Edgar 1971).
<i>Pedipalp tapping</i>	Os pedipalpos são estendidos para baixo e utilizados para tatear o substrato (cf Willemart e Hebets 2012).
Tateamento intenso de perna I e II	A extremidade dos tarsos das pernas I e II é utilizada para tocar o substrato com movimentos rápidos e repetitivos.
Interação com co-específicos	Encontro de indivíduos de <i>Jussara</i> sp., que podem se tatear e/ou morder as pernas do outro indivíduo.
Liberação de secreção oral	Opilião secreta um líquido oral

transparente no substrato.

Tabela 2: Composição dos voláteis emitidos por *Psychotria suterella*. A quantidade de voláteis (média \pm SE) na mistura foi estimada com base em acetato de nonilo como padrão externo.

Composto volátil	Quantidade (ng/ μ l)
metóxi-fenil de oxima	2,0 \pm 0,1
Cis-ocimeno	9,4 \pm 3,2
α -copaeno	3,1 \pm 1,1
Monoterpeno desconhecido	2,48 \pm 0,2