



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

par Mylène ANOTAUX

Etude d'un modèle comportemental du vieillissement : la construction de la toile chez une araignée orbitèle

Le 14 décembre 2012

Membres du jury :

Rapporteurs :	Pr. Alain CANARD	Professeur, URU Université de Rennes 1, Rennes
	Dr. Christophe FERON	Maître de Conférence, LEEC, Université Paris 13, Villetaneuse
Examineurs :	Pr. Pascal FONTAINE	Professeur, URAFPA Université de Lorraine, Nancy
	Pr. Jean BRUN-BELLUT	Professeur, URAFPA Université de Lorraine, Nancy
	Dr. Alain PASQUET	Chargé de recherche, CNRS, URAFPA Université de Lorraine, Nancy, directeur de thèse
	Dr. Nicolas CHALINE	Maître de Conférence, LEEC, Université Paris 13, Villetaneuse, co-directeur de thèse

Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques : BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.



REMERCIEMENTS

Une main scientifique tendue, un soutien moral, une aide financière, une simple présence... Durant ces quatre dernières années, les personnes sont nombreuses à avoir contribué, d'une manière ou d'une autre, à la réalisation de cette thèse. C'est à elles que j'adresse mes remerciements en espérant n'en oublier aucune.

*Mes premiers remerciements vont à mon directeur de thèse, le Dr. **Alain Pasquet**, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse il y a quatre ans, pour s'être battu face aux complications financières de ma thèse la première année afin que je puisse continuer et mener à bien mes travaux et pour m'avoir fait confiance durant ces années, même quand ce fut difficile. Vous vous êtes aussi toujours montré à l'écoute et très disponible pour moi, et ce, jusqu'au dernier jour. Je vous en remercie très sincèrement.*

*Je tiens à remercier mon co-directeur de thèse et ancien maître de stage durant mes deux années de Masters à Paris, le Dr. **Nicolas Châline**, pour m'avoir initié à la recherche en Ethologie il y a de cela six ans, pour m'avoir aidé dans mes premiers pas et pour m'avoir suivi tout au long de ces années. Je te remercie pour tes encouragements.*

Je témoigne toute ma reconnaissance aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mes travaux : le Pr. Pascal Fontaine, le Dr. Alain Pasquet, le Dr. Christophe Féron, le Pr. Alain Canard, le Dr. Nicolas Châline et le Pr. Jean Brun-Bellut. Merci particulièrement au Dr. Christophe Féron et au Pr. Alain Canard pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit.

*Je remercie le Dr. **Raymond Leborgne** pour sa pédagogie, son esprit critique et son franc-parler. « La franchise est la meilleure des diplomaties » (Ivan Tourgueniev).*

*Je tiens à remercier très chaleureusement le Dr. **Caroline Gilbert** pour être arrivée dans ma vie de doctorante au moment où j'en avais le plus besoin. Je te remercie pour toute ton aide, tes conseils scientifiques, ton soutien moral, tes nombreuses corrections y compris sur ce manuscrit et ton amitié. Même après la thèse, j'espère que tu continueras à m'appeler chaque fois que tu t'apprêteras à creuser un tunnel jusqu'à chez Zara...Merci d'avoir été là tout simplement.*

*Durant ces quatre années, j'ai eu la chance d'enseigner en tant que monitrice et attaché temporaire de l'enseignement et de la recherche. Je remercie donc particulièrement **Dominique Chardard** pour m'avoir donné cette opportunité d'enseigner au commencement de ma thèse, pour son aide à la préparation des travaux dirigés et pratiques durant mes trois premières années, pour sa disponibilité et pour sa gentillesse.*

*Je remercie **tous les membres de l'équipe « poissons »** pour être arrivés cette année au laboratoire avec leur bonne humeur et pour avoir redonné vie au quatrième étage.*



*Je tiens également à remercier les membres de l'équipe de biochimie de l'URAFPA pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire avec mes araignées. Merci à **Laurent Miclo** pour m'avoir consacré de son temps et aidé à la réalisation d'un protocole nouveau et incertain. Merci à **Jean-Michel Girardet** pour sa gentillesse et son humour que je n'oublierais pas. Un énorme merci tout particulier à **Chantal Poirson** pour son aide, sa disponibilité et son écoute. Je suis désolée pour tous nos efforts que nos expériences n'aient pas réussies. Tu resteras l'une de mes plus belles rencontres à l'Université de Nancy.*

*Un grand merci au soutien technique sans qui je me serais senti bien seule. Merci à **Joëlle Couturier** pour avoir pris de mes nouvelles chaque semaine et pour avoir bichonné les araignées en mon absence. Merci à **Christiane Tankosic** et **Jean-Charles Olry** pour être passé me voir souvent à mon bureau malgré que celui-ci se trouvait de « l'autre côté du couloir » et pour s'être souvent enquis de l'avancé de mes travaux.*

*Je tiens également à remercier le photographe du National Geographic **Gianluca Colla** pour être venu travailler avec moi et les araignées durant deux semaines, pour avoir réalisé de très belles photos et pour avoir accepté d'en partager avec moi. Bonne chance pour la suite.*

*Merci aussi à **Marie-Colette Poisbelaud** pour ses corrections apportées au manuscrit. J'espère que vous vous rétablirez vite.*

*Merci à tous les étudiants passés par le laboratoire durant ces quatre années et qui ont, d'une façon ou d'une autre, participé à cette thèse. Un merci incommensurable tout d'abord à **Camille Toscani** : plus qu'une amie, tu as été mon épaule et mon soutien moral depuis ton arrivée au laboratoire. Ma vie de doctorante et personnelle n'aurait pas été la même et ne serait pas la même aujourd'hui sans ton amitié. Mille mercis pour tout et ne tardes pas trop à revenir de tous tes beaux voyages. Bon courage pour la suite. Merci à **Elsa Desêtres** pour m'avoir redonné l'envie de veiller tard au laboratoire quand elle y était, pour avoir partagé ses tablettes de chocolat dopantes avec moi et pour m'avoir soutenue jusqu'à la fin. Reviens vite me voir. Un grand merci à **Julia Marchal** (alias tranchetto): cette thèse doit beaucoup à ton investissement durant tes stages de Master. Je suis heureuse de savoir que ton avenir dans la recherche s'annonce aussi bien. Un grand merci aussi pour ton soutien ces derniers mois. Je remercie également notre acolyte **Laurida Bahans** pour sa joie de vivre et son humour. A toutes les deux je vous dis « en vous remerkian !! ». Merci également à **Karen Muller et Catherine Geay**. Vous êtes parties bien trop vite. Merci enfin à **Laura Charlot**.*

*Un grand merci aux moniteurs qui ont partagé avec moi les joies des stages du CIES dans les Vosges : **Nathan** (au revoir, merci et bon week end !), **Catherine, Alice, Nadège, Greg, Jérôme, Julien, Oana et Nolwenn**. Vous avez vraiment égayé mon monitorat et mon doctorat. Pour ceux qui n'ont pas encore terminé, je vous souhaite le meilleur pour la fin de votre thèse. Pour les autres, bon courage dans vos vies de docteurs.*

*Je remercie du fond du cœur tous mes amis pour leurs nombreux encouragements: **Mathieu** (pour être toujours présent malgré la distance), **Emilie** (pour tous nos messages de motivation échangés. Accroche-toi, plus que quelques mois à tenir), **Rachel** (pour avoir été avec moi physiquement puis moralement durant ces six dernières années), **Hélène** (pour ta présence et ton écoute cette année, heureusement que tu étais là...), **Christelle** (prépare toi à*





Table des figures et tableaux

HORS FIGURES ET TABLEAUX CONTENUS DANS LES ARTICLES

Figures

Fig.1.	Peinture représentant l'explorateur espagnol Juan Ponce de Leon s'apprêtant à goûter la « Fontaine de Jouvence »	15
Fig.2.	Pyramide des âges des hommes et des femmes de la population mondiale en 2000 et projection en 2050.	18
Fig.3.	Principaux modèles invertébrés pour l'étude du vieillissement : <i>Drosophila melanogaster</i> et <i>Caenorhabditis elegans</i>	28
Fig.4.	Toile tubulaire d'une araignée <i>Segestria</i>	39
Fig.5.	Toile en réseaux d'une araignée <i>Steatoda</i>	40
Fig.6.	Toile en nappe d'une araignée <i>Lyniphya</i>	40
Fig.7.	Toile orbitèle d'une araignée <i>Araneus</i>	41
Fig.8.	Les différentes étapes de construction du cadre et des rayons d'une toile orbitèle	43
Fig.9.	Construction de la spirale auxiliaire d'une toile orbitèle	44
Fig.10.	Construction de la spiral définitive	45
Fig.11.	Toile géométrique de <i>Zygiella x-notata</i>	72
Fig.12.	Boîte d'élevage d'une araignée	73
Fig.13.	Araignée femelle <i>Z. x-notata</i> et son épygine	74
Fig.14.	Chronologie des tests de construction et âge des araignées lors des tests	75
Fig.15.	Cadre d'expérience en bois	76
Fig.16.	Toile et paramètres mesurés	78
Fig.17.	Les différentes zones et structure d'une toile orbitèle	78



Fig.18. *Zygiella x-notata* sur sa toile. Par Gianluca Cola.
Cette photographie est la propriété privée du *National Geographic*. 197

Fig.19. Toiles « aberrantes » 249

Tableaux

Tableau 1. Effets du vieillissement sur le comportement chez les invertébrés. 36

Tableau 2. Facteurs biotiques et abiotiques influençant la variabilité
d'une toile géométrique. 57



SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	13
I. Le vieillissement	15
I.1 Immortalité et vieillissement	15
I.2 Vieillessement et/ou sénescence?	16
I.3 Pourquoi s'intéresser au vieillissement?	17
I.4 Les théories du vieillissement	19
I.4.1 Les théories évolutionnistes	19
I.4.2 Les théories génétiques (déterministes).....	21
I.4.3 Les théories stochastiques (aléatoires)	22
I.5 Organismes modèles.....	23
I.6 Un groupe modèle, les invertébrés	26
I.6.1 L'apport des invertébrés dans la recherche biologique et médicale.....	26
I.6.2 L'apport des invertébrés dans la recherche pour le vieillissement.....	28
(a) <i>Le ver nématode et la mouche à fruit : deux organismes modèles clés</i>	28
(b) <i>Les autres organismes</i>	29
I.6.3 Le vieillissement « comportemental » chez les invertébrés	30
(a) <i>Vieillessement et activité motrice</i>	31
(b) <i>Vieillessement et réactivité olfactive, apprentissage et mémoiree</i>	32
(c) <i>Vieillessement et activité sexuelle</i>	33
(d) <i>Vieillessement et activité circadienne</i>	33
(e) <i>Vieillessement et activité de fourrage</i>	34
II. L'araignée et sa toile géométrique comme modèle d'étude du vieillissement.....	39
II.1 Les différents types de toiles.....	39
II.2 La construction de la toile orbitèle.....	42
(1) <i>La construction du cadre et des rayons</i>	42
(2) <i>La construction de la spirale auxiliaire</i>	43
(3) <i>La construction de la spirale définitive</i>	44
II.3 Variabilité de la toile géométrique.....	46
II.3.1 Variabilité ontogénétique du comportement de construction de la toile.....	47
II.3.2 Facteurs biotiques et abiotiques influençant la variabilité d'une toile.....	48
(a) <i>Facteurs biotiques</i>	48



(b) <i>Facteurs abiotiques</i>	53
II.4 Fonctions de la toile	60
II.5 Variations des caractéristiques de la toile et stratégies de fourragement.....	61
III. Objectifs de la thèse et axes de recherche	64
III.1 Quelles modifications apparaissent dans la structure des toiles de <i>Zygiella x-notata</i> au cours de son vieillissement ?.....	64
III.2 Le vieillissement affecte-t-il la mobilité et la motricité des araignées ?	65
III.2.1 lors de la construction de la toile ?.....	65
III.2.2 lors de la capture des proies ?	66
III.3 Les variations de structure de la toile et du comportement de l'araignée peuvent-elles être corrélées à des modifications du système nerveux avec l'âge?	66
MATERIEL ET METHODES	69
I. Modèle biologique	71
II. Conditions d'élevage	73
III. Conditions d'expérience et de maintenance des araignées lors du vieillissement	75
IV. Paramètres de mesure des toiles.....	77
IV.1 Investissement en soie	77
IV.2 Structure de la toile	79
- Article 1 : Imperfections in a perfect architecture : the spider orb-web.....	81
RESULTATS	105
- Article 2 : Ageing alters spider orb-web construction.....	107
- Article 3 : Time-to-death affects spider's mobility during orb-web construction.....	121
- Article 4 : Ageing and foraging effort in an orb-web spider	137
- Article 5 : Relations entre l'anatomie du cerveau et les caractéristiques de la toile en fonction de l'âge chez une araignée orbitèle.....	161
DISCUSSION ET PERSPECTIVES	181
I. Synthèse des résultats obtenus et discussion	184
I.1 Influence de l'âge sur le design et les caractéristiques de la toile	184
I.2 Influence de l'âge sur la mobilité et la motricité de l'araignée	186
I.2.1 lors de la construction de la toile	186
I.2.2 lors de la capture des proies	188
I.3 Relations entre des caractéristiques anatomiques du cerveau et les performances et caractéristiques de la toile en fonction de l'âge.....	189
II. Perspectives et conclusion générale.....	191



II.1 Etudier la création des anomalies.....	191
II.2 Vieillissement et système nerveux	192
II.3 Vieillissement pathologique et marqueurs physiologiques.....	194
II.4 Utilisation des résultats dans le domaine appliqué	195
II.5 Conclusion	196
BIBLIOGRAPHIE	199
ANNEXES	219
- Article 6 : Loss of legs : is it or not a handicap for an orb-weaving spider ?.....	221
- Article 7 : Does bulging activity influence web construction and web characteristics of an orb web?.....	231
- Figure 19 : Toiles abérrantes	249

“On est pas vieux tant que l’on cherche »
(Jean Rostand)

INTRODUCTION





I. LE VIEILLISSEMENT

I.1 Immortalité et vieillissement

Un peu d'histoire...

L'immortalité, le plus vieux rêve de l'homme, désigne le fait d'échapper à la mort et d'exister pour une période de temps indéfinie, voire éternelle. Ce rêve a traversé les âges et les périodes dans beaucoup de croyances. Au Japon, la Fontaine de Jouvence, symbole d'immortalité ou de perpétuel rajeunissement, est l'une des anciennes légendes des temps modernes. En Amérique, lors de la découverte du Nouveau Monde en 1512, l'explorateur Juan Ponce de Leon avait reçu la mission de goûter toutes les sources d'eau au nord de Porto Rico dans le but de trouver la véritable Fontaine de Jouvence (Figure 1, Juan Ponce de Leon et la Fontaine de Jouvence). Et si l'immortalité fut souvent recherchée géographiquement, d'autres hommes, comme l'empereur chinois Jianjing (1522-1566) ou le savant alchimiste Ge Hong surnommé le « vieillard immortel », la recherchèrent en ingérant des matériaux précieux inaltérables comme l'or, espérant obtenir la même résistance au temps et ne jamais vieillir.



Figure 1. Peinture représentant l'explorateur espagnol Juan Ponce de Leon s'apprêtant à goûter ce qu'il pensait être la « Fontaine de Jouvence » en Floride, lors de son voyage vers le nouveau monde avec Christophe Colomb. Peintre inconnu.

Source : <http://www.lessignets.com/signetsdiane/calendrier/avril/2.htm>



Ainsi la Fontaine de Jouvence et l'élixir de la vie éternelle furent recherchés durant bien des siècles. Aujourd'hui encore, ces recherches sont toujours d'actualité dans notre société qui cultive le goût de l'apparence au travers de cosmétiques et de chirurgie et continue de vouer un culte à l'éternelle jeunesse. Pourtant, biologiquement, on ne sait toujours pas si l'immortalité humaine serait ou non réalisable, mais il est intéressant de constater que la course aux gènes de l'« immortalité », les gènes dont les mutations induisent une modification de la longévité (durée de vie maximale pour les individus d'une espèce donnée), domine la gérontologie moléculaire.

L'immortalité au sens biologique...

L'immortalité existe pourtant sous sa forme biologique. Il existe des êtres vivants tels que les bactéries, certains types de levures ou encore certaines méduses, dont la structure biologique très simple et le mode de reproduction particulier permettent de les considérer comme immortels (voir pour revue, Slade et Radman 2011). Récemment découverte, la méduse *Turritopsis nutricula* serait capable d'inverser son cycle de reproduction et, ainsi, de retourner à sa forme juvénile et sexuellement immature après avoir atteint sa maturité sexuelle, et ce indéfiniment, la rendant biologiquement immortelle (Hongbao et Yang 2010; voir pour revue, Slade et Radman 2011). Elle reste néanmoins ni indestructible ni exempte de maladies, d'accidents ou de prédation.

Toutefois, ces cas d'« immortalité » à l'échelle des organismes (au sens d'absence de toute manifestation d'augmentation de la mortalité intrinsèque avec l'âge) sont extrêmement rares. Chez la plupart des êtres vivants, le cycle de vie n'est pas réversible et les organismes vieillissent et meurent.

I.2 Vieillessement et/ou sénescence?

La sénescence d'un organisme vivant est souvent définie d'un point de vue fonctionnel comme un processus de détérioration lent et progressif des fonctions physiologiques de cet organisme, souvent associé à des déficits des fonctions comportementales, le conduisant irréversiblement à la perte de ces fonctions et à sa mort (Hamilton 1966; Finch 1990; Kirkwood et Rose 1991; Gaillard *et al.* 2004; Monaghan *et al.* 2008; Monaco et Silveira 2009). Cependant, certains auteurs se placent d'un point de vue évolutif et définissent la



sénescence comme la diminution de la survie et de la performance reproductive d'un organisme à un certain âge (Kirwwood et Rose 1991; Partridge et Barton 1993; Bennett et Owens 2002; Descamps *et al.* 2008). Quelle que soit sa définition, la sénescence résulte tant des facteurs intrinsèques de l'organisme que des facteurs environnementaux. Dans la littérature scientifique, le terme « sénescence » est souvent confondu avec celui de « vieillissement », et les deux mots sont fréquemment utilisés sans distinction pour une seule et même définition (Monaghan *et al.* 2008; Lliadi *et al.* 2010; Ricklefs 2010). Nous avons choisi d'utiliser le terme « vieillissement » dans un sens assez large, c'est-à-dire au sens d'une détérioration progressive des fonctions de l'organisme susceptible d'être associée à des déficits des performances comportementales et à une baisse de la performance reproductive.

I.3 Pourquoi s'intéresser au vieillissement?

Pourquoi vieillissons-nous ? Cette question représente l'une des préoccupations actuelles principales dans la recherche sur le vieillissement. L'amélioration des conditions d'hygiène, les progrès sociaux économiques, la baisse de la fécondité (nombre moyen d'enfants nés vivants rapporté à la population féminine en âge de procréer) ou encore la diminution de la morbidité (nombre de personnes malades pendant un temps donné) ont allongé la durée de vie chez l'Homme, estimée à 67 ans en moyenne dans le monde (rapport des Nations Unies 2008), bien que les progrès ne bénéficient pas de façon égale aux différents pays du monde : la durée de vie moyenne va de 49 ans en Afrique australe à 80 ans en Europe occidentale (Pison 2008).

La baisse de la fécondité et l'allongement de la durée de vie ont conduit à un vieillissement des populations qui ne cesse de s'accroître et qui pose de véritables problèmes, tant du point de vue de la santé publique (apparition de pathologies propres au vieillissement) que de l'économie de la société (structuration du monde du travail, classes nouvelles...). Selon un rapport de l'ONU (Organisation des Nations Unies, archive du bureau de recensement 2009), la population mondiale devrait dépasser les 9 milliards d'individus en 2050, contre 7 milliards estimés au début de l'année 2012, et la population mondiale âgée de 60 ans et plus devrait atteindre deux milliards d'ici 2050. Dans les pays développés notamment, la fécondité diminue et le nombre de personnes de plus de 60 ans ne cesse d'augmenter ; il devrait atteindre les 406 millions en 2050, contre 245 millions en 2005, et celui des moins de 60 ans devrait se réduire (de 971 millions en 2005 à 839 millions en 2050). Dans les pays « sous-développés », le vieillissement de la population ne fait que commencer.



La population reste encore jeune et le nombre de personnes âgées et très âgées est faible. De ce fait, la pyramide des âges, représentation graphique de la répartition de la population par sexe et par âge à un instant donné que nous connaissons tous en forme de pyramide ou de « toupie renversée », devient progressivement inversée à l'échelle de la population mondiale (Figure 2). Cette transition est déjà bien avancée dans les pays développés comme ceux d'Europe et d'Amérique du Nord, avec une majorité de personnes âgées.

Pyramide des âges mondiale en 2000 et 2050

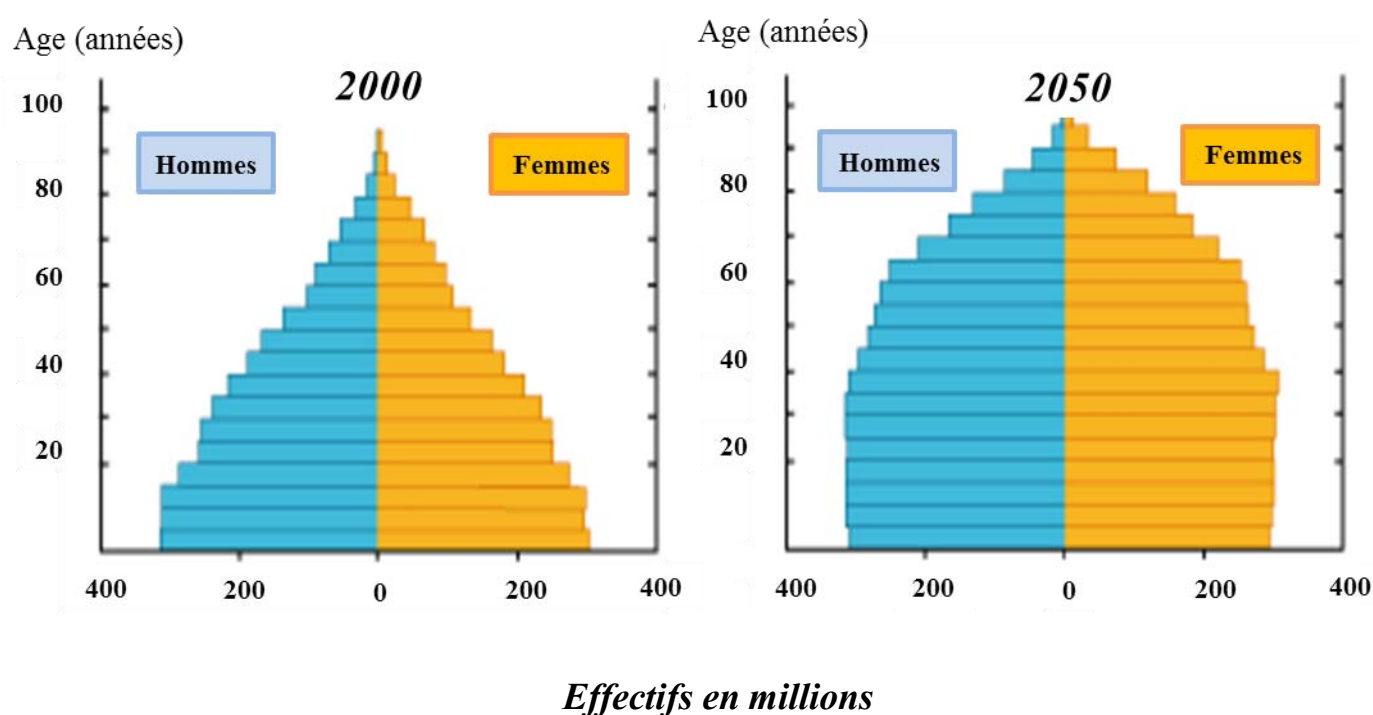


Figure 2. Pyramide des âges des hommes et des femmes de la population mondiale en 2000 (pyramide de gauche) et projection en 2050 (pyramide de droite). Source : rapport des Nations Unies 2007.

Au vu de ces évolutions, il devient donc important de préparer les sociétés à répondre aux besoins de populations vieillissantes, tant du point de vue social et économique (évolution des systèmes de retraites par exemple) que médical.

Depuis plus d'un demi-siècle, les recherches médicales sur les mécanismes proximaux du vieillissement (propres à l'individu) font l'objet d'études poussées chez l'Homme et les animaux (Kirkwood et Austad 2000; Holmes et Kristan 2008; Burton 2009), leur but étant



d'envisager des stratégies susceptibles de prévenir et/ou réduire certaines conséquences du déclin lié au vieillissement dans la fonction -comme la probabilité de développer des maladies graves telles que les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, de Parkinson) ou les pathologies cardiovasculaires- mais aussi dans la condition physique. Parmi les changements qui apparaissent chez les humains au cours du vieillissement, les déficits comportementaux sont particulièrement contraignants (Espeland *et al.* 2007). Ces déficits concernent la mobilité des personnes, la sensibilité olfactive, la mémoire et le rythme circadien (Grotewiel *et al.* 2005). Les études sur les déclin comportementaux liés au vieillissement et leurs traitements permettent d'améliorer considérablement la qualité de vie et le bien-être des personnes âgées et de mieux appréhender le vieillissement de la population.

Dans cette même optique, la présente thèse s'inscrit dans la volonté d'approfondir les recherches sur les effets du vieillissement sur les comportements.

I.4 Les théories du vieillissement

Les théories qui tentent d'expliquer les mécanismes du vieillissement sont nombreuses à s'être affrontées depuis le milieu du XIX^{ème} siècle. Les gérontologues qui se sont livrés au recensement de ces théories, comme Zhores Medvedev, en ont dénombré plus de 300 (Medvedev 1990). Aujourd'hui, les principales théories sont répertoriées en trois grandes catégories : les théories évolutionnistes, les théories génétiques et les théories dites stochastiques.

I.4.1 Les théories évolutionnistes

Trois théories évolutionnistes envisagent l'évolution du vieillissement : la théorie d'accumulation des mutations délétères, la théorie de la pléiotropie des gènes antagonistes et la théorie du soma jetable.

La théorie de l'accumulation des mutations délétères. L'évolution des espèces, via la sélection naturelle, ne peut survenir que s'il y a un renouvellement des générations. Ce n'est en effet que par le biais de la reproduction que de nouvelles combinaisons de gènes apparaissent et fournissent de nouvelles caractéristiques à une nouvelle génération, qui devrait être mieux adapté à son environnement. La première théorie fondée par Haldane (1941) et Medawar (1952), suggère que des mutations délétères s'expriment tardivement à partir d'un



certain âge, après la reproduction, et sont transmises aux descendants sans qu'elles puissent être contre-sélectionnées. Comme elles s'expriment tardivement, ces mutations délétères échappent à la sélection naturelle et entraînent le déclin progressif de la survie et du succès reproducteur des organismes au cours du temps. L'une des implications de la théorie des mutations délétères est l'effet additif de nombreux gènes sur la détermination de la durée de vie. Des études menées sur le nématode *Caenorhabditis elegans* ont montré que plusieurs centaines de gènes semblaient être impliqués dans le déterminisme de la longévité, suggérant donc que les mutations qui s'accumulent dans toutes les parties du génome influencent la sénescence (Guarente et Kenyon 2000).

La théorie de la pléiotropie antagoniste. Cette théorie fondée par le biologiste américain George C. Williams (1957) se base sur la précédente. Selon Williams, les gérontogènes (gènes responsables du vieillissement), ne sont pas éliminés par la sélection naturelle, non seulement parce que leurs effets délétères se manifestent après la période de reproduction, mais aussi parce qu'ils ont un effet bénéfique sur la valeur sélective dans la première partie de la vie, avant la reproduction. Vieillir serait donc le prix à payer pour de meilleures aptitudes à la reproduction. Plusieurs expériences effectuées en laboratoire et en milieu naturel sur des invertébrés et des vertébrés ont permis de valider la théorie de la *pléiotropie antagoniste* comme explication de l'évolution du vieillissement (Guarente et Kenyon 2000; Charmantier *et al.* 2006). Elle trouve son illustration la plus flagrante chez certaines espèces comme la souris marsupiale *Antechinus stuartii* (Holleley *et al.* 2006) dont la mort des mâles survient très rapidement après la première reproduction, suite à un vieillissement accéléré. Cela correspond à l'une des prédictions de la théorie des *mutations pléiotropiques antagonistes* selon laquelle une augmentation de performance au début de la vie (ici la reproduction) devrait se traduire par un déclin plus rapide en fin de vie.

La théorie du « soma jetable ». Cette troisième théorie évolutive du vieillissement est développée par le biologiste Thomas Kirkwood (1979). Selon lui, les mécanismes de maintien de l'organisme en bonne condition métabolique représentent un coût énergétique considérable, au même titre que l'épisode de la reproduction (Clutton-Brock 1991), et les animaux doivent maintenir un compromis entre l'énergie allouée au maintien de leur soma (corps de l'individu à l'exception des cellules germinales) en bonne condition et l'énergie allouée à la reproduction. La théorie prédit que l'énergie dont dispose l'organisme étant limitée, il est plus optimal de « sacrifier » une partie de son énergie allouée au maintien du



soma à partir d'un certain âge, au profit de celle allouée à la reproduction afin de maximiser le succès reproducteur (Kirkwood et Holliday 1979; Kirkwood et Austad 2000). Dans ce concept, l'organisme ne représente donc qu'un outil jetable, un « soma jetable » dont la seule fonction est de permettre la reproduction et la diffusion des cellules germinales.

Cependant, cette théorie prédit aussi que le compromis entre l'énergie allouée à la maintenance du soma et celle allouée à l'épisode de reproduction est dépendant des durées de vie des animaux (Kirkwood et Austad 2000). Ainsi, des études récentes portant sur les effets de l'âge sur la physiologie et le comportement d'espèces d'oiseaux présentant des durées de vie longues, comme l'albatros errant *Diomedea exulans*, ont montré que les performances de fourragement et les performances reproductives des mâles diminuent avec l'âge, tandis que les paramètres physiologiques (stress oxydatif, défenses anti-oxydante, taux d'hormone) sont maintenus (Lecomte *et al.* 2010). Les auteurs suggèrent que les mâles âgés sacrifient leur reproduction et leur investissement parental pour maintenir un niveau élevé de maintenance somatique. Au contraire, d'autres travaux récents sur des oiseaux ayant des durées de vie courte ont mis en évidence un déclin des paramètres physiologiques des oiseaux avec l'âge (Moe *et al.* 2009; Cote *et al.* 2010).

I.4.2 Les théories génétiques (déterministes)

Les théories génétiques admettent l'existence de gènes de longévité programmés conditionnant la durée de vie maximale dans une espèce donnée (120 ans chez l'homme). L'un des arguments en faveur de cette théorie est la constance impressionnante et la spécificité des durées de vie des différentes espèces. Par exemple, la longévité de l'homme est d'environ 100 ans, celle de la souris de 3 ans et celle de la mouche drosophile de 3 mois. Par ailleurs, les longévités de la mouche *Drosophila melanogaster* et du ver nématode *Caenorhabditis elegans* ont pu être allongées grâce à des manipulations génétiques (Berdichevsky *et al.* 2006; Hsin et Kenyon 1999). Chez les humains, les études menées chez les jumeaux ont montré que la durée de vie semble fortement liée à des facteurs génétiques et que la différence moyenne de longévité entre de faux jumeaux est deux fois plus grande que celle de vrais jumeaux. Bien que des gènes de longévité aient été récemment identifiés chez des personnes centenaires (Sebastiani *et al.* 2012), le profil génétique de la longévité humaine est encore loin d'être défini.



La théorie du raccourcissement télomérique. Une des principales théories génétiques du vieillissement prédit que les télomères, régions de l'ADN fortement répétées aux extrémités des chromosomes et subissant une réduction en taille à chaque division cellulaire, atteindraient une longueur critique à partir d'un certain âge contraignant ainsi la cellule à entrer en apoptose (Vleck *et al.* 2003). Plusieurs études ont ainsi démontré que le potentiel de longévité d'un individu était corrélé au maintien de la longueur de ses télomères comme chez la sterne, *Sterna hirundo* (Hausmann *et al.* 2003) ou chez le nématode *Caenorhabditis elegans* (Joeng *et al.* 2004).

I.4.3 Les théories stochastiques (aléatoires)

Les théories dites stochastiques s'opposent aux théories génétiques et admettent pour principe que le mécanisme du vieillissement serait lié au hasard. Parmi elles, on distingue notamment la théorie des radicaux libres, la théorie des « erreurs catastrophiques » et les théories neuroendocriniennes et des horloges biologiques.

La théorie oxydative et des radicaux libres. En 1956, Harman fut le premier à mettre en évidence une augmentation de dommages oxydatifs dans les tissus avec l'âge, causés par l'accumulation au sein des mitochondries de molécules oxygénées réactives provenant de la respiration cellulaire, les radicaux libres, qui oxydent les macromolécules et interfèrent ainsi avec les fonctions cellulaires (Perez-Campo *et al.* 1998). Il expose dans sa théorie que le vieillissement serait dû aux effets nocifs des radicaux libres. Parallèlement, les capacités anti-oxydantes des organismes, qui défendent l'organisme contre les radicaux libres, décroissent avec l'âge (Cohen *et al.* 2009).

La théorie des erreurs catastrophiques. Cette théorie, développée par Von Orgel (1963), explique que le vieillissement serait dû à une accumulation d'erreurs successives dans la synthèse des protéines survenant de façon aléatoire au cours des phénomènes de transcription de l'information génétique. Les conséquences pour l'organisme sont délétères, conduisant à une désorganisation de tout le système et à la mort des cellules.

Les théories neuroendocriniennes et des horloges biologiques. Les théories neuroendocriniennes ont été décrites pour la première fois en 1954 par le gérontologue russe Vladimir Dilman. Elles considèrent les dérèglements qui se développent dans les fonctions



cérébrales et endocriniennes comme ayant une grande responsabilité dans le vieillissement des organes, des tissus et des cellules. Le vieillissement s'accompagne d'un déclin de la plupart des fonctions neuroendocrines (hormones thyroïdiennes, corticosurrénales, testiculaires, ovariennes, hormone de croissance) qui sont dépendantes de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Habib *et al.* 2001). L'effondrement du contrôle des régulateurs hormonaux aurait des effets directs sur le vieillissement. Pour certains, le centre de contrôle serait localisé dans l'hypothalamus ou dans l'épiphyse ou encore dans le thymus. La dérégulation hypothalamique pourrait être causée par une perte de neurones, par une réduction de la sensibilité des récepteurs de l'hypothalamus à la rétroaction ou par une insuffisance quantitative ou qualitative de neurotransmetteurs. Pour d'autres, la longévité serait réglée par une horloge biologique qui agirait sur les glandes endocrines et provoquerait la faillite des systèmes immunitaires et circulatoires. La dérégulation endocrinienne entraînerait alors des troubles au niveau des systèmes effecteurs se traduisant par la survenue d'affections associées au vieillissement (Habib *et al.* 2001).

Actuellement, aucune des théories publiées ne peut expliquer de façon univoque l'ensemble des phénomènes impliqués dans le vieillissement, et les mécanismes qui en sont responsables ne sont pas encore tous élucidés. Certaines théories sont plus représentatives du vieillissement que d'autres, comme celle des radicaux libres ou la théorie neuroendocrinienne, mais elles se complètent en réalité à des degrés différents.

I.5 Organismes modèles

Les modèles animaux sont des espèces non-humaines qui sont étudiées de manière approfondie pour comprendre un phénomène biologique ou comportemental, en espérant que les découvertes faites sur cet organisme seront partiellement valables pour la connaissance d'autres organismes, en particulier les humains (Fields et Johnston 2005). Leur étude a mené à de nombreuses découvertes dans la compréhension des mécanismes du vieillissement. Par ailleurs, les études comparatives du vieillissement entre différentes espèces animales ont déjà apporté des informations basiques sur les différentes formes de vieillissement qui sont biologiquement possibles. Mais le choix des modèles animaux pour étudier le vieillissement humain, complexe et multifactoriel, demeure l'une des grandes préoccupations de la recherche biologique et médicale.



Jusqu'au début des années 2000, pour de nombreux gérontologistes et évolutionnistes, les animaux meurent de causes extrinsèques dans la nature (accidents, maladies, prédateurs) avant de pouvoir atteindre un âge où le vieillissement devrait s'exprimer (Williams 1957; Rose 1991; Hayflick 2000; Kirkwood et Austad 2000). Aujourd'hui, les travaux effectués depuis une dizaine d'années en laboratoire et en milieu naturel montrent que de très nombreux organismes, vertébrés et invertébrés, manifestent des signes de déclin des fonctions et de la survie avec l'âge, suggérant l'existence d'un phénomène qui correspond à la définition que nous avons donné ci-dessus du vieillissement. Ces travaux ont d'abord mis en évidence des effets de l'âge chez des vertébrés ayant des durées de vie courtes, notamment des petits mammifères comme les rongeurs, à travers diverses approches : physiologique (Languille 2012), cognitive (Picq 2007), neurologique et génétique (Flurkey *et al.* 2007; Van Remmen *et al.* 2004). Parmi les rongeurs, la souris *Mus musculus* est l'un des modèles animaux les plus utilisés pour étudier les bases moléculaires et génétiques du vieillissement. Les manipulations génétiques sur les souris ont notamment permis de prolonger ou raccourcir leur durée de vie (Chen *et al.* 2010). Récemment, des scientifiques ont même réussi à inverser le processus de vieillissement chez des souris génétiquement modifiées en bloquant puis en réactivant la production de télomérase (Jaskelioff *et al.* 2010), une enzyme qui permet de conserver la longueur du chromosome en ajoutant un télomère à chaque extrémité.

Rapidement, les recherches se sont orientées vers des modèles animaux ayant une durée de vie plus longue comme des poissons (Keller et Murtha 2004), des primates non-humains (Herbig *et al.* 2006), d'autres mammifères comme le rat-taupe (Buffenstein 2008, 2011) ou les oiseaux (Bennett et Oweens 2002; Vleck et Haussmann 2007; Ricklefs 2010).

Parmi les **poissons**, le poisson zèbre (*Danio rerio*) s'est révélé être un modèle important pour la recherche sur le vieillissement et les pathophysiologies liées à l'âge (Keller et Murtha 2004). Les études ont montré que ces poissons subissent un vieillissement « morphologique », caractérisé par une courbure rachidienne et une dégénération des muscles (Gerhard *et al.* 2002), et présentent des changements moléculaires et cellulaires avec l'âge, comme l'accumulation de lipofuscine (pigment cellulaire composé de débris moléculaire, caractéristique du vieillissement cellulaire). Ces études permettent aujourd'hui d'approfondir nos connaissances sur le vieillissement et d'envisager des thérapies réparatrices. Par ailleurs, la réussite du clonage du gène impliqué dans la maladie humaine d'Huntington (maladie se traduisant par une dégénérescence neurologique entre 40 et 50 ans provoquant d'importants troubles moteurs et cognitifs) chez le poisson zèbre, a permis de mettre en évidence



l'importance de l'implication de ce poisson pour la compréhension des pathophysiologies liées à l'âge (Karlovič *et al.* 1998).

Les **primates non-humains** représentent des modèles très pertinents pour les études sur le vieillissement chez l'homme en raison de leur rapprochement phylogénétique avec l'espèce humaine (Herbig *et al.* 2006) et de leur répertoire comportemental riche. Les macaques rhésus (*Macaca mulatta*), sont les primates les plus utilisés pour étudier le vieillissement en raison de leurs multiples ressemblances avec l'homme, notamment au niveau génétique et du vieillissement (Colman et Kemnitz 1998), mais leur longue espérance de vie (26 ans en moyenne en captivité) rend difficile les études longitudinales. En raison de sa durée de vie moins longue (8-10 ans), le singe microcèbe (*Microcebus murinus*) est apparu depuis peu comme un nouveau modèle alternatif de primate non-humain pour l'étude du vieillissement et des déclin physiologiques et comportementaux liés à l'âge. Des altérations des rythmes d'activité locomotrice ont notamment été mises en évidence chez les microcèbes âgés (Perret et Aujard 2006). En effet, chez ces derniers (âge > 5 ans), l'activité locomotrice, strictement nocturne chez l'adulte, survient en avance de phase, se fragmente et des séquences d'activité sont présentes pendant le repos diurne.

Les **rats-taupes**, quant à eux, apparaissent comme des « supers modèles » pour les recherches sur le vieillissement et la résistance aux maladies chroniques associées à l'âge (Edrey *et al.* 2011) car ce sont les rongeurs qui présentent la plus longue durée de vie (jusqu'à 30 ans) et qui, pourtant, maintiennent une activité physique normale et des fonctions reproductives et physiologiques stables durant la quasi-totalité de leur vie (80% de leur vie), sans qu'il y ait d'augmentation du taux de morbidité (nombre annuel d'individus atteints par une maladie au sein de la colonie) et de mortalité (nombre annuel d'individus morts rapporté au nombre d'individus de la colonie) qui soit associé à l'âge (Buffenstein 2008; Edrey *et al.* 2011). Ce n'est qu'au-delà de 28 ans que les individus âgés présentent des pathologies liées à l'âge.

Les **oiseaux** présentent une longévité souvent exceptionnelle comparativement aux mammifères, à taille égale, et un vieillissement lent qui ont attiré de nombreux biogérontologues. Certaines espèces de volailles domestiques et d'oiseaux en cage sont très étudiées aujourd'hui car elles représentent des modèles très prometteurs pour étudier les processus du vieillissement et leur prévention, incluant les processus biologiques neurodégénératifs, comportementaux et reproductifs (Holmes et Ottinger 2003). Les recherches s'intéressent également à des espèces d'oiseaux présentant des durées de vie



longues et vivant en liberté, comme l'albatros errant *Diomedea exulans*, pour étudier les effets de l'âge sur la physiologie et le comportement en milieu naturel (Lecomte *et al.* 2010).

Les **invertébrés** aussi manifestent des signes de déclin de leurs fonctions avec l'âge, mais les études réalisées sur le vieillissement chez les invertébrés sont venues plus tardivement que celles réalisées sur les vertébrés, sans doute parce que les invertébrés devaient paraître trop éloignés des humains d'un point de vue phylogénétique pour que l'on puisse envisager qu'ils servent d'organismes modèles et apportent des connaissances sur les vertébrés. Il était pourtant erroné de croire que les mammifères ou les oiseaux, qui présentent des durées de vie assez longues comparativement aux invertébrés, pouvaient être plus facilement atteints par le phénomène de vieillissement, car les études sur les invertébrés démontrent aujourd'hui que le vieillissement peut s'exprimer très rapidement dans la vie des individus, même s'ils ont des durées de vie courtes (Gems 2000; Gardner *et al.* 2004), comme c'est le cas du vers nématode *Strogyloides ratti*. Celui-ci présente une durée de vie très courte (15 jours maximum pour un adulte), et les études ont mis en évidence un déclin de ses fonctions physiologiques et comportementales avec l'âge (Gardner *et al.* 2004). Cette caractéristique (présence d'un vieillissement chez des invertébrés) représente désormais un avantage considérable pour étudier les mécanismes du vieillissement et des changements liés à l'âge, et une alternative à l'étude des animaux vertébrés (Ridgel et Ritzmann 2005; Grotewiel 2005; Wilson-Sanders 2011). Qu'apportent les invertébrés à la recherche et plus spécifiquement à l'étude du vieillissement ?

I.6 Un groupe modèle, les invertébrés

I.6.1 L'apport des invertébrés dans la recherche biologique et médicale

Depuis plus de 100 ans, les invertébrés servent d'organismes modèles pour la recherche médicale et les maladies. Leur utilisation a mené à de nombreuses découvertes dans presque tous les domaines de la biologie et de la médecine, depuis les processus de développement embryonnaire jusqu'aux processus de vieillissement (Wilson-Sanders 2011). Ainsi, le corpus académique compte plus de 44000 publications sur les invertébrés entre 2008 et 2010 contre 40000 entre 1963 et 1973 (Wilson-Sanders 2011), indiquant une expansion considérable des recherches sur les invertébrés au cours des 50 dernières années.

La mouche à fruit *Drosophila melanogaster* et le ver nématode *Caenorhabditis elegans* sont incontestablement les invertébrés les plus étudiés du règne animal dans les



domaines de la biologie et de la médecine. Grâce au séquençage du génome de *D. melanogaster*, aux nombreux outils génétiques et moléculaires disponibles pour le manipuler et à l'évidence d'homologies entre ses gènes et ceux présents chez les mammifères, cette mouche est devenue un excellent modèle pour l'étude de la génétique humaine et des maladies (Beckingham *et al.* 2005; Korey 2007; Gilbert 2008; Wilson-Sanders 2011). Elle a notamment servi de modèle pour la maladie d'Huntington (Chan et Bonini 2000; Sang et Jackson 2005), les maladies cardiovasculaires (Medioni *et al.* 2009), métaboliques comme le diabète et l'obésité (Baker et Thummel 2007), les désordres immunitaires (Ferrandon *et al.* 2007), les maladies infectieuses (relations hôte-virus et hôte-parasite, Bucheton 1995), ou encore le cancer (Gilbert 2008).

Caenorhabditis elegans présente aussi de nombreux avantages qui permettent d'étudier les processus biologiques et physiologiques basiques qui sont communs aux invertébrés et aux vertébrés. Malgré sa petite taille, il possède un nombre de gènes proche de celui des humains (60% à 80% de ses gènes sont communs avec les humains) et présente de nombreux parallèles avec eux, tant du point de vue génétique que moléculaire (Nass *et al.* 2001). Son anatomie est simple et son système nerveux, constitué de seulement 302 neurones, le rend entièrement « lisible », de par la possibilité d'étudier chaque neurone, ce qui en fait un des modèles principaux pour les études neurobiologiques et neurotoxicologiques (Williams *et al.* 2000). De plus, c'est un reproducteur hautement prolifique, au même titre que *D. melanogaster*, qui est facile et peu coûteux à élever en laboratoire.

D'autres invertébrés terrestres et aquatiques servent aussi d'organismes modèles. Parmi les insectes, par exemple, l'abeille *Apis mellifera* a beaucoup été étudiée. Le séquençage complet de son génome, l'étude des mécanismes neuronaux, endocriniens, ou encore comportementaux, en ont fait un excellent modèle de recherche comparable aux vertébrés (Giurfa 2003, 2007; Elekonich et Roberts 2005). Leur cerveau ayant un volume de moins de 1 mm³, il est facilement accessible pour l'étude des processus cognitifs (Giurfa 2003, 2007). De nombreux travaux ont ainsi porté sur l'étude des processus d'apprentissage, de mémoire et des traitements sensoriels des abeilles dans le cadre d'études de navigation et de fourragement, car les abeilles réalisent plusieurs parcours entre leur ruche et les fleurs dont elles recueillent le nectar et le pollen, les obligeant à mémoriser ces parcours et à répondre aux indices mémoriels (Collett 2005; Menzel 1999; Menzel et Giurfa 2006).

Les mollusques gastéropodes (*Aplysia californica*, *Lymnaea stagnalis*) et quelques mollusques céphalopodes ont, quant à eux, beaucoup servi de modèles pour les études des mécanismes neuronaux de l'apprentissage et de la mémoire (Alkon 1987; Lukowiak *et al.*



1996). Certains mollusques céphalopodes comme la pieuvre et certains crustacés ont aussi servi de modèle pour étudier la communication comportementale (Pribram 1973 ; Wilson-Sanders 2011). Les crustacés décapodes sont eux utilisés pour étudier les comportements agressifs (Barron et Robinson 2008).

Les invertébrés, dont nous venons de citer quelques exemples, sont nombreux à avoir été utilisés comme modèles d'étude et il est désormais clair qu'ils représentent une alternative de choix à l'utilisation éthique des animaux vertébrés, tant dans la recherche que dans l'enseignement (Wilson-Sanders 2011).

I.6.2 L'apport des invertébrés dans la recherche sur le vieillissement

a) Le ver nématode et la mouche à fruit : deux organismes modèles clés

Le vieillissement a été caractérisé en détail chez relativement peu d'espèces d'invertébrés. Les avancées dans le domaine de la gérologie biologique concernent surtout l'étude de la régulation génétique de la durée de vie et se sont beaucoup focalisées sur le modèle du nématode *Caenorhabditis elegans* et de la mouche à fruit *Drosophila melanogaster* (Figure 3). Ces derniers représentent aujourd'hui, avec la souris, deux des trois modèles animaux les plus utilisés pour étudier les bases moléculaires et génétiques du vieillissement, en raison de la petite taille de leur génome, de leur temps de génération court et de leur durée de vie courte (jusqu'à 20 jours pour *C. elegans* et 50 à 80 jours pour *D. melanogaster*). Faciles à manipuler génétiquement, ils permettent de créer de nombreux mutants avec des longévités plus ou moins grandes qui nous renseignent sur les "dessous génétiques" des durées de vie. Ils sont également utilisés comme modèles pour étudier certaines maladies neurologiques dégénératives associées au vieillissement comme les maladies humaines d'Alzheimer et de Parkinson (Grotewiel 2005).





Figure 3 : Principaux modèles invertébrés pour l'étude du vieillissement : *Drosophila melanogaster* (à gauche) et *Caenorhabditis elegans* (à droite).

b) Les autres organismes :

▪ *Les insectes sociaux*

Les insectes sociaux, qui regroupent les fourmis, les termites, les guêpes sociales et les abeilles sociales, présentent une très grande variabilité dans la durée de vie des individus selon leur sexe et le rang qu'ils occupent au sein de leur colonie (reine, ouvrières). Chez les fourmis par exemple, les femelles reproductrices (reines) peuvent vivre jusqu'à 30 ans, soit 500 fois plus longtemps que les mâles, 10 fois plus que les femelles non reproductrices et 100 fois plus longtemps qu'un insecte solitaire (Jemielity *et al.* 2005). En raison de cette variabilité, les chercheurs s'intéressent de plus en plus aux insectes sociaux pour étudier les causes proximales du vieillissement. Certaines études ont déjà permis d'approfondir nos connaissances sur les bases moléculaires, génétiques et cognitives du vieillissement (Keller et Jemielity 2006; Behrends *et al.* 2007). Chez les abeilles domestiques (*Apis mellifera*), les études ont mis en évidence une accumulation des groupements carbonyles sur les protéines (indices de dommages oxydatifs) avec l'âge (Seehuus *et al.* 2006a). D'autre part, la plasticité de leur durée de vie résulterait de changements hormonaux selon le travail de l'individu effectué au sein de la ruche (Seehuus *et al.* 2006b). Les études ont ainsi montré que les femelles « nurses », âgées de 8 à 200 jours, restant à l'intérieur de la ruche, présentent des niveaux faibles de dommages oxydatifs dans leur cerveau, tandis que les abeilles fourrageuses âgées de 20 à 200 jours, effectuant les tâches extérieures, montrent des niveaux élevés de dommages oxydatifs dans leur cerveau. Ceci supporte l'hypothèse que les abeilles fourrageuses vieillissent plus rapidement que les abeilles effectuant les autres tâches (Omholt *et al.* 2004).

▪ *Les mollusques*

Les mollusques bivalves apparaissent depuis peu comme des nouveaux modèles pour l'étude du vieillissement car, si certains d'entre eux ne vivent qu'un an, d'autres comme *Arctica islandica* présentent une longévité exceptionnelle (proche des 400 ans). Par ailleurs, les bivalves possèdent une coquille constituée de carbone, véritable « archive » des conditions de vie passées des animaux (Abele *et al.* 2009). Cette coquille carbonée représente une aubaine pour les biogérontologues car elle permet non seulement de déterminer l'âge



individuel des mollusques aquatiques, mais aussi d'étudier l'influence des facteurs environnementaux sur le vieillissement.

L'utilisation des mollusques a également permis d'approfondir nos connaissances sur le vieillissement neuronal, la façon dont les processus neuronaux contrôlent le comportement et d'élargir ces connaissances aux animaux vertébrés. On sait désormais que le vieillissement affecte le système nerveux central chez de nombreuses espèces d'invertébrés et de vertébrés malgré les vastes différences entre les systèmes nerveux (différences morphologiques des structures nerveuses, nombre de neurones, propriétés endogènes des neurones) et les longévités des organismes (Gower et Lamberty 1993; Yeoman et Faragher 2001; Grotewiel *et al.* 2005; Driscoll *et al.* 2006; Mery 2007). Si les mollusques sont beaucoup utilisés pour étudier le vieillissement neuronal, c'est parce que leur système nerveux est simple et constitué de grands neurones identifiables qui peuvent être isolés individuellement. Ceci représente un avantage considérable pour examiner directement les effets de l'âge sur des neurones spécifiquement identifiés. Les premiers travaux effectués dans les années 80 sur une population d'escargots d'étang *Lymnaea stagnalis* ont montré que l'âge entraînait des changements marquants dans la structure et les propriétés endogènes des neurones (Folkis *et al.* 1984). Depuis, d'autres travaux effectués sur les mollusques *Lymnaea stagnalis* et *Aplysia californica*, ont confirmé ces résultats préliminaires et montré que le vieillissement agissait au niveau des neurones en altérant l'efficacité de leurs connexions avec leurs cellules cibles et la transmission des signaux, allant même parfois jusqu'à entraîner la mort cellulaire (Yeoman et Faragher 2001). Ces changements neuronaux présentent de grandes similitudes avec ceux qui apparaissent dans le système nerveux des mammifères quand ils vieillissent.

Le comportement résulte en grande partie du fonctionnement du système nerveux central et par conséquent, les déclin comportementaux qui apparaissent avec le vieillissement nous renseignent sur certains dysfonctionnements neuronaux et physiologiques de l'organisme avec l'âge. Les déclin des fonctions comportementales qui accompagnent le vieillissement doivent donc être pris en considération pour comprendre l'ensemble des mécanismes proximaux du vieillissement.

I.6.3 Vieillessement et comportement chez les invertébrés

Même si, depuis quelques années, les recherches sur le vieillissement chez les invertébrés s'intéressent aux déclin comportementaux, elles demeurent peu nombreuses



(Carey *et al.* 2006). Ces recherches se sont beaucoup intéressées aux effets de l'âge sur le déclin progressif de la fonction motrice. Il y a plusieurs raisons à cela : tout d'abord l'activité locomotrice témoigne de l'activité fonctionnelle du système nerveux, ensuite car la locomotion est une caractéristique intégrative qui est exigée directement ou indirectement pour la réalisation de presque tous les comportements (Lliadi et Boulianne 2010), et enfin, parce que le vieillissement humain et animal, de même que beaucoup de maladies humaines liées au vieillissement, s'accompagne souvent d'un déficit de la mobilité (Glenn *et al.* 2004).

Ces conséquences du déclin de la fonction motrice au cours du vieillissement sur la santé des individus ont amené les biologistes à approfondir les études comportementales liées à l'âge sur les invertébrés, notamment sur la mouche *D. melanogaster* car de nombreux changements comportementaux associés au vieillissement chez les humains, incluant la mobilité, la sensibilité olfactive, la mémoire et le rythme circadien, s'observent aussi chez *D. melanogaster* (Grotewiel *et al.* 2005).

a) Vieillesse et activité motrice

Il existe un certain nombre de comportements locomoteurs qui ont pu être identifiés et étudiés en lien avec le vieillissement chez *D. melanogaster*, incluant la locomotion spontanée ou activité exploratoire, le vol et la géotaxie négative. Le comportement locomoteur qui est le plus fréquemment étudié est la locomotion spontanée. Elle se mesure souvent par le mouvement des mouches dans une arène, le toilettage, la marche ou l'escalade de supports pendant une période donnée (Ridgel et Ritzmann 2005). Les études montrent que la distance parcourue par les mouches adultes dans une arène pendant un temps donné pour explorer leur environnement diminue avec l'âge (Grotewiel *et al.* 2005; Ridgel et Ritzmann 2005; Simon *et al.* 2006; Lliadi et Boulianne 2010). Cette diminution de la locomotion spontanée s'observe aussi chez d'autres insectes comme la blatte *Blaberus discoidalis*, dont la vitesse de déplacement décline également avec le vieillissement (Ridgel et Ritzmann 2005).

Les autres comportements (l'habileté à voler et la géotaxie négative) de même que la phototaxie rapide (l'habileté des mouches à se déplacer autour d'une source lumineuse quand elles sont mécaniquement stimulées), tous liés à l'activité motrice, déclinent aussi avec l'âge des mouches adultes. La géotaxie négative est une réponse comportementale innée de fuite souvent étudiée que les mouches manifestent quand elles sont effrayées (Helfand et Rogina 2000; Grotewiel *et al.* 2005). Pour étudier ce comportement, les scientifiques placent les mouches dans un cylindre, puis après une période de rétablissement, ils frappent le bas du



cylindre provoquant une réaction de fuite des mouches vers le haut du cylindre et mesurent leur vitesse d'évasion. Tandis que les jeunes mouches manifestent une forte géotaxie négative, ce comportement décline avec l'âge (Gargano *et al.* 2005). Plusieurs études suggèrent qu'il pourrait y avoir des liens entre les déficiences locomotrices liées au vieillissement des mouches et leur durée de vie. En effet, la plupart des études concernant les fonctions locomotrices selon l'âge et la durée de vie des mouches a montré que des individus manipulés génétiquement pour prolonger leur durée de vie avaient des déficiences de la mobilité retardées.

Les vers nématodes *Caenorhabditis elegans* et *Strogyloides ratti* présentent aussi des changements de mobilité associés au vieillissement. Leurs mouvements diminuent avec l'âge, même quand il s'agit d'organismes ayant une durée de vie très courte comme *Strogyloides ratti* (jusqu'à 15 jours) (Gems 2000; Gardner *et al.* 2004).

La locomotion n'est pas le seul comportement à être touché par le vieillissement. D'autres déficits comportementaux peuvent apparaître avec l'âge, incluant l'olfaction, l'apprentissage et la mémoire, l'activité sexuelle, les rythmes circadiens et non circadiens et les activités de fourragement (Tableau 1).

b) Vieillesse et réactivité olfactive, apprentissage et mémoire

Chez les humains, le vieillissement s'accompagne de déficits olfactifs qui nuisent à la qualité de vie des personnes (discrimination des aliments) et peuvent parfois même s'avérer dangereux (impossibilité de détecter l'odeur de gaz par exemple) (Doty 1984). Les scientifiques se sont donc intéressés à l'effet du vieillissement sur la réactivité des insectes aux odeurs. Chez *D. melanogaster*, certaines odeurs attirent naturellement les mouches tandis que d'autres les repoussent. Des études ont montré que la détection d'odeurs répulsives en forte concentration et d'odeurs attractives en faible concentration diminuait avec l'âge des mouches (Grotewiel 2005).

Les abeilles ont été utilisées comme modèle pour étudier les effets de l'âge sur l'apprentissage et la mémoire. Chez ces insectes sociaux qui réalisent différentes tâches successives tout au long de leur vie, l'olfaction et les processus d'apprentissage olfactif sont indispensables pour les guider dans leurs tâches à l'intérieur et à l'extérieur de la ruche. (Laloi *et al.* 2001). Au laboratoire, des expériences ont permis de tester l'apprentissage olfactif des abeilles avec l'âge. Elles ont mis en évidence une réduction de l'acquisition de la mémoire olfactive chez les abeilles après 15 jours de fourragement, en comparaison aux jeunes abeilles



qui exécutent les tâches à l'intérieur de la ruche (Behrends *et al.* 2007; Scheiner et Amdam 2009), et ont montré que les performances d'apprentissage sont plus variables chez les abeilles âgées fourrageuses que chez les jeunes. Ces études ont également montré que les performances d'apprentissage olfactif et spatial étaient corrélées et donc que des faibles performances d'apprentissage pouvaient entraîner une perturbation spatiale (retour à une ancienne ruche abandonnée) (Münch *et al.* 2010).

Chez les blattes, des études comportementales similaires, mais portant sur les variations des performances d'apprentissage visuel avec l'âge, ont mis en évidence un déclin de ces performances chez les individus âgés (Brown et Strausfeld 2009).

c) Vieillissement et activité sexuelle

Même si les chercheurs énoncent souvent l'influence de la reproduction sur la durée de vie des invertébrés (Maklakov *et al.* 2007), les études montrent qu'à l'inverse, également, l'âge affecte les performances reproductives et le comportement d'accouplement (Pervez *et al.* 2004; Hu et Morse 2004; Amin *et al.* 2012). Chez la mouche à fruit *Drosophila melanogaster*, les mâles peuvent s'accoupler plusieurs fois en une seule journée et cette activité sexuelle diminue avec l'âge des mouches. Par ailleurs, le succès de l'accouplement des mâles diminue à partir de 4 semaines et la latence d'accouplement (le temps entre la stimulation pour la reproduction et l'accouplement) augmente chez les mâles âgés (Grotewiel 2005). Cette augmentation de la latence d'accouplement avec l'âge s'observe également chez les bourdons de l'espèce *Bombus terrestris* (Amin *et al.* 2012). Chez l'araignée crabe de l'espèce *Misumena vatia*, une étude a montré que lorsque deux mâles d'âges différents se rencontrent et rivalisent pour obtenir l'accès à une femelle, les mâles âgés engagent moins de comportements agressifs tactiles (morsures, coups) que les jeunes et remportent moins souvent la compétition (70,2% de combats remportés par les jeunes contre 29,8 % par les araignées âgées) (Hu et Morse 2004). Le succès d'accouplement des araignées crabes mâles diminue donc avec l'âge.

d) Vieillissement et activité circadienne

Un rythme circadien est un rythme biologique interne de 24 heures environ présent chez la plupart des animaux, dont les invertébrés. Il permet d'organiser le comportement et la physiologie pour adapter le corps aux changements environnementaux d'une journée et



comprend notamment des états de veille et de repos (Allada et Chung 2010). Le rythme circadien de la mouche à fruit *D. melanogaster* peut être évalué en contrôlant son comportement locomoteur et les études réalisées en laboratoire ont pu montrer que les mouches présentaient deux pics d'activité locomotrice dans une journée (alternant 12 heures de jours et 12 heures de nuit): un pic d'activité juste avant que la lumière s'allume et l'autre avant que la lumière s'éteigne. Des études ont montré qu'un délai de 3 heures apparaissait dans le pic d'activité du comportement locomoteur spontané chez les mouches âgées (Grotewiel 2005). Le rythme du comportement locomoteur spontané et plus généralement le rythme circadien décline donc quand les mouches vieillissent.

Indépendamment du rythme circadien, des études démontrent que des arthropodes comme le blatte et la mouche à fruit, présentent un comportement de "repos" qui semble essentiel pour leur viabilité (Stephenson *et al.* 2007). Chez la mouche *D. melanogaster*, ce comportement se caractérise, comme chez les mammifères, par une réactivité réduite, des périodes de tranquillité accrues après une privation de sommeil et des réponses prévisibles aux stimulants et hypnotiques (Jones et Grotewiel 2011). Ces études ont montré que comme chez les mammifères, la durée de sommeil diminuait avec l'âge des mouches et que le sommeil était plus fragmenté chez les mouches âgées (Koh *et al.* 2006).

e) Vieillesse et activité de fourragement

Le vieillissement peut s'accompagner d'un déclin de la prise alimentaire ou de la recherche de nourriture. Il a été mis en évidence que le comportement de recherche alimentaire et/ou de consommation de nourriture diminuait chez des arthropodes (abeilles, araignées), chez des mollusques et chez certains vers nématodes (Tableau 1).

Chez l'abeille *Apis mellifera*, l'activité de collecte de nourriture diminue avec l'âge des abeilles fourrageuses (Tofilsky 2000; Behrends *et al.* 2007). Cette réduction de la performance de fourragement s'observe dès le cinquième jour de butinage.

Chez le mollusque *Lymnaea stagnalis*, escargot pulmoné d'eau douce, le vieillissement s'associe à une diminution de 50% de la consommation de nourriture, et d'une augmentation de la durée de déglutition (Arundell *et al.* 2006).

Chez les nématodes *C. elegans* et *S. ratti*, le régime alimentaire se compose de bactéries (*Escherichia coli*), ingérées par pompage au niveau du pharynx. Les études montrent que les taux de pompage des bactéries par le pharynx, donc d'ingestion alimentaire, diminuent avec l'âge des vers (Gardner 2004, 2006).



L'activité de fourragement diminue aussi pour les araignées de l'espèce *Lycosa tarentula* âgées de deux ans, comparativement aux individus âgés de un an (Moya-Larano 2002).

Le tableau 1 présente une synthèse des études énoncées ci-dessus sur le vieillissement comportemental chez les invertébrés. La lecture de ce tableau permet de souligner que les arthropodes sont très bien représentés dans ces études et que le déclin des comportements chez les organismes âgés semble le plus apparent pour des activités énergiquement coûteuses comme la motricité. Elle permet aussi de mettre en évidence, d'un point de vue général, la pauvreté du nombre d'études portant sur le comportement des invertébrés en fonction de l'âge.

Bien que les recherches comportementales sur le vieillissement chez les humains aient reçu une attention considérable dans la littérature gériatrique (Bergeman et Plomin 1996; Derenne et Barron 2002; Gray et Garcia 2012), les études comportementales sur le vieillissement chez les animaux et plus particulièrement les invertébrés, n'en sont qu'à leur début. Pourtant comme nous l'avons vu, les invertébrés ont permis d'approfondir nos connaissances sur les mécanismes sous-jacents du vieillissement et ont montré qu'ils peuvent servir de modèles pour leurs homologues vertébrés. La présente thèse s'inscrit dans la volonté d'approfondir les recherches comportementales sur le vieillissement chez les invertébrés. Dans ce but, la recherche de nouveaux modèles invertébrés permettant d'appréhender les effets du vieillissement sur le comportement peut être profitable.



Tableau 1. Effets du vieillissement sur le comportement chez les invertébrés.

Groupe d'invertébrés	Espèce	Fonction	Principaux effets de l'âge sur le comportement	Référence
ARTHROPODES				
Insectes				
Drosophilidae (mouches)	<i>Drosophila melanogaster</i>	Activité exploratoire	diminution du temps d'exploration de l'environnement	Le Bourg 1983, 1987; Grotewiel <i>et al.</i> 2005; Ridgel et Ritzmann 2005; Simon <i>et al.</i> 2006; Lliadi et Boulianne 2010
			les mouches se déplacent moins loin	Le Bourg et Minois 1999
		Vol	durée de vol libre plus courte	Leffelaar et Grigliatti 1984; Grotewiel <i>et al.</i> 2005
		Géotaxie négative	diminution de l'habileté à grimper pour s'échapper	Gargano <i>et al.</i> 2005; Grotewiel <i>et al.</i> 2005
			diminution de l'activité motrice	Murakami et Murakami 2005
		Phototaxie	diminution de la capacité d'exécution de la phototaxie	Leffelaar et Grigliatti 1984; Grotewiel <i>et al.</i> 2005
		Olfaction	réduction de la puissance d'aversion et d'attraction naturelle aux odeurs	Cook-Wiens et Grotewiel 2002; Grotewiel <i>et al.</i> 2005
		Rythme circadien	déclin de la rythmicité de l'activité locomotrice	Driver 2000; Grotewiel <i>et al.</i> 2005
		Repos non circadien	diminution de la durée de sommeil la nuit et augmentation de la fragmentation du sommeil	Shaw <i>et al.</i> 2000; Grotewiel <i>et al.</i> 2005; Jones et Grotewiel 2011
		Activité sexuelle	diminution de l'activité sexuelle et du comportement reproducteur	Economos <i>et al.</i> 1979; Grotewiel <i>et al.</i> 2005



Apidae (abeilles)	<i>Apis mellifera</i>	Alimentation	diminution de l'efficacité de fourragement	Tofilsky 2000
		Locomotion	réduction de l'activité de fourragement	Tofilsky 2000
		Apprentissage et mémoire olfactive	diminution de la performance d'acquisition de la mémoire olfactive	Behrends <i>et al.</i> 2007; Scheiner et Amdam 2009; Münch <i>et al.</i> 2010
Apidae (bourdons)	<i>Bombus terrestris</i>	Accouplement	augmentation de la latence d'accouplement	Amin <i>et al.</i> 2012
Blaberidae (blattes)	<i>Blaberus discoidalis</i> ; <i>Periplaneta americana</i>	Locomotion	diminution de l'activité locomotrice	Ridgel 2003
	<i>Periplaneta americana</i>	Apprentissage et mémoire visuelle	déclin des performances d'apprentissage visuel	Brown et Strausfeld 2009
Arachnides				
Lycosidae (araignées)	<i>Lycosa tarentula</i>	Locomotion	diminution de l'activité de fourragement	Moya-Larano 2002
Thomisidae (araignées)	<i>Misumena vatia</i>	Accouplement	diminution de l'agressivité des mâles âgés lors de combats avec des mâles plus jeunes pour l'accès aux femelles et diminution du succès d'accouplement	Hu et Morse 2004



MOLLUSQUES				
Gastéropodes				
Lymnaeidae (escargot)	<i>Lymnea stagnalis</i>	Alimentation	diminution de la consommation alimentaire à long terme	Arundell <i>et al.</i> 2006
NEMATODES				
Secernentea				
Rhabditidae (ver rond)	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Alimentation	diminution de la consommation alimentaire	Kenyon <i>et al.</i> 1993; Collins <i>et al.</i> 2008
		Locomotion	réduction du mouvement du corps	Gems 2000; Collins <i>et al.</i> 2008
Strongyloididae (ver rond)	<i>Strongyloides ratti</i>	Alimentation	déclin de la consommation alimentaire	Gardner <i>et al.</i> 2004
		Locomotion	réduction du mouvement du corps	Gardner <i>et al.</i> 2004



II. L'ARAIGNEE ET SA TOILE GEOMETRIQUE COMME MODELE POUR L'ETUDE DU VIEILLISSEMENT

La principale caractéristique des araignées est certainement leur capacité à produire de la soie tout au long de leur vie. Les araignées se servent de leur soie pour construire des abris, communiquer avec le sexe opposé lors de la période de reproduction, construire leurs cocons, mais la fonction de la soie la mieux connue est évidemment celle d'être utilisée par l'araignée pour construire des toiles, véritables pièges dont l'architecture va de simple lignes à des structures complexes pouvant être d'une grande régularité géométrique.

II.1 Les différents types de toiles

Il existe une grande diversité dans les types de toiles d'araignées mais globalement, ces différents types peuvent être répertoriés en quatre grandes catégories de toiles : les toiles tubulaires, les toiles "en nappes", les toiles en réseaux et les toiles orbitales (Foelix 2011, Herberstein 2011).

▪ *Les toiles tubulaires*

L'élément principal de ce type de toile est un tube de soie (retraite) dans lequel l'araignée se cache pour attraper les proies qui passent devant (Figure 4). Ce tube peut être construit dans un terrier dans le sol ou dans une cavité d'arbre et s'étend au dehors par des réseaux de fils de soies enchevêtrés ou des lignes radiales (Foelix 2011). Les araignées de la famille des Liphistiidae ou Segestriidae construisent des toiles tubulaires.

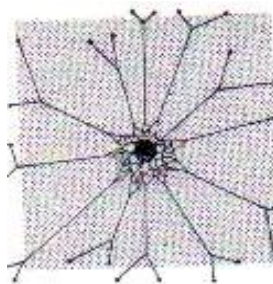


Figure 4. Dessin d'une toile tubulaire d'une araignée du genre *Segestria* (Segestriidae) (Foelix 2011).



- *Les toiles en réseaux*

Les toiles en réseaux, que construisent par exemple les Pholcidae et la plupart des Théridiidae, sont constituées d'un enchevêtrement de fils de soie non collants, souvent irrégulier et sans ordre apparent (Figure 5) (Foelix 2011).

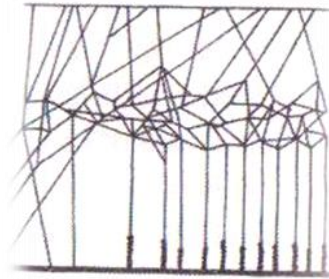


Figure 5. Dessin d'une toile en réseaux d'une araignée du genre *Steatoda* (Théridiidae) (Foelix, 2011).

- *Les toiles "en nappes"*

La structure générale des toiles en nappe ressemble à un tapis de soie dense horizontal (Figure 6), avec l'araignée qui se situe au-dessus ou en dessous du tapis, selon les familles d'araignées, et les détails de structure des toiles et le comportement des araignées diffèrent selon les familles. Les Agelenidae, par exemple, construisent des toiles aériennes en nappe en forme d'entonnoir renversé se terminant par un refuge tubulaire en soie (retraite) au centre ou en coin, dans lequel l'araignée réside. La proie tombe sur le tapis et est attaquée par l'araignée qui sort de sa retraite (Vollrath et Selden 2007). Les Linyphiidae construisent des toiles en nappes horizontales convexes suspendues par des fils verticaux. L'entrecroisement des fils de soie non collante qui constituent ces toiles en forme de hamac renversé bloque les proies qui s'y aventurent en marchant, tombant ou sautant dessus. L'araignée qui se tient sous la toile, tête en bas, capture la proie au travers de la soie fine de la toile et répare la toile après la capture (Herberstein 2011).

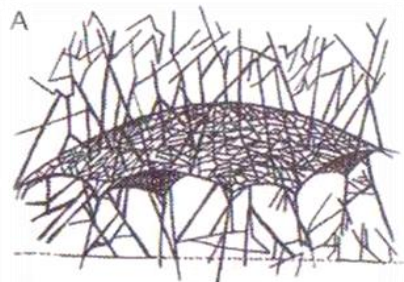


Figure 6. Dessin d'une toile en nappe d'une araignée du genre *Lynipha* (Linyphiidae) (Foelix 2011).



▪ Les toiles orbitèles

Il existe plus de 4200 espèces d'araignées orbitèles connues à ce jour, réparties en quatre familles principales : les Uloboridae, les Araneidae, les Tetragnathidae et les Nephilidae (Heiling et Herberstein 2000). Les toiles orbitèles (géométriques) sont composées de plusieurs types de soie produits par différentes glandes séricigènes situées dans la partie postérieure de l'abdomen (Foelix 2011). Ces toiles sont généralement suspendues dans la végétation et constituées d'un cadre porteur, de rayons et d'une spirale de capture (Figure 7). Tandis que le cadre et les rayons sont toujours faits de soie sèche et non collante, la spirale peut être faite en soie sèche dite « cribellate » (soie émise à travers un organe particulier, le cribellum, que possèdent certaines espèces d'araignées), comme c'est le cas des Uloboridae, ou elle peut être faite de soie collante, comme c'est le cas pour les Araneidae ou les Tetragnathidae. Pour capturer les proies, l'araignée se tient à l'affût au centre de la toile ou dans une retraite en dehors de celle-ci.

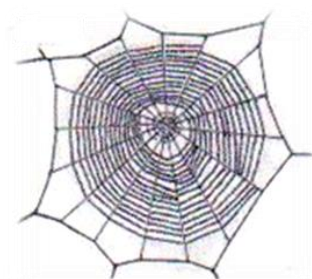


Figure 7. Dessin d'une toile orbitèle d'une araignée du genre *Araneus* (Araneidae) (Foelix 2011).

Parmi la très grande diversité des types de toiles d'araignées qui constituent les quatre grands groupes que nous venons brièvement de décrire, les toiles orbitèles représentent le type de toile le mieux connu (Foelix 2011; Herberstein 2011). Elles sont les toiles les plus accessibles analytiquement et jusqu'à présent, elles ont fourni les ensembles de données les plus importants pour l'analyse de la fonction et de la structure (Vollrath 1992; Zschokke et Vollrath 1995a, b; Pasquet et al. 1999; Hesselberg 2010; Barrantes et Eberhard 2012; Eberhard et Hesselberg 2012). De plus, la géométrie des toiles orbitèle est plus facile à observer, à photographier, à filmer et à obtenir en laboratoire par les araignées que les autres structures qui sont souvent entièrement intégrées dans la végétation (Vollrath et Selden 2007). Par ailleurs, nous allons voir que pour construire une toile orbitèle, l'araignée réalise une succession complexe de comportements organisés et répétés, combinant orientation dans l'espace et manipulation de la soie. Par conséquent, la toile représente une partie intégrante du comportement de l'araignée.



II.2 La construction de la toile orbitèle

La construction d'une toile suit toujours trois phases distinctes décrites dans la littérature scientifique (Le Guelte 1966; Ramousse 1988; Vollrath 1992; Foelix 2011) que nous allons brièvement rappeler : (1) la construction du cadre et des rayons; (2) la construction de la spirale auxiliaire; (3) la construction de la spirale définitive.

(1) La construction du cadre et des rayons

L'araignée débute la construction de sa toile en tendant un pont soyeux horizontal entre deux supports (Figure 8A). Puis, partant de ce pont, elle tend verticalement un deuxième fil de soie en l'étirant vers le bas jusqu'à pouvoir l'accrocher à une surface (Figure 8B-C). Elle forme ainsi une structure en Y dont l'intersection des branches constitue le "centre" géométrique de la toile, appelé moyeu. Elle construit ensuite des fils qui délimitent l'espace occupé par la toile, appelés « fils de cadre », et les rayons qui partent des fils de cadre et convergent tous vers le moyeu. La construction des premiers rayons se fait en même temps que celle des fils de cadre (Zschokke 1999) : l'araignée marche sur les branches du Y en produisant toujours des nouveaux fils de soie, doublant ainsi les fils qui constituent les branches de la structure de base en Y. Puis, choisissant un point sur ces nouveaux fils, elle les attache par ce point à des fils qu'elle a déposés préalablement autour de la toile durant la phase exploratoire du milieu, ou directement sur le support (cadre) qui délimite la toile, créant ainsi à la fois des rayons et des fils de cadre (Figure 8D-E).

La construction des derniers rayons se fait après celle du cadre et constitue le remplissage des espaces libres. Pour placer ces rayons, aussitôt que l'un des derniers rayons est construit et que l'araignée revient au moyeu, elle tire brièvement sur tous les rayons avec ses premières pattes (Figure 8F). Ce comportement lui permettrait d'évaluer les angles entre les rayons pour poser les derniers rayons (Reed *et al.* 1965; Vollrath et Norgaard. 2000). Dans une toile orbitèle d'*Araneus diadematus* qui compte entre 20 et 30 rayons, les angles entre les rayons sont constants et mesurent normalement 15°.

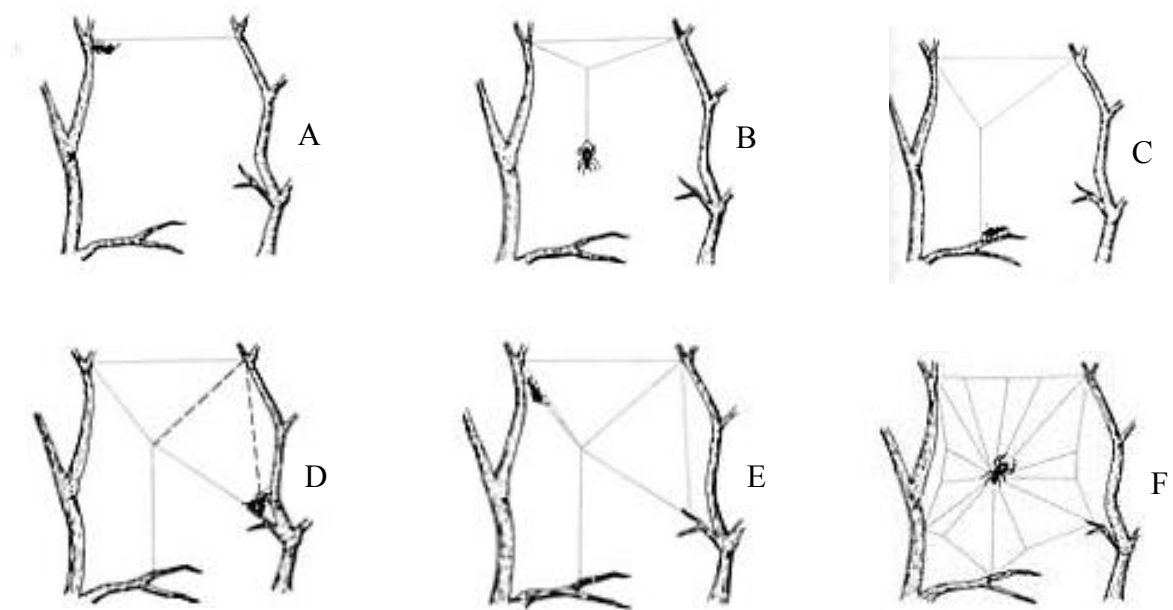


Figure 8. Schéma représentant les différentes étapes de construction du cadre et des rayons d'une toile orbitèle. Source : http://ethologie.unige.ch/etho2.03/par.date/2003_11_14.htm

(2) La construction de la spirale auxiliaire

Après la pose d'un rayon, l'araignée retourne au moyeu. A mesure que le nombre de rayons augmente, elle effectue petit à petit une rotation autour du moyeu, du centre vers la périphérie, en posant un fil de soie sèche. C'est également en tournant de la sorte autour du moyeu que l'araignée « mesure » les distances entre les rayons déjà posés et « estimera » les espaces vides à combler par la pose des derniers rayons (Le Guelte 1966). Le pas de cette spirale centrifuge augmente quand la pose des rayons est terminée et amène l'animal à la périphérie de la structure réalisée (Figure 9). Cette construction, appelée spirale auxiliaire ou provisoire, est le « fil conducteur », que l'araignée utilise ensuite pour construire sa spirale définitive, et sera détruite lors de la pose de celle-ci (Figure 9).



Figure 9. Schéma représentant la construction de la spirale auxiliaire d'une toile orbitèle. Source : http://ethologie.unige.ch/etho2.03/par.date/2003_11_14.htm

(3) La construction de la spirale définitive

La spirale définitive, construite de manière centripète, est aussi appelée spirale de capture ou spirale collante en raison des nombreuses gouttelettes de glu microscopiques qui la constituent (Kropf *et al.* 2011; Sensenig *et al.* 2011). Pour la construire, l'araignée orbitèle utilise la spirale provisoire qu'elle vient de poser comme ligne de guide et la sectionne au fur et à mesure de sa progression (Zschokke 2011). Elle dépose alors une succession de segments de soie en ligne, chacun attaché à deux rayons successifs. Chaque segment de soie entre deux rayons est appelé une "unité de spirale", l'ensemble de toutes ces unités reliées les unes aux autres en ligne constituant la spirale définitive (Figure 10). Au départ, quand elle pose les premières unités de spirale en périphérie de la toile, l'espace entre deux rayons est parfois trop important pour que l'araignée puisse passer directement d'un rayon à l'autre. Dans ce cas, elle remonte le long d'un rayon pour atteindre la spirale provisoire et franchir cet espace, puis redescend le long du rayon suivant pour y fixer son fil de soie collant qu'elle a traîné derrière elle pendant son cheminement. Près du moyeu, en revanche, la proximité des rayons lui permet de passer d'un rayon à l'autre sans faire de détour.

La pose de la spirale définitive, qui commence souvent par un mouvement pendulaire dans la partie inférieure de la toile, formant ainsi souvent des tours en « U », se termine généralement en réalisant des tours complets autour du moyeu, comme c'est le cas chez l'araignée *Araneus diadematus* (Zschokke 2011). La construction de la spirale définitive, bien que centripète, se termine légèrement avant le moyeu, laissant un espace ouvert entre elle et le moyeu.



Figure 10. Schéma représentant la construction de la spirale définitive (de capture) d'une toile orbitèle. Source : http://ethologie.unige.ch/etho2.03/par.date/2003_11_14.htm

Chez certaines espèces d'araignées orbitèles, les trois phases de construction d'une toile sont les mêmes que celles que nous venons d'énoncer, mais l'existence d'une retraite reliée à la toile en modifie la structure (Zschokke 2000). Cette retraite est une structure conique et souvent ouverte aux deux extrémités, que l'araignée construit avant même de commencer la construction de sa toile et qui lui sert de refuge. Elle est constituée d'un entrelacement de fils de soies non adhésifs et peut se situer ou non dans le même plan que celui de la toile. Dans la nature, elle se situe souvent sous une feuille, derrière une écorce ou dans le coin des fenêtres.

La construction de la toile chez les araignées qui ont une retraite commence par la mise en place d'un fil de soie horizontal partant de la retraite. Elle se poursuit ensuite selon le même schéma de construction en trois étapes que nous venons de décrire, mais diffère souvent, durant la mise en place de la spirale définitive ou à la fin de sa construction, par la mise en place d'un secteur libre d'unités de spirale qui est traversé par un fil « avertisseur » reliant le moyeu à la retraite (Zschokke 2000; Foelix 2011). Dans ce cas, le secteur libre est construit par l'araignée lors de la pose de la spirale définitive, après qu'elle ait rempli la partie inférieure de la toile par les spirales pendulaires. L'araignée peut, soit finir sa spirale collante en effectuant des retours au niveau des deux rayons situés de chaque côté du rayon qui deviendra le fil avertisseur, délimitant ainsi une zone libre d'unités de spirale, soit, comme chez les autres espèces, la finir en tournant autour du moyeu (Berland 1927; Le Guelte 1966). Dans ce dernier cas, lorsqu'elle remonte à sa retraite, l'araignée sectionne les unités de spirale posées sur le rayon qui joint le moyeu à la retraite, encadrant ainsi ce fil avertisseur d'une zone sans unités de spirale : le secteur libre.



II.3 Variabilité de la toile géométrique

A la fin de sa construction, la toile orbitèle est une structure géométrique d'une apparente régularité. Il est en effet possible de parler de "régularité" pour une toile géométrique car, par définition, une structure géométrique régulière, comme un polymère, est constituée d'unités répétitives identiques reliées entre elles de la même manière et dont la forme se caractérise par l'harmonie, l'équilibre et la symétrie (définition du dictionnaire Larousse 2012). Or, une toile orbitèle peut aussi être considérée comme une structure géométrique dont les unités répétitives, reliées entre elles de la même façon, sont représentées par les rayons et les unités de spirale. Pourtant, bien qu'elles ont une structure géométrique régulière, les toiles orbitèles présentent des variations qui peuvent concerner leur taille (aire de la spirale de capture), leur forme (symétrique/asymétrique) et leur structure (nombre et distances entre les rayons et les unités de spirale de capture, longueur de la spirale de capture, voir figure 17 dans le chapitre « matériel et méthodes ») (Heiling et Herberstein 2000; Herberstein 2011), et qui sont influencées par un ensemble de facteurs ontogénétiques, biotiques et abiotiques associés à l'araignée et à son environnement.

Pour construire une toile, l'araignée réalise une succession complexe de comportements répétés dans le temps (Vollrath 1992) et la structure finale représente donc une partie intégrante du comportement de l'araignée. Par conséquent, les variations dans la structure des toiles reflètent les variations du comportement de construction des araignées. Il fut suggéré que la construction d'une toile géométrique était limitée à des « patterns comportementaux » génétiquement contrôlés suggérant que les variations observées sur les toiles n'existaient qu'à l'échelle des espèces (variation interspécifique) (Levi 1978). Mais il a été depuis clairement démontré que ces variations s'observent aussi entre individus d'une même espèce (variation intra-spécifique et inter-individuelle) et pour un même individu au cours du temps, voire même d'une construction de toile à l'autre (variation intra-individuelle) (Heiling et Herberstein 2000; Herberstein 2011).

L'effet du vieillissement sur la structure de la toile étant étudié dans la présente thèse chez une même espèce d'araignée, nous ne traiterons ici que de la variabilité de la toile à l'échelle intra spécifique, pour un même individu et entre des individus différents.



II.3.1 Variabilité ontogénétique du comportement de construction de la toile

Au sein d'une même espèce, les toiles construites par des araignées immatures ressemblent, dans leur forme et leur structure globale, aux toiles des araignées adultes. Pourtant, des différences apparaissent dans l'architecture des toiles et traduisent les changements de la toile au cours de l'ontogénèse de l'araignée (son histoire de vie). Ces changements ontogénétiques ont été identifiés dans la plupart des familles d'araignées orbitèles (Hesselberg 2010).

La première toile orbitèle tissée par une araignée immature, après sa sortie du cocon, est une structure géométrique miniature de forme circulaire et déjà très régulière (Foelix 2011). Au cours de son développement, lorsque sa taille et son poids croissent, l'araignée augmente la quantité de soie qu'elle investit dans la construction de ses toiles qui, de ce fait, sont considérablement plus grandes quand elle atteint l'âge adulte (Heiling et Herberstein 1998, 2000; Sensenig *et al.* 2010; Herberstein 2011). Cette augmentation de la taille des toiles s'accompagne souvent de changements structuraux comme l'augmentation du nombre de spirales et de rayons incorporés (Zschokke 1999), des distances entre les unités de spirale de capture (Heiling et Herberstein 1998) ou l'extension asymétrique de la partie basse des toiles. En effet chez certaines espèces, les toiles tissées à l'âge adulte gardent une forme circulaire et relativement symétrique, comme c'est le cas pour l'araignée *Cyclosa confusa* (Nakata et Zschokke 2010), alors que, pour la plupart des espèces d'Araneidae comme *Araneus diadematus*, *Neoscona oaxacensis* ou encore *Zygiella x-notata*, les toiles des araignées adultes présentent une asymétrie, parfois très prononcée, entre l'aire de capture située au-dessus du moyeu (la partie haute de la toile) et celle située sous le moyeu (la partie basse de la toile) (Herberstein et Heiling 1999). Pour la majorité des espèces qui présentent cette asymétrie dans la toile, l'aire de capture située sous le moyeu est plus grande et contient plus de tours de spirale que l'aire située au-dessus du moyeu (Heiling et Herberstein 2000). Pour d'autres espèces comme l'araignée *Cyclosa ginnaga*, c'est l'aire située au-dessus du moyeu qui est plus grande que la partie basse de la toile mais ces cas restent relativement rares (Nakata et Zschokke 2010).

Même si les études sont nombreuses à avoir montré que la taille et l'asymétrie des toiles augmentaient avec la taille du corps de l'araignée au cours de son développement (largeur du thorax, longueur du corps, longueur des pattes) (Eberhard 1988; Higgins et Buskirk 1992; Heiling et Herberstein 1998, 2000; Nakata et Zschokke 2010) et sa masse



(Eberhard 1988; Herberstein et Heiling 1999; Venner *et al.* 2006), les études semblent aujourd'hui s'accorder sur le fait que les différences de poids de l'araignée expliqueraient mieux les différences de taille et d'asymétrie de la toile que la taille du corps et/ou des différentes parties du corps de l'araignée (Kunter *et al.* 2010).

II.3.2 Facteurs biotiques et abiotiques influençant la variabilité d'une toile

La variabilité de la toile est influencée par un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques qui sont associés à l'araignée et à son environnement. L'ensemble de ces facteurs est résumé dans le tableau 2.

(a) Facteurs biotiques (tableau 2a) : Les facteurs biotiques peuvent être eux-mêmes associés à l'araignée ou à son environnement. Les facteurs associés à l'araignée concernent sa morphologie (taille et poids, abordés dans la section précédente, longueur des pattes), son état nutritionnel, son état reproductif (mature ou non, fécondé ou non), la quantité de soie disponible et son expérience ; les facteurs biotiques associés à l'environnement de l'araignée concernent l'abondance et le type de proies disponibles, et la présence de prédateurs, de cleptoparasites ou de conspécifiques (**tableau 2**).

Facteurs biotiques associés à l'araignée

- *Longueur des pattes :* Les pattes des araignées orbitales sont d'une importance considérable lors de la construction d'une toile, car l'araignée les utilise comme de véritables outils de mesure d'angles entre les rayons et de distances entre les tours de spirales et les rayons, notamment lors de la construction des rayons et de la spirale de capture (Vollrath 1992; Krink et Vollrath 1997; Pasquet *et al.* 2011; Toscani *et al.* 2012). Au cours de leur vie, les araignées peuvent perdre une, voire plusieurs pattes. Si cette perte survient pendant le stade juvénile de l'araignée, la patte peut, chez certaines espèces, se régénérer à la mue suivante mais, dans ce cas, elle ne mesurera que la moitié d'une patte normale (Vollrath 1992). Quand la perte a lieu pendant le stade adulte de l'araignée, la régénération est impossible. Des études ont montré que l'araignée *Araneus diadematus* possédant une patte antérieure régénérée, donc plus courte que la normale, modifiait la structure de sa toile en diminuant notamment les distances entre les unités de spirale de capture (Vollrath 1987). Selon l'auteur, la structure de la toile change car la nouvelle patte est plus courte que celle d'une patte antérieure normale, et que ce sont les



deux pattes antérieures qui sont principalement utilisées par l'araignée pour « estimer » les distances entre les unités de spirale et les rayons. En effet, les études montrent que les araignées utilisent leur première paire de pattes pour déterminer l'espacement relatif entre les tours de spirale auxiliaire et que la position des premières pattes est décisive dans le contrôle de la distance entre les unités de spirale (Vollrath 1987; Krink & Vollrath 1999; Toscani *et al.* 2012). La structure de la toile varie également au niveau des distances entre les unités de spirale lorsque l'araignée perd l'une de ses premières pattes, car elle utilise sa deuxième patte, plus courte que la première. Les araignées de l'espèce *Zygiella x-notata* ayant perdu une patte qui ne se régénère pas ensuite modifient aussi la structure de leur toile en diminuant leur investissement en soie dans la toile et en augmentant la distance entre les unités de la spirale de capture (Pasquet *et al.* 2011, **article 6 en annexe**).

- *Etat nutritionnel* : La principale fonction d'une toile étant de capturer des proies, il paraît logique que la construction d'une toile varie selon l'état nutritionnel de l'araignée. Les études sur le fourragement sont nombreuses à l'avoir démontré (Sherman 1994; Pasquet *et al.* 1999; Blackledge et Zevenbergen 2007, Herberstein 2011). Ainsi, les araignées *Latrodectus hesperus* et *Stegodyphus lineatus* bien nourries réduisent la taille de leur toile, voire même ne construisent plus de toile après avoir reçu un supplément de nourriture (Blackledge et Zevenbergen 2007; Pasquet *et al.* 1998) et, dans le cas de *Latrodectus hesperus* augmentent le nombre de fils de cadre près de leur retraite pour mieux se protéger des prédateurs (Blackledge et Zevenbergen 2007), tandis que les araignées légèrement privées de nourriture augmentent la taille de leur toile, la quantité de soie investie et le nombre d'unités de spirale collante lors de la construction des toiles pour maximiser les opportunités de capture de proies. Les différents types de soie utilisés pour la construction des toiles sont principalement constitués de protéines, dont certains acides aminés sont difficiles à synthétiser par l'araignée (Townley *et al.* 2006). Récemment, Blamires *et al.* (2012) ont montré que les propriétés de la soie varient selon le régime protéique de l'araignée. Les araignées adaptent donc leur comportement de construction et l'investissement en soie dans la toile selon la richesse protéique de leurs proies consommées.
- *Etat reproductif* : Les travaux qui étudient la variabilité de la toile selon l'état reproductif de l'araignée dissocient très rarement son état reproductif de son état nutritionnel et interprètent souvent la variabilité de la toile comme un compromis entre les coûts et bénéfices associés au fourragement et les coûts et bénéfices associés à la reproduction (Sherman 1994; Venner *et al.*



2003; Blackledge et Zevenbergen 2007). La reproduction représente une dépense énergétique importante pour un animal et, par conséquent, nécessite un stockage d'énergie, souvent étroitement lié à une augmentation du poids. Ainsi, pour la plupart des espèces d'araignées, chez les femelles, les bénéfices reproductifs (nombre et taille des œufs) sont positivement corrélés avec la masse du corps des araignées femelles (Vollrath 1987; Uetz 1992). Pour grossir, et stocker suffisamment d'énergie pour pouvoir se reproduire, les araignées orbitèles construisent des toiles pour attraper des proies, et des études ont montré qu'elles modifiaient les dimensions de leur toile avant et après la production de leurs œufs (Sherman 1994). Les femelles adultes de *Larinioides cornutus* diminuent la taille de leur toile en diminuant leur investissement en soie dans la toile et l'aire de la spirale de capture avant de produire leurs œufs, et réaugmentent la taille de leur toile après la production des œufs (Sherman 1994). Selon l'auteur, la construction d'une toile et la capture des proies représentent, au même titre que la reproduction, une dépense énergétique importante, et les araignées femelles diminuent leur investissement énergétique dans la toile en diminuant la taille des toiles pour allouer leurs ressources énergétiques à la production des œufs à l'approche de la ponte ; une fois la ponte terminée, la consommation de la proie peut redevenir une priorité pour l'araignée qui réinvestit alors son énergie dans la production de toiles plus grandes.

- *Quantité de soie disponible* : Des études menées par Eberhard en 1988 et par Vollrath en 1992 montrent que les araignées qui construisent une toile de jour, après que leurs toiles construites la nuit précédente ont été détruites par l'expérimentateur, investissent moins de soie durant leur nouvelle construction et diminuent la taille de leur toile. Ils concluent que les araignées sont contraintes de diminuer la taille de leur nouvelle toile en raison de la diminution de leur provision en soie dans leurs glandes lors de la deuxième construction. En 1997, une autre étude sur *Araneus diadematus* confirme que les araignées ajustent la taille de leurs toiles selon la quantité de soie stockée dans leurs glandes et démontre que cette variabilité de la taille dépend du temps qui sépare les deux constructions (Zschokke 1997). En dessous de 20 heures après la construction de la première toile, l'araignée diminue la taille de la seconde. Au-dessus, la taille de la toile ne change pas. L'auteur suggère qu'il faut un minimum de 20 heures pour que les glandes à soie des araignées se remplissent de soie, ce qui correspondrait au cycle de construction de l'araignée *A. diadematus* dans la nature, à savoir une nouvelle toile toutes les 24 heures environ. La même année, Vollrath *et al.* (1997) confirment ces résultats en précisant que des toiles d'araignées construites de façon non



naturelles successivement et rapidement (4 toiles en 24 heures) deviennent séquentiellement plus petites, possèdent moins de rayons, et ont des spirales de capture plus courtes et des unités de spirale plus espacées les unes des autres. Ils suggèrent que les araignées, au fil des constructions successives, épuisent petit à petit leur stock de soie.

Afin de maintenir le renouvellement régulier de leur toile, des études ont montré que les araignées orbitèles semblent pouvoir réduire les coûts de production de soie en récupérant des éléments de la soie de l'ancienne toile pour les constructions suivantes. Ce recyclage de la soie a notamment été mis en évidence chez *A. diadematus* (Breed *et al.* 1964; Peakall 1971) et *A. cavaticus* (Townley et Tillinghast 1988). Grâce à un marquage radioactif de certains composés de la soie, ces auteurs ont pu montrer que les araignées pouvaient ingérer la soie d'une toile lors de sa destruction et la réutiliser pour une construction suivante. Pour synthétiser la soie nécessaire à la construction de leurs toiles, les araignées extraient donc la majorité de leurs protéines à partir de la ré-ingestion de la toile, mais aussi à partir des proies qu'elles consomment (Guehrs *et al.* 2008). Par ailleurs, les études ont montré que la composition de la soie variait selon les différents types de proies ingérées (Tso *et al.* 2005).

- *Expérience de construction et de capture de proies* : Il fut souvent établi que les expériences de construction d'une toile précédant la construction d'une nouvelle toile chez des araignées adultes n'avaient pas d'influence sur les caractéristiques de cette dernière (Vollrath 1992, Foelix 2011). En 2000, une étude menée par Venner *et al.* a montré que lors de constructions successives, séparées de plus de 24h, des araignées adultes de l'espèce *Zygiella x-notata* qui vivaient une expérience de capture de proie complète (détection, capture et ingestion d'une proie) diminuaient leur investissement et l'aire de la spirale de capture de leur toile lors de leur construction suivante. Les auteurs suggèrent que les araignées utilisent l'expérience récente de construction de la toile pour estimer certains paramètres environnementaux comme le type et l'abondance de proies disponibles dans le milieu. Or, l'expérience vécue par les araignées est associée à une modification de l'état nutritionnel de l'araignée et la simple détection de la proie par l'araignée ne modifie pas la construction suivante. Les études menées par Heiling et Herberstein (1999) sur les araignées *Argiope keyserlingi* et *Larinioides sclopetarius* ont aussi montré que l'asymétrie des toiles était influencée par les expériences précédentes de capture de proies des araignées. Il semble donc que l'araignée adapte la structure de sa toile en fonction de son expérience passée à court terme, de construction et de capture de proie, mais les études s'accordent pour suggérer que les modifications de



construction d'une toile sont avant tout les conséquences de changements de condition du corps de l'araignée (Sherman 1994; Venner *et al.* 2000).

Facteurs biotiques associés à l'environnement de l'araignée

- *Présence de prédateurs, de cleptoparasites ou de conspécifiques* : Les araignées sont capables de détecter la présence d'un prédateur et de le localiser (Foelix 2011). Quand les araignées *Argiope versicolor* sont exposées à un prédateur et le perçoivent par des signaux chimiques volatiles, elles réduisent la taille de leur toile (aire de la spirale de capture) et la quantité de soie investie (Li et Lee 2004). Elles adaptent donc leur comportement de construction de la toile en fonction des risques de prédation. D'autres araignées adaptent leur comportement de construction en réponse aux risques de cleptoparasitisme (vol de nourriture). C'est le cas de *Stegodyphus lineatus* qui augmentent la surface de ses toiles (non orbitèles) en présence de fourmis cleptoparasites du genre *Tapinoma* (Leborgne *et al.* 2011).

La présence de conspécifiques entraîne aussi des modifications de la structure des toiles. Dans un micro habitat, en présence d'araignées conspécifiques, l'araignée *Latrodectus hesperus* (bien qu'elle ne soit pas orbitèle) construit des toiles plus grandes et contenant plus de soie (Salomon 2007). L'araignée orbitèle *Zygiella x-notata* par contre, ne change pas la taille ni la structure de ses toiles en présence de conspécifiques (Thévenard *et al.* 2004). En revanche, elle augmente le diamètre de ses toiles lorsque le conspécifique est retiré, celui-ci limitant l'espace disponible à l'araignée pour construire sa toile (Leborgne et Pasquet 1987). Dans le cas de *L. hesperus*, selon Salomon (2007), l'augmentation de la toile serait un choix judicieux de l'araignée qui percevrait la présence de conspécifiques comme une indication de la bonne qualité du site de fourragement et adapterait donc son comportement de construction de façon à augmenter son aire de fourragement. Dans le cas de *Z. x-notata*, selon Thévenard *et al.* (2004), deux interprétations sont possibles pour expliquer que l'araignée ne modifie pas ses toiles en présence de conspécifiques : la première serait qu'elle ne perçoit pas le conspécifique, ce qui est peu probable car des contacts entre les araignées ont été observés dans les cadres, et la deuxième serait que l'araignée agirait selon un niveau hiérarchique, répondant préférentiellement à la présence de proie. Le fait que l'araignée augmente le diamètre de ses toiles quand le conspécifique est retiré suggère qu'il serait plus perçu comme un compétiteur par l'araignée (Leborgne et Pasquet 1987).



- *Abondance et type de proies disponibles* : Le type et l'abondance des proies rencontrées par l'araignée sont susceptibles de changer. L'araignée coloniale brésilienne *Parawixia bistriata* a la particularité de construire deux types de toiles bien distinctes qui diffèrent en taille et en architecture. Habituellement, elle construit des petites toiles avec des petites distances entre les unités de spirales au coucher du soleil et, quand la saison des pluies arrive, elle construit des grandes toiles en journée avec des distances inter-spirales plus espacées. Une étude en milieu naturel a montré que ces variations de taille et de structure de la toile étaient attribuées au type de proies présentes et à leur abondance dans le milieu (Sandoval 1994). Les petites toiles permettent à l'araignée de capturer principalement des diptères qui présentent un pic d'activité de vol le soir ; les grandes toiles lui permettent de capturer des termites ailées lorsqu'elles se déplacent en essaims la journée à la saison des pluies. Ainsi, lors de sa construction, l'araignée adapte la taille des unités de spirale de la toile à celle des insectes et à leur abondance selon la saison.

Schneider et Vollrath (1998) ont montré que l'araignée orbitèle *Araneus diadematus* modifiait la structure de sa toile quand elle se trouve en présence soit de drosophiles *Drosophila melanogaster* soit de moustiques *Aedes aegypti*, de plus grande taille que les mouches. Quand les araignées passent de la présence des drosophiles dans leur environnement, à la présence des moustiques, elles augmentent l'aire de la spirale de capture et les distances entre les unités de spirale de capture. Quand, au contraire, elles se retrouvent à nouveau en présence de drosophiles, les araignées réadaptent la structure de leur toile pour revenir à la structure initiale en diminuant l'aire de la spirale de capture et les distances entre les unités de spirale de capture (Schneider et Vollrath 1998).

Des études expérimentales ont aussi étudié la variabilité de la toile en fonction de l'abondance des proies présentes au moment de la construction d'une toile. Quand peu de proies sont présentées aux araignées *Nephila clavipes* et *Larinioides cornutus*, celles-ci augmentent la taille de leur toile en augmentant la longueur du fil de la spirale de capture et l'aire de la spirale de capture. Elles diminuent la taille des toiles de la même manière lorsqu'elles ont un nombre abondant de proies à leur disposition (Higgins et Buskirk 1992; Sherman 1994).

(b) Facteurs abiotiques (tableau 2b) : Divers facteurs abiotiques peuvent influencer la variabilité d'une toile; ces facteurs environnementaux sont principalement les facteurs



climatiques (temps, température, humidité), l'espace dont dispose l'araignée pour construire sa toile et la gravité.

- *Facteurs climatiques* : Les araignées sont des organismes ectothermes, c'est-à-dire que leur température corporelle varie avec celle de leur environnement. Par conséquent, des changements extérieurs de température modifient la température corporelle des araignées et peuvent entraîner des variations dans la toile lors de la construction (Vollrath *et al.* 1997). Quand la température diminue, *Araneus diadematus* diminue le nombre de spirales de capture sans pour autant diminuer l'aire de la spirale de capture et de ce fait augmente les distances entre les unités de spirale de capture (Vollrath *et al.* 1997; Herberstein 2011). Selon Vollrath *et al.* (1997), il peut y avoir deux interprétations possibles, l'une considérant l'effet de la diminution de la température sur l'araignée, l'autre sur la proie : la première serait que l'augmentation des distances entre les unités de spirale résulte d'un déplacement moins rapide de l'araignée lors de la construction de sa toile quand la température diminue. La deuxième serait que les proies plus grandes étant certainement plus actives que les petites, l'araignée adapterait la structure de sa toile (distances entre les spirales) à la présence de proies plus grandes.

Le vent et l'humidité affectent aussi la structure d'une toile (Foelix 2011). Pour minimiser les dommages éventuels causés par le vent lors de fortes perturbations, certaines araignées comme *Araneus diadematus* ou *Cyclosa mulmeinensis* adaptent leur comportement de construction en diminuant le nombre de tours de la spirale de capture et de rayons ; il en résulte des toiles plus symétriques et une augmentation des distances entre les unités de spirale de capture. Cet ajustement permettrait à l'araignée de rendre la toile plus « rigide » et plus résistante aux perturbations et aux chocs (Hieber 1984; Vollrath *et al.* 1997; Liao *et al.* 2009).

A. diadematus modifie également la construction de sa toile avec les changements d'humidité de l'environnement. Quand le taux d'humidité chute de 70% à 20%, l'araignée réduit la taille de sa toile en diminuant la longueur du fil de la spirale de capture et l'aire de la spirale de capture, le nombre de tours de spirale et les distances entre les unités de spirale. Quand le taux d'humidité est rétabli à 70%, l'araignée augmente l'aire de la spirale de capture, de la toile et les distances entre les unités de spirale, mais pas le nombre d'unité de spirale (Vollrath *et al.* 1997).



- *Espace disponible* : Le choix du site de construction d'une toile affecte l'architecture finale de la toile car les espaces choisis dans la nature par les araignées peuvent être différents et les araignées comme *Zygiella x-notata* et *Araneus diadematus* adaptent la taille et la forme de leur toile à celles de l'espace choisi (Le Guelte 1966; Vollrath 1992; Vollrath *et al.* 1997; Krink et Vollrath 2000; Barrantes et Eberhard 2012). Ainsi, dans un espace limité, *A. diadematus* réduit la taille de ses toiles en diminuant l'aire de la spirale de capture, augmente le nombre de tours de spirale de capture et diminue les distances entre les unités de spirale de capture (Vollrath *et al.* 1997; Herberstein 2011). Une étude très récente a montré que lorsque l'araignée *Lecauge argyra* se retrouve confinée dans des espaces minuscules dont la taille ne représente que trois fois la sienne et mesure presque sept fois moins que l'espace qu'elle utilise dans la nature pour construire sa toile, elle ajuste la taille et la structure de ses toiles à l'espace disponible en diminuant notamment de sept fois l'aire de la spirale de capture, le nombre et les distances entre les unités de spirale de capture et de plus de moitié le nombre de rayons, et en réduisant l'asymétrie de la partie basse de la toile, (Barrantes et Eberhard 2012). Même si cette étude n'est qu'expérimentale et que, dans la nature, les araignées choisissent l'espace dans lequel elles construiront leur toile, elle montre à quel point le comportement de construction d'une araignée peut être variable et s'adapter aux contraintes spatiales (Barrantes et Eberhard 2012).
- *Gravité* : Les araignées orbitèles orientent l'axe de leurs toiles et construisent leurs toiles en tenant compte de la gravité terrestre (LeGuelte 1966; Vollrath 1986, 1988). Des expériences ont testé l'effet de la gravité sur le comportement de construction des toiles en plaçant des araignées dans un clinostat avec différentes vitesses de rotation, pour réduire les effets de la gravité. A très faible rotation, les araignées *Z. x-notata*, *A. diadematus* et *Larinioides patagiatus* perdent l'asymétrie caractéristique de leurs toiles (Mayer 1952; LeGuelte 1966; Vollrath 1988). A vitesse moyenne, les araignées *A. diadematus* construisent leurs toiles mais dessinent un chemin anormal et très irrégulier lors de la construction de la spirale de capture, sans suivre celui de la spirale auxiliaire, dont la construction n'est, quant à elle, pas affectée par la baisse de la gravité. A grande vitesse, les constructions sont normales et d'une grande régularité, en raison probable de la force centripète qui agit sur l'araignée comme la gravité.

Les résultats suggèrent que l'araignée utilise d'autres mécanismes que le suivi de la spirale auxiliaire pour construire sa spirale de capture et que le vecteur gravité représente un guide d'orientation pour l'araignée, une "boussole de référence" qui lui permet de s'orienter lors de la construction de sa toile, puis sur sa toile une fois la construction finie, lors de



capture de proie par exemple. (Vollrath 1986, 1988, 1992; Nakata et Zchokke 2010). Il semble que l'asymétrie de la toile dépende aussi de la gravité qui favoriserait les araignées plus lourdes à descendre plus rapidement dans la partie basse de leur toile (Nakata et Zchokke 2010).



Tableau 2a : Facteurs biotiques influençant la variabilité d'une toile géométrique.

FACTEURS BIOTIQUES	Effets	Espèces	Références
<i>associés à l'araignée</i>			
<i>Taille du corps</i>	Les araignées plus grandes construisent des toiles plus grandes et plus asymétriques.	<i>Lecauge mariana</i> ; <i>Nuctenea sclopetaria</i> ; <i>Cyclosa ginnaga</i>	Eberhard 1988; Heiling et Herberstein 1998, 2000; Nakata et Zschokke 2010
<i>Poids du corps</i>	A tailles égales, les araignées plus lourdes construisent des toiles plus grandes et plus asymétriques avec une partie basse plus grande.	<i>Lecauge mariana</i> ; <i>Argiope keyserlingi</i> ; <i>Larinioides sclopetarius</i> ; <i>Zygiella x-notata</i> ; <i>Nephila pilipes</i>	Eberhard 1988; Herberstein et Heiling 1999; Venner <i>et al.</i> 2006; Kuntner <i>et al.</i> 2010
<i>Longueur des pattes</i>	Les araignées possédant des pattes régénérées, plus courtes que la normale, modifient la structure de leur toile en diminuant les distances entre les unités de spirale de capture. Les araignées qui ont perdu une patte sans qu'elle se régénère diminuent l'investissement en soie et augmentent les distances entre les unités de spirale.	<i>Araneus diadematus</i> ; <i>Zygiella x-notata</i>	Vollrath 1987, 1992; Pasquet <i>et al.</i> 2011
<i>Etat nutritionnel</i>	Les araignées bien nourries réduisent la taille de leur toile. Les araignées privées de nourriture augmentent la taille de leur toile, la quantité de soie investie et le nombre de tours de la spirale collante.	<i>Larinioides cornutus</i> ; <i>Stegodyphus lineatus</i> ; <i>Latrodectus hesperus</i>	Sherman 1994; Pasquet <i>et al.</i> 1999; Blackledge et Zevenbergen 2007
<i>Etat reproductif</i>	Les araignées diminuent leur investissement en soie dans la toile et l'aire de la spirale de capture avant la production d'œufs, et réaugmentent la taille de leur toile après la production des œufs.	<i>Larinioides cornutus</i>	Sherman 1994



<i>Quantité de soie disponible</i>	Quand le temps qui sépare deux constructions est trop rapproché (moins de 20 heures), les araignées diminuent la taille de leurs toiles qui présentent aussi des spirales plus courtes, moins de rayons et des distances entre les unités de spirale plus grandes, car la quantité de soie disponible dans leurs glandes n'est pas suffisante pour construire une toile normale.	<i>Leucauge mariana;</i> <i>Micrathena sexspinosa;</i> <i>Araneus diadematus</i>	Eberhard 1988; Vollrath 1992, 1997; Zschokke 1997
<i>Expérience de construction et de capture de proies</i>	A court terme, d'une construction à l'autre, les araignées ayant vécu une expérience de construction de toile et de capture de proie diminuent leur investissement et l'aire de capture lors de la construction suivante.	<i>Argiope keyserlingi;</i> <i>Larinioides sclopetarius;</i> <i>Zygiella x-notata</i>	Heiling et Herberstein 1999; Venner <i>et al.</i> 2000
<i>associés à l'environnement</i>			
<i>Présence de prédateurs et de cleptoparasites</i>	Les araignées qui perçoivent un prédateur diminuent la taille de la toile et la quantité de soie investie. En présence de cleptoparasites, elles augmentent l'aire de la spirale de capture.	<i>Argiope versicolor;</i> <i>Stegodyphus lineatus</i>	Li et Lee 2004; Leborgne <i>et al.</i> 2011
<i>Présence de conspécifiques</i>	En présence de conspécifiques, <i>L. hesperus</i> augmente la taille de ses toiles et son investissement mais <i>Z. x-notata</i> ne modifie pas sa toile. Si le conspécifique est retiré, elle augmente la taille de sa toile.	<i>Latrodectus hesperus;</i> <i>Zygiella x-notata</i>	Leborgne et Pasquet 1987; Salomon 2007
<i>Abondance et type de proies disponibles</i>	Les araignées augmentent la taille de la toile et des distances entre les unités de spirales de capture en présence de grandes proies. Elles diminuent la taille et les distances entre les unités de spirale en présence de petites proies. Quand l'abondance en proies est faible, les araignées augmentent la taille de leur toile et la diminuent en présence de proies.	<i>Nephila clavipes;</i> <i>Parawixia bistrata;</i> <i>Larinioides sclopetarius;</i> <i>Araneus diadematus</i>	Higgins et Buskirk 1992; Sandoval 1994; Sherman 1994; Schneider et Vollrath 1998



Tableau 2b. Facteurs abiotiques influençant la variabilité d'une toile géométrique

FACTEURS ABIOTIQUES			
<i>Facteurs climatiques</i>	Les araignées diminuent le nombre de tours de spirale de capture, augmentent les distances entre les unités de spirale et arrondissent les toiles quand la température diminue. Quand la vitesse du vent augmente, elles diminuent la taille des toiles, le nombre de tours de spirale de capture et de rayons, et augmentent les distances entre les unités de spirale. Quand le taux d'humidité chute, les araignées diminuent la taille de leurs toiles.	<i>Araneus diadematus;</i> <i>Cyclosa mulmeinensis</i>	Vollrath <i>et al.</i> 1997; Liao <i>et al.</i> 2009
<i>Espace physique disponible</i>	Les araignées diminuent la taille de leur toile, le nombre de tours de spirale de capture et les distances entre les unités de spirale quand l'espace disponible pour construire la toile est limité.	<i>Zygiella x-notata;</i> <i>Araneus diadematus;</i> <i>Leucauge argyra</i>	Le Guelte 1966; Vollrath 1992, 1997; Krink et Vollrath 2000; Barrantes et Eberhard 2012
<i>Gravité</i>	L'asymétrie de la partie basse de la toile disparaît et la spirale de capture présente des irrégularités quand la construction est réalisée sans gravité.	<i>Zygiella x-notata;</i> <i>Araneus diadematus;</i> <i>Larinioides patagiatus</i>	Mayer 1952; Le Guelte 1966; Vollrath 1986, 1988, 1992



II.4 Fonction de la toile

Quelle est la fonction d'une toile? Les réponses sont multiples. La toile peut servir de support et de barrière de protection à l'araignée pour effectuer ses mues, de lieu de rencontre et d'accouplement, d'espace de protection pour ses sacs d'œufs, etc. (Blackledge et Zevenbergen 2007; Herberstein 2011). Mais les araignées sont toutes des prédateurs et, comme nous l'avons très rapidement énoncé, la fonction première et la plus reconnue d'une toile, c'est d'être un piège que l'araignée utilise pour capturer des proies (Vollrath 1992; Zschokke 2000; Venner et Casas 2005). En effet, contrairement aux espèces d'araignées qui ne construisent pas de toile mais chassent activement leurs proies comme les Salticidae, les araignées orbitèles concentrent leur énergie non pas dans la recherche des proies mais dans la construction de toiles, afin de pouvoir capturer une, et même plusieurs proies en même temps (Herberstein et Heiling 1999). Une fois la construction du piège terminée, elles attendent -au moyeu ou dans une retraite- que les proies soient interceptées par le piège pour les capturer. La construction de la toile représente une dépense énergétique très importante et un risque de prédation pour l'araignée (Lubin 1973; Pasquet *et al.* 1999; Venner *et al.* 2003). Ainsi, une araignée augmente généralement l'aire de capture de sa toile afin de pouvoir retenir plus de proies (Heiling et Herberstein 2000), mais plus l'araignée investit de soie dans la construction de sa toile, plus le temps de construction est long et plus l'araignée est exposée aux prédateurs (Lubin 1973; Uetz 1992; Venner *et al.* 2003, 2006).

Donc la construction d'une toile représente un aspect du comportement de fourragement de l'araignée et peut être vue comme un compromis entre les coûts qu'elle représente en termes d'énergie, de temps et de risque de prédation lorsqu'elle est exposée sur la toile pendant l'activité de construction, et les bénéfices énergétiques associés à la capture des proies (Lubin 1973, 1986; Uetz 1992; Pasquet et al. 1999; Heiling et Herberstein 2000; Herberstein 2011).

Lorsqu'une proie est interceptée par une toile orbitèle, trois phases se succèdent : l'interception de la proie par la toile, la transmission de l'information "arrivée d'une proie dans la toile" à l'araignée et la rétention de la proie suffisamment longtemps pour que l'araignée puisse venir la capturer avant qu'elle ne s'échappe ou tombe (Coslovsky et Zschokke 2009; Sensenig *et al.* 2011). **L'interception** des proies est possible grâce à l'élasticité des fils de soie collante qui absorbent l'énergie cinétique de la proie percutant la toile (Zschokke 2000). **L'information** de l'arrivée de la proie dans la toile est transmise à l'araignée par les rayons convergeant au centre, où réside généralement l'araignée. Les rayons



véhiculent les vibrations provoquées par l'impact de la proie et par le fait qu'elle se débatte dans la toile, et informent l'araignée sur le statut de la proie (Zschokke 2000). Quand l'araignée est dans une retraite, les vibrations lui sont transmises par le fil avertisseur. Enfin, **la rétention** de la proie est possible grâce à la glu de la soie de la spirale de capture ; celle-ci est composée de plusieurs éléments, dont des nodules de glycoprotéines et des sels inorganiques qui absorbent l'humidité ambiante pour former des gouttelettes visqueuses qui entourent la paire de fibres axiales constitutive des fils de soie et adhèrent à la proie (Vollrath et Tillinghast 1991; Sensenig *et al.* 2011; Opell *et al.* 2011).

II.5 Variations des caractéristiques de la toile et stratégies de fourragement

Les études sont nombreuses à avoir interprété les variations d'une toile et du comportement de construction de l'araignée en réponse aux facteurs biotiques et abiotiques selon la théorie de fourragement optimal (Lubin 1973; Pasquet 1999; Heiling et Herberstein 2000; Thevenard *et al.* 2004; Herberstein 2011). Classiquement, cette théorie suggère que les animaux optimisent le taux net de gain d'énergie en essayant de gagner le maximum d'énergie lors d'une prise alimentaire ou d'une série d'ingestion de nourriture, en un minimum de temps de fourragement (Emlen 1966; Krebs 1978; Scharf *et al.* 2011). Ainsi, les araignées orbitèles modifieraient leur comportement de construction de la toile dans le but de maximiser leur succès de capture et la quantité de proie ingérée. L'architecture de la toile et, par conséquent, les choix de l'araignée lorsqu'elle construit sa toile, sont donc cruciaux pour le succès de fourragement (Li et She lee 2004). Ces décisions et les caractéristiques de la toile qui influencent la capture des proies sont multiples (Heiling et Herberstein 2000). Nous nous focaliserons essentiellement sur les caractéristiques de forme (symétrique/asymétrique) et de structure (nombre et distances entre les rayons et les unités de spirale de capture) et les changements de taille (aire de la spirale de capture), de forme et de structure qui peuvent avoir une influence sur la capture des proies et sont interprétés comme une stratégie de fourragement.

De nombreuses études ont montré que l'asymétrie des toiles était un ajustement du comportement de construction de l'araignée au cours de son développement dans le but de maximiser son succès de capture des proies. Nakata et Zschokke (2010) ont observé qu'au stade adulte, les espèces dont les araignées résident au moyeu et s'orientent vers le bas de la toile, comme *Cyclosa confusa*, construisent des toiles avec une partie basse plus grande que la partie haute, et que, bien que peu nombreuses, les espèces dont les araignées s'orientent vers



le haut de la toile construisent une partie haute plus grande et avec plus de soie, que la partie basse. Les auteurs montrent que cette orientation de l'araignée et l'asymétrie de la toile semblent dépendre de la taille et du poids de l'araignée, qui influencent sa vitesse de déplacement sur la toile. En effet, Ap Rhisiart et Vollrath (1994) ont mis en évidence qu'il existait une relation positive entre la vitesse de l'araignée, plus grande quand elle se déplace de haut en bas sur sa toile en raison de la gravité, et l'étendue de sa toile vers le bas. Par conséquent, le temps de déplacement est moindre du moyeu vers la partie basse de la toile que vers le haut de la toile. Donc, quand elles deviennent adultes et qu'elles grossissent, les araignées orbitèles diminuent l'aire située au-dessus du moyeu en terme d'investissement en soie, augmentent l'aire située en-dessous et s'orientent vers cette aire pour minimiser le temps de recherche et de capture de la futur proie. (Nakata et Zschokke 2010). L'asymétrie dans la toile et l'orientation de l'araignée représentent donc deux adaptations de l'araignée en vue d'un fourragement optimal.

A l' « intérieur » de cette asymétrie, la probabilité pour une toile d'intercepter une proie dépend entre autres des distances entre les tours de spirale de capture (Eberhard 1986; Ap Rhisiart et Vollrath 1994). L'araignée peut aussi adapter son comportement de construction de la spirale de capture au niveau de l'espacement entre les unités de spirale, en tenant compte de la taille et du type de proies disponibles dans le milieu (Ap Rhisiart et Vollrath 1994; Shneider et Vollrath 1998).

Dans le même but de maximiser le succès de capture, en construisant une toile avec des distances entre les unités de spirale plus étroites, l'araignée peut chercher à capturer des proies plus larges car la quantité plus importante de soie collante augmenterait le pouvoir de rétention de la toile (Blackledge et Zevenbergen 2006). A l'inverse, ce choix de construction peut rendre la toile plus visible par les proies, car plus « dense » visuellement, qui pourraient ainsi l'éviter (Blackledge et Zevenbergen 2006). Il a été montré que les araignées capturaient des petites proies dans la nature mais qu'elles ne pouvaient pas survivre ou pondre des œufs si elles n'attrapaient pas de proies plus grandes (Venner et Casas 2005). Les auteurs suggèrent que la fonction première de la toile est donc de capturer des proies de grande taille, bien qu'elles soient plus rares que les petites, pour survivre et se reproduire.

Par ailleurs, nous avons vu précédemment que l'araignée modifiait son comportement de construction en fonction du vent (Hieber 1984; Vollrath *et al.* 1997; Liao *et al.* 2009). Récemment, une étude a montré qu'à vitesse élevée, le vent affecte aussi l'efficacité de capture de proies en affectant notamment la rétention des proies par la toile (Turner *et al.* 2011). Les auteurs suggèrent que le déplacement de la toile par le vent, lorsque la vitesse du



vent devient importante, entraîne une augmentation plus importante des distances entre les unités de spirale de capture et par conséquent, une augmentation du taux d'échappement des proies qui peuvent plus facilement casser les fils de soie. De ce fait, ils concluent que le comportement d'ajustement de la toile en période de vent par l'araignée pourrait être une réponse à la diminution du taux de capture de proies.

Dans la première partie de l'introduction, nous avons évoqué les nombreux avantages que représente l'utilisation des invertébrés pour étudier le vieillissement : la durée de vie courte des organismes, leur capacité à exprimer des comportements complexes et multiples malgré un système nerveux relativement « simple » comparativement aux vertébrés, etc., et la nécessité de rechercher de nouveaux modèles invertébrés permettant d'appréhender les effets du vieillissement sur le comportement. Les araignées orbitèles possèdent tous les avantages des invertébrés et il existe une grande variabilité dans la structure des toiles qu'elles construisent, qui reflète les variations de leur comportement de construction de la toile en réponse aux facteurs biotiques et abiotiques. Ainsi, la toile orbitèle peut être considérée comme un « objet » observable et quantifiable matérialisant les comportements de construction et les variations comportementales exprimées par les araignées pendant la construction. Par ailleurs, des modifications structurelles apparaissant dans des toiles de "vieilles" araignées adultes ont déjà été observées (Eberhard 1970; Witt et al. 1972). Les toiles pourraient donc servir de modèle d'étude des conséquences du vieillissement sur la mise en place et la réalisation de séquences comportementales lors de la construction.



III. OBJECTIFS DE LA THESE ET AXES DE RECHERCHE

Avec pour modèle *Zygiella x-notata*, l'objectif de ma thèse est d'étudier l'effet du vieillissement sur le comportement de construction d'une toile géométrique en se servant de la toile elle-même comme révélateur de ce comportement. Les questions que nous nous posons sont les suivantes :

III.1 Quelles modifications apparaissent dans la structure des toiles géométriques de *Zygiella x-notata* au cours de son vieillissement?

Pour étudier la structure des toiles construites par des araignées adultes âgées, il a été indispensable, au préalable, de s'intéresser à celle des toiles construites par les araignées adultes jeunes et de rechercher si d'éventuelles variations étaient déjà présentes dans la géométrie des toiles orbitèles dès le jeune âge adulte. En effet, la toile orbitèle est souvent considérée comme une structure géométrique parfaitement régulière et pourtant, des erreurs de construction peuvent apparaître dans la structure de la toile au moment même de la construction et refléter les variations et les imprécisions comportementales de l'araignée (Hesselberg 2012).

Pour cela, à partir de toiles construites par de jeunes araignées adultes, nous avons retenu et défini un ensemble d'anomalies dans la structure des toiles. L'**article 1** (dans le chapitre « matériel et méthodes ») décrit ces anomalies qui affectent les rayons et la spirale de capture et témoignent des variations comportementales de l'araignée au moment de la construction (Toscani *et al.* 2012).

Alors que les changements ontogénétiques de la toile orbitèle ont fait l'objet de nombreux travaux (Hesselberg 2010), ces études se sont principalement intéressées aux changements apparaissant entre le stade juvénile de l'araignée et son stade adulte. Hors, le vieillissement peut être considéré comme une partie intégrante de l'ontogénèse de l'araignée au stade adulte. Il nous a donc paru important d'étudier les variations de la toile géométrique au cours du vieillissement de l'araignée adulte. Etant connu que des modifications structurelles apparaissent lors de la construction de la toile par des « vieilles » araignées orbitèles (Eberhard 1970), il est donc possible que le vieillissement constitue un facteur biotique qui influence la structure des toiles orbitèles. Cette hypothèse demande des investigations nouvelles. Aussi, à partir des anomalies des toiles définies chez les araignées à leur jeune âge adulte (**article 1**), de paramètres de toile connus des études précédentes, et de paramètres



additionnels permettant de quantifier la régularité des toiles (**article 2**), nous avons recherché ces modifications dans la géométrie de la toile avec le vieillissement. L'**article 2** présente les modifications de structure de la toile et d'investissement de l'araignée avec l'âge et révèle que le vieillissement et la durée de vie des araignées affectent la structure géométrique et la régularité de la toile.

III.2 Le vieillissement affecte-t-il la mobilité des araignées ?

III.2.1 Lors de la construction de la toile ?

La toile et le comportement sont si étroitement liés qu'il est possible de déconstruire la structure de la toile non seulement pour fournir un rapport continu des étapes visibles faites par l'araignée, mais aussi déduire de ce rapport visible les comportements cachés qui guident ces étapes (Eberhard 1969; Gotts et Vollrath 1992; Krink et Vollrath 1997, 1998, 1999). Aujourd'hui, les techniques modernes d'analyse de mouvement et de déplacement (trajectométrie) rendent ceci de plus en plus facile et accessible aux outils de modélisation. Ainsi, l'intégration de l'analyse de manipulation de fil et des mouvements avec le suivi du corps de l'araignée, couplée à la simulation et à la modélisation des mouvements, permet d'élucider les règles de décision (les algorithmes) qui dirigent le comportement de construction de la toile d'araignée (Krink et Vollrath 1997, 1999).

Pour avoir une bonne compréhension d'ensemble de l'ingénierie de la toile et de l'activité de l'araignée, il est nécessaire d'avoir une analyse comportementale complète (Eberhard 1981, 1986, 1988a,b; Heiling et Herberstein 1998; Herberstein et Heiling 1999; Vollrath 1987, 1988, 1992a; Vollrath *et al.* 1997). Dans la première partie de l'introduction, nous avons vu que le vieillissement pouvait affecter l'activité motrice des invertébrés (Grotewiel *et al.* 2005 ; Gardner *et al.* 2004). Or, la construction de la toile repose en grande partie sur les comportements moteurs de l'araignée. Le vieillissement des araignées orbitèles pourrait donc s'accompagner d'un déclin de la fonction motrice qui affecterait leurs comportements de construction. En parallèle de l'étude des variations de la structure de la toile avec le vieillissement de l'araignée, nous avons donc directement analysés le comportement de construction de la toile à l'aide de vidéos et d'un logiciel de trajectométrie, chez des araignées de différents âges.



III.2.2 Lors de la capture des proies ?

Comme nous l'avons vu, les araignées orbitèles construisent des toiles pour, avant tout, capturer des proies et se nourrir. La toile représente donc un aspect du comportement de fourragement de l'araignée, l'autre aspect étant représenté par les comportements directs de capture de la proie par l'araignée elle-même. Pour capturer une proie qui vient d'être intercepter par la toile, l'araignée réalise une séquence comportementale caractéristique (approche de la proie, morsure et immobilisation, enveloppement de la proie par de la soie, transport de la proie). Les mouvements de l'araignée lui sont donc essentiels, d'abord pour construire sa toile et, ensuite, pour se déplacer sur la toile, attraper et contrôler la proie. Nous avons vu que le vieillissement pouvait affecter l'activité motrice des invertébrés (Grotewiel *et al.* 2005; Gardner *et al.* 2004) et/ou l'activité de fourragement (recherche de nourriture et consommation) (Moya-larano 2002; Behrends *et al.* 2007). Le vieillissement des araignées orbitèles pourrait s'accompagner d'un déclin de la fonction motrice qui affecterait leurs comportements de capture (manipulation de la proie par exemple) et/ou d'un déclin de l'activité de fourragement (taux de capture, morsures). Par ailleurs, les modifications de structure qui apparaissent dans la toile avec le vieillissement des araignées pourraient affecter les capacités d'interception et/ou de rétention de la toile, et/ou la séquence comportementale de capture de l'araignée, et nuire aussi à l'efficacité de la capture. L'**article 3** (soumis) teste ces hypothèses grâce à une analyse des comportements de capture de proies sur la toile par des araignées de différents âges.

III.3 Les changements de structure de la toile et du comportement de construction de l'araignée peuvent-ils être corrélés à des modifications du système nerveux avec l'âge?

Les comportements animaux sont contrôlés par leur système endocrinien et leur système nerveux, ce dernier pouvant être perçu comme une machinerie chimique dont le fonctionnement résulte d'un équilibre entre tous les systèmes "neuroactifs", c'est-à-dire les neurotransmetteurs, les neuromodulateurs et les neurohormones (Barth 2002). Les effets du vieillissement sur le système nerveux des animaux sont nombreux et, chez les invertébrés, des études ont montré que le vieillissement pouvait altérer les propriétés endogènes des neurones, leur morphologie, et l'efficacité des connexions neuronales, allant même jusqu'à engendrer des pertes de neurones (Yeoman et Faragher 2001). Les araignées à toile orbitèle commencent à susciter un intérêt croissant dans le domaine de la neuroéthologie, discipline reliant les



comportements aux phénomènes neurobiologiques. En effet, nous avons vu que la construction d'une toile passait par la réalisation d'une succession de patterns comportementaux, et, même si les connaissances sur le fonctionnement cérébral des araignées ne sont que parcellaires, certains actes comportementaux, ou leur régulation, peuvent être imputés au fonctionnement de zones particulières de leur cerveau (Fabian et Seyfarth, 1997, Jones *et al.* 2011). Récemment, des études portant sur l'influence de l'ingestion de drogues par les araignées (caféine, scopolamine, amphétamine, nicotine, Witt 1971; Hesselberg et Vollrath 2004) ont mis en évidence certaines modifications structurelles dans la construction et les caractéristiques géométriques de la toile comparables à celles qui apparaissent lors de la construction de toiles par des araignées « vieilles » (Eberhard 1970). En particulier, Hesselberg et Vollrath (2004) montrent que l'administration des neurotoxines entraîne une réduction de la longueur de la spirale de capture et une augmentation de l'irrégularité des rayons et de l'espacement entre les unités de spirale. Les auteurs suggèrent que les neurotoxines altèrent la géométrie de la toile et le comportement de construction en affectant différentes fonctions dans le système nerveux central des araignées. De la même façon, les changements qui apparaissent dans la structure des toiles orbitèles au cours du vieillissement de l'araignée pourraient être dus à des modifications induites par l'âge au niveau du système nerveux central ou périphérique.

*MATERIEL ET
METHODES*





Cette partie présente le modèle biologique et les principales méthodes utilisées durant ma thèse pour réaliser les différentes expériences. Des détails relatifs aux expériences sont donnés dans les articles correspondants.

I. Modèle biologique

Zygiella x-notata est une araignée orbitèle de la famille des Araneidae, commune et abondante dans toute l'Europe (Jones 1983; Roberts 1996), mais que l'on rencontre aussi sur les côtes Est et Ouest des Etats-Unis et localement en Amérique du Sud et en Asie. Présente partout en France, elle se rencontre principalement aux abords des habitations et sur les constructions humaines : coins des fenêtres, murs, clôtures, lampadaires, végétations des jardins... (Roberts 1996). Les femelles peuvent mesurer jusqu'à 7 mm et les mâles 5 mm. Le cycle biologique de *Zygiella x-notata* est annuel et sa durée de vie dans la nature est de 8 à 10 mois (Juberthie 1954; Le Guelte 1966; Thévenard 2004). Le stade adulte est atteint durant la période estivale (juillet, août). La reproduction se déroule en septembre et les femelles pondent leurs œufs jusqu'en novembre dans des cocons de soie (2 ou 3 généralement) qui les protègent durant l'hiver. Les mâles meurent peu après s'être reproduits. La plupart des femelles meurent avant l'hiver tandis que certaines femelles survivent à l'hiver et peuvent vivre jusqu'au printemps suivant (Jones 1983; Thévenard 2004; Bel-Venner et Venner 2006). Les juvéniles sortent des cocons au début du printemps (avril) de l'année d'après.

La toile adulte de *Zygiella x-notata* est une toile géométrique de forme elliptique, caractérisée par la présence d'un secteur libre de spire et traversé par un fil avertisseur (Figure 11). Ces caractéristiques rendent la toile de l'espèce facilement reconnaissable dans la nature. Le fil avertisseur relie le moyeu à la retraite, où l'araignée réside le plus souvent en journée. Le soir et la nuit, elle se tient au milieu de sa toile. Même si cette disposition de la toile est la plus courante chez cette espèce, il peut arriver que la retraite et/ou le fil avertisseur ne se situe pas dans le plan de la toile ou que l'araignée ne fasse pas de secteur libre. Les juvéniles construisent le plus souvent une nouvelle toile chaque jour (sans secteur libre) mais à l'âge adulte, seules les femelles continuent de construire des toiles et renouvellent leur toile généralement en début de chaque matinée (Ramousse et Le Guelte 1984; Bel-Venner et Venner 2006; Foelix 2011).



Figure 11. Photo d'une toile géométrique de *Zygiella x-notata* dans la nature (M. Anotaux, 2011)



II. Conditions d'élevage

Les araignées sont collectées dans l'Est de la France, sur les bâtiments (murs, bordures de fenêtres et barrières) de plusieurs sites à Nancy (Meurthe et Moselle). Elles sont placées individuellement en salle d'élevage dans des boîtes en plastique numérotées, où elles sont laissées en acclimatation aux conditions standards : température de 20 à 22 °C, cycle d'éclairage de 12h par jour, de 8h à 20h. Les boîtes sont munies d'un couvercle recouvert d'une gaze assurant une aération constante (Figure 12). La taille des boîtes (10×7×2,5 cm) ne permet pas aux araignées de construire des toiles géométriques mais elles peuvent déposer des tapis de soie qui leur permettent de capturer les proies qui leur sont distribuées. Les araignées sont nourries individuellement une fois par semaine, avec une mouche (*Lucilia caesar*, 8-10mm). Les boîtes sont également arrosées régulièrement pour maintenir le taux d'hygrométrie et « abreuver » les araignées.

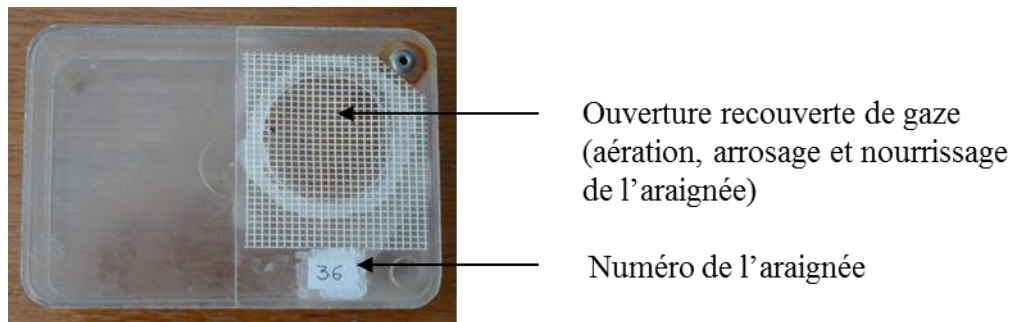


Figure 12. Boîte d'élevage en plastique (10×7×2,5 cm)

Age chronologique

Lors de la capture, l'âge des araignées n'est pas connu. Or, pour tester l'influence du vieillissement sur la construction et la structure géométrique des toiles, il est indispensable de connaître l'âge des araignées femelles (âge chronologique). Nous avons choisi de déterminer cet âge par rapport à la date de sa mue imaginale, après laquelle l'araignée est adulte et ses organes reproducteurs sont développés et fonctionnels.



Les araignées capturées sont observées à la loupe binoculaire afin de déterminer leur sexe et leur stade de maturité : immatures (juvéniles), sub-adultes (dernier stade avant la mue imaginale) ou adulte. Les mâles ne construisant pas de toile à l'âge adulte, ils sont écartés de l'étude. Chez les femelles de *Zygiella x-notata*, le stade adulte révèle un orifice génital, l'épigyne, foncé et sclérifié en relief, avec des ouvertures de chaque côté (Roberts 1996) (Figure 13). Un suivi quotidien des mues est alors réalisé pour les femelles immatures et sub-adultes afin de relever la date exacte de mue imaginale et déterminer ainsi l'âge adulte exact des araignées (en jours à partir de cette mue). Seules les femelles devenues adultes au laboratoire, dont l'âge a été déterminé suivant cette méthode, sont utilisées pour notre étude.

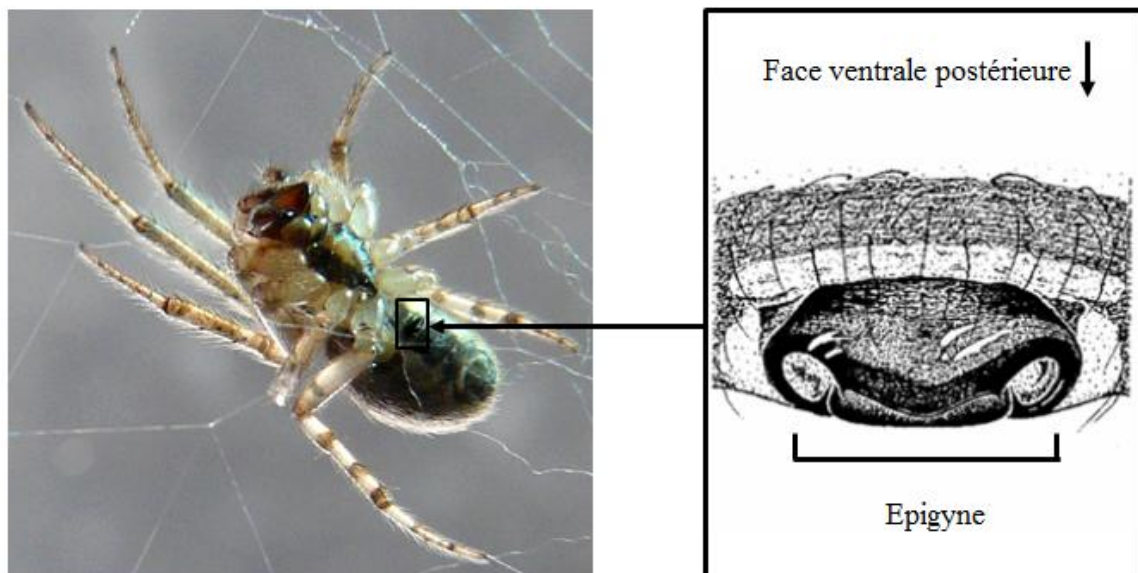


Figure 13 : Photographie d'une araignée femelle adulte *Zygiella x-notata* en face ventrale (Photo M. Anotaux, 2012) et dessin de l'épigyne (Roberts, 1996)

Etant donné que les araignées n'ont pas toutes été capturées au même stade de développement et n'ont pas toutes mué en même temps au laboratoire, 12 semaines ont été nécessaires pour que toutes réalisent leur mue imaginale et deviennent adultes. Afin de tester toutes les araignées une première fois au même âge adulte, avant de réaliser les autres tests de construction au cours de leur vieillissement, nous regroupons les araignées adultes âgées de 16 à 21 jours par ordre de date de mue imaginale. En raison du nombre important d'araignées (N=225), le premier test s'effectue sur 12 semaines. Les groupes sont ensuite suivis au cours



du temps et testés à 7 âges différents (Figure 14). La diminution du nombre d'araignées par groupe entre les tests est due à la mortalité des araignées.

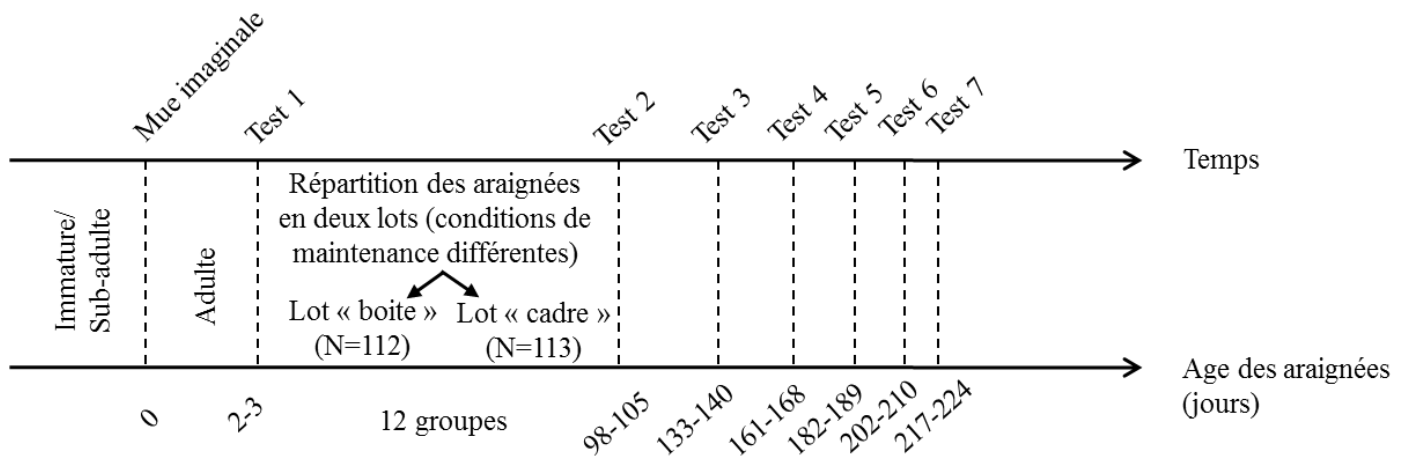


Figure 14. Chronologie des tests de construction et âge des araignées lors des tests

Durée de vie et âge pré mortem

La date de mort des araignées est relevée afin de déterminer la durée de vie adulte des araignées et le temps leur restant à vivre (en jours) avant leur mort à la date de leurs constructions et de tester l'influence de ces paramètres sur la structure de la toile et le comportement de construction de l'araignée.

III. Conditions d'expérience et de maintenance des araignées lors du vieillissement

Avant chaque test, le nombre de pattes des araignées est vérifié car, bien que la perte d'une ou deux pattes n'influe pas sur les caractéristiques des toiles et l'efficacité de capture (Pasquet *et al.* 2011, **article 6** en annexe), elle peut avoir un effet sur la mobilité des araignées lors de la construction de la toile (Johnson et Jakob 1999). Les araignées possédant moins de huit pattes sont donc écartées des expériences. Nous avons vu dans l'introduction que la masse corporelle des araignées influence aussi la construction de la toile. Afin d'en tenir compte, les araignées sont pesées avant chaque test (balance Sartorius Basic BA110S, $\pm 0,1$ mg).



Pour réaliser chaque test, les araignées d'un groupe sont placées individuellement dans des cadres en bois ($50 \times 50 \times 10$ cm) fermés par deux vitres (50×50 cm), ce qui leur permet de tisser une toile (Figure 15). L'humidité de l'air ayant une action sur les propriétés de la soie (viscosité et élasticité), la structure de la toile et sur l'araignée elle-même (hydratation) (Edmonds et Vollrath 1992; Vollrath et al. 1997; Foelix 2011), le taux d'humidité dans chaque cadre est maintenu grâce à un récipient rempli d'eau, fermé par de la gaze.

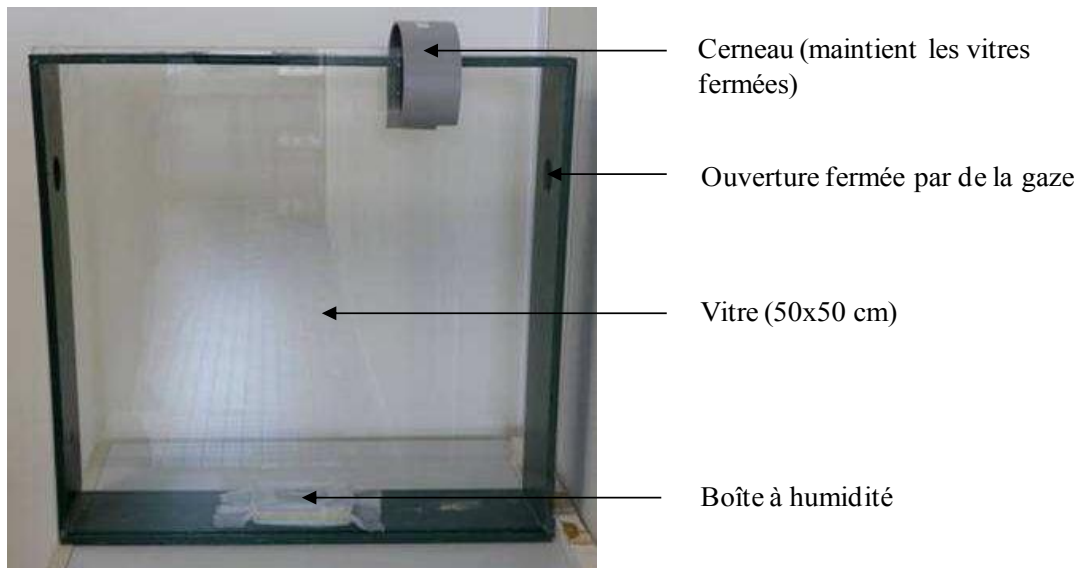


Figure 15. Cadre d'expérience en bois ($50 \times 50 \times 10$ cm)

Afin de tester l'influence des conditions de maintenance des araignées sur la géométrie de la toile pendant leur vieillissement, les araignées sont séparées en deux lots après le premier test et placées dans deux conditions différentes pour vieillir (**article 7** en annexe). Ainsi, à l'issue du premier test, les araignées sont soit replacées dans leurs boîtes respectives d'élevage et n'ont donc pas la possibilité de construire des toiles entre les tests, soit elles sont placées individuellement dans des cadres en bois ($50 \times 50 \times 10$ cm) et libres de construire des toiles. Cette répartition est effectuée au hasard, de telle sorte que la moitié des araignées ($N=112$) vieillissent confinées dans des boîtes et l'autre moitié ($N=113$) dans des cadres (Figure 14).

Lors d'un test, qui peut durer de 1 à 5 jours, les cadres sont inspectés chaque jour pour relever les toiles construites. Si une araignée n'a pas construit de toile, elle est laissée dans le cadre au maximum 5 jours pour le test. A l'issue de ces cinq jours ou après avoir construit une toile, les araignées sont replacées dans leurs conditions de maintenance respectives, boîte ou cadre, définies après le test 1, jusqu'au test suivant. Au total, sept tests sont réalisés dans le



temps pour chaque araignée (Figure 14 ; **article 2**), à moins que l'araignée ne meure avant le septième test.

IV. Paramètres de mesure des toiles

Quand une araignée a construit une toile, les vitres du cadre sont retirées et on effectue des photographies et des mesures de la toile permettant de calculer l'investissement en soie de l'araignée dans la toile et de relever les paramètres de structure de la toile. Les photographies sont réalisées avec un appareil Lumix FZ18 en plaçant un fond noir derrière le cadre et en éclairant la toile par une lumière artificielle.

I.V.1 Investissement en soie

Les mesures permettant de calculer l'investissement en soie sont réalisées dans quatre secteurs de la toile selon la méthode de Venner *et al.* (2000; 2001), un secteur étant défini par l'espace entre deux rayons : un secteur situé dans le haut de la toile (secteur H), un secteur dans le bas de la toile (secteur B), un secteur situé près de la retraite (secteur R) et un secteur opposé à la retraite (secteur OR) (Figure 16). Nous mesurons, pour chacun des quatre secteurs, la longueur des rayons internes (R_i), la longueur des rayons externes (R_e) et comptabilisons le nombre d'unités de spirale dans chaque secteur (les différentes zones et structures d'une toile orbitèle de *Zygiella x-notata* comme les rayons ou les unités de spirale sont illustrées dans la figure 17). La mesure des longueurs se fait à partir du centre que nous avons défini comme étant la jonction du fil avertisseur avec le moyeu (Figure 16-17). Nous mesurons également la longueur de la hauteur du secteur libre de la toile (h), la longueur de la base du secteur libre de la toile (b) (Figure 16) et comptabilisons le nombre total de rayons dans la toile.

Ces mesures nous permettent de mesurer l'investissement en soie de l'araignée dans la toile, matérialisé par la longueur totale du fil de soie investie dans la spirale de capture, nommé CTL (Capture Thread Length), et la surface de la zone de capture, notée S, à l'aide des formules établies par Venner *et al.* (2000; 2001) :

$$CTL_{vh} = (1-a) \pi/16 (N_h + N_v) (D_o.h + D_i.h + D_o.v + D_i.v)$$

$$S = \pi \times R_o^2 - B \times H/2$$

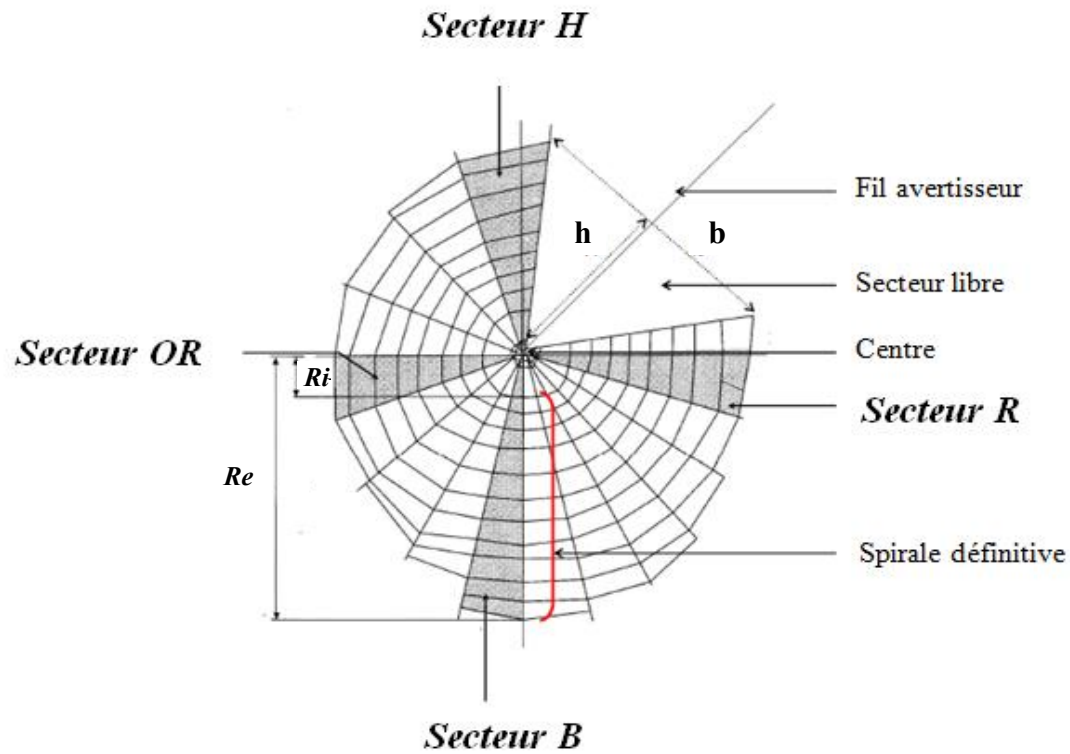


Figure 16. Schéma de la toile de *Zygiella x-notata* et paramètres mesurés sur la toile.

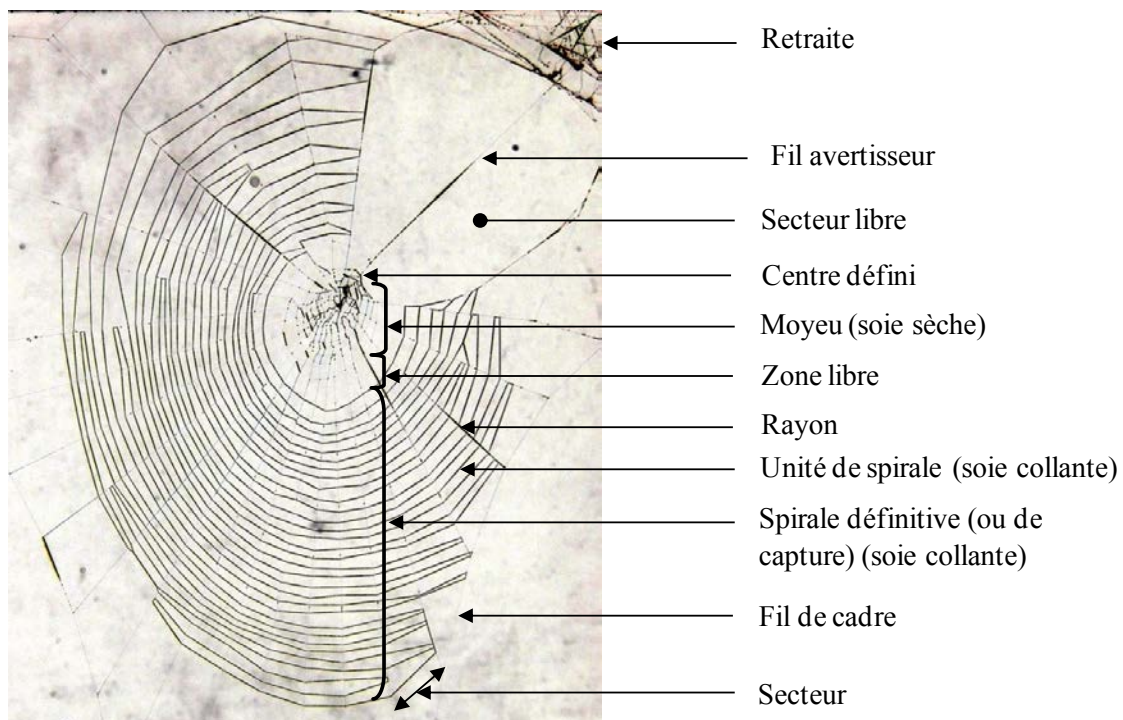


Figure 17. Illustration des différentes zones et structures d'une toile orbitale de *Zygiella x-notata* (Photo : M. Anotaux, 2011).



- La formule du CTL νh implique les axes horizontaux (h) et verticaux (ν) de la toile.

« a » représente le facteur de correction qui prend en considération le secteur libre présent dans la toile de *Zygiella x-notata* : $a = [(bxh)/2] / (\pi \times R_{\text{moy}})$

N h représente le nombre d'unités de spirale, suivant l'axe horizontal (dans le secteur retraite R et opposé retraite OR de la toile)

N ν représente le nombre de d'unités de spirale, suivant l'axe vertical (dans le secteur haut H et bas B de la toile)

Do. h et Do. ν représentent, respectivement, le diamètre horizontal externe et le diamètre vertical externe de la toile (diamètre de la spirale définitive + zone libre + moyeu)

Di. h et Di. ν représentent, respectivement, le diamètre horizontal interne et le diamètre vertical interne de la toile (diamètre de la zone libre et du moyeu)

- Formule de la surface S :

R $_o$ représente la moyenne des longueurs des rayons externes des quatre secteurs de la toile

B représente la longueur de la base du secteur libre

H représente la longueur de la hauteur du secteur libre

I.V.2 Structure de la toile

- *Anomalies*

A partir des photographies de toiles transposées en négatif avec le logiciel de retouche d'image Photofiltre (version 7) pour faire ressortir les fils de soies, nous avons relevé et défini un certain nombre de modifications structurelles dans les toiles que nous avons nommées « anomalies » (**article 1**). Ces anomalies peuvent concerner les rayons et/ou la spirale de capture. Nous avons défini les anomalies de rayons par : les rayons surnuméraires, déviés ou en « Y », et nous avons défini les anomalies affectant la spirale de capture par : les retours, les trous, les unités de spirale collées par 2 entre deux rayons, les unités de spirale collées par plus de 2 entre deux rayons, le nombre d'unités de spirale non parallèles entre deux rayons et les unités de spirale non continues. Le nombre total d'anomalies par toile a été comptabilisé puis rapporté à la longueur totale du fil de la spirale de capture (CTL) pour nous permettre d'estimer le nombre d'anomalies par cm.



Les autres parties « matériel et méthodes » propres à chacune des quatre questions introduites dans la thèse sont développées dans les quatre articles du chapitre « Résultats ».



Article 1

Imperfections in a perfect architecture: the spider orb-web.

Alain Pasquet^{1, *}, Julia Marchal², Mylène Anotaux¹, and Raymond Leborgne¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies, Laboratoire : « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 54506 Vandoeuvre les Nancy – Cedex. France

²: UMR CNRS-MNHN 7179, Equipe « Mécanismes Adaptatifs et Evolution », 1 Av. du Petit Château, 91800 Brunoy – France

* Corresponding author : Alain Pasquet,

E-mail : alain.pasquet@univ.lorraine.fr

European Journal of Entomology, submitted



Résumé de l'article 1



Introduction

La toile orbitale est souvent considérée comme une structure géométrique parfaitement régulière. Pourtant, des erreurs peuvent apparaître dans la structure de la toile au moment même de la construction et refléter les variations et les imprécisions comportementales de l'araignée⁽¹⁾. Cet article présente les différents types d'anomalies pouvant être présents dans une toile orbitale construite par une jeune araignée adulte *Zygiella x-notata*.

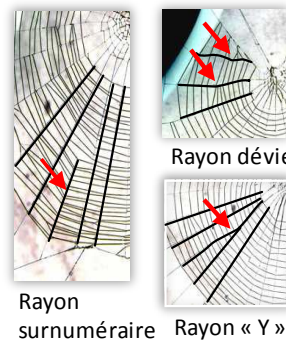
Matériel et méthodes

Les araignées (N=127) âgées de 17 à 21 jours de vie adulte sont placées dans des cadres pour construire une toile. Dix types d'anomalies différents sont comptabilisés sur les toiles. Des mesures sur les toiles permettant d'établir si des relations existent entre la répartition des anomalies et les caractéristiques structurales des toiles sont réalisées.

Paramètres pris en compte:

- **Les anomalies:** nombre d'imperfections pouvant affecter les rayons ou la spirale de capture (ci-contre, 9 anomalies représentées sur 10)
- **Longueur de fil** de la spirale de capture (CTL)
- **Aire de capture**
- **Longueur du secteur le plus bas** de la toile
- **Nombre de tours** de la spirale de capture
- **Distance moyenne entre 2 tours de spirale**

Anomalies de rayons

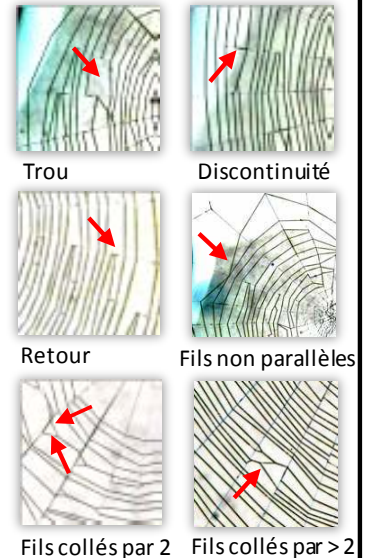


Rayon surnuméraire

Rayon « Y »

Rayon dévié

Anomalies de la spirale de capture



Trou

Discontinuité

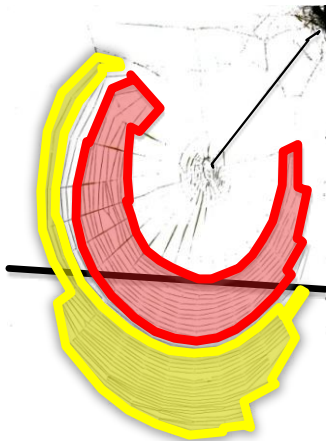
Retour

Fils non parallèles

Fils collés par 2

Fils collés par > 2

Résultats



127 toiles ont été analysées.

Les anomalies représentent moins de 5% des éléments des toiles mais touchent plus de 80% d'entre elles.

Les anomalies affectant la spirale de capture sont les plus nombreuses

Les anomalies de spirale ne sont pas uniformément réparties:

- ✚ Elles sont plus fréquentes en périphérie de la toile (■) que près du centre (■)
- ✚ Elles sont aussi plus nombreuses dans la partie haute de la toile (au-dessus du trait horizontal noir ci-contre) que dans la partie basse (en dessous du trait horizontal noir ci-contre)
- ✚ Les « stop et retour » sont les anomalies les plus fréquentes

Conclusion

Les anomalies de structure des toiles touchent les rayons et la spirale de capture. Elles peuvent être interprétées comme des altérations dans l'exécution de certains comportements répétitifs et représentent les conséquences de la variabilité comportementale individuelle.

⁽¹⁾ Hesselberg, T. (2012). Web-building flexibility differs in two spatially constrained orb spiders. *Journal of Insect Behaviour*, 1-21.



Abstract

Among animal constructions, the spider's orb web symbolizes a perfectly geometric architected model. Construction consists of successive behaviours often considered to be instinctive and stereotyped. However, the webs are not totally perfect. In order to assess potential variability in web structure, spiders of *Zygiella x-notata* species were allowed to build webs in laboratory under standardized conditions. Webs (n=127) were examined for or anomalies (defined as modifications with regard to a geometrical structure).

Ten structural anomalies were described in the webs of adult females (aged from 16 to 21 days after their adult moult): their quantity per web fluctuated from 5 to 98. They represent a very low percentage of the spiral elements of a web (less than 5%). Anomalies on radii were less numerous (mean=3+/-3) than those on the sticky spiral (mean= 21+/-11). Anomalies of the spiral were different and more frequent in the outermost than in the innermost part of the web. They were also relatively more numerous in the upper part of the web than in the lower part. Total number of anomalies was positively correlated to web characteristics (capture area, length of capture thread, length of the lower part of the web and mean distance between two spiral turns in the lower part) but not to the spider's physical characteristics (mass and size).

Our results showed that spider orb webs, often considered as a perfect geometrical, structure, include anomalies affecting mainly the sticky spiral. In this work, these anomalies were the result of behavioural variability during web building. In conclusion, the identification of web anomalies leads to an important field of investigation using anomalies in spider webs as index of behavioural variability in the absence of variations of environmental factors.

Key-words: Web construction, Silky structures, Anomalies, Behavioural variability



1. INTRODUCTION

Animal constructions are the result of individual and collective activities (Hansell, 2005). All these constructions are the consequence of behaviours and require a certain level of cognitive complexity (Hansell & Ruxton, 2008) or are self-organized (Stafford et al., 2011). In general, these constructions result from the use of environmental materials (Hymenoptera and bird nests) and, more rarely species produce material, which can be used. These constructions are the result of the interaction between genotype and environment, and they could be considered to be extended phenotypes (Dawkins, 1982; Schaedelin & Taborsky, 2009).

Among the 40 000 species of spiders, more than half build a trap (silk structure able to intercept and retain prey) with silk they produce themselves (Foelix, 2011). In the diversity of these constructions, the geometrical webs of spiders show structural regularity. However, it has been shown that it could be a lack of regularity in the establishment of an attachment point, frame and radial threads, in which the construction involves behavioural sequences such as thread addition and thread removal (Zschokke, 1996). Orb webs always drew attention by their architecture, and especially their geometrical regularity. Web construction is described as follows: first, the spider fixes silk threads on supports that will constitute the frame in which the web will be built. Second, the spider sets up radii and then an auxiliary spiral, which is built from the centre towards outside. Afterwards, the spider deposits a sticky spiral (capture thread) by moving from outwards the centre of the web using the auxiliary spiral as a guide (Foelix, 2011). The orb geometry of the web is given by the presence of radii around a hub and a sticky spiral attached on these radii.

The design of the web is known to vary depending on environmental or internal conditions. The web structure may be affected by gravity (Witt et al., 1968, 1977; Vollrath & Mohren, 1985), by the absorption of drugs (Witt & Reed, 1965; Reed & Witt, 1968; Hesselberg & Vollrath, 2004) or by a morphological disability (missing or shorter leg) (Vollrath, 1987; Pasquet et al., 2011). Moreover, studies showed that webs characteristics present variations at intraspecific and intra-individual level (Herberstein & Heiling, 1999; Heiling & Herberstein, 2000) and it is known that web structure was the direct reflection of spider behaviour (Zschokke & Vollrath, 1995).

In parallel to the variability of the orb webs' knowledge, the detailed building behaviour has been described; i.e. for the construction of the sticky spiral, each thread



positioning depends on information perceived by the movements of the first pair of leg (L1) (Vollrath, 1987). Several descriptions report identified, stereotyped and repetitive behaviours, which can be translated into simple algorithms (Vollrath, 1992; Vollrath et al., 1997; Krink & Vollrath, 1997), but if spiders functioned like mathematical models, webs should have a perfect geometry with low variability and, any web defect could thus be ascribable to behavioural variation during construction (Toscani et al., 2012).

Variations in web structures and web geometry have been used in several works to quantify the influence of environmental factors such as space constraints (Aedes, 1986; Krink and Vollrath, 2000; Barrantes and Eberhard, 2012, Hesselberg, 2012), parasite attacks (Eberhard, 2001, 2010, Gonzaga et al., 2010), or physiological factors such as development (Eberhard, 2007, 2011; Hesselberg, 2010). . Other studies took into account the regularity, the irregularity or the asymmetry, which make the web not a perfect orb (Witt et al., 1968; Ap Rhisart & Vollrath, 1994; Vollrath et al., 1997; Hesselberg & Vollrath, 2004; Coslovsky & Zschokke, 2009; Nakata, 2010; Nakata & Zschokke, 2010, Eberhard, 2011). In the later cases, parameters are more linked to the general design of the web than to specific local anomalies, which could result from behaviours expressed during the construction of the different parts of the web.

Our purpose here is to identify anomalies in webs concerned with radii and sticky spiral construction and to establish if relationships exist between these anomalies and the characteristics of the whole web or of the spiders. This paper is a description one, which is complementary to a more important one on the influence of age on web design (Anotaux et al. 2012). In this later paper, we used the anomalies as parameters of web modifications as consequences of spider age. Moreover, as studies were performed in the laboratory under standardized conditions, we expected that variability in the number and types of anomalies would be directly linked to the spider's behaviour. Such information could represent a basis to quantify the variability of building behaviours under natural (pollutant, morphological disabilities, ageing) or experimental (drugs, space) conditions.

2. MATERIALS and METHODS

Spider and laboratory conditions

Zygiella x-notata (Clerck), Araneae, Araneidae) is an orb-weaving spider abundant in the Palearctic region, which inhabits human constructions. In the north east of France, its life



cycle is annual. Reproduction takes place during the end of summer or the beginning of fall and juveniles leave the egg sacs during the next spring (Roberts, 1985). Immature females were collected in their natural environment. Adult moult were controlled in laboratory by a daily survey of all spiders. Breeding in the laboratory is easy under standardized conditions (temperature 19°C, light 12 hours from 8a.m. to 8 p.m.). In laboratory conditions, spiders are maintained in plastic boxes (10x7x2cm) where they are fed with flies (*Lucilia caesar*) once per week and supplemented with water. They cannot build a web in these enclosures.

To obtain web, we took adult females of 16 to 21 days old (mean age=20 days, SE=2 days, n=127). These spiders were put into wooden frames (50x50x10 cm) closed by two panes of glass sufficient for building a web as large as under natural conditions. The control of web spinning was done through a daily survey of new constructions. Only the first web built was used. A total of 127 webs from 127 different spiders were obtained and used in the analysis (only 98 spiders were weighted; mass: mean=26.5mg, SE=9.4mg, n=98).

Web Characteristics

The web of *Zygiella x-notata* has the particular feature of a free sector that lacks sticky threads, and a connecting thread between the hub and the retreat of the spider. The construction of this free sector is the result of the sticky spiral building. *Zygiella x-notata* reverses its direction during the sticky thread deposit when it arrives to the last radius before the free sector.

Orb webs are two-dimensional objects that are easily quantifiable. We used two parameters defined by Venner et al. (2001) for webs of *Zygiella x-notata*: the length of the thread constituting the sticky spiral (CTL), and the capture area (CA) that represented the surface of the web minus the surface of the free sector and the surface of the centre part of the web (without sticky spiral). We counted the total number of radii. We used also, parameters characterizing the lower part of the web located below the hub, which was, for this species, the most important part for foraging activity (Nakata & Zschokke, 2010). These additional parameters were: the length of the lower sector measured as the distance between the outermost and the innermost spiral turns, the number of spiral turns in the lower sector, and the mean distance between two successive spiral turns calculated by dividing the lower part length by the number (minus one) of spiral turns.



Spider characteristics

Spider mass was measured before putting them into the frames (Sartorius, precision balance: 0.1mg). Spider size was estimated by prosoma width. We measured also the first legs (L1) of the right side of the spider from a dorsal view. Leg length was obtained by adding the measures of the four leg's segments (femur, patella-tibia, metatarsus and tarsus); we used this method because measurements were done on dead spiders and in these conditions, legs were never totally spread. We measured the first leg because it is considered to have an essential role in web construction and web characteristics (Vollrath, 1987; Krink & Vollrath, 1997). All size measures were done with a dissecting stereoscope (x100) (Wild) using a micrometer. Twenty-one spiders were measured.

Web anomalies

Description of the anomalies

We defined anomalies as imperfections that could affect the web during its construction: they were different from those induced by external element (wind, prey). They could affect the radii or the sticky spiral (Fig. 1).

- *Anomalies of radii*: a radius was defined as a straight segment between the centre and a frame thread. According to this definition, we noted:

Supernumerary radius: is a shorter radius than others, which does not originate from the web centre but from a sticky thread between two radii and which has junctions with sticky threads at each end.

Deviated radius: a radius that is not rectilinear but presents a deviation in one point of more than 5° compared to a rectilinear trajectory starting from the centre.

Radius in "Y": a single radius from the centre that at one-point yields two separate segments reaching two different points on the frame threads.

- *Anomalies of the sticky spiral*: two successive radii defined a sector of the web. In a sector, the spiral constituted a series of parallel threads (spiral units) attached to the radii. We noted seven variations affecting the spiral units and the capture spiral.

Stop and return (Fig.1): in a sector, two spiral units stop and end in one (triangular ending) or two points (rectangular ending) of a radius. This end point is not on the same level as the spiral units of adjacent spiral turns. A stop and return occurs as a



variation when the spiral units on either side do not show a return on the same radius, which made differences with the usually defined returns (Zschokke, 2011).

Hole (Fig. 1): in a sector, a hole was defined by the absence of at least one spiral unit framed by at least two spiral units on each side. The number of affected contiguous sectors is counted.

Spiral units stuck by two (Fig. 1f): in a sector, two consecutive spiral units are stuck together.

Spiral units stuck by more than two (Fig. 1): in a sector, three or more consecutive spiral units are stuck together.

Discontinuity of the spiral threads (Fig. 1): in a sector, a spiral thread ends on a radius and is framed on either side by two threads that are not connected with it. This anomaly is not taken into account in the two sectors adjacent to the free sector.

Non-parallel spiral units (Fig. 1): in a sector, two spiral units meeting in a point of a radius as a triangular ending and prolonged in the next sector.

Spiral units in zigzag (Fig. 1): portion of a spiral turn in which several consecutive spiral units take opposing directions in at least three consecutive sectors.

Data analysis

For each web, we counted all anomalies and gave their total number per web on 127 webs. We combined anomalies into two groups: anomalies relating to the radii corresponding to the second step of the web construction (Foelix, 2011), and the seven anomalies which concerned with the sticky spiral constituting the fourth and last step of the web building (Foelix, 2011).

In a second time, we analysed the distribution of the anomalies on the sticky spiral on a sample of 40 webs chosen randomly. We counted all the spiral units and all the anomalies per web. We followed the path used by the spider to lay the sticky spiral on photographs of each web. We compared the number of anomalies between the lower and upper parts of the webs (Fig. 1): to do that, we divided the webs into two parts based on a line perpendicular to the longest radius of the lower part of the web that goes by the point of intersection of this radius and the innermost spiral turn. We counted the number of spiral units and the number of anomalies in each part (Fig. 1). As the numbers of spiral units were not the same in the upper and lower parts of the webs, we expressed the number of anomalies as a percentage of spiral units ($\% \text{anomalies} = \text{number of anomalies} / \text{number of spiral units} \times 100$). We compared also, the number of anomalies between the outermost and innermost spiral turns of the whole orb



(Fig. 1). To make it, two hundred spiral units from the outer thread of the spiral and two hundred spiral units from the inner thread of the spiral (near the centre of the web) were counted. We compared the number of anomalies on spiral units between these two groups. When the web was too small and did not have at least four hundred spiral units in the sticky spiral, we counted the total number of spiral units and divided it by two.

Statistical analysis

For the comparison of the number of anomalies between the lower and upper part of the web, the number of anomalies per web was expressed as number per cm of the sticky spiral threads (CTL). We tested the correlation between the number of anomalies per web with the web parameters and the spider physical characteristics by a simple parametric linear regression. We tested an allometric relationship between the number of anomalies per web and web size (length of the sticky spiral (CTL) and capture area (CA). We transformed data with a log N function when they did not fit a normal distribution. For the anomaly distribution analyses onto the sticky spiral, we used a two-tailed paired *t* test.

Tests were performed with Statview software 5.0 on a MacIntosh platform. The results were expressed as mean and Standard Error (SE), and the statistical significance was considered for $p < 0.05$.

3. RESULTS

Anomalies

A total of 127 webs were analysed (Table 1). The total number of anomalies per web varied from 5 to 98 (mean=35 $\pm$ 1, n=127) (Fig. 2). Except for supernumerary radii that affected only 15% of webs, majority of the anomalies (6/10) existed in more than 80% of webs (deviated radii, stop and returns, holes, spiral units stuck by 2, discontinuities of spiral units and spiral units in zigzag, Table 1).

Anomalies on radii were less numerous than on the sticky spiral (mean per web on radii=3.1, SE=2.7, mean per web on the sticky spiral=21.4, SE=11.4, n=127). Stop and returns were the most frequent anomalies of the sticky spiral (mean per web=10.0, SE=4.8, n=127). There was a positive relation between the numbers of anomalies of the two categories (on radii and on the sticky spiral) ($R^2=0.18$, n=127, $F=29.3$, $p < 0.0001$).

The number of anomalies per web relative to the number of spiral units is very low (number of spiral units: m=486, SE=28, number of anomalies: m=16, SE=1, percentage of



anomalies: $m=3.6\%$, $SE=0.2\%$, $n=40$). Anomalies of the sticky spiral were not equally distributed: there were relatively more anomalies in the upper part of the web than in the lower part (upper part: $m=4.8\%$, $SE=0.4\%$, lower part: $m=3.0\%$, $SE=0.3\%$, $t=4.80$, $df=39$, $p<0.001$). Stop and returns, non-parallel spiral units and discontinuities in the spiral thread were relatively more numerous in the upper part of the web (stop and returns: $t=2.04$, $df=39$, $p=0.048$, non-parallel spiral units: $t=2.05$, $df=39$, $p=0.047$ and discontinuities: $t=5.05$, $df=39$, $p<0.001$). No difference was found for the other anomalies. For the comparison between the outermost and innermost parts of the webs, there were more anomalies in the outermost part of the spiral than in the innermost part (t-test, $t=5.02$, $df=39$, $p<0.001$). Stop and returns, holes and spiral units stuck by two were the most numerous anomalies and they were more frequent in the outermost part of the sticky spiral (stop and returns: t-test, $t=8.04$, $df=39$, $p<0.0001$, holes: t-test, $t=3.99$, $df=39$, $p<0.001$ and spiral units stuck by two: t-test, $t=4.15$, $df=39$, $p<0.001$) whereas no difference was found for the other anomalies.

Relationships between the number of anomalies and web parameters

We tested the existence of an allometric relationship between the number of anomalies and size of the web. The number of anomalies per web increased as the (CA) was larger ($R=0.27$, $n=127$, $F=10.2$, $p=0.002$). Also, the longer the sticky spiral was (CTL), the greater were the anomalies ($R=0.38$, $n=127$, $F=20.1$, $p<0.0001$). So we could conclude that the number of anomalies increased more rapidly than the size of the web or than the length of the silky thread of the sticky spiral.

The total number of anomalies was positively correlated with the length and the number of spiral turns of this lower part (length of the lower part of the web: $R=0.23$, $n=127$, $F=6.4$, $p=0.013$; spiral turn number in the lower part of the web: $R=0.39$, $n=127$, $F=22.4$, $p<0.001$). On the other hand, there was no relation between the number of anomalies and the radii number ($R=0.15$, $n=127$, $F=2.55$, N.S.) or with the mean distance between spiral turns in the lower part of the web ($R=0.05$, $n=127$, $F=0.06$, N.S.).

Relationships between the number of anomalies and spider characteristics

There was no relation between the total number of anomalies and spiders' masse (total number of anomalies: $R=0.10$, $n=98$, $F=2.1$, $p=0.15$). Also, we found no correlation between the number of anomalies and the parameters used to measure spider size (first leg length: $R=0.33$, $n=21$, $F=2.0$, $p=0.15$, and prosoma width: $R=0.36$, $n=21$, $F=2.6$, $p=0.12$).

*Relationships between types of anomalies and web parameters and spider characteristics*

Simple linear regression between anomalies and web parameters and spider characteristics revealed no significant relations except for the stop and returns, which were correlated positively with all of web characteristics (CA: $R=0.42$, $n=127$, $F=29.4$, $p<0.0001$, CTL: $R=0.63$, $n=127$, $F=83.1$, $p<0.0001$, length of the lower part of the web: $R=0.50$, $n=127$, $F=43.2$, $p<0.0001$, number of spiral turns in the lower part of the web: $R=0.76$, $n=127$, $F=180.4$, $p<0.0001$, and number of radii: $R=0.32$, $n=127$, $F=13.9$, $p<0.001$). The number of stop and returns was also positively correlated with the spider mass ($R=0.20$, $n=98$, $F=2.2$, $p=0.03$).

4. DISCUSSION

Our study reveals that the orb webs of *Zygiella x-notata* present anomalies of structure. For the observed spiders, all the webs respect the global architecture plan of an orb-web and anomalies are local imperfections affecting the radii and the sticky spiral. The anomalies that we took into account, affected two stages of the construction: the radii and the sticky spiral, because we found anomalies in all webs. Since spiders built their webs in controlled frames and as we checked them immediately after their construction, the anomalies could be assigned to behavioural variations involved in web building or to post construction events but not to external factors such as wind, rain, prey, and conspecifics. In the post construction category, for example, anomalies may appear later when the web was modified by the simple game of the different forces and tensions in the structure: i.e. a deviated radius may result from differences in tensions on this radius. Orb web building result of repetitive behaviours, which could be mimicked by some algorithms (Krink & Vollrath, 1999). The spiral anomalies described here that are local and involve very few successive spiral units could be interpreted as “alterations” of the execution of some of the repeated behaviours (steps of the algorithm). The total number of anomalies of the sticky spiral was variable from one web to the next and with a low frequency relatively to the number of spiral units. So, these anomalies appeared as individual temporary variations of behaviours during web construction.

All the anomalies were more numerous when the web was larger. This number was not directly linked to web size parameters, but we showed that it increased more rapidly than the size of the webs; it is not a linear relationship. The number of anomalies of the sticky spiral is directly linked to the number of silk units that constitute the final sticky spiral. It is not related to spider's physical characteristics (mass and size), but to web characteristics (size



of the capture area, length of silky thread deposited, interspiral distance). It has been demonstrated that these latter characteristics may vary with available space (Aedes, 1986; Krink and Vollrath, 2000; Barrantes and Eberhard, 2012, Hesselberg, 2012) previous prey capture (Henshel & Lubin, 1996; Lubin & Henschel, 1992; Pasquet et al., 1999), prey size (Thevenard et al., 2004; Balckledge & Zevenbergen, 2006; Abrinicot-Adam et al., 2009), internal state of the spider (Venner et al., 2003) and experience (Venner et al., 2000, Heiling & Herberstein, 1999, 2000), or development (Eberhard, 2007, 2011; Hesselberg, 2010). As the number of anomalies is linked to web characteristics, it might be under the influence of these different factors, but under our controlled conditions in laboratory, the influence of these environmental factors was reduced and became negligible. Therefore, the number of anomalies could be considered as a spider characteristic independent of environmental factors.

The number of anomalies we found in *Zygiella* webs was very low (less than 5% of the total sticky spiral units). Under controlled conditions, the spiders made very few behavioural errors during web construction. This is a notable phenomenon, and we could ask if these errors (leading to web anomalies) are randomly distributed or if they concern some particular parts of the web, as it is known that the different parts of the web reveal different technics of construction (Foelix 2011).

The comparisons we did between the spiral units built at the beginning of the construction and at the end showed types and number of anomalies were different between the beginning and the end of the sticky spiral (i.e. more stuck threads and stop and returns at the beginning than at the end). That does not support the hypothesis spiders fatigue or lack of silk. We know that the amount of silk could be a limiting factor as regards web characteristics (Eberhard, 1988, Sensenig et al., 2010) and it should influence the number of anomalies between the beginning and the end of the web construction. However, these differences could be correlated with changes in web building behaviours. As in many other orb web spiders, during the laying of the sticky spiral, *Zygiella x-notata* uses the length of its forelegs (L1) to evaluate the distance between two radii. The construction begins with laying the outermost part of the spiral and in this case the distance between two radii is larger than the length of the forelegs; so the spider has to move to the centre to find the next radius (Vollrath, 1987, Eberhard, 2011). At the end of the construction when the spider is near the centre, the distance between two radii is smaller and the spider finds directly the next radius with its forelegs. The spider modifies its silk laying behaviour between the beginning and the end of the capture



spiral deposit. And these behavioural changes in spiral unit construction should affect the probability of building anomalies differentially.

The other comparison between the upper and lower parts of the web showed that anomalies were not equally distributed; there were relatively more stop and returns, non-parallel threads and discontinuities in the upper part of the web than in the lower part. This could indicate that anomalies occur during different sequences of web building. In fact, when building its web, the spider has to face to different orientations of its body axis relatively to the position (vertical or horizontal) of the deposited thread.

Even if we had no direct observations of the building behaviour during the construction of the different parts of the web, we know that during the laying of the spiral units, some behavioural errors may occur (Toscani et al. 2012). By studying the building behaviour and some anomalies apparition (threads stuck by two and non-parallel threads), we found that these two behavioural errors were directly linked to the position of the fourth leg and abdomen (Toscani et al. 2012). As the positions of these body elements were not the same when the spider deposited the spiral units in the different parts of the web, it could be the origin of behavioural errors, which lead to anomalies.

Moreover, it has been shown that behavioural decisions may be influenced by the position of the temporary spiral and also by that of the sticky spiral; its process includes short-term memory (Eberhard & Hesselberg, 2012). In conclusion, the anomalies in orb webs we observed in this work were probably the result of behavioural errors based on incorrect use of local information (distance to the temporary spiral or to a previous junction with a radius).

These conclusions lead to view anomalies in orb webs as a good model to study behavioural variations induced either by environmental factors (changes in prey availability, presence of conspecifics, space) or by internal factors (development, age, physiological variations). Different studies have shown that several substances (i.e. drugs, or pharmacological products) that influence web building behaviour might also affect orb web design in spiders (Witt et al., 1968; Hesselberg & Vollrath, 2004). If, the alteration of the web construction behaviour may affect the design of the orb web such that it was impossible to recognize the geometry of an orb web (Reed et al., 1970), some modifications due to drugs or pharmacological products (Hesselberg & Vollrath, 2004) or age (Anotaux e al. 2012), look like the anomalies we observed in *Zygiella* webs. In these latter cases, authors agree to say that the different substances or age had affected the behavioural expression through action on the brain; the locomotor activity or the coordination during spider displacement were affected.



Thus all these considerations lead to the conclusion that anomalies observed on the geometrical perfect structure that is an orb web are likely to be the consequences of individual variations in behaviour. Here, in controlled laboratory conditions where the spider does not suffer environmental constraints, variability in web design does not seem to be linked to web characteristics or spider's state but more to errors in thread laying. These results suggest that sticky spiral anomaly studies are a fruitful ground for investigating the influence of central nervous system state on task execution based on repetitive behaviours.

Aknowledgments

This work was conducted at the UHP University Nancy, with a grant from the CNRS (interdisciplinary program PIR, "Ageing and Longevity"). We thank L. Bahans, M.S. Degree student for her help for rearing spiders, Dr. Y. Lubin for her corrections of the English version of this manuscript.

References

- Abrenicot-Adamant L.R., Torres M.A., Barrion A.A., Dupo A.L. & Demayo C.G. 2009: The influence of prey on size, capture area, and mesh height of the orb-web of the garden spider *Argiope Aemula* (Walckenaer 1841) (Araneae; Araneidae). *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.* **1**: 65-71.
- Ades C. 1986: A construçao da teia geometrica como programa comportamental. *Ciencia et Cultura* **38**: 760-775.
- Anotaux M., Marchal J., Châline N., Desquilbet L., Leborgne R., Gilbert C. & A. Pasquet 2012 : Ageing alters spider orb-web construction. *Anim. Behav.* (in press).
- Barrantes G. & Eberhard W.G. 2012: Extreme behavioural adjustments by an orb-web spider to restricted spaces. *Ethology* **118**: 438-449.
- Ap Rhisiart A. & Vollrath F. 1994: Design features of a spider orb web. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **5**: 280-287.
- Blackledge T.A. & Zevenbergen J.M. 2006: Mesh width influences prey retention in spider orb-webs. *Ethology* **112**: 1194-1201.
- Coslovsky M. & Zschokke S. 2009: Asymmetry in orb-webs: an adaptation to web building costs. *J. Insect Behav.* **22**: 29-38.



- Dawkins R. 1982: *The extended phenotype*. Oxford University Press, Oxford UH, 320pp.
- Eberhard W.G. 1988: Behavioral flexibility in orb web constructions: effects of supplies in different silk glands and spider size and weight. *J. Arachnol.* **16**: 295-302.
- Eberhard W.G. 2001: Under the influence: webs and building behavior of *Plesiometa argyra* (Araneae, Tetragnathidae) when parasitized by *Hymenoepimecis argyraphaga* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *J. of Arachnol.* **29**: 354-366.
- Eberhard W.G. 2007. Miniaturized orb-weaving spiders: behavioural precision is not limited by small size. *Proc. R. Soc. B* **274**: 2203-2209.
- Eberhard W.G. 2010 : Recovery of spiders from the effects of parasitic wasps: implications for fine-tuned mechanisms of manipulation. *Anim. Behav.* **79**: 375-383.
- Eberhard W.G. 2011: Are smaller animals behavioural limited? Lack of clear constraints in miniature spiders. *Anim. Behav.* **81**, 813-823.
- Eberhard W.G. & Hesselberg T. 2012: Cues that spiders (Araneae: Araneidae, Tetragnathidae) use to build orbs: lapses in attention to one set of cues because of dissonance with others? *Ethology* (on line - 10.1111/j.1439-0310.2012.02048.x).
- Foelix R.F. 2011: *Biology of spiders*. Oxford University Press, Oxford, 3rd edition. 411pp.
- Gonzaga M.O., Sobczak J.F., Vasconcellos-Neto J., Loffredo A.P.S. & Penteado-Dias A.M. 2010 : The effect of host body size and web aggregation on parasitism of *Nephila clavipes* (Araneae, Nephilidae) by *Hymenoepimecis bicolor* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Ethology, Ecology & Evolution* **22**: 151–165.
- Hansell M. 2005: *Animal architecture*. Oxford University Press, Oxford. 334pp.
- Hansell M. & Ruxton G.D. 2008: Setting tool use within the context of animal construction. *Trends in Ecology and Evolution* **23**: 73-78.
- Hesselberg T. 2010: Ontogenetic changes in web design in two orb-web spiders. *Ethology* **116**: 535-545.
- Hesselberg T. 2012: Web-building flexibility differs in two spatially constrained orb spiders. *J. Insect Behav.* (on line – 10.1007/s10905-012-9337-7).
- Hesselberg T. & Vollrath F. 2004: The Effects of Neurotoxins on Web-geometry and Web-building Behaviour in *Araneus diadematus* Cl. *Physiology and Behaviour* **82**: 519-529.
- Heiling A.M. & Herberstein M.E. 1999: The role of experience in web building spiders (Araneidae). *Animal Cognition* **2**: 171-177.
- Heiling, A.M. & Herberstein, M.E. 2000: Interpretations of orb-weaving variability: a review of past and current ideas. *Ekológia* **19**: 97-106.



- Henschel J.R. & Lubin Y. 1996: Environmental factors affecting the web and activity of a psammophilus spider in the namib desert. *J. Arid. Environ.* **22**: 173-189.
- Herberstein M.E. & Heiling A.M. 1999: Asymmetry in spider orb web (Araneidae): a result of physical constraints? *Anim. Behav.* **58**: 1241-1246.
- Krink T. & Vollrath F. 1997: Analysing spider web-building behaviour with rule-based simulations and genetic algorithms. *J. theor. Biol.* **185**: 321-331.
- Krink T. & Vollrath F. 2000: Optimal area use in orb-webs of the spider *A. diadematus*. *Naturwissenschaften* **87**: 90-93.
- Lubin Y. & Henschel J.R. 1992: The influence of food supply on foraging behaviour in a desert spider. *Oecologia* **105**: 64-73.
- Nakata K. 2010: Does ontogenetic change in orb-web asymmetry reflect biogenetic law? *Naturwissenschaften* **97**: 1029-1032.
- Nakata K. & Zschokke S. 2010: Upside-down spider build upside-down orb webs: web asymmetry, spider orientation and running speed in *Cyclosa*. *Pro. Biol. Sci.* **277**: 3019- 3025.
- Pasquet A., Anotaux M. & Leborgne R. 2011: Loss of legs: is it or not a handicap for an orb-weaving spider? *Naturwissenschaften* **98**: 557-564.
- Pasquet A., Lubin Y. & Leborgne R. 1999: Previous foraging success influences web building in *S. lineatus* (Eresidae). *Behav. Ecol.* **10**: 115-121.
- Reed C.F. & Witt P.N. 1968: Progressive disturbance of spider web geometry caused by two sedative drugs. *Physiology and behaviour* **3**:119-124.
- Reed C.F., Witt P.N., Scabro M.B. & Peakall D.B. 1970: Experience and the orb web. *Developmental Psychobiology* **3**: 251-265.
- Roberts, M. J. 1985: *Collins field guide: Spiders of Britain and Northern Europe*. Delachaux and Niestlé, S.A. Paris. 384pp.
- Schaedelin F.C. & Taborsky M. 2009: Extended phenotypes as signals. *Biological Review* **84**: 293-313.
- Sensenig A., Agnarsson I., Gondek T. & Blackledge T.A. 2010: Webs in vitro and in vivo: spiders alter their orb-web spinning behavior in the laboratory. *J. Arachnol.* **38**:183-191.
- Stafford R., Williams G.A. & Davies M.S. 2011: Robustness of self-organised systems to changes in behaviour: an example from real and simulated self-organised snail aggregations. *PLoS ONE* **6**: e22743.



- Thevenard L., Leborgne R. & Pasquet A. 2004: Web building management in an orb-weaving spider *Zygiella x-notata*: influence of prey and conspecifics. *C. R. Biol.* **327**: 84-92.
- Toscani C., Leborgne R. & Pasquet A. 2012: Analysis of web building anomalies in the orb weaving spider *Zygiella x-notata* (Araneae, Araneidae). *26th ESA Congress Proceedings, Arachnologische Mitteilungen*, **43**: 79-83.
- Venner S., Pasquet A. and Leborgne R. 2000: Web-building behaviour in the orb weaving spider *Zygiella x-notata*: influence of experience. *Anim. Behav.* **59**: 603-611.
- Venner S., Thevenard L., Pasquet A. & Leborgne R. 2001: Estimation of the web's capture thread length in the orb-weaving spiders: determination of the most efficient formula. *Ann. Entomol. Soc. of America* **94**: 490-496.
- Venner S., Bel-Venner M.C., Pasquet A. & Leborgne R. 2003: Body-mass dependent cost of web-building in an orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Naturwissenschaften* **90**: 269-272.
- Vollrath F. 1987: Altered geometry of webs in spiders with regenerated leg. *Nature* **328**: 247-248.
- Vollrath F. 1992: Analysis and interpretation of orb spider exploration and web-building behavior. *Advances in the Study of Behavior* **21**: 147-199.
- Vollrath F. & Moren W. 1985: Spiral geometry of the garden spider's orb web. *Naturwissenschaften* **72**: 666-668.
- Vollrath F., Downes M. & Krakow S. 1997: Design variability in web-geometry of an orb-weaving spider. *Physiol. Behav.* **62**: 735-743.
- Witt P.N., Peakall D.B. & Gause R.L. 1977: Spider web building in outer space; evaluation of records from the Skylab spider experiment. *J. Arachnol.* **4**: 115-124.
- Witt P.N., Reed C.F. & Peakall D.B. 1968: *A spider's web; Problems in regulatory biology*. Springer-verlag, New-York.
- Witt P.N. & Reed C.F. 1965: Spider-web building. Measurement of web geometry identifies in a complex invertebrate behavior pattern. *Science* **149**: 11790-1197.
- Zschokke S. 1996: Early stages of web construction in *Araneus diadematus* Clerck. *Revue Suisse de Zoologie* **2**: 709-720.
- Zschokke S. 2011: Spiral and web asymmetry in the orb web of *Araneus diadematus* (Araneae, Araneidae). *J. of Arachnol.* **39**, 358-362.
- Zschokke S. & Vollrath F. 1995: Web construction patterns in a range of orb-weaving spiders (Araneae). *European Journal of Entomology* **92**: 523-541.



Table 1: Number of the different anomalies found in the *Zygiella x-notata* webs. We noted the total number of anomalies observed in 127 webs spun under laboratory conditions, their relative percentage, the percentage of webs showing a given type of anomalies and the mean number of anomalies par web.

Anomalies	Total number of anomalies	Percentage of each anomaly	Percentage of webs in which anomaly was present	Mean number of anomalies per web (SE)
				2,6 (2,0)
Deviated radii	306	6,4%	84%	n=107
				1,6 (0,1)
Radii in Y	102	2,1%	45%	n=57
				1,1 (0,3)
Supernumerary radii	21	0,4%	15%	n=19
				10,0 (4,8)
Returns	1402	29,3%	100%	n=127
				5,6 (2,5)
Hole	778	16,2%	100%	n=127
				5,8 (5,3)
Spiral units stuck by two	781	16,3%	98%	n=124
Spiral units stuck by more than two	138	2,9%	46%	n=58
				6,1 (4,0)
Discontinuity	726	15,2%	93%	n=118
				1,4 (0,7)
Not parallel spiral units	99	2,1%	51%	n=65
				3,3 (1,4)
Spiral thread in zigzag	437	9,1%	97%	n=123
Total	4790	100%		



Figure Legends

Figure 1: Modalities of data sampling on a web of *Zygiella*. For the comparison between the upper and lower parts, the web is divided according to the line L in two parts the upper and the lower parts. This line (L) is perpendicular to the longest radius of the lower part of the web (LR) that goes from the point of intersection of this radius and the innermost spiral turn. To compare the number of anomalies between the innermost and outermost spiral turns, we divided the web into two parts: innermost (red colour) and outermost (yellow colour). Anomalies were counted in each corresponding area: all the anomalies we defined, D=discontinuity in spiral threads, H=hole, Non-parallel spiral units, SR=stop and return, S2=threads stuck by 2, S3=threads stuck by 3, ZZ=spiral units in zig-zag) .

Figure 2: Histogram of the number of web relatively to the total number of anomalies per web.

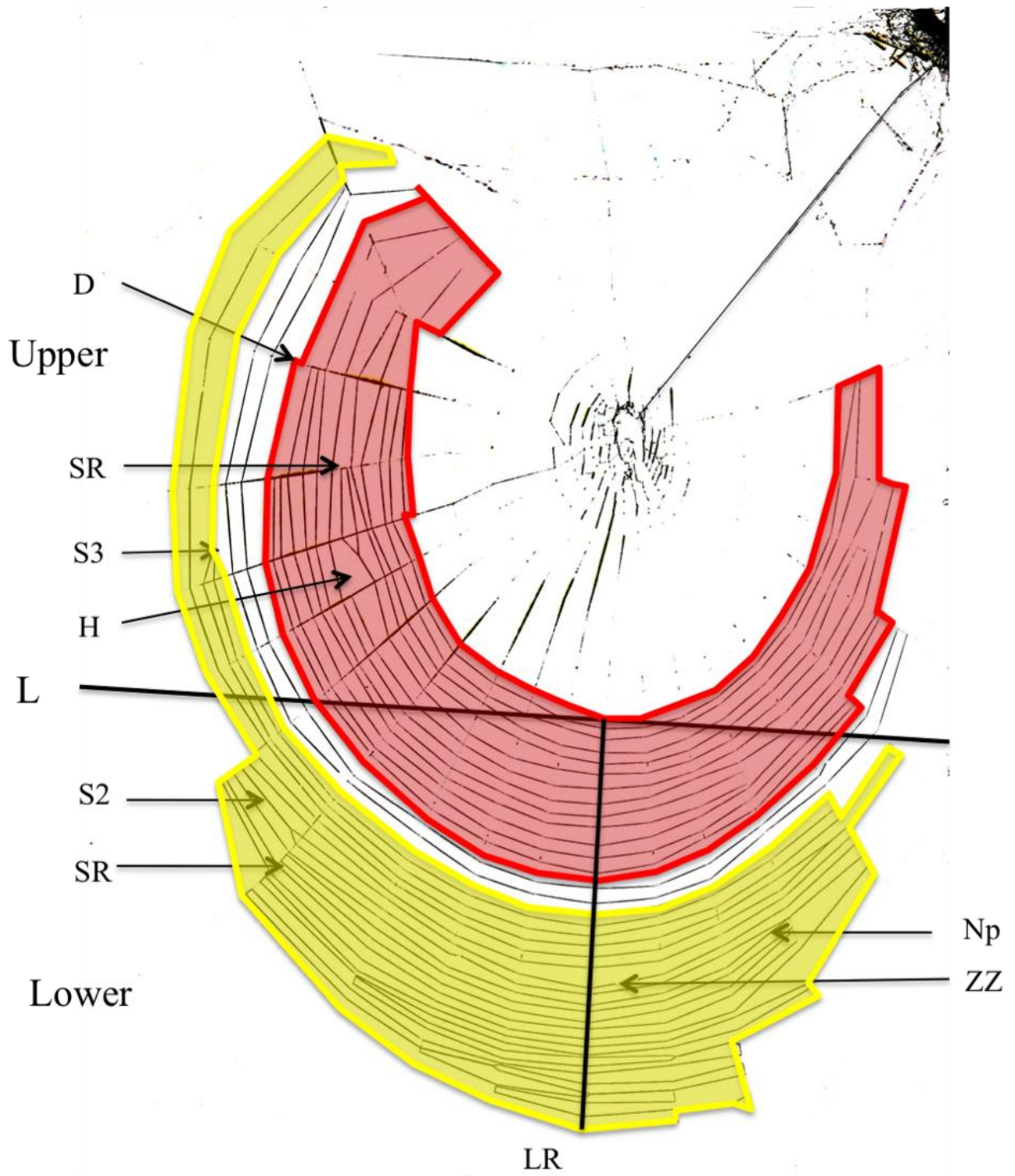


Figure 1

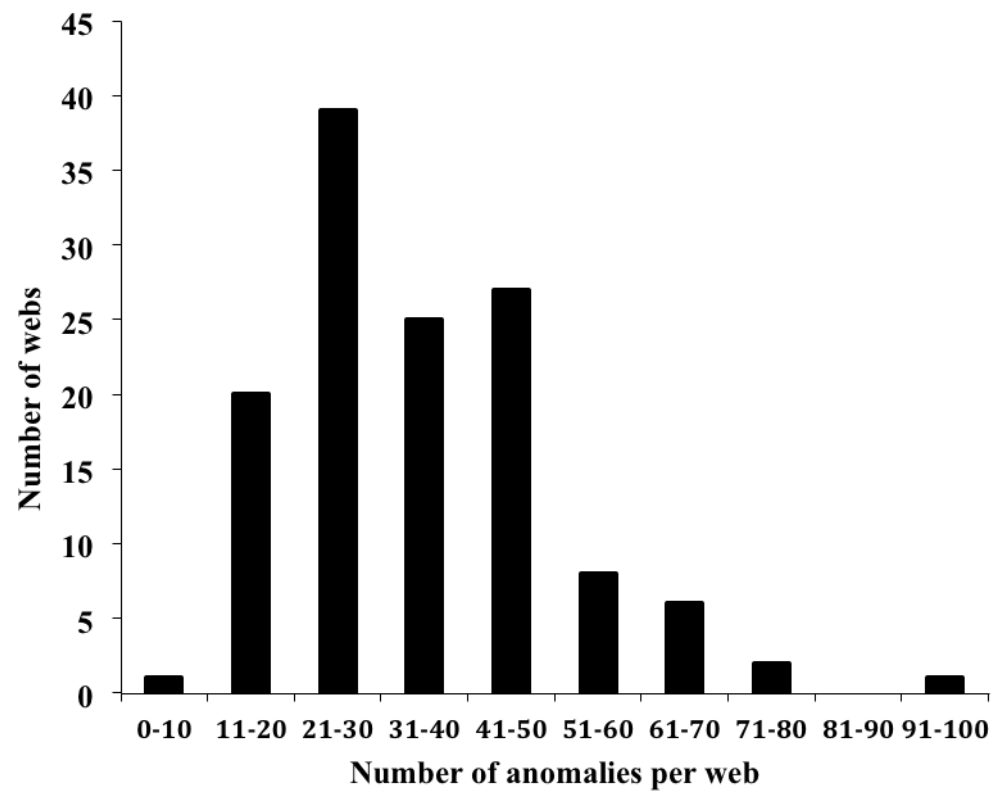


Figure 2

RESULTS





Article 2

Ageing alters spider orb-web construction

Mylène Anotaux^{1*}, Julia Marchal², Nicolas Châline³, Loïc Desquilbet⁴, Raymond Leborgne¹, Caroline Gilbert^{2,5,#} and Alain Pasquet^{1,a,#}

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

²: UMR 7179, CNRS-MNHN, Muséum National d'Histoire Naturel, 1 avenue du petit château, 91800 Brunoy, France.

³: Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée EA 4443 Université Paris 13, 99 avenue J.B. Clément, 93430 Villetaneuse, France.

⁴: Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, EpiMAI, Maisons-Alfort, F-94704, France.

⁵: Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, UMR 7179 CNRS MNHN, Maisons-Alfort, F-94704, France.

* Corresponding author: Mylène Anotaux

E-mail: mylene.anotaux@scbiol.uhp-nancy.fr

Co-last authors

Animal Behaviour, 2012, 84:1113-1121



Résumé de l'article 2



Introduction

Bien que la compréhension des mécanismes du vieillissement ait reçu une attention considérable chez les humains et les animaux, très peu d'études ont porté sur les modifications comportementales liés à l'âge. Chez les araignées orbitèles, la toile est une structure complexe matérialisant les comportements et les variations comportementales exprimés par les araignées pendant la construction. Cet article présente les modifications qui apparaissent dans la géométrie de la toile avec l'âge des araignées orbitèles.

Matériel et méthodes

Les araignées (N=112) âgées de 17 à 21 jours de vie adultes sont placées dans des cadres pour construire une toile. Elles sont ensuite placées individuellement dans des boîtes sans possibilités de construire des toiles jusqu'au test suivant. Sept tests de construction sont réalisés à des âges différents. Les paramètres pris en compte dans les toiles sont:

L'investissement en soie: estimé par la longueur de fil de la spirale de capture (CTL).

Les anomalies: nombre d'imperfections pouvant affecter les rayons ou la spirale de capture

La régularité: estimée dans 3 secteurs A, B C (figure 1) par:

- L'angle (α) entre les rayons (R)
- le parallélisme des unités de spirales
- Le nombre d'unités de spirale
- Le coefficient de variations des distances inter-unités de spirale (US)

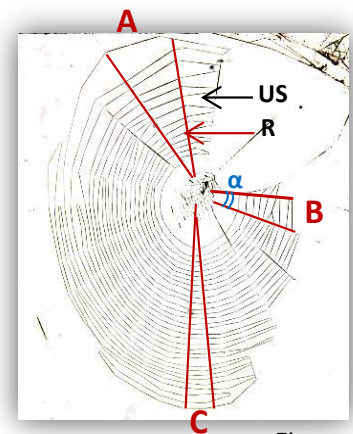
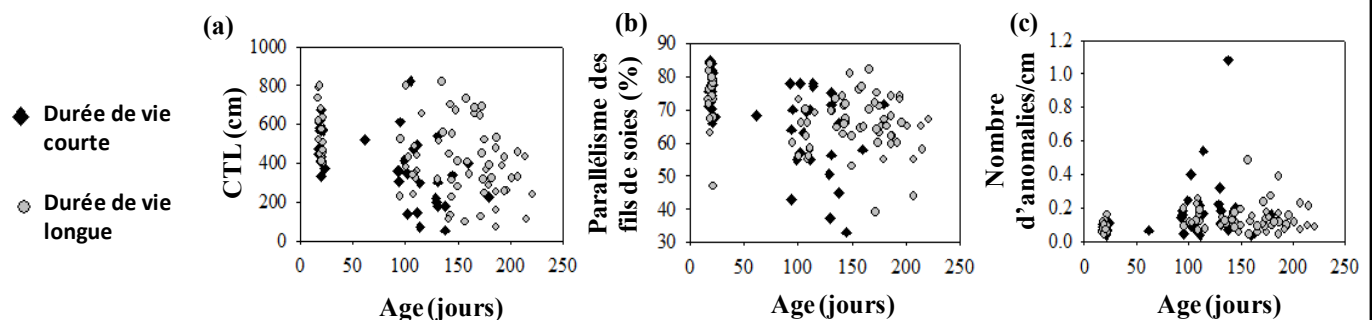


Figure 1

Résultats

Deux populations d'araignées apparaissent: les araignées ayant une durée de vie courte (150 jours en moyenne) et celles ayant une durée de vie longue (236 jours). Pour les deux populations, le CTL (a) et le parallélisme des unités de spirale (b) diminuent, tandis que la variation des distances entre les unités de spirale augmente. Le nombre d'anomalies par cm affectant la spirale de capture (c) et l'angle entre les rayons augmentent uniquement pour les araignées ayant une durée de vie courte.



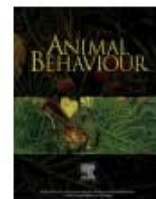
Conclusion

Le vieillissement affecte la structure de la toile. Les modifications sont plus importantes pour les toiles construites par les araignées ayant des durées de vie plus courtes, suggérant une détérioration précoce de l'organisme avec l'âge. L'origine de ces modifications pourrait être motrice et/ou cognitive.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Animal Behaviour

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anbehav

Ageing alters spider orb-web construction

M. Anotaux^{a,*}, J. Marchal^b, N. Châline^c, L. Desquilbet^d, R. Leborgne^a, C. Gilbert^{b,e,1}, A. Pasquet^{a,1}^a Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies: Laboratoire 'Expression et Evolution des Comportements', Vandœuvre-Les-Nancy, France^b UMR 7179, CNRS-MNHN, Muséum National d'Histoire Naturelle, Brunoy, France^c Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée EA 4443, Université Paris 13, Villetaneuse, France^d Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, EpiMAI, Maisons-Alfort, France^e Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, UMR 7179 CNRS MNHN, Maisons-Alfort, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 8 March 2012

Initial acceptance 16 April 2012

Final acceptance 1 August 2012

Available online xxx

MS. number: 12-00185R

Keywords:

ageing

orb-web

spider

web anomaly

web investment

Zygiella-x-notata

Ageing is known to induce profound effects on physiological functions but only a few studies have focused on its behavioural alterations. Orb-webs of spiders, however, provide an easily analysable structure, the result of complex sequences of stereotypical behaviours that are particularly relevant to the study of ageing processes. We chose the orb spider *Zygiella x-notata* as an invertebrate organism to investigate alterations in web geometry caused by ageing. Parameters taken into account to compare webs built by spiders at different ages were: the length of the capture spiral (CTL), the number of anomalies per cm, and four parameters of web regularity (the angle between radii, the number of spiral thread units connecting two successive radii, the parallelism and the coefficient of variation of the distances between silk threads of two adjacent spiral turns). All web parameters were related to ageing. Two groups of spiders emerged: short- and long-lived spiders (with a higher body mass), with an average life span of 150 and 236 days, respectively. In both short- and long-lived spiders' webs, the CTL and the silk thread parallelism decreased, while the variation of the distances between silk threads increased. However, the number of anomalies per cm and the angle between radii increased in short-lived spiders only. These modifications can be explained by ageing alterations in silk investment and cognitive and/or locomotor functions. Orb-web spiders would therefore provide a unique invertebrate model to study ageing and its processes in the alterations of behavioural and cognitive functions.

© 2012 The Association for the Study of Animal Behaviour. Published by Elsevier Ltd.

Ageing is an obligatory and progressive process of slowing down of organism functions, which increases the organism's probability of death (Monaghan et al. 2008). From an evolutionary point of view, it can be associated with a decrease in reproductive performance and from a functional point of view, with an irreversible accumulation of damage that leads to the deterioration of physiological functions (Monaghan et al. 2008). In humans, the emergence of deficits in memory and in sensory and motor functions is one of the numerous effects characterizing ageing (Glenn et al. 2004). However, owing to the complexity of behavioural mechanisms and determinants, the relationship between behaviour and ageing remains largely misunderstood (Bateson 2002; Carey et al. 2006). Hence, investigating this relationship could allow us to prevent and reduce some consequences of ageing-related declines in humans, as well as to reduce the probability of developing neurodegenerative diseases (e.g. Alzheimer's or Parkinson's

diseases). In this context, finding animal models with which we could assess behavioural ageing mechanisms would be crucial.

Previous studies mainly focused on age-related changes in vertebrates (Holmes & Kristan 2008). In particular, most studies have used small mammals with a short life expectancy and have taken various approaches: physiological (Aujard & Perret 1998), cognitive (Picq 2006), neurological and genetic (Van Remmen et al. 2004; Flurkey et al. 2007). However, other long-lived mammals (Buffenstein 2005) and birds (Haussmann et al. 2003; Vleck & Haussmann 2007; Lecomte et al. 2010) have been studied to investigate long-term age-related physiological modifications. Although the impact of ageing on neuronal structure modifications in vertebrates is also present in aquatic gastropods such as *Lymnaea* and *Aplysia* (Yeoman & Faragher 2001), neuronal ageing has yet to be further studied in invertebrate models. Indeed, they can provide alternatives to vertebrate studies (Wilson-Sanders 2011), as they show relevant specifications such as being easy to maintain in laboratories, short life expectancies and relatively 'simple' nervous systems, while being able to express complex sequences of behaviours. Studies on ageing using invertebrate models have investigated the genetic and molecular regulation of life span, mainly focusing on the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Grotewiel

* Correspondence: M. Anotaux, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire 'Expression et Evolution des Comportements', BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandœuvre-Les-Nancy, France.

E-mail address: mylene.anotaux@scbiol.uhp-nancy.fr (M. Anotaux).

¹ Co-last authors.

et al. 2005) and the nematode *Caenorhabditis elegans* (Herndon et al. 2002). In particular, these two species have provided models to study neurodegenerative diseases and the development of therapeutic agents (Wilson-Sanders 2011). Other studies also connected physiological and behavioural modifications with ageing in social insects such as bees (Giurfa 2003; Keller & Jemielity 2006). But few studies have investigated behavioural modifications that can be directly linked to ageing (Ridgel et al. 2003). It has been shown, however, that in the fruit flies *Ceratitis capitata* and *D. melanogaster*, some behavioural patterns are age specific and time-to-death dependent, and that these patterns can be used as biomarkers of life expectancy (Papadopoulos et al. 2002; Carey et al. 2006).

Orb-web spiders possess all the advantages of invertebrates for the study of ageing, and it would be particularly pertinent to establish correlations between their age-related changes and modifications in behavioural patterns, in particular considering their ability to construct their geometrical web. Web construction indeed goes through a succession of organized, stereotypical and repeatable activities in four steps (Foelix 2011): (1) construction of a frame and radii; (2) setting up an auxiliary spiral; (3) construction of a sticky capture spiral; (4) remodelling of the hub of the web. This behavioural sequence has been modelled (Krink & Vollrath 1997) and mathematical algorithms allowing the quantification of the expressed behaviours have been established (Venner et al. 2001). The orb-web, resulting from this succession of behaviours, is a complex structure with a visible regularity. Within a species, some of these parameters can vary from one construction to another, either between or within individuals, according to numerous internal and external factors. These include: the spider's leg length (Vollrath 1987), the amount of silk available to build the web (Eberhard 1989), the spider's body mass (Herberstein & Heiling 1999; Venner et al. 2003), its nutritional state (Herberstein et al. 2000), its experience (Heiling & Herberstein 1999b; Venner et al. 2000), the presence of conspecifics (Gillespie 1987; Leborgne & Pasquet 1987; Heiling & Herberstein 1999a), the available space to build the web (Vollrath 1992; Barrantes & Eberhard 2012) and weather conditions (Cangialosi & Uetz 1987). It was also suggested that web construction parameters could vary with age (Witt et al. 1972).

The orb-web, whose parameter variations can be characterized and analysed, is hence directly linked to complex behavioural sequences expressed by the spider in the different steps of its construction. Here we investigated the effects of ageing (i.e. increase in chronological age and approach of death) on the web structure in female adult orb-web spiders *Zygiella x-notata* Clerck (Araneae, Araneidae). We compared several parameters for webs built by spiders at different ages: the silk investment in the web, the number of anomalies and the web regularity. As it is known that ageing may influence locomotor activity in spiders (Moya-Larano 2002), and that spiders use their legs to build an orb-web (Vollrath 1992; Krink & Vollrath 1997), we hypothesized that the geometrical structure of the web could be affected by age. On the other hand, as silk investment depends on the physiological state of spiders (Eberhard 1988), it might be differentially altered as a function of age.

METHODS

Spiders

Zygiella x-notata is a small univoltine orb-web spider commonly found in Europe on human constructions. Longevity ranges from 8 to 10 months (Juberthie 1954; Le Guelte 1966; Thévenard et al. 2004). Juveniles leave eggsacs in spring, and become adults after

several moults, the last one being the imaginal moult in summer (Roberts 1996). Reproduction starts in July or August with mating, and females lay eggs in September–October. Males die after reproduction, while females are known to survive through winter (Jones 1983; Thévenard et al. 2004; Bel-Venner & Venner 2006). As adults, females hence live from 5 to 7 months (Juberthie 1954; Thévenard et al. 2004). Juveniles generally build a new web every day to catch prey, but once adulthood is reached, females only continue to build orb-webs and renew their web construction approximately every day (Le Guelte 1966; Bel-Venner & Venner 2006; Foelix 2011).

Spiders were collected from July to November 2008 in different study areas in the eastern part of France (Nancy, Meurthe et Moselle). Their developmental stage (immature, subadult or adult) was determined in the laboratory using a binocular microscope (stereo microscope Wild, $\times 100$). Immature and subadult females were selected for the experiment, the subadult stage being the last stage before the imaginal moult. Spiders were checked daily to determine the exact date of their adult moult (i.e. day 0 as adult), and adult females were then tested at different ages. Spiders were kept individually in plastic boxes (10 $\times$ 7 cm and 2.5 cm high) under constant conditions (temperature: 20–22 °C; 12 h of light per day: 2000–0800 hours). Spiders were not able to build an orb-web in the boxes, but were able to lay silk and capture prey. They were fed once a week in their box with a fly (*Lucilia caesar*) and were provided with water twice a week.

Experiments

To collect data on web structure, we placed adult spiders individually in wooden frames (50 $\times$ 10 cm and 50 cm high) closed by two panes of glass in which they could build their web. They were returned to holding cages once they built their web or after a maximum of 5 days if they had not constructed any web. For each spider, data were collected longitudinally at scheduled times: at the age of 20 days ($N = 112$, range 16–21 days), 100 days ($N = 66$, range 98–105 days), 135 days ($N = 41$, range 133–140 days), 165 days ($N = 30$, range 161–168 days), 185 days ($N = 26$, range 182–189 days), 205 days ($N = 20$, range 203–210 days) and 220 days ($N = 13$, range 217–224 days). The total number of follow-up tests per spider was therefore seven, or lower if the spider died. As soon as the spider completed building, direct measures of web parameters were taken with an electronic calliper. Photos were taken by placing webs in front of a black panel and lighting them with an artificial light (Lumix FZ18 camera).

Since the body mass of spiders may influence web construction characteristics and vary with age (Venner et al. 2003), spiders were weighed before being placed in the wooden frames (balance Sartorius BASIC BA110S, precision 0.1 mg). It is known that experience of prey capture can modify the web-building behaviour of *Z. x-notata* in the very short-term (Venner et al. 2000). However, Venner et al. (2000) also showed that spiders that were not fed did not modify their web-building behaviour. In our study, the spiders were hence not fed after their web construction in the wooden frame, limiting any effect of web-building experience. Spiders were only fed in their box, once a week and 3 days prior to the web sample. Web building was therefore independent from prey ingestion.

Web Parameters

Investment

The spider's investment in the web was estimated by calculating the total length of the capture spiral (capture thread length, CTL, following Venner et al.'s (2000, 2001) method).

Anomalies

From photos, for each web we counted the anomalies (i.e. web anomalies, defined by A. Pasquet, J. Marchal, M. Anotaux & R. Leborgne, unpublished data; see Fig. 1): the number of supernumerary, deviated and 'Y' radii, the number of returns, holes, two or more silk threads of the capture spiral stuck together between two radii, and the number of nonparallel and discontinuous silk threads of the capture spiral. The number of anomalies per cm (A/cm) was calculated using the CTL.

Web regularity

Zygiella x-notata typically builds a web with a free sector in the top half that is crossed by a signal thread (Fig. 2). This thread connects the centre of the web (i.e. the hub, Fig. 2) to a silken retreat where the spider remains hidden, waiting for prey (Foelix 2011).

Considering the geometry of the *Zygiella* web (Fig. 2), we selected three representative sectors of the different parts of the web (upper, lower and lateral part) to estimate its regularity. Two adjacent radii determined a sector. We excluded the sectors immediately adjacent

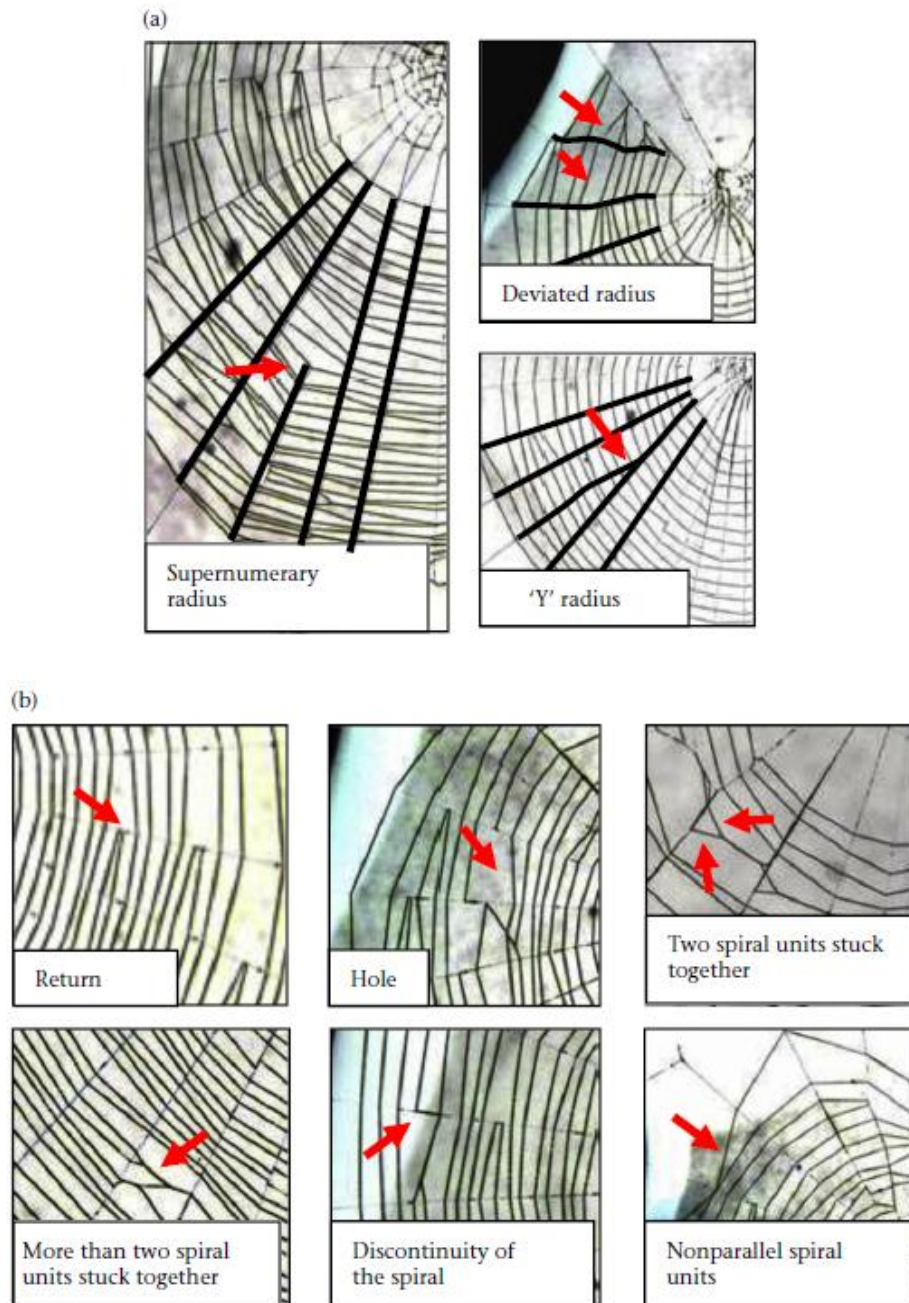


Figure 1. (a) The different types of radii anomalies defined for *Zygiella x-notata* orb-webs (from A. Pasquet, J. Marchal, M. Anotaux & R. Leborgne, unpublished data). A 'supernumerary radius' takes its origin from a spiral thread unit and not from the centre of the web; a 'deviated radius' presents a deviation $> 5^\circ$ compared to a rectilinear trajectory; a 'Y radius' is a radius separated abnormally into two radii. (b) The different types of capture spiral anomalies defined for *Zygiella x-notata* orb-webs (from A. Pasquet, J. Marchal, M. Anotaux & R. Leborgne, unpublished data). A 'return' is when two spiral units end in one point (triangular ending) or two points (rectangular ending) of a radius, interrupting the spiral; a 'hole' is defined by the absence of at least one spiral unit between two adjacent spiral units; 'two or more spiral units stuck together' and 'discontinuity of the spiral' define anomalies of interruptions in the capture spiral; 'nonparallel spiral units' defines a spiral thread stuck to another one on a radius, forming a triangle.

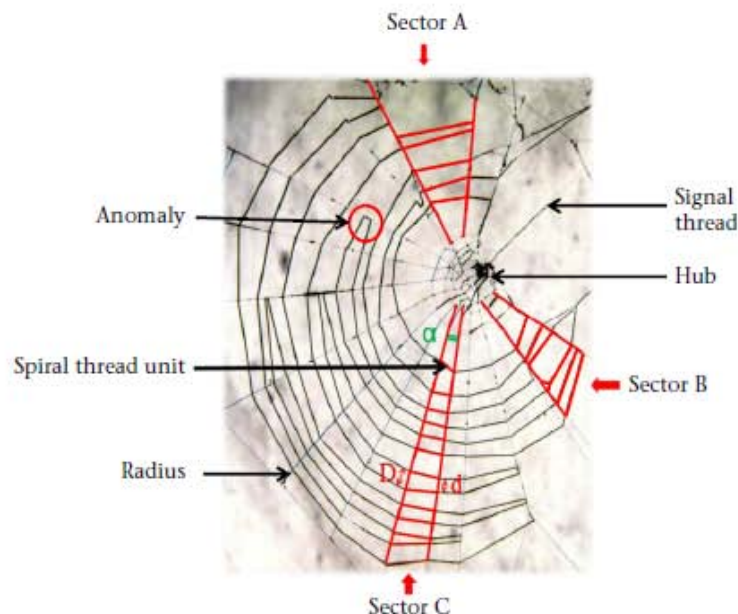


Figure 2. Photograph of an orb-web built by *Zygiella x-notata*. The three sectors (A, B, C) in which the parameters were taken into account to estimate web regularity are in red. The parameters were the interradial angle (α) between two radii, the number of spiral thread units of the capture spiral counted along the radii of each sector, the silk thread parallelism calculated from the silk thread distances d and D , and the coefficient of variation of intersilk thread distances in the three sectors. An example of an anomaly (i.e. 'return') is also indicated.

to the left and right of the free sector, in which the spider often spun a few threads, and we chose sectors A and B next to these excluded sectors (Fig. 2). Sector C was chosen as being the longest sector in the lower part of the web. These three selected sectors hence permitted us to estimate the structure of the entire web.

Four parameters were measured in the three sectors, and we took into account the mean value of each parameter from the three sectors: (1) the interradial angle (α) between two radii; (2) the number of spiral thread units, that is, silk threads, connecting two successive radii (n) in the capture spiral (Fig. 2); (3) the silk thread parallelism between two turns of the capture spiral (PAR): all distances between two spiral thread units of two adjacent spiral turns were measured along the two radii of each sector. We defined d as the smallest distance between two spiral thread units and D as the greatest (Fig. 2). The parallelism was then calculated according to the formula: $PAR(\%) = \sum [(d/D) \times 100]/n$. (4) The coefficient of variation of interspiral thread unit distances between two spiral turns: for both radii of each sector, we measured all silk thread distances between two spiral turns and calculated the mean and SD of silk thread distances. We then calculated the coefficient of variation as SD/mean .

Statistical Analyses

Building and mortality rates

We took into account all spiders tested at test 1 ($N = 112$). To determine any effect of age on the building rate (BR), we calculated for each test: $BR_n = (\text{number of spiders having built a web during the test } n / \text{total number of tested spiders}) \times 100$. Comparisons of building rates between the tests were carried out using a chi-square test. We also determined mortality rates (MR) for each test: $MR_n = 100 - [100 \times (\text{number of spiders alive during the test } n / \text{total number of spiders at test 1})]$. The number of spiders that died for different age categories (chosen every 20 days) was counted.

Associations between chronological age and web structure

Of the 82 spiders that built a web at test 1 (mean age 20.1 days; range 17–24 days), we took into account the 36 spiders that built at least two webs. A total of 119 webs were used to assess the

association between chronological age and body mass or each web parameter, with a median of 3 (range 2–6) webs per spider. Figure 3 illustrates the differences between the first web and the last web of a given spider. To take into account repeated measurements for each spider, linear mixed-effects regression models were carried out where chronological age was the independent variable and each web parameter was the dependent variable. These models were adjusted for body mass, collected at each test, as a potential confounding factor. Of these 36 spiders, mean life span was 195.3 ± 50.3 days. A binary variable was then created according to this cutoff value that equalled 0 if a spider died before or at the age of 195 days (hereafter named 'short-lived' spider), and 1 otherwise (hereafter named 'long-lived' spider). Besides the web parameter and body mass, each model included the short/long-lived variable as well as an interaction term between the short/long-lived variable and age, to allow for potential differences between short- and long-lived spiders in the estimation of the association between age and each web parameter. Results are expressed as the slope (in web parameter units per day), with SE, which quantifies this association between age and each

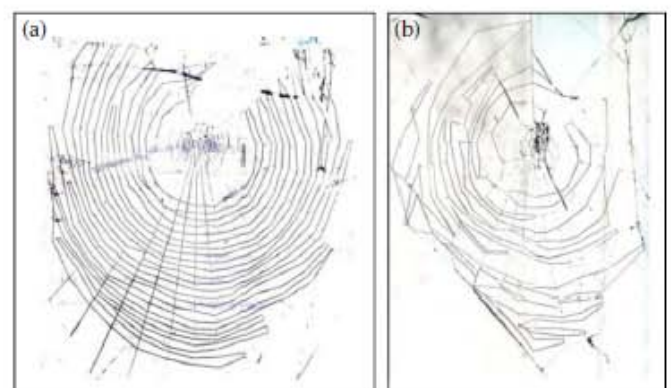


Figure 3. Photographs of webs built by *Zygiella x-notata*. (a) The first web built by a spider 21 days old (174 days before death) and (b) its last web (188 days old, 7 days before death) in our experimental conditions.

web parameter. *F* tests were used to test fixed-effects parameters of the mixed-effects regression models (i.e. chronological age and the interaction term between the short/long-lived variable and age). Student's *t* tests were used to compare means of body mass and web parameters measured at test 1 between short- and long-lived spiders, after having checked the normality of data.

To exclude any effect of experience (i.e. modifications in webs caused by experience of web building but not by ageing), we compared web parameters of the second web (built during tests 2, 3 or 4, $N = 8$) with those of the third web (built during tests 3 or 4, $N = 9$) of spiders of a similar age (means $\pm$ SD: 122.8 ± 31.0 and 142.3 ± 10.4 days, respectively; $t_{16} = 61.5$, $P = 0.336$) using Student's *t* tests.

Survival analysis: web parameters and probability of death

To identify any web parameter that could be related to time to death, we performed univariate and multivariate survival analyses (the outcome being the time of death for each spider). Two sets of survival analyses were conducted where time to event (death) was the time from test 1 ($N = 33$) for the first set and from test 3 ($N = 21$) for the second set. Kaplan–Meier curves and log-rank tests were used for univariate survival analyses. Cox proportional hazard models (Cox 1972) were used for multivariate survival analyses at test 1 ($N = 29$) and test 3 ($N = 21$) to identify any parameter that could be related to survival, independently of others. The web parameters used were number of anomalies per cm, CTL, silk thread parallelism and number of spiral thread units. Age and body mass at test 1 or test 3 were considered as potential confounders in the Cox models. The low number of observations prevented us from checking the linearity assumption with enough

statistical power for each continuous parameter. Therefore, these parameters were dichotomized (i.e. divided into two classes) according to their median value. For each test (i.e. test 1 or test 3), the Cox models included, as covariates, the studied web parameters as well as age and body mass recorded at tests 1 and 3, respectively.

Statistical analyses were performed using StatView 5.0 and SAS V9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.) software. Significance was considered at $P < 0.05$.

RESULTS

Building and Mortality Rates

Building rates were 73% at test 1 and 55% at test 2, when at that time 20% of the spiders had died (Fig. 4a). Building rates were thereafter maintained between 65% and 80% during the following tests when mortality increased. At test 7, 16% of spiders were alive and 65% of them (aged 217–224 days) built a web. The building rates at each follow-up test, from test 1 onwards, did not differ significantly from each other (Fig. 4a; $\chi^2_6 = 1.81$, $P = 0.94$).

Mortality rate was the highest for age categories between 101 and 160 days and decreased for older spiders (Fig. 4b). Mean life span was 156.1 ± 59.6 days and median 146 days, that is, at 146 days half of the spiders from the studied population (of 112 tested spiders) had died.

Associations between Chronological Age and Web Structure

Of the 36 spiders that built two webs (including one web at test 1), mean $\pm$ SE body mass at test 1 was 29.3 ± 1.8 mg (Table 1).

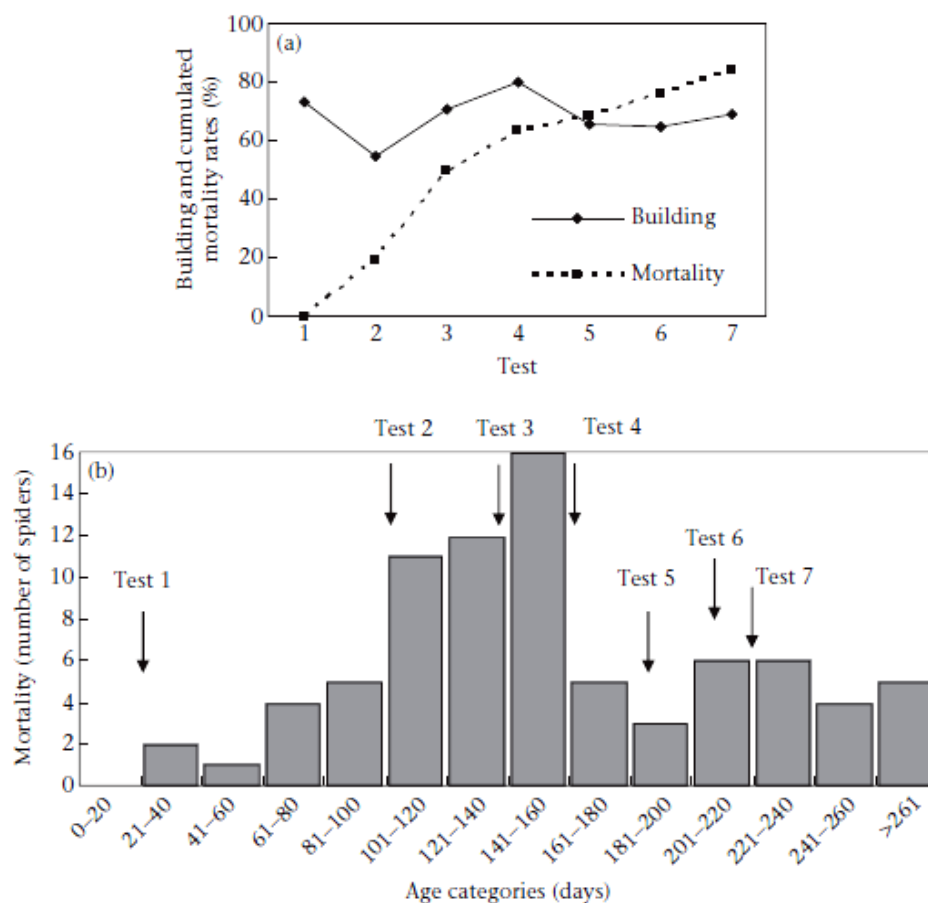


Figure 4. (a) Building rates and cumulated mortality rates along the seven tests. (b) Mortality from test 1 (T1) to test 7 (T7).

Table 1

Mean value (SE) of body mass, and web parameters at test 1 for short-lived and long-lived spiders

	Overall (N=36)	Short-lived (N=17)	Long-lived (N=19)	P*
Body mass (mg)	29.3 (1.8)	25.9 (2.0)	32.8 (2.7)	0.05
Web parameter				
CTL (cm)	534 (21)	492 (23)	571 (32)	0.06
Number of anomalies/cm	0.08 (0.004)	0.07 (0.006)	0.08 (0.007)	0.95
Angle between radii (°)	14.2 (0.6)	13.9 (1.0)	14.4 (0.8)	0.71
Number of spiral thread units	17.6 (0.5)	17.2 (0.6)	17.9 (0.8)	0.52
Silk thread parallelism (%)	74.9 (1.2)	75.5 (1.3)	74.3 (2.0)	0.61
CV of interspiral thread unit distances (%)	38.7 (1.8)	39.4 (2.3)	38.2 (2.8)	0.76

CTL: capture thread length; CV: coefficient of variation.

* Means between short- and long-lived spiders were compared using Student's *t* tests.

Short-lived spiders, which died at or before 195 days, had a mean life span of 149.8 ± 16.2 days. Long-lived spiders, which died after 195 days, had a mean life span of 236.0 ± 31.2 days. Short-lived spiders had a significantly lower mean body mass than long-lived spiders (Table 1). However, based on our collected web parameters, web structure did not differ significantly at test 1 between short- and long-lived spiders (Table 1).

Linear mixed-effects regression models showed that body mass increased by 0.04 mg per day (SE 0.02; $P = 0.01$), and this increase in weight with chronological age was not different between short- and long-lived spiders (P for interaction = 0.40). When adjusted for body mass, we observed a significant association between chronological age and CTL, with a decrease in CTL of 1.42 cm (SE 0.23; $P < 0.01$) for each day increase in age. There were no significant differences in the slopes between short- and long-lived spiders (Table 2, Fig. 5). However, the associations between the silk thread parallelism and age differed significantly between short- and long-lived spiders; these differences were not significant for the number of anomalies per cm, the angle between radii, the number of spiral thread units and the coefficient of variation of interspiral thread unit distances (Table 2, Fig. 5). For all these web parameters, absolute value of the slope (i.e. association between age and the web parameter) was greater for short-lived spiders than for long-lived spiders.

Among the 17 short-lived spiders, silk thread parallelism decreased with age (Table 2). The mean number of anomalies per cm, the coefficient of variation of interspiral thread unit distances and the angle between radii increased with age (Table 2). Among the 19 long-lived spiders, the silk thread parallelism and the coefficient of variation of interspiral thread unit distances were the only

web parameters significantly associated with chronological age (Table 2). The number of spiral thread units was not significantly associated with age among either the overall 36 spiders (slope of -0.02 for each day increase; SE 0.01; $P = 0.25$) or among short- or long-lived spiders (Table 2). None of the web parameters of the second and the third webs built by spiders of a similar age (122.8 ± 31.0 and 142.3 ± 10.4 days, respectively) were significantly different (all $P > 0.123$).

Survival Analysis: Web Parameters and Probability of Death

For webs built at test 1, none of the defined parameters were significantly related to survival (all $P_{\text{logrank}} > 0.11$). Adjusted on other parameters, the multivariate analysis revealed that at test 1, spiders with a CTL lower than 507 cm (median value) had an increased risk of death compared with spiders with a CTL value greater than 507 cm (adjusted hazard ratio: 5.0; 95% confidence interval: 1.7–14.3; $P = 0.004$). For webs built at test 3, none of the defined parameters were significantly related to survival (all $P_{\text{logrank}} > 0.13$). The multivariate analysis did not show any significant adjusted parameter related to survival time (all $P_{\text{logrank}} > 0.14$).

DISCUSSION

We investigated web modifications in relation to ageing in adult orb-web spiders *Z. x-notata*, by examining a series of web parameters that were differentially affected by age. The degree of variability in orb-web structure is high among individuals of the same species. These variations are known to depend on numerous biotic and abiotic factors (reviewed in Heiling & Herberstein 2000). In the present study, all spiders were reared and tested in the same conditions, suggesting that changes in the studied webs cannot be attributed to abiotic factors or to biotic factors such as prey, predators or conspecifics. Moreover, the protocol used and the results show that the modifications in web-building behaviour are not due to the spiders' experience, that is, the number of webs built, independently of age. Spiders were not fed after their web building (see Venner et al. 2000 for short-term influence of prey ingestion on web building), and spiders of a similar age, but differing in the number of their webs built (two versus three), constructed webs with similar characteristics. This hence permits us to discuss the observed web modifications in relation to ageing.

Among other factors impacting web construction, it is known that body mass induces variations in web investment (Venner et al. 2003) and design, such as the asymmetry of vertical aerial orb-webs, increasing in larger and heavier *Nephila* spiders (Kunter et al. 2010). Venner et al.'s (2003) study showed that the body mass of *Zygiella* females increased throughout their adult stage, similarly to our study. Two groups of spiders emerged: short-lived spiders (mean life span 150 days), which weighed less at test 1 (i.e.

Table 2Associations between web parameters and chronological age using linear mixed-effects models adjusted for body mass, according to the life span of spiders (short-lived: ≤ 195 days; long-lived: > 195 days)

Web parameter	Short-lived (N=17)		Long-lived (N=19)		P for interaction*
	Slope (SE) (in unit/day)	P*	Slope (SE) (in unit/day)	P*	
CTL (cm)	-1.73 (0.46)	<0.01	-1.32 (0.26)	<0.01	0.43
Number of anomalies/cm	$+1.6 \cdot 10^{-3}$ ($5.4 \cdot 10^{-4}$)	<0.01	$+4.7 \cdot 10^{-4}$ ($4.8 \cdot 10^{-4}$)	0.33	0.11
Angle between radii (°)	+0.04 (0.02)	0.02	$+5.3 \cdot 10^{-3}$ ($9.4 \cdot 10^{-3}$)	0.57	0.07
Number of spiral thread units	-0.03 (0.02)	0.18	$-8.1 \cdot 10^{-3}$ (0.01)	0.59	0.40
Silk thread parallelism (%)	-0.13 (0.03)	<0.01	-0.05 (0.02)	<0.01	0.03
CV of interspiral thread unit distances (%)	+0.15 (0.04)	<0.01	+0.07 (0.02)	<0.01	0.06

CTL: capture thread length; CV: coefficient of variation.

* An F test tested fixed effects in the linear mixed-effects models.

20 days of age) than long-lived spiders (mean life span 236 days). This suggests, as noted before in field observations (Jones 1983; Thévenard et al. 2004; Bel-Venner & Venner 2006), that the *Zygiella* female population is partitioned into two groups, with females dying after laying eggs in autumn at the adult age of approximately 5 months (i.e. 8 months old from hatching), while some survive the winter, living up to 7–8 months as adults and are able to reproduce the next spring (i.e. ca. 10 months from hatching). Ramousse (1991) also observed this pattern in *Araneus suspicax* (Araneidae) females. Some females have a shorter life span, complete a generation in less than half a year, mature earlier, and attain a smaller adult weight, in

contrast to other females, which develop more slowly and live for longer. Ramousse (1991) discussed this polymorphism as spider species' adaptations to variable environmental conditions. Furthermore, the survival analysis in the present study showed that spiders' webs with a lower CTL at test 1 were significantly related to lower survival. This result is consistent with the fact that short-lived spiders weigh less and invest less silk in their web at an early age. In the same way, Venner et al. (2003) showed that females with a higher body mass invest more in their web. Following Ramousse's (1991) hypothesis, this partitioning in population life span linked to body mass could be the result of both

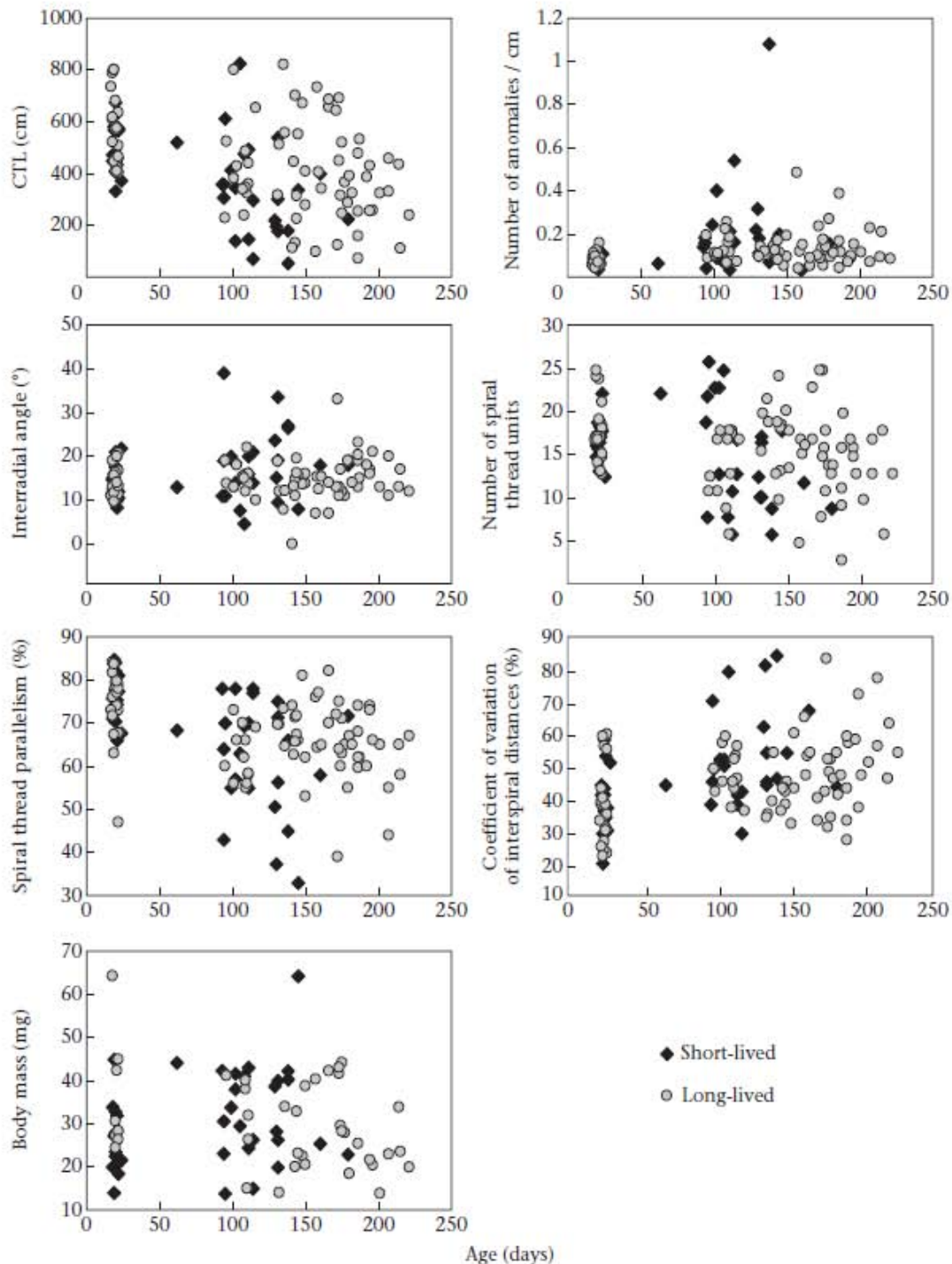


Figure 5. Web parameters and spiders' body mass related to chronological age ($N = 119$ webs).

developmental conditions (e.g. moult differences between short- and long-lived spiders) and/or genetic determinants.

Web parameters adjusted for body mass were differentially associated with chronological age. Older spiders, both short- and long-lived, invested less silk (i.e. CTL) in their webs than young spiders. Among changes in web structure through spiders' ontogeny and development, orb-webs are known to undergo an increase in silk investment as the spider grows, resulting in larger webs when spiders are mature compared with immature ones (Witt et al. 1972; Heiling & Herberstein 1998). In our study, this investment decreased with age in adult spiders. One possible explanation for this reduction is that, as spiders adjust some web characteristics to their silk reserves (Eberhard 1988), age could affect glands that produce spiral silk and would lead to the reduction in silk reserves. Spiders would then be limited in their web investment by the amount of silk available. Alternatively, silk investment could represent an energy budget too high for older spiders because of the slowing down of physiological functions induced by ageing (Moya-Larano 2002). Hence, the CTL in our study appeared to be related to general modifications in physiological functions.

Two other web parameters, silk thread parallelism and the coefficient of variation of interspiral thread unit distances, were also affected by ageing. Webs of older spiders (both short- and long-lived) showed a lower silk thread parallelism and a higher variation of interspiral thread unit distances. However, the number of anomalies per cm and the angle between radii were increased in older short-lived spiders only. This suggests that short-lived spiders undergo degenerative processes earlier than long-lived spiders. Similarly, Gardner et al. (2004) showed that the brevity of life of the nematode *Strongyloides ratti*, whose life span is approximately one quarter that of the nematode *C. elegans*, is the consequence of fast ageing processes, rather than catastrophic life-shortening pathology. Papadopoulos et al. (2002) showed that male fruit flies *C. capitata* exhibited a particular behaviour (i.e. 'supine') a few days prior to death that increased their mortality risk. They suggest that flies undergo a transition period of declining health and that morbidity is a natural stage of the ageing process. Moreover, Carey et al. (2006) proposed that the set of behaviours that are common in or unique to individuals at older ages could be referred to as 'degenerative behaviour'. It could be hypothesized that short-lived spiders entered an early phase of declining health, as suggested by Papadopoulos et al. (2002), and that the number of anomalies per cm of thread could be a consequence of a 'degenerative behaviour'.

Age-induced changes in web regularity and anomalies can be explained by two hypotheses. First, changes caused by ageing could be linked to a locomotor origin: age could directly affect mechanical properties of the spiders' legs. In orb spiders, legs that are essential for web construction (Vollrath 1987) possess muscles that fatigue rapidly (Foelix 2011). Building activities could therefore become more difficult to implement for older spiders with reduced motor coordination, and would produce more anomalies and irregularity in the web when they position their legs during web construction. Moreover, anomalies in the web may be caused by inappropriate leg positioning (Toscani et al. 2012). Second, orb-web changes might also result from central and neurological declines. Ageing is known to induce numerous effects in vertebrate and invertebrate central nervous systems (Yeoman & Faragher 2001). In this study, changes in the structure of the web were highly similar to those obtained after ingestion of drugs by spiders. In particular, amphetamine and caffeine, two neurotoxins recently tested on web geometry and web-building behaviour in *Araneus diadematus*, alter orb-webs in a similar way to ageing in our study (Hesselberg & Vollrath 2004). Hesselberg & Vollrath (2004) suggested that these neurotoxins disturb different parameters in the web-building construction by affecting different functions in the spider's

central nervous system. In particular, they showed that the administration of these neurotoxins resulted in a reduction in the capture spiral length, and in an increase in radial irregularity and silk thread size. In regard to these results, we suggest that deficits in neural functions during web-building behaviour could be caused by age-induced changes in the central nervous system. In that case, orb-web spiders would be keystone models for improving our knowledge in neuroethology and neurobiology to gain further information about brain ageing and neurodegenerative disorders in other invertebrate or vertebrate models, particularly by comparing short- and long-lived spiders.

Ageing in adult spiders therefore affects web structure and construction, through a series of alterations. Further experiments on spiders' behaviours during the different sequences of web construction should hence provide valuable information for understanding whether web changes result predominantly from motor deficits, central or peripheral nervous system alterations, in relation to early or late ageing processes. Further studies could moreover investigate physiological (such as oxidative stress) and genetic (such as telomere length) changes in short- and long-lived spiders, in relation to the fast and low ageing behavioural alterations observed in their web construction (e.g. see Haussmann et al. 2003). Age-related changes have been observed in a variety of vertebrate and invertebrate models including primates, rodents, fruit flies (Simon et al. 2006) and nematodes, but evidence for behavioural ageing in invertebrates is still rare because of their short life span or the absence of behavioural biomarkers of age (e.g. Papadopoulos et al. 2002; Carey et al. 2006; Simon et al. 2006). Spiders and their orb-webs would therefore provide a unique invertebrate model to study the intricacies of ageing processes.

Acknowledgments

We address grateful thanks to Dr G. Cabanes, D. Denis and to two anonymous referees for their helpful comments on the manuscript. Thanks to L. Bahans for her contribution to spider collection and rearing. M.A. was financed by a Nancy-University MERT fellowship grant. This work was supported by a grant from the CNRS of the 'Longévité et Vieillesse' program.

References

- Aujard, F. & Perret, M. 1998. Age-related effects on reproductive function and sexual competition in the male prosimian primate, *Microcebus murinus*. *Physiology & Behavior*, **64**, 513–519.
- Bateson, P. 2002. Ethology. In: *Encyclopedia of Evolution* (Ed. by M. Pagel), pp. 310–317. Oxford: Oxford University Press.
- Barrantes, G. & Eberhard, W. G. 2012. Extreme adjustments by an orb-web spider to restricted spaces. *Ethology*, **118**, 438–449.
- Bel-Venner, M. C. & Venner, S. 2006. Mate-guarding strategies and male competitive ability in an orb-weaving spider: results from a field study. *Animal Behaviour*, **71**, 1315–1322.
- Buffenstein, R. 2005. The naked mole-rat: a new long-living model for human aging research. *Journal of Gerontology*, **60**, 1369–1377.
- Cangialosi, K. R. & Uetz, G. W. 1987. Spacing in colonial spiders: effects of environment and experience. *Ethology*, **76**, 236–246.
- Carey, J. R., Papadopoulos, N. T., Kouloussis, N., Katsoyannos, B., Müller, H.-G., Wang, J.-L. & Tseng, Y.-K. 2006. Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Experimental Gerontology*, **41**, 93–97.
- Cox, D. R. 1972. Regression models and life-tables. *Journal of the Royal Statistical Society B*, **34**, 187–220.
- Eberhard, W. G. 1988. Behavioral flexibility in orb web construction: effects of supplies in different silk glands and spider size and weight. *Journal of Arachnology*, **16**, 295–302.
- Eberhard, W. G. 1989. Effect of orb web orientation and spider size on prey retention. *Bulletin of the British Arachnological Society*, **8**, 45–48.
- Flurkey, K., Brandvain, Y., Klebanov, S., Austad, S. N., Miller, R. A., Yuan, R. & Harrison, D. E. 2007. PohnB6F1: a cross of wild and domestic mice that is a new model of extended female reproductive life span. *Journal of Gerontology*, **62**, 1187–1198.
- Foelix, R. F. 2011. *Biology of Spiders*. 3rd edn. Oxford: Oxford University Press.

- Gardner, M. P., Gems, D. & Viney, M. E. 2004. Aging in a very short-lived nematode. *Experimental Gerontology*, **39**, 1267–1276.
- Gillespie, R. G. 1987. The role of prey availability in aggregative behaviour of the orb-weaving spider *Tetragnatha elongata*. *Animal Behaviour*, **35**, 675–681.
- Giurfa, M. 2003. Cognitive neuroethology: dissecting non-elemental learning in honeybee brain. *Current Opinion in Neurobiology*, **13**, 726–735.
- Glenn, C. F., Chow, D. K., Gami, M. S., Iser, W. B., Hanselman, K. B. & Wolcove, C. A. 2004. Behavioral deficits during early stages of aging in *Caenorhabditis elegans* result from locomotory deficits possibly linked to muscle frailty. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **59**, 1251–1260.
- Grotewiel, M. S., Martín, I., Bhandari, P. & Cook-Wiens, E. 2005. Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Research Reviews*, **153**, 372–397.
- Hausmann, M. E., Winkler, D. W., O'Reilly, K. M., Huntington, C. E., Nisbet, I. C. T. & Vleck, C. M. 2003. Telomeres shorten more slowly in long-lived birds and mammals than in short-lived ones. *Proceedings of the Royal Society B*, **270**, 1387–1392.
- Heiling, M. E. & Herberstein, A. M. 1998. The web of *Nuctenea sclopeteria* (Araneae; Araneidae): relationship between body size and web design. *Journal of Arachnology*, **26**, 91–96.
- Heiling, A. M. & Herberstein, M. E. 1999a. The importance of being larger: intra-specific competition for prime web sites in orb web spiders (Araneae, Araneidae). *Behaviour*, **136**, 669–677.
- Heiling, A. M. & Herberstein, M. E. 1999b. The role of experience in web-building spiders (Araneidae). *Animal Cognition*, **2**, 171–177.
- Heiling, A. M. & Herberstein, M. E. 2000. Interpretations of orb-web variability: a review of past and current ideas. *Ekologia-Bratislava*, **19**, 97–106.
- Herberstein, M. E. & Heiling, A. M. 1999. Asymmetry in spider orb webs: a result of physical constraints? *Animal Behaviour*, **58**, 1241–1246.
- Herberstein, M. E., Craig, C. L. & Elgar, M. A. 2000. Foraging strategies and feeding regimes: web and decoration investment in *Argiope keyserlingi* Karsh (Araneae: Araneidae). *Evolutionary Ecology Research*, **2**, 69–80.
- Hemdon, L. A., Schmeissner, P. J., Dudaronek, J. M., Brown, P. A., Listner, K. M., Sakano, Y., Paupard, M. C., Hall, D. H. & Driscoll, M. 2002. Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans*. *Nature*, **419**, 808–814.
- Hesselberg, T. & Vollrath, F. 2004. The effects of neurotoxins on web-geometry and web-building behaviour in *Araneus diadematus* CL. *Physiology & Behavior*, **82**, 519–529.
- Holmes, D. J. & Kristan, D. M. 2008. Comparative and alternative approaches and novel animal models for aging research. *Age*, **30**, 63–73.
- Jones, D. 1983. *Guide des Araignées et des Opilions d'Europe*. Paris: Editions Delachaux et Niestlé.
- Juberthie, C. 1954. Sur les cycles biologiques des Araignées. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle de Toulouse*, **89**, 299–318.
- Keller, L. & Jemielity, S. 2006. Social insects as a model to study the molecular basis of ageing. *Experimental Gerontology*, **41**, 553–556.
- Krink, T. & Vollrath, F. 1997. Artificial intelligence modeling of web-building behavior with rule-based simulations and genetic algorithms. *Journal of Theoretical Biology*, **185**, 321–331.
- Kunter, M., Gregoric, M. & Li, D. 2010. Mass predicts web asymmetry in *Nephila* spiders. *Naturwissenschaften*, **97**, 1097–1105.
- Leborgne, R. & Pasquet, A. 1987. Influence of aggregative behaviour on space occupation in the spider *Zygiella x-notata* (Clerck). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **20**, 203–208.
- Lecomte, V. J., Sorci, G., Cornet, S., Jaeger, A., Faivre, B., Arnoux, E., Gaillard, M., Trouvé, C., Besson, D., Chastel, O., et al. 2010. Patterns of aging in the long-lived wandering albatross. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, **107**, 6370–6375.
- Le Guelte, L. 1966. Structure de la toile de *Zygiella x-notata* Cl. (Araignées, Argiopidae) et facteurs qui régissent le comportement de l'Araignée pendant la construction de la toile. Thèse, Université de Nancy.
- Monaghan, P., Charmanier, A., Nussey, D. H. & Ricklefs, R. E. 2008. The evolutionary ecology of senescence. *Functional Ecology*, **22**, 371–378.
- Moya-Larano, J. 2002. Senescence and food limitation in a slowly ageing spider. *Functional Ecology*, **16**, 734–741.
- Papadopoulos, N. T., Carey, J. R., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Müller, H.-G. & Liu, X. 2002. Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitis capitata*). *Proceedings of the Royal Society B*, **269**, 1633–1637.
- Pica, J. L. 2006. Aging affects executive functions and memory in mouse lemur primates. *Experimental Gerontology*, **42**, 223–232.
- Ramousse, R. 1991. Allométrie de la reproduction chez les femelles d'*Araneus (larinioides) suspicax* O. Pickard-Cambridge 1876, élevées en laboratoire. *Bulletin de la Société des Sciences naturelles de Neuchâtel*, **116**, 199–208.
- Ridgel, A. L., Ritzmann, R. E. & Schaefer, P. L. 2003. Effects of aging on behaviour and leg kinematics during locomotion in two species of cockroach. *Journal of Experimental Biology*, **206**, 4453–4465.
- Roberts, M. J. 1996. *Spiders of Britain and Northern Europe*. London: Harper Collins.
- Simon, A. F., Liang, D. T. & Krantz, D. E. 2006. Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing and Development*, **127**, 647–651.
- Thévenard, L., Leborgne, R. & Pasquet, A. 2004. Web-building management in an orb-weaving spider, *Zygiella x-notata*: influence of prey and conspecifics. *Comptes rendus Biologies*, **327**, 84–92.
- Toscani, C., Leborgne, R. & Pasquet, A. 2012. Behavioural analysis of web building anomalies in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Arachnologische Mitteilungen*, **43**, 45–49.
- Van Remmen, H., Qi, W., Sabia, M., Freeman, G., Estlack, L., Yang, H., Mao Guo, Z., Huang, T. T., Strong, R., Lee, S., et al. 2004. Multiple deficiencies in antioxidant enzymes in mice result in a compound increase in sensitivity to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, **36**, 1625–1634.
- Venner, S., Pasquet, A. & Leborgne, R. 2000. Web-building behaviour in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*: influence of experience. *Animal Behaviour*, **59**, 603–611.
- Venner, S., Thévenard, L., Pasquet, A. & Leborgne, R. 2001. Estimation of the web's capture thread length in orb-weaving spiders: determining the most efficient formula. *Annals of the Entomological Society of America*, **94**, 490–496.
- Venner, S., Bel-Venner, M.-C., Pasquet, A. & Leborgne, R. 2003. Body-mass-dependent cost of web-building behavior in an orb weaving spider, *Zygiella x-notata*. *Naturwissenschaften*, **90**, 269–272.
- Vleck, C. M. & Hausmann, M. F. 2007. Avian senescence: underlying mechanisms. *Journal of Ornithology*, **148**, 611–624.
- Vollrath, F. 1987. Altered geometry of webs in spiders with regenerated legs. *Nature*, **328**, 247–248.
- Vollrath, F. 1992. Analysis and interpretation of orb spider exploration and web-building behavior. *Advances in the Study of Behavior*, **21**, 147–199.
- Yeoman, M. S. & Faragher, R. G. A. 2001. Ageing and the nervous system: insights from studies on invertebrates. *Biogerontology*, **2**, 85–97.
- Wilson-Sanders, S. E. 2011. Invertebrate models for biomedical research, testing and education. *ILAR Journal*, **52**, 126–152.
- Witt, P. N., Rawlings, J. O. & Reed, C. F. 1972. Ontogeny of web-building behaviour in two orb-weaving spiders. *American Journal of Zoology*, **12**, 445–452.

--



Article 3

Time-to-death affects spider's mobility during orb-web construction

(Preliminary results)

Mylène Anotaux^{1,*}, Nicolas Châline², Raymond Leborgne¹, Alain Pasquet¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

²: Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée EA 4443 Université Paris 13, 99 avenue J.B. Clément, 93430 Villetaneuse, France.

* Corresponding author: Mylène Anotaux

E-mail: mylene.anotaux@scbiol.uhp-nancy.fr





Abstract

Behaviour of old animals or age-specific behavioural patterns have been characterized in detail in relatively few animal species. Orb-spiders build webs which result from successive, simple and reproducible behavioural patterns organized in time. Thus, web geometry is a representation of the spider's movements and thread manipulations, which together comprise the spider's web building behaviour.

The consequences of age-related motor deficits upon behaviour have not been clearly defined. This study investigated the effect of age on spider's mobility during web construction in the adult orb-web spider *Zygiella x-notata*, by examining a series of spider's mobility parameters that were differentially affected by age.

Our results show that most of the mobility parameters decreased with time-to-death (few days prior to death) but that they do not vary with chronological age (at the date of the construction) or life span.

Key words : Ageing, Spider's mobility, Orb-web construction, *Zygiella x-notata*.



1. Introduction

Nature abounds with structures built by animals (termite mounds, nests of birds, beaver dams, webs of spiders), which arise from more or less complex building behaviours. The success of these building behaviours is linked to morphological capacities and to coordination of movements (Hansell 2005, 2007). Orb-spiders build webs which result from successive, simple and reproducible behavioural patterns organized in time (Vollrath 1992). Thus, web geometry is a representation of the spider's movements and thread manipulations (Vollrath 2000), which together comprise the spider's web building behavior (Foelix 2011). The consequences of age-related motor deficits upon behaviour have not been clearly defined. Recently, the effect of ageing on web structure has been studied (Anotaux et al. in press) and authors have demonstrated that webs built by old spiders were smaller, less geometrically regular and presented more anomalies than younger ones. They concluded that ageing alters web structure and construction. However, to have a complete and successful behavioural dissection of web-building, a good understanding of both, web engineering and spider movements and activity is necessary (Vollrath 1988; Vollrath et al. 1997; Heiling & Herberstein 1998; Herberstein & Heiling 1999). Yet, no study has directly tested the effect of ageing on spider mobility during web construction.

The orb-webs are the most accessible webs analytically among the diversity of spider web types, and have provided important data set for structure and function analysis (Vollrath 1992; Zschokke et Vollrath 1995a; Hesselberg 2010). Nowadays, the modeling tools and the techniques of filming and movement analysis, allow to easily deconstruct the web structure to provide a continuous record of the visible steps taken by the spider and to infer from this visible record the rules that are guiding web-building stages (Eberhard 1969; Gotts & Vollrath 1992; Krink & Vollrath 1997, 1998, 1999). In the present study, we focus on the orb-web construction of the spider *Zygiella x-notata* to analyze the web-building behaviour of spiders of different ages, by means of videos and tracking software. Integrating the analysis of spiders' mobility during web-construction at different ages with the track of spiders' body, and using these data in combination with the recent works which studied the effect of ageing on web structure, could help us to complete our knowledge about the effects of age on the spider's web-building behaviour.



2. Material and methods

2.1 Procedure

During our tests of web constructions (see section “conditions d’expériences et de maintenance des araignées lors du vieillissement”), video recordings (N=27) of capture spiral buildings by spiders of different ages were realized by placing cameras on tripods (camera Sony HDR-CX550) at frames height. As in nature *Zygiella x-notata* generally build its webs very early in the morning, films are made in night mode the morning, with the light still turned off, when the spiders start to build their web. The number of cameras being always limited (only two cameras) compared to the number of spiders in frames, cameras were placed randomly in front of two frames as soon as two spiders begin their construction.

2.2 Video analysis

After recordings, videos (N=27) were analyzed using a video tracking software package that tracks and analysis the behaviour, movement and activity of animals: EthoVision XT® 7.0 (Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands). This tracking software is based on the existence of a contrast between the background and the subject (spider) (obtained by the cameras since in night mode spiders appear in black on a green bottom): the software recognizes the animal based on the contrast that we have defined in pixels, detects the animal’s gravity center and assigns its coordinates (x, y). The track of a spider’s body with the tracking software Ethovision was illustrated (figure 1). By analyzing 3 images per second, the software has a time unit (0.20 seconds) and distance unit (the coordinates (x,y)), and thus automatically calculates dependant variables such as the followings five spiders’ mobility parameters that we take into account:

- Distance travelled: the total distance travelled by the spider from the start to the end of the capture spiral construction (cm)
- Velocity: the mean velocity of spider displacement (cm/s)
- Building duration: the building duration of the capture spiral (min)
- Duration of movements: corresponds to the time during which the spider was moving (s)
- Duration of inactivity: corresponds to the time during which the spider was motionless (s).



The threshold of movement was defined after validation at 0.5 cm/s: beyond 0.5 cm/s, the spider was regarded as being moving; Below that 0.5 cm/s, the spider was regarded as motionless. Between the two, a buffer zone made it possible to avoid too many transitions (not relevant biologically) between the “motionless” and “moving” state.

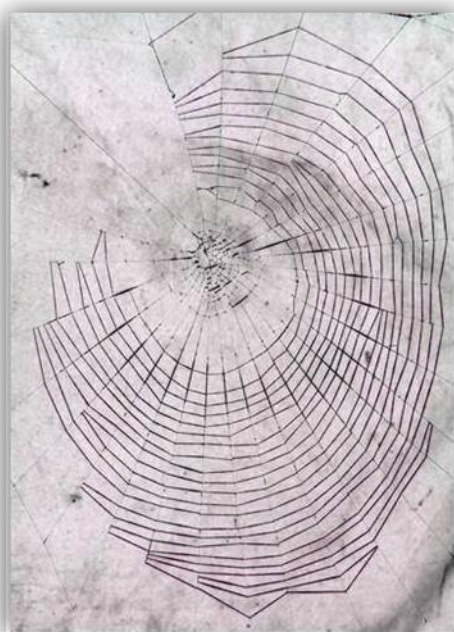
2.3 Statistical analysis

A total of 27 video recordings of capture spiral buildings by 27 different spiders of different ages (old from 20 to 259 days) were analyzed and used to assess the associations between (1) chronological age and body mass or the five spider's mobility parameters (distance travelled, velocity, building duration of the capture spiral, duration of movements, duration of inactivity), between (2) life span and body mass or the five spider's mobility parameters, between (3) time-to-death (number of days prior to spider's death) and body mass or each spider's mobility parameters and (4) CTL (capture thread length) and body mass or the five spider's mobility parameters.

A generalized linear model (GLM) has been carried out where chronological age, life span, time-to-death and CTL were the independent variables and all spider mobility parameters were the dependent variables. These models were adjusted for body mass, collected at each test, as a potential confounding factor.

Statistical analyses were performed using R 2.15.0 softwares. Parametric tests were realized when normality was verified. Significance was considered at $P < 0.05$.

(a)



(b)





Figure 1. Photographs of a web built by *Zygiella x-notata*. (a) The web built by a spider 112 days old (72 days before death) and (b) the same web represented by video tracking software EthoVision XT® 7.0.

3. Results

3.1 Influence of chronological age on spider's mobility during web construction

Chronological age of adult spiders (N=27) captured on videos during web construction ranged between 20 to 259 days old, with an average age of 141 days. Adjusted to spiders' body mass, none of the spiders' mobility parameters differed with their chronological age (Distance travelled: SE=0.32, $P=0.79$, table 1A; Duration of movements: SE=0.02, $P=0.73$, table 1B; Duration of inactivity: SE=0.02, $P=0.32$, Table 1C; Velocity: SE=1.20e-4, $P=0.53$, table 1D; Building duration of the capture spiral: SE=0.02 ; $P=0.67$; table 1E).

Table 1. Associations between spiders' mobility parameters and chronological age using a generalized linear model (GLM) adjusted for body mass.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
A Distance travelled (cm)			
	Adjusted $r^2=0.28$; $p<0.01$		
Intercept	80.06	0.49	0.63
Chronological age	0.32	(-)0.26	0.79
Body mass	2.08	3.48	<0.01
B Duration of movements (s)			
	Adjusted $r^2=0.32$; $p<0.01$		
Intercept	4.31	1.09	0,28
Chronological age	0.02	(-)0.35	0.73
Body mass	0.11	3.78	9.16E-04
C Duration of inactivity (s)			
	Adjusted $r^2=-0.03$; $p=0.59$		
Intercept	5.92	2.98	6.44E-04
Chronological age	0.02	(-)1.02	0.32
Body mass	0.15	(-)0.04	0.96
D Velocity (cm/s)			
	Adjusted $r^2=0.02$; $p=0.30$		
Intercept	2.97E-02	6.62	7.60E-07
Chronological age	1.20E-04	(-)0.63	0.53
Body mass	7.72E-04	1.55	0.13
E Building duration of the capture spiral (min)			
	Adjusted $r^2=0.33$; $p<0.01$		



Intercept	4.43	1.25	0.22
Chronological age	0.02	(-)0.43	0.67
Body mass	0.11	3.85	7.76E-04

3.2 Influence of life span on spider's mobility during web construction

The life span of adult spiders (N=27) captured on videos during web construction ranged between 57 to 303 days old, with an average age of 212 days. Adjusted to spiders' body mass, spiders' mobility parameters did not differ with their life span (Distance travelled: SE=0.34, $P=0.24$, table 2A; Duration of movements: SE=0.02, $P=0.20$, table 2B; Duration of inactivity: SE=0.02, $P=0.98$, Table 2C ; Velocity: SE=1.31e-4, $P=0.93$, table 2D; Building duration of the capture spiral: SE=0.02, $P=0.24$, table 2E).

Table 2. Association between spiders mobility parameters and lifespan using a generalized linear model (GLM) adjusted for body mass.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
A Distance travelled (cm) Adjusted $r^2=0.32$; $p<0.01$			
Intercept	94.3	(-)0.48	0.63
Lifespan	0.34	1.21	0.24
Body mass	2.02	3.36	<0.01
B Duration of movements (s) Adjusted $r^2=0.36$; $p=0.001$			
Intercept	5.06	(-)0.07	0.94
Lifespan	0.02	1.32	0.2
Body mass	0.11	3.66	1.24E-03
C Duration of inactivity (s) Adjusted $r^2=-0.08$; $p=0.97$			
Intercept	7.32	2.08	0.05
Lifespan	0.03	(-)0.03	0.98
Body mass	0.16	(-)0.21	0.84
D Velocity (cm/s) Adjusted $r^2=5.14e-3$; $p=0.36$			
Intercept	0.04	5.14	2.90E-05
Lifespan	1.31E-04	0.09	0.93
Body mass	7.76E-04	1.43	0.17
E Building duration of the capture spiral (min) Adjusted $r^2=0.36$; $p=0.001$			
Intercept	5.24	0.11	0.91
Lifespan	0.02	1.21	0.24



Body mass	0.11	3.7	1.00E-03
-----------	------	-----	----------

3.3 Influence of time-to-death on spider's mobility during web construction

When adjusted to body mass, some spiders' mobility parameters differed with their time-to-death: the distance travelled, the movement duration and the building duration decrease when spiders build their web prior to their date of death (Distance travelled: $SE=0.37$, $P=0.05$, figure 2a; Duration of movements: $SE=0.02$, $P=0.02$, figure 2b; Building duration of the capture spiral: $SE=0.02$, $P=0.02$, figure 2c). The figure 3 illustrated the web and the track of a spider's body during web construction 7 days before its death.

However, the duration of inactivity and spiders' velocity did not differ with time-to-death (Duration of inactivity: $SE=0.03$, $P=0.56$, figure 2d; Velocity: $SE=1.49e-4$, $P=0.41$, figure 2e).

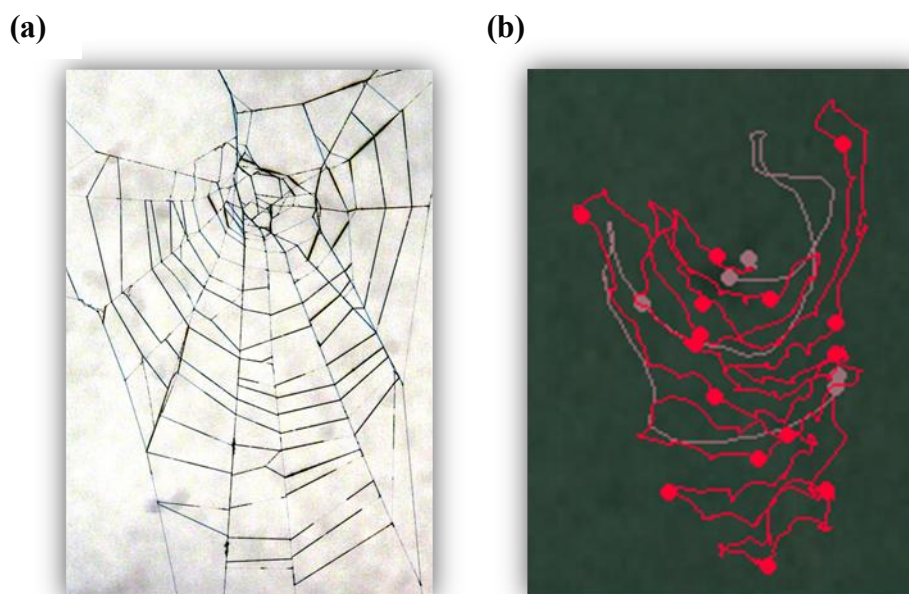


Figure 3. Photographs of a web built by *Zygiella x-notata*. (a) The web built by a spider 112 days old, 7 days before its death and (b) the same web represented by video tracking software EthoVision XT® 7.0.



3.4 Age, silk investment and spider's mobility

Age and silk investment in web

The spider's investment in the web was estimated by the length of the capture spiral thread (CTL). Adjusted to spider's body mass, the CTL tend to decrease when the spider construct its web prior to the death ($SE=0.47$, $P=0.07$, table 3a). However, CTL did not differ with spiders' chronological age ($SE=0.40$, $P=0.67$, table 3b) and did not either differ with spiders' life span ($SE=0.43$, $P=0.64$, table 3c).

Spider's mobility and silk investment in web

When adjusted to the body mass of the spiders, the distance travelled by the spiders and the total duration of their movements during capture spiral building increased with CTL (Distance travelled: $SE=0.10$, $P<0.0001$, figure 4a; Duration of movements: $SE=4.84e-3$, $P<0.0001$, figure 4b). In the same way, spider's velocity and building duration increased with CTL (Velocity: $SE=5.56e-5$, $P=0.02$, figure 4c; Building duration of the capture spiral: $SE=5.08e-3$, $P<0.0001$, figure 4d). In contrast, there was no difference between the duration of spider's inactivity and CTL (Duration of inactivity: $SE=0.01$, $P=0.19$, figure 4e).

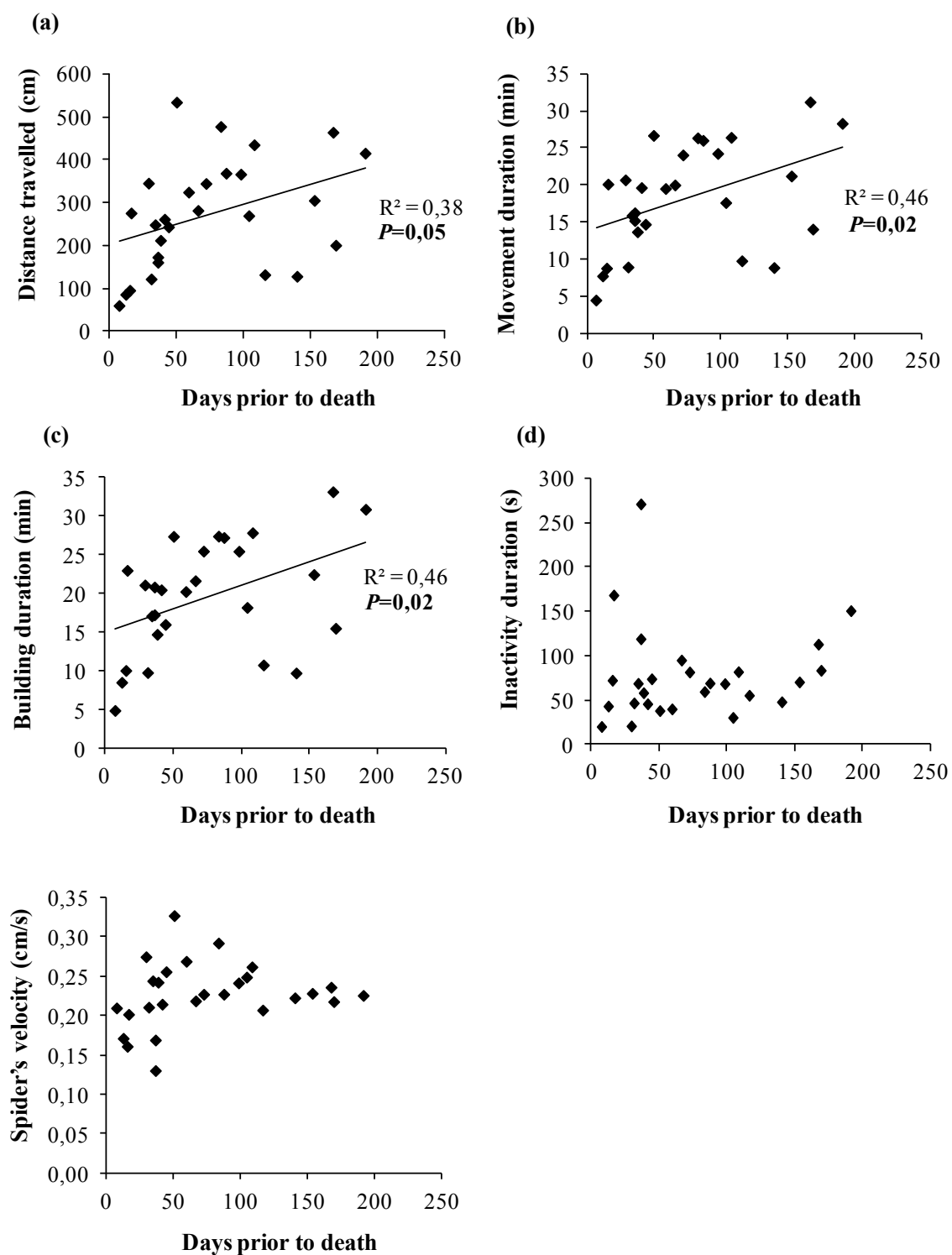


Figure 2. Spiders' mobility parameters associated with time-to-death (number of days prior to death).

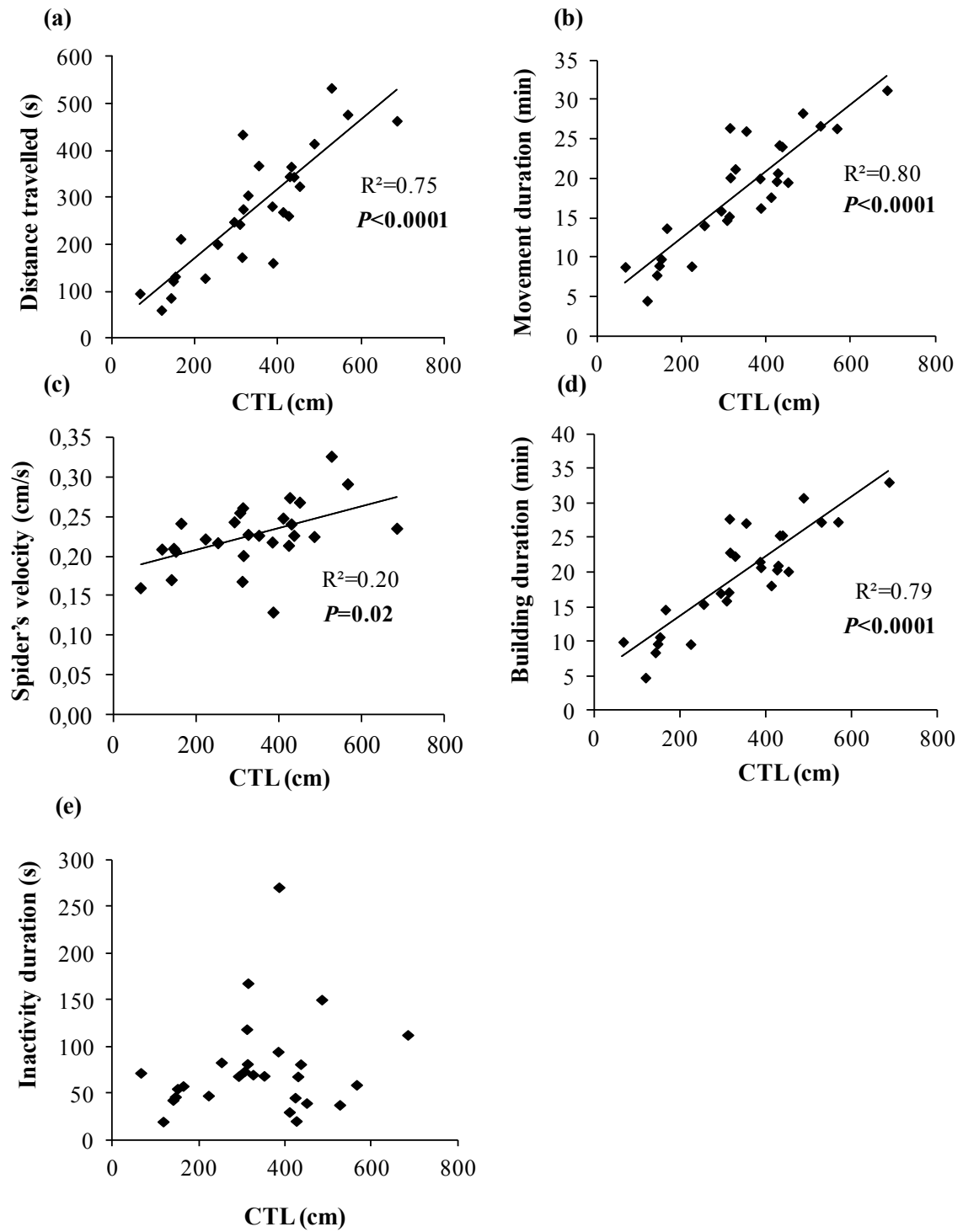


Figure 4. Spiders' mobility parameters associated with CTL (capture spiral length).



Table 3. Association between spiders' age parameters (time-to-death, chronological age and life span) and capture spiral length (CTL) using a generalized linear model (GLM) adjusted for body mass.

Variable	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
a. CTL			
	Adjusted $r^2=0.28$; $p<0.01$		
Intercept	86.72	0.65	0.52
Time-to-death	0.47	1.88	0.07
Body mass	2.39	2.67	0.01
b. CTL			
	Adjusted $r^2=0.18$; $p<0.03$		
Intercept	98.30	1.20	0.24
Chronological Age	0.40	(-) 0.43	0.67
Body mass	2.56	2.80	<0.01
c. CTL			
	Adjusted $r^2=0.18$; $p<0.03$		
Intercept	118.98	0.52	0.60
Life span	0.43	0.48	0.64
Body mass	2.55	2.67	0.01

4. Discussion

This study investigated the effect of age on spider's mobility during web-building in the adult orb-web spider *Zygiella x-notata*, by examining a series of spider's mobility parameters that could be differentially affected by age. Our results show that most of the mobility parameters decreased with time-to-death but that they do not vary with chronological age (at the date of the construction) or life span.

Behaviour of old animals or age-specific behavioural patterns have been characterized in detail in relatively few animal species (Bateson 2002; Carey et al. 2006), and most of decline in age-related behaviour in vertebrates and invertebrates concern mobility (Grotewiel et al. 2005). In invertebrates, studies showed that fruit flies exhibit several forms of locomotor behaviour including spontaneous walking, flying and negative geotaxis (a startle-induced climbing), and each of these forms of locomotor behaviour declines with age (Grotewiel 2005, Simon et al. 2006, Lliadi et Boulianne 2010). When flies *Drosophila melanogaster* were placed in a circular arena, the distance walked to explore environment and climbing speed declines with age, while climbing latency increases with age (Grotewiel 2005; Jones & Grotewiel 2011). It seems that these age-related behavioural declines in flies are due to dysfunction within specific organ systems as opposed to a generalized deterioration in health (Cook-Wiens & Grotewiel 2002). In the orb-web spider *Z. x-notata*, a recent work has studied



the effect of age on web structure and demonstrated that the length of the capture spiral decreased with ageing and that webs built by old spiders were less regular than webs built by younger ones (Anotaux et al. 2012). Moreover, authors showed that webs' structure was differentially affected according to spiders' lifespan. In our study, lifespan did not affect spider's mobility, probably because the difference between spiders' lifespans was small compared to the previous study. Although spider's mobility did not change with chronological age, our work showed that the distance travelled by the spider during the construction of the capture spiral and the duration of spiral building decreased prior to spiders' death. In the fruit fly *Ceratitis capitata*, it has been showed that adult males exhibited a particular behaviour (i.e., "supine") a few days prior to death that increased their mortality risk, and authors suggest that flies undergo a period of declining health and that morbidity is a natural stage of ageing process (Papadopoulos et al. 2002; Carey et al. 2006). In the same way, we can suggest that spiders' health declines with age and that it was associated with a decline in spiders' mobility when webs were constructed prior to spider's death. Also, our results showed that the length of the capture spiral tends to decrease when the web was built prior to death and surprisingly, that the decrease of capture spiral length was associated with a decrease in spiders' speed. One possible explanation is that the construction of the capture spiral becomes more difficult to realize for older spider prior to death, when their health deteriorates, and that they have to spend more time to construct it when they age, in order to be less rapidly tire. Moreover, the decrease of the length of the capture spiral was associated with a decrease of the distance travelled. This suggests that spiders do not cover others distances than that corresponding to the route of its capture spiral, and so, that they did not appear to suffer from neurological declines which would perturb its orientation. These results could help us understand morbidity dynamics and the interpretation of longevity extension in model organisms.



Références

- Anotaux, M., Marchal, J., Châline, N., Desquilbet, L., Leborgne, J., Gilbert, C. & Pasquet, A. (2012). Ageing alters spider orb-web construction. *Animal Behaviour*, 84:1113-1121.
- Bateson, P. (2002). Ethology. In: Encyclopedia of Evolution (Ed. by M. Pagel), Oxford: Oxford University Press. Pp. 310-317.
- Carey, J.R., Papadopoulos, N., Kouloussis, N., Katsoyannos, B., Müller, H.G., Wang, J.L. & Tseng, Y.K. (2006). Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Experimental Gerontology*, 41:93-97.
- Cook-Wiens, E. & Grotewiel, M.S. (2002). Dissociation between functional senescence and oxidative stress resistance in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 37: 1347-1357.
- Eberhard, W.G. (1969). Computer simulation of orb web construction. *American Zoologist*, 9: 229-238.
- Foelix R.F., 2011. Biology of spiders, third ed. Oxford University press. Oxford; New York.
- Gotts, N.M. & Vollrath, F. (1992). Physical and theoretical features in the simulation of animal behaviour, e.g., the spider's web. *Cybernetics & Systems*, 23: 41-65.
- Hansell, M. (2005). Animal architecture. Oxford University Press, Oxford. 321 pp.
- Hansell, M. (2007). *Built by animals*. Oxford University Press, Oxford. 256 pp.
- Hansell, M. & Ruxton, G.D. (2008). Setting tool use within the context of animal construction behavior. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 73-78.
- Heiling, A.M. & Herberstein ME. (1998). The web of *Nuctenea scolopetaria* (Araneae, Araneidae): relationship between body size and web design. *The Journal of Arachnology*, 26:91-96.
- Herberstein, M.E. & Heiling, A.M. (1999). Asymmetry in spider orb webs: a result of physical constraints? *Animal Behaviour*, 58:1241-1246.
- Hesselberg, T. (2010). Ontogenetic changes in web design in two orb-web spiders. *Ethology*, 116:535-545.
- Jones, M. & Grotewiel, M.S. (2011). *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and others behaviours. *Experimental Gerontology*, 46 (5): 320-325.
- Krink, T. & Vollrath, F. (1997). Analysing spider web-building behaviour with rule-based simulations and genetic algorithms. *Journal of Theoretical Biology*, 185: 321-31.



- Krink, T. & Vollrath, F. (1998). Emergent preproperties in the behaviour of a virtual spider robot. *Proceedings of the Royal Society B*, 265: 2051-2055.
- Krink, T. & Vollrath, F. (1999). A virtual robot to model the use of regenerated legs in a web-building spider. *Animal Behaviour*, 57: 223-232.
- Lliadi, K.G. & Boulianne, G.L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York academy of sciences*, 1197:9-18.
- Papadopoulos, N.T., Carey, J.R., Katsoyannos, B.I., Kouloussis, N.A., Müller, H-G. & Liu, X. (2002). Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitis capitata*). *Proceedings of the Royal Society B*, 239: 1633-1637.
- Simon, A.F. & Liang, D.T. & Krantz, D.E. (2006). Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing Development*, 127:647-651.
- Vollrath, F. (1988). Untangling the spider's web. *Trends in Ecology & Evolution*, 3: 331-335.
- Vollrath, F. (1992). Analysis and Interpretation of Orb Spider Exploration and web-building behavior. *Advances in the Study of Behavior*, 21:147-199.
- Vollrath, F., Downes, M. & Krackow, S. (1997). Design variability in web geometry of an orb-weaving spider. *Physiology and Behavior*, 62: 735-743.
- Vollrath F. 2000. Coevolution of behaviour and material in the spider's web. In *Biomechanics in Animal Behaviour*, 315–29.
- Zschokke, S. & Vollrath, F. (1995a). Unfreezing the behavior of web spiders. *Physiology & Behavior*, 58: 1167-1173.



Article 4

Ageing and foraging effort in an Orb-Web Spider.

Mylène Anotaux^{1,*}, Camille Toscani², Raymond Leborgne¹, Nicolas Châline³, Alain Pasquet¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

²: Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, UMR 7179 CNRS MNHN, Maisons-Alfort, F-94704, France.

³: Laboratoire d'Ethologie Expérimentale et Comparée EA 4443 Université Paris 13, 99 avenue J.B. Clément, 93430 Villetaneuse, France.

* Corresponding author: Mylène Anotaux

E-mail: mylene.anotaux@scbiol.uhp-nancy.fr

Journal of Ethology, submitted



Résumé de l'article 4



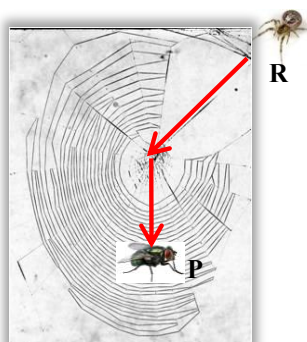
Introduction

Les araignées orbitales construisent des toiles pour, avant tout, capturer des proies et se nourrir. Par conséquent, la toile représente un aspect du comportement de fourragement de l'araignée, l'autre aspect étant le comportement direct de capture de la proie par l'araignée elle-même. Les mouvements de l'araignée lui sont donc essentiels pour construire sa toile et pour se déplacer sur la toile, attraper et contrôler la proie. Le vieillissement est souvent associé avec une réduction de la mobilité. Affecte-t-il le comportement de capture de l'araignée?

Matériel et méthodes

Des araignées d'âges différents sont placées dans des cadres pour construire une toile. Après avoir fait des mesures sur les toiles (permettant d'estimer l'investissement en soie (CTL) et de compter le nombre d'anomalies), un test de capture est réalisé: une proie (P, figure 1) est placée au milieu de la partie basse de la toile et la durée et la fréquence des comportements de capture réalisés par l'araignée sont relevées. Avant le test, l'araignée se situe dans sa retraite (R, figure 1).

Paramètres de capture de proie



- **Temps de réaction** : durée que met l'araignée pour se rendre de sa retraite (R) à la proie (P)

- **Temps de maîtrise**: durée de maniement de la proie à P.

- **Temps transport**: durée du retour à la retraite avec la proie, de P à R, incluant les éventuelles interruptions en chemin

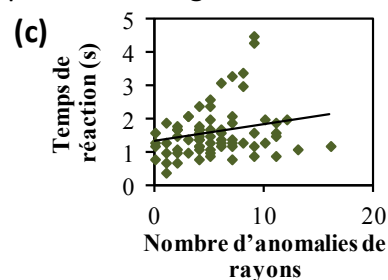
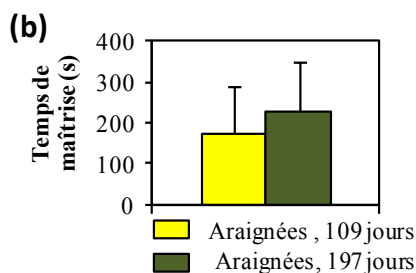
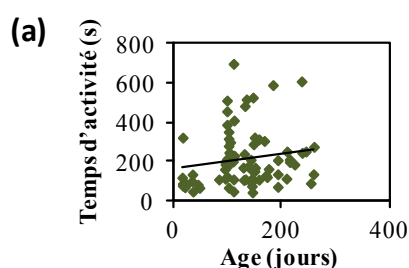
- **Temps total** : temps de réaction + temps de maîtrise + temps de transport + durée des interruptions

- **Temps d'activité**: temps de réaction + temps de maîtrise + temps de transport – durée des interruptions

- **Nombre de morsures et d'enveloppements** de la proie à P.

Résultats

Le taux de réussite de capture ne diffère pas avec l'âge des araignées. En revanche, une analyse inter- et intra-individuelle révèle que l'âge affecte les comportements de capture de l'araignée.



La durée de certains comportements de capture, comme le temps d'activité (a), augmentent avec l'âge des araignées. L'analyse intra-individuelle montre que cette augmentation se traduirait par l'augmentation du temps de maîtrise de la proie par les araignées âgées (b). Quand le nombre d'anomalies de rayons augmentent, le temps de réaction augmente aussi (c).

Conclusion

L'âge n'affecte pas l'efficacité de capture de la proie mais la durée de réalisation des comportements de l'araignée. Ces modifications comportementales résultent d'un effet de l'âge sur l'araignée elle-même et/ou sur la structure de la toile, et rendraient l'accessibilité à la proie plus difficile pour les araignées âgées.



Abstract

Ageing is often associated with a reduction of behavioural performance such as locomotion or food consumption, in relation with a degradation in physiological functions. In orb-web spiders, webs are used to capture prey and ageing can affect web-building behavior and web-structure. Here, we investigated the effect of ageing on prey capture in the orb-web spider *Zygiella x-notata*. Performances of adult females at capturing flies were estimated at different ages.

The rate of prey capture did not change with age but older spiders took more time to subdue and capture the prey. Alterations appearing in web structure with age (increase in the number of anomalies affecting radii and capture spiral) affect prey capture behaviour. Furthermore, the analysis of individual performances (carried out on 17 spiders at two different ages) showed that older females spent more time handling the prey, probably due to an increase in the number of bites necessary to subdue the prey. Our results suggest that age had no consequence on prey capture but could influence prey capture behaviour by affecting web structure or/and spider motor functions.

Key words: Ageing, Prey capture efficiency, Orb-web spider, *Zygiella x-notata*. [ajouter un mot](#)



1. Introduction

Ageing in organisms is a natural progressive process of deterioration of physiological functions that is often associated with deficits in behavioural performances and which ultimately leads to death (Arking, 1998). Many studies on vertebrate models, both in laboratory and natural populations, have led to a better understanding of ageing mechanisms and its consequences on the organism (Austad and Fisher, 1991; Holmes and Austad, 1995; Perret and Aujard, 2006; Ricklefs, 2010). In invertebrates, dipterans such as *Drosophila melanogaster*, have been used extensively to study age-related behavioural changes (Grotewiel et al. 2005; Simon et al. 2006 Liadi & Boulianne 2010; Jones & Grotewiel 2011). Most of ageing studies in flies have focused on the decline of behavioural functions linked with age including memory, olfaction and biological rhythms (for review see Grotewiel et al., 2005). Moreover, some studies have demonstrated a decrease in spontaneous locomotion with increasing age in insects (LeBourg and Minois, 1999; Ridgel et al., 2003). This loss of mobility could influence the abilities of the animal to acquire resources. Food intake is one of the vital functions of animals that are reduced with ageing. In mammals such as rats and mens, ageing is associated with declines in food consumption (quantity and quality ingested) (Blanton et al., 1998; McCue, 1995). It has also been showed that increasing age was associated with a decrease in foraging efficiency in the honeybee *Apis mellifera* (Tofilski, 2000). Therefore, a decrease in spontaneous activity and foraging efficiency with increasing age has been described in invertebrates. However, none of these papers have examined the link between locomotor abilities and foraging efficiency in ageing animals. Orb-web spiders could be used for this purpose because there is a direct link between locomotor activity and prey capture efficiency (Foelix 2011). In fact, spiders use their legs (and their whole body) first to build a web that will intercept prey and second to capture prey according to a specific behavioural sequence of capture (go to the prey, catch it, immobilize it, and for some spiders transport it) (Foelix, 2011). Web construction is thus an important aspect of the orb-spider foraging behavior.

Orb-web spiders are sit-and-wait predators that do not actively search for prey such as Lycosidae or Salticidae spiders but invest time and energy in the construction of an orb-web, a geometrical structure that serve as a trap for prey (Heiling & Herberstein 2000; Scharf et al. 2011). Once the web is built, the spiders wait in the center or hidden in a retreat that a prey strikes the structure to capture it. Prey capture efficiency depends therefore both on the shape of the web and on its capacities (1) to intercept prey, (2) to inform the spider about the location of the prey, (3) to



retain prey long enough for the spider to subdue it before it escapes or tumbles away, and also (4) on the spider's capture behaviour after prey interception (Coslovsky & Zschokke 2009; Sensenig et al. 2011). These capture abilities depend on silk properties and on the amount of silk invested during web construction (capture thread length, capture area) and on the arrangement of the radii and capture threads, that is the structure of the web (Vollrath 1992; Foelix 2011). The arrangement of radii and capture threads are important for the success of capture because, when the spider hides in a retreat at the edge of the web, silky threads serve to intercept and retain the prey by absorbing the energy of the struggling prey without breaking (Zschokke 2000), and vibrations are transmitted by radii and a signal thread connecting the center of the web to the retreat (Zschokke 2000). Recently, we demonstrated that ageing affects orb-webs' structure by showing that webs built by old spiders are smaller, geometrically less regular and present more anomalies than webs built by younger spiders (Anotaux et al. 2012); we suggested that these web modifications could be due to a decline in spider's mobility during web construction and/or to central and neurological declines. These age-induced changes could affect prey capture efficiency.

In this study, we used the orb-web spider *Zygiella x-notata* (Araneae, Araneidae, Clerk) to test the effect of age on foraging efficiency. In this species, spiders build an orb-web and then wait for a prey in a retreat. When a prey strikes the web, the spider captures it by exhibiting a characteristic capture behavioural sequence: after approaching to the prey, it immobilizes it by biting it and wrapping it with silk, and transport the prey to the retreat to consumed it. By comparing prey capture sequences, their duration and the frequency of their different components with age, we expect that (1) the rate of capture decreases with ageing, (2) the duration of the behavioural acts increases and that (3) the access to prey and prey manipulation to subdue it may be more difficult with ageing.

2. Material and methods

Zygiella x-notata is a wide spread small orb-web spider (5-7 mm for adult females) in northern Europe, which establishes preferentially in the vicinity of human buildings. It constructs an orb-web, which is generally characterized by the presence of a free sector in the upper part, and feeds primarily on flying prey (generally Diptera). In eastern France, its development cycle is annual: the juveniles leave the cocoons at the beginning of spring, reproduction starts in summer with mating and females lay eggs in September-October. While males die after reproduction, the majority of the females disappear when winter colds arrive but some of them can survive to the



next spring (Jones 1983, Thévenard et al. 2004, Bel-Venner & Venner 2006). As adult, the lifespan of females is approximately from 5 to 7 months (Juberthie 1954, Thévenard et al. 2004).

Spiders used in this study were captured as sub adult (in August and September) and raised in the laboratory in plastic boxes (10x7x2.5 cm). They were sprayed with water and fed once a week with a fly (*Lucilia Caesar*). Their last meal takes place four days before the tests. All the spiders used for the tests moulted and became adult in the laboratory, so we knew exactly their adult age. They were all virgin females.

Since the body mass of spiders may influence web construction characteristics and vary with age (Venner et al., 2003), spiders were weighed before being placed in experimental conditions (balance Sartorius BASIC BA110S, precision 0.1 mg).

2.1. Procedure

To collect data on prey capture efficiency, spiders were individually put into wooden frames (50x50x10 cm) closed by two windowpanes in which they could build their web. Frames with spiders were placed into a room under controlled conditions (temperature 20-22°, hygrometry 55% and luminous cycle of 12 hours – light from 8 a.m. to 8 p.m.) for 72 hours. Then after the test, they were placed back in their respective boxes once they built their web or after a maximum of 72 hours if they had not constructed any web. Each day, we checked the presence of a web. As soon as the spider completed web's construction, direct measures of web parameters were taken with an electronic calliper after frame opening and photos (Lumix FZ18 camera) were taken by placing webs in front of a black panel, enlightening them with an artificial light. After web's measurements, we realised a prey capture attempt.

To do that, we determined the middle of the lower part of the web after measuring its length with an electronic calliper, and we placed a living fly there, observed and quantified the capture behaviours of spiders. Prey was a fly (*Lucilia caesar*) with a smaller size than the spider (approximately 2/3 of the spider size, and with a weight of 25 ± 5 mg) that could be considered as a large prey for this spider species. When the prey was entangled into the web, observations of spider behaviours started.

2.2. Parameters

Web parameters



From direct measures, we estimated the spider's investment into the web by calculating the total length of the capture spiral (Capture Thread Length -CTL-) and the capture area (CA) that represented the surface of the web minus the surface of the free sector and the surface of the centre part of the web (without sticky spiral) (following Venner et al. method: Venner et al. 2000; Venner et al. 2001).

Anomalies

From photos, we counted the anomalies (as defined by Pasquet et al. unpublished). Anomalies can affect radii or capture spiral. For radii, we counted: the number of supernumerary, deviated, and "Y" radii. For the capture spiral, we counted: the number of stops and returns, holes, silk threads of the capture spiral stuck by two or more than two between two radii, and the number of nonparallel and discontinuous silk threads of the capture spiral. The total number of anomalies for each web was reported to the CTL to determine the number of anomalies per centimetre (A/cm).

Parameters of prey capture

Before putting the prey in the web, all spiders were in the same position: they were all in their retreat with a foreleg (P1) in contact with the signal thread. As parameters, we take into account:

- **Contact latency:** The first reaction of the spider is characterized by its first movement after having deposited the prey onto the web; contact latency is the time between this first movement and the first contact of the spider with the prey. In general, the way used by the spider to reach the prey is: retreat, signal thread, hub (center) of the web and prey.
- **Handling time:** Handling is considered as behaviours (bites and wrappings) exhibited by the spider to subdue the prey. Handling time began after the first contact between the spider and the prey and stopped when the spider left the capture site with or without the prey.
- **Number of bites:** A bite is characterized by the introduction of the venomous fangs of the spider into the prey. A spider can introduce fangs several times into the prey during a capture because it sometimes needs several times before finding a suitable site (i.e. articulation of the prey or specific places with thinner cuticle). A bite stopped when the



spider fangs leave the prey. The number of bites on the prey was considered. We had no possibility to know if a spider bite could be associated with a venom injection.

- **Number of wrappings:** Wrapping is a special behaviour during which the spider projects silk on the prey to immobilize it. During this behaviour, the silk is extruded from the spinnerets and projected onto the prey; it is visible and easy for the observer to count the number of wrapping sequences. This behaviour may be reproduced several times during a capture. For each prey capture, we took into account the number of wrappings for a spider.

- **Prey transport time:** After subduing the prey, the spider had to transport it to its retreat before ingestion. To transport the prey, the spider hung it to its spinnerets and went back to the retreat. Several events might interrupt the transport during this way back: the prey could get entangled in the sticky spiral and the spider might lose the prey, or the spider could take a bad orientation and did not find the good way to its retreat. Moreover, the spider might make returns to its retreat without the prey and stay motionless before coming back and going on its previous activity. Each interruption during its return to the retreat was counted and the total duration of all interruptions was included in the time of transport that ended when the spider reached its retreat with the prey.

- **Total time:** This parameter corresponds to the total time necessary for the spider to subdue the prey and to transport it to its retreat before ingestion; so we added the contact latency, the handling time, the transport time with all interruptions (see above for the definitions).

- **Activity time:** This is the time during which the spider present activity to capture the prey. It is equal to the total time from which we removed all interruptions during the transport (time during which the spider is motionless).

JEN SUIS LA

Statistical analysis

Variations of the predatory performances with age could be appreciated at two different levels: at inter-individual level between spiders of different ages or at intra-individual level by comparing the capture performances when spiders were young and old.

For the inter-individual analysis, a total of 78 spiders (old from 17 to 261 days) weighing between 12 and 73 mg were used to assess the associations between (1) chronological age and body mass or each web parameter (CTL, capture area, number of anomalies affecting radii,



number of anomalies per cm of the capture spiral), between (2) chronological age and body mass or each prey capture parameter and between (3) web parameters and body mass or each prey capture parameter. A generalized linear model (GLM) has been carried out where chronological age and web's parameters were the independent variables and each prey capture parameter was the dependent variable. These models were adjusted for body mass, collected at each test, as a potential confounding factor.

In the second analysis, we compared the performances of 17 spiders tested at two different ages. Spiders were chosen in order to be 50 days older between test 1 and test 2 (age of the spiders for test 1: $M=109\pm19$ days, and age for test 2: $M=197\pm33$ days). The age of the spiders obtained in laboratory during test 1 was similar to that reached by adult females in natural conditions whereas the age of the spiders during test 2 was much more than the average age in natural conditions. Comparisons of parameters between the two ages were made with paired parametric tests (Paired t-test) and Wilcoxon tests.

Statistical analyses were performed using R 2.15.0 softwares. Parametric tests were realized when normality was verified. Significance was considered at $P < 0.05$.

Results

Inter-individual level: relationships between age, body mass and web parameters

Influence of chronological age on web structure

Body mass increased with age ($P<0.01$, figure 1a). When adjusted for body mass, there was a significant decrease of CTL (SE, 1,99; $P<0.01$, Table 1A) and of capture area with age (SE, 0.149; $P<0.001$, Table 1B). However, there was no difference between the number of anomalies per cm affecting the thread of the capture area with age (SE, 0.0002; $P=0.14$, Table 1C), and between the number of anomalies affecting radii and spiders' age (SE, 0.007; $P=0.54$, Table 1D).

Influence of chronological age on prey capture efficiency

Since all spiders catch the prey, the rate of capture due to spiders' capture behaviour was of 100%. Adjusted to body mass, the activity time and total time of the capture sequence were affected by age (for activity time: $P=0.01$; for total time: $P=0.04$; Figure 1b-c). However, among the parameters that constitute the activity time and the total time, we observed no significant



association between all capture parameters and age: contact latency ($P=0.86$, Table 2A), handling time ($P=0.11$, Table 2B), transport time ($P=0.10$, Table 2C) and interruption time ($P=0.24$, Table 2D). The number of bites and the number of wrappings did not differ with age (for the number of bites: $P=0.63$, Table 2D; for the number of wrappings: $P=0.64$, Table 2E).

Influence of web structure on prey capture efficiency

All the 78 webs constructed by spiders retain the prey deposited in the lower part. Thus the rate of prey captures by web retention was of 100%. When adjusted for body mass, there was an increase of the activity time when CTL decreases (SE, 0.06; $P<0.01$, Figure 1d), and the total time of prey capture increases when CTL decreases (SE, 0.07; $P=0.01$, figure 1e). Among the total time, the handling time increases when CTL decreases (SE, 0.05; $P=0.01$, figure 1f). However, we observed no significant association between CTL and contact latency ($P=0.89$), transport time ($P=0.11$), and interruptions time ($P=0.31$) (Table 3a).

The contact latency increased when the number of anomalies affecting radii increased (SE, 0.02; $P=0.03$, figure 1g). However, there were no differences between the number of anomalies affecting radii or the capture spiral, and all prey capture parameters (Table 3b for the relationship between the number of anomalies affecting radii and capture parameters; Table 3c for the relationship between the number of anomalies per cm affecting capture spiral and capture parameters).

Intra-individual level:

Comparisons of web parameters between young and old spiders

There was no difference between the web parameters; for the CTL, the difference was not significant ($t=0.95$, $df=16$, $P=0.35$, see Table 4). The capture area tended to decrease from test 1 to test 2 (Wilcoxon test, $W=115$, $P=0.07$, see Table 4). The number of anomalies per cm and the number of anomalies affecting radii do not differ between the two test (Wilcoxon test, respectively $W=48$, $P=0.19$ and $W=65$, $P=0.84$, see Table 4).

Comparisons of capture performances between young and old spiders

The spiders' body mass does not differ significantly between the two test (28.6 ± 13.7 mg for spiders in test 1, and 33.6 ± 10.3 mg in test 2, Wilcoxon test, $W=37$, $P=0.12$).



The total time and the activity time differ between the two tests and were longer when spiders age (total time, Wilcoxon test: median Test 1=180 (82,256), median Test 2=267 (219,410), $W=23$, $P<0.01$, see Fig. 2a; activity time, Wilcoxon test: median Test 1=156.2 (81.8, 254.9), median Test 2=249.2 (199.4, 409.3), $W=25$, $P=0.01$, see Fig. 2b). Among the three parameters taken into account to calculate the activity time, the handling time increases for old spiders (t-test, $t=3.08$, $DF=16$, $P<0.01$, see Fig. 2c), but the contact latency and the transport time do not differ with ageing (for contact latency, Wilcoxon test: median Test 1=1.6 (1.3, 1.8), median Test 2=1.3 (1.0, 1.8), $W=78$, NS , see Fig. 2d; for transport time, Wilcoxon test: median Test 1=4 (3, 18), median Test 2=11 (6, 88), $W=37$, NS , see Fig. 2e). The number of bites during prey capture was higher for old spiders (Wilcoxon test: median Test 1=1 (1, 2), median Test 2=2 (1, 3), $W=8$, $P=0.05$ see Fig. 3a), but the number of wrappings do not differ between test 1 and test 2 (Wilcoxon test: median Test 1=1 (1, 2), median Test 2=2 (1, 3), $W=14$, NS , Fig. 3b).

Discussion

In the present study, we examined the effect of age in adult life on the efficiency and behavioural changes. Contrary to our prediction, the rate of prey captures by spiders did not differ with age. However, in our study, preys (flies) were directly deposited in web and their capture could be easier for spiders than in nature where flies struck the web during fly and could escape easily, by broken web threads more rapidly because of their impact. Thus, the rate of capture could be different. However, our results showed that there are some changes in time management during spiders' capture behaviours with age, and that age-induced changes in web could seem also to affect these behaviours.

The consequences of ageing on behavioural performances are variable according to the different activities (foraging, reproduction, locomotion, Grotewiel et al. 2005). They have especially been showed in animals and are often linked with a decrease in locomotor activity in vertebrates (i.e. in rats, Altun et al. 2007) and invertebrates (i.e. in nematodes, Murakami and Murakami 2005, or in *Drosophila*, Le Bourg and Minois 1999). In particular in *Drosophila melanogaster*, locomotor behaviours such as negative geotaxis, exploratory activity, fast phototaxis and flight ability, decline with age (Grotewiel et al. 2005). In spiders, it was showed that age could influence locomotor behaviour: i.e., *Lycosa tarentula*, (Araneae, Lycosidae) an iteropare species that can reproduce during two successive years, is more productive during the first year than during the second one (Moya-Larano 2002). Moreover, in this later study, the author showed that the second year, females spiders were less active with a lower locomotor



activity than the first year females. In the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*, it has been recently showed that the geometry of the web, and thus web-building behaviour, was affected by ageing (Anotaux et al. 2012). In this paper, authors suggested that these age-induced changes in web could have a locomotor origin with a degradation of the mechanical properties of the spiders' legs. In our study, the total time and the activity time of the spider during prey capture increases with spider's age; the comparison of prey capture parameters of the spiders with themselves at least 50 days later showed that the increase of activity time was due to an increase of the handling time and of the number of bites. One possible explanation is that locomotor behaviours used to immobilize the prey become more difficult to realise with age because old spiders could tire more rapidly during struggle with prey than young spiders. It could explain that for old spiders, behaviours used to handle the prey (bites) need to be more numerous to immobilize the prey effectively. Also, our results could suggest that the age did not alter the pattern of the capture behaviours but some physiological functions such as venom secretion, as the number of bites increases with ageing. It is possible that venom efficacy degrades with age and that old spiders had to spend more time to handle and immobilize the prey.

It is known that body mass induces variations in web-building behaviour (Venner et al. 2003; Kunter et al. 2010) and foraging effort (Venner et al. 2003). Venner et al. (2003) showed that, as spiders body mass increased, spiders reduced the amount of silk used per web, while their foraging effort increased. Here, spider body mass increased with age at inter-individual level and age induced a decrease in silk investment in web. As all spiders were fed in the same conditions in the laboratory, body mass may not have an effect and be retained as hypothesis to explain differences in capture performances. However, in nature, they would rarely be fed to satiation and body mass might be important in determining differences in performance in young and old adults.

Furthermore, we showed that web changes affects foraging effort: when silk investment in web decreased, the activity time increased and spiders take longer to handle the prey. In their study, Anotaux et al. (2012) suggest that spiders invest less silk in their web with ageing because ageing affect glands that produce spiral silk and lead to the reduction in silk reserves. In our study, an explanation could be that, to compensate the decrease of silk investment that appear with age, which could decrease the probability to capture preys because capture area would be smaller, spiders take longer to immobilize their prey and succeed its foraging. Moreover, our results showed that the contact latency increased with the number of anomalies affecting radii. We suggest that the spider take longer to go up to the prey because radii with anomalies do not transmit prey vibrations which guide the spider to the prey correctly and/or because spider is less



skillful to move on radii affected by anomalies. Thus, changes in contact latency of the spiders during capture behaviour could be explained by age-induced changes in web geometry.

Initially, we expected that prey capture efficiency decrease with age. Contrary to our prediction, the handling behaviour-changes and age-induced changes in web geometry did not alter prey capture rate, as far as capture rate was the same for all individuals. However, according to our predictions, the duration of the behavioural acts increases with age and the access to prey seems to be more difficult. It suggests that in laboratory, ageing do not have dramatic consequence on spider's capture but in wild, it could affect spider survival because it forces it to stay longer exposed to the predators.

Aknowlegdements

The University of Nancy supported this work by the attribution of a grant to M. Anotaux. It is supported by a grant of the CNRS program "Longévité et Vieillissement". We thank J. Marchal and L. Bahans who helped to collect the spiders in 2008 and 2009 and to ensure the breeding of the spiders at the laboratory in 2009.

References

- Altun M, Bergman E, Edstrom E, Johnson H, Ulfhake B (2007) Behavioral impairments of the aging rat. *Physiol Behav* 92:911-923
- Anotaux M, Marchal J, Châline N, Desquilbet L, Leborgne R, Gilbert C, Pasquet A (2012) Ageing alters spider orb-web construction. *Anim Behav* 84:1113-1121
- Arking R (1998) The biology of aging: observations and principles. Sinauer Associates, Sunderland MA
- Austad SN, Fischer KE (1991) Mammalian aging, metabolism, and ecology: evidence from the bats and marsupials. *J Gerontol* 46:B47-B53
- Bel-Venner MC, Venner S (2006) Mate-guarding strategies and male competitive ability: results from a field study in an orb-weaving spider. *Anim Behav* 71:1315-1322
- Blanton CA, Horwitz BA, Murtagh-Mark C, Gietzen DW, Griffey SM, McDonald RB (1998) Meal patterns associated with the age-related decline in food intake in the Fischer 344 rat. *Am Physiol Soc* 44(5):R1494-R1502



- Coslovsky M, Zschokke S (2009) Asymmetry in Orb-Webs: An Adaptation to Web Building Costs? *J Insect Behav* 22:29-38
- Foelix RF (2011) *Biology of spiders*, third ed. Oxford University press. Oxford; New York.
- Grotewiel MS, Martin I, Bhandari P, Cook-Wiens E (2005) Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Res Rev* 4:372-397
- Heiling AM, Herberstein ME (2000) Interpretations of orb-web variability: a review of past and current ideas. *Ekologia-Bratislava* 19:97-106
- Holmes DJ, Austad SN (1995) The evolution of avian senescence patterns: implications for understanding primary aging processes. *Am Zool* 35:307-317
- Jones D (1983) *Guide des Araignées et des Opilions d'Europe*. Editions Delachaux et Niestlé, Paris
- Jones M, Grotewiel MS (2011). *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and others behaviours. *Exp Gerontol* 46(5):320-325
- Juberthie C (1954) Sur les cycles biologiques des Araignées. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle de Toulouse* 89:299-318.
- Kunter M, Gregoric M, Li D (2010) Mass predicts web asymmetry in *Nephila* spiders. *Naturwissenschaften* 97:1097-1105
- Le Bourg E, Minois N (1999) A mild stress, hypergravity exposure, postpones behavioral aging in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology* 34(2):157-172
- Lliadi KG, Boulianne GL (2010) Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Ann NY Acad Sci* 1197:9-18
- McCue JD (1995) The naturalness of dying *JAMA* 273:1039-43
- Moya-Larano J (2002) Senescence and food limitation in a slowly ageing spider. *Funct Ecol* 16:734-741
- Murakami S, Murakami H (2005) The effects of aging and oxidative stress on learning behavior in *C. elegans*. *Neurobiol Aging* 26:899-905
- Perret M, Aujard F (2006) Vieillesse et rythmes biologiques chez les primates. *Médecine Sciences* 22:279-283
- Ricklefs RE (2010) Insights from comparative analyses of aging in birds and mammals. *Aging Cell* 9(2):273-284
- Ridgel AL, Ritzmann RE, Scheafer PL (2003) Effects of aging on behaviour and leg kinematics during locomotion in two species of cockroach. *J Exp Biol* 206:4453-4465
- Scharf I, Lubin Y, Ovadia O (2011) Foraging decisions and behavioural flexibility in trap-building predators: a review. *Biol Rev Camb Philos Soc* 86(3):626-639



- Sensenig AT, Agnarsson I, Blackledge TA (2011) Adult spiders use tougher silk: ontogenetic changes in web architecture and silk biomechanics in the orb-weaver spider. *J zool* 285:28-38
- Simon AF, Liang DT, Krantz DE (2006) Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing Development* 127:647-651
- Thévenard L, Leborgne R, Pasquet A (2004) Web-building management in an orb-weaving spider, *Zygiella x-notata*: influence of prey and conspecifics. *Comptes Rendus Biologies* 327:84-92
- Tofilsky A (2000) Senescence and learning in honeybee (*Apis mellifera*) workers. *Acta neurobiologiae Experimentalis* 60:35-39
- Venner S, Pasquet A, Leborgne R (2000) Web-building behaviour in the orbweaving spider *Zygiella x-notata*: influence of experience. *Anim Behav* 59:603-611
- Venner S, Thevenard L, Pasquet A, Leborgne R (2001) Estimation of the web's capture thread length in orb-weaving spiders: Determining the most efficient formula. *Ann Entomol Soc Am* 94(3):490-496
- Venner S, Bel-Venner MC, Pasquet A, Leborgne R (2003) Body-mass-dependant cost of web-building behavior in an orb weaving spider, *Zygiella x-notata*. *Naturwissenschaften* 90:269-272
- Vollrath F (1992) Analysis and Interpretation of Orb Spider Exploration and web-building behavior. *Adv Stud Behav* 21:147-199
- Zschokke S (2000) Form and function of the orb-web. *European Arachnology Aarhus University Press* 99-106.



Table 1: Relationships between web parameters (CTL, Capture Area, Number of anomalies/cm affecting capture spiral, Number of anomalies affecting radii) and chronological age using a generalized linear model adjusted for body mass.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
A CTL (cm) Adjusted $r^2 = 0.180$; $p < 10^{-3}$			
Intercept	73.929	6.344	1.527E-08
Age	1.999	2.787	0.006
Body mass	0.409	(-)4.093	0.001
B Capture area Adjusted $r^2 = 0.153$; $p < 10^{-3}$			
Intercept	26,990	5.120	<0.0001
Age	0.149	(-)3.160	<0.001
Body mass	0.730	2.130	0.036
C Number of anomalies / cm Adjusted $r^2 = 0.037$; $p = 0.09$			
Intercept	0.046	2.717	0.008
Age	$<10^{-3}$	1.478	0.144
Body mass	0.001	(-)1.409	0.163
D Number of anomalies affecting radii Adjusted $r^2 = -0.022$; $p = 0.81$			
Intercept	1.291	4.256	6.350e-05
Age	0.007	-0.609	0.545
Body mass	0.035	0.440	0.661

**Table 2.** Relationships between chronological age and prey capture parameters.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
A Reaction time	Adjusted $r^2=-0.024$; $p=0.89$		
Intercept	0.266	5.654	2,68E-07
Age	0.001	0.175	0.861
Boby mass	0.007	0.351	0.727
B Handling time	Adjusted $r^2=-0.083$; $p=0.01$		
Intercept	37.549	6.301	1,83E-08
Age	0.208	1.620	0.109
Boby mass	1.015	(-)2.914	0.005
C Transport time	Adjusted $r^2=-0.062$; $p=0.033$		
Intercept	22.368	2.592	0.011
Age	0.124	1.666	0.100
Boby mass	0.605	(-)2.520	0.014
D Interruption time	Adjusted $r^2=-3,730^E-04$; $p=0.38$		
Intercept	20.410	1.691	0.095
Age	0.113	(-)1,180	0,242
Boby mass	0,552	(-)0,313	0.755
E Number of bites	Adjusted $r^2=-0.021$; $p=0.82$		
Intercept	0.351	4.218	$<10^{-5}$
Age	0.002	0.485	0.629
Boby mass	0.009	0.198	0.844
F Number of wrapping	Adjusted $r^2=-0.024$; $p=0.90$		
Intercept	0.285	5.513	4.782E-07
Age	0.002	0.464	0.644
Boby mass	0.008	(-)0.149	0.882



Table 3. Relationships between prey capture parameters and web parameters using a generalized linear model adjusted for body mass.

a. Relationships between prey capture parameters and CTL.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
Reaction time	Adjusted $r^2 = -0.024$; $p = 0.90$		
Intercept	0.273	5.647	$<10^{-6}$
CTL	$<10^{-3}$	(-)0.143	0.887
Boby mass	0.007	0.453	0.651
transport time	Adjusted $r^2 = 0.060$; $p = 0.04$		
Intercept	22.983	3.971	$<10^{-3}$
CTL	0.032	(-)1.627	0.108
Boby mass	0.576	(-)1,801	0.076
Interuption time	Adjusted $r^2 = -0.005$; $p = 0.45$		
Intercept	21.006	0.683	0.496
CTL	0.029	1.013	0.314
Boby mass	0.526	(-)0.905	0.368

b. Relationships between prey capture parameters and number of anomalies/cm affecting radii.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
Reaction time	Adjusted $r^2 = 0.044$; $p = 0.077$		
Intercept	0.282	4.054	<0.001
Number of anomalies affecting radii	0.025	2.146	0.035
Boby mass	0.007	0.784	0.435
Activity time	Adjusted $r^2 = 0.019$; $p = 0.19$		
Intercept	52.634	5.583	$4.2e-07$
Number of anomalies affecting radii	4.658	(-)0.269	0.789
Boby mass	1.311	(-)1.809	0.075
Total time	Adjusted $r^2 = 0.043$; $p = 0.08$		
Intercept	53.688	6.224	$3.14e-08$
Number of anomalies affecting radii	4.751	(-)0.811	0.420
Boby mass	1.337	(-)2.091	0.040
Transport time	Adjusted $r^2 = 6.042e-05$; $p = 0.37$		
Intercept	23.110	2.650	$<10^{-3}$
Number of anomalies affecting radii	2.0452	(-)0.141	0.888
Boby mass	0.5755	(-)1.404	0.165



c. Relationships between prey capture parameters and number of anomalies/cm affecting capture spiral.

Variables	Std.Err	<i>t</i>	<i>P</i> level
A Reaction time	Adjusted $r^2 = -0.018$; $p = 0.69$		
Intercept	0.278	5.196	1.91e-06
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	0.654	(-)0.248	0.805
Boby mass	0.007	0.793	0.430
B Activity time	Adjusted $r^2 = 0.039$; $p = 0.09$		
Intercept	49.852	5.292	1.32e-06
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	117.119	1.260	0.212
Boby mass	1.302	(-)1.715	0.091
C Total time	Adjusted $r^2 = 0.042$; $p = 0.09$		
Intercept	51.379	5.800	1.76e-07
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	120.706	0.840	0.404
Boby mass	1.341	(-)2.031	0.045
D Handling time	Adjusted $r^2 = 0.040$; $p = 0.34$		
Intercept	38.622	5.983	8.39e-08
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	90.736	1.036	0.304
Boby mass	1.008	(-)1.889	0.063
E transport time	Adjusted $r^2 = 0.002$; $p = 0.09$		
Intercept	22.096	2.538	0.014
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	51.912	0.443	0.659
Boby mass	0.5767	(-)1.365	0.177
F Interruption time	Adjusted $r^2 = 0.008$; $p = 0.2275$		
Intercept	0.266	2.474	0.016
Number of anomalies/cm affecting capture spiral	0.624	1.102	0.274
Boby mass	0.007	(-)1.078	0.284

Table 4. Comparisons of web parameters between young and old spiders.

Web parameters	Test 1		Test 2		<i>t</i>	<i>W</i>	<i>P</i>
	Mean $\pm$ SD	Median	Mean $\pm$ SD	Median			
CTL	417.30 $\pm$ 153.20	362.80	362.85 $\pm$ 141.26	351.83	0.95		0.35
Surface	120.09 $\pm$ 84.81	102.99	88.25 $\pm$ 39.88	80.08		115	0.07
Number of capture anomalies/cm	0.13 $\pm$ 0.19	0.08	0.14 $\pm$ 0.12	0.12		48	0.19
Number of anomalies affecting radii	5.88 $\pm$ 3.44	6	6.06 $\pm$ 3.98	6		65	0.84

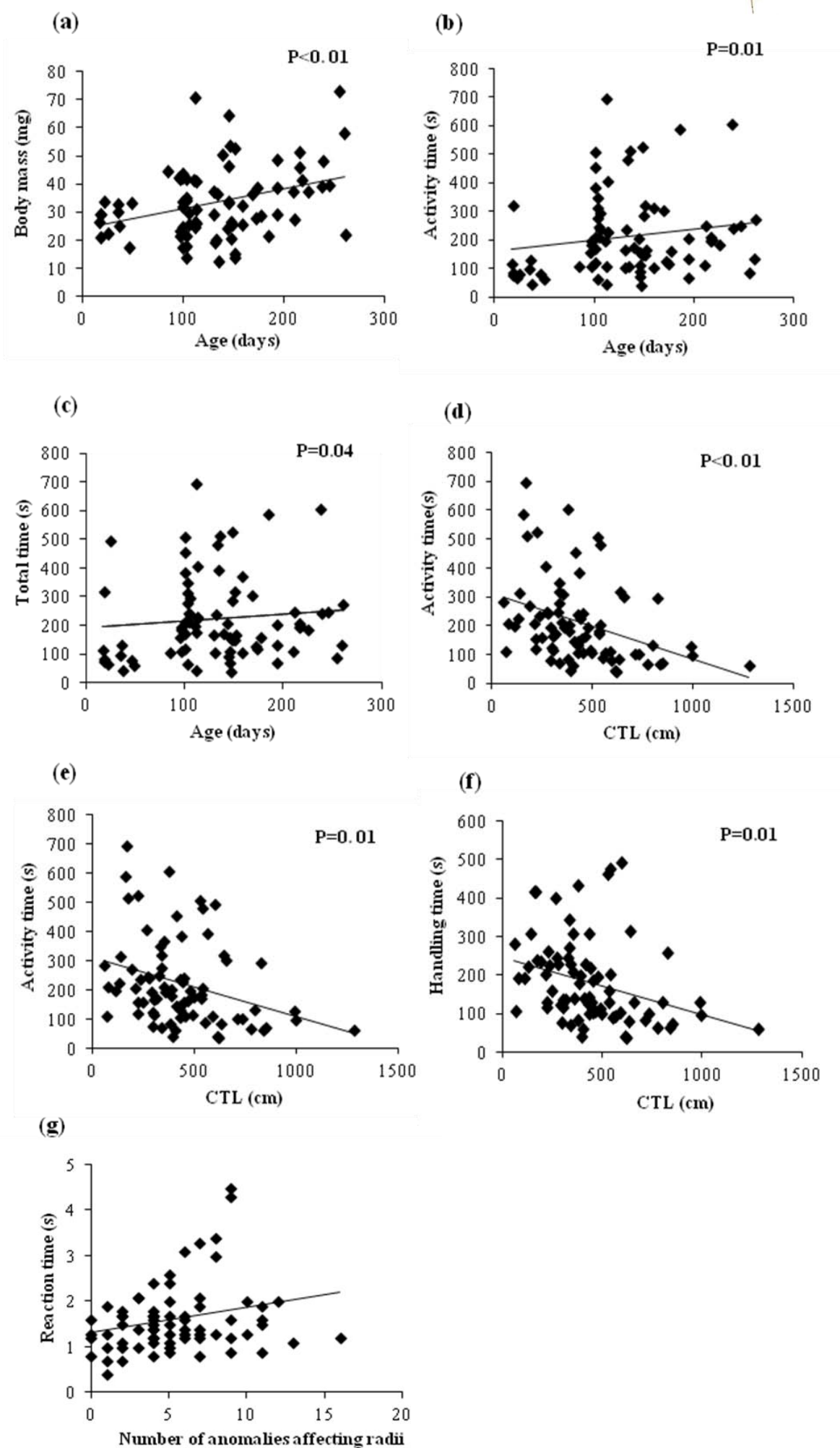




Figure 1. Associations between spiders' body mass and chronological age (a), between prey capture parameters and chronological age adjusted to body mass (a, b, c), between prey capture parameters and CTL (capture thread length) adjusted to body mass (d, e, f), and between reaction time and the number of anomalies affecting radii (g).

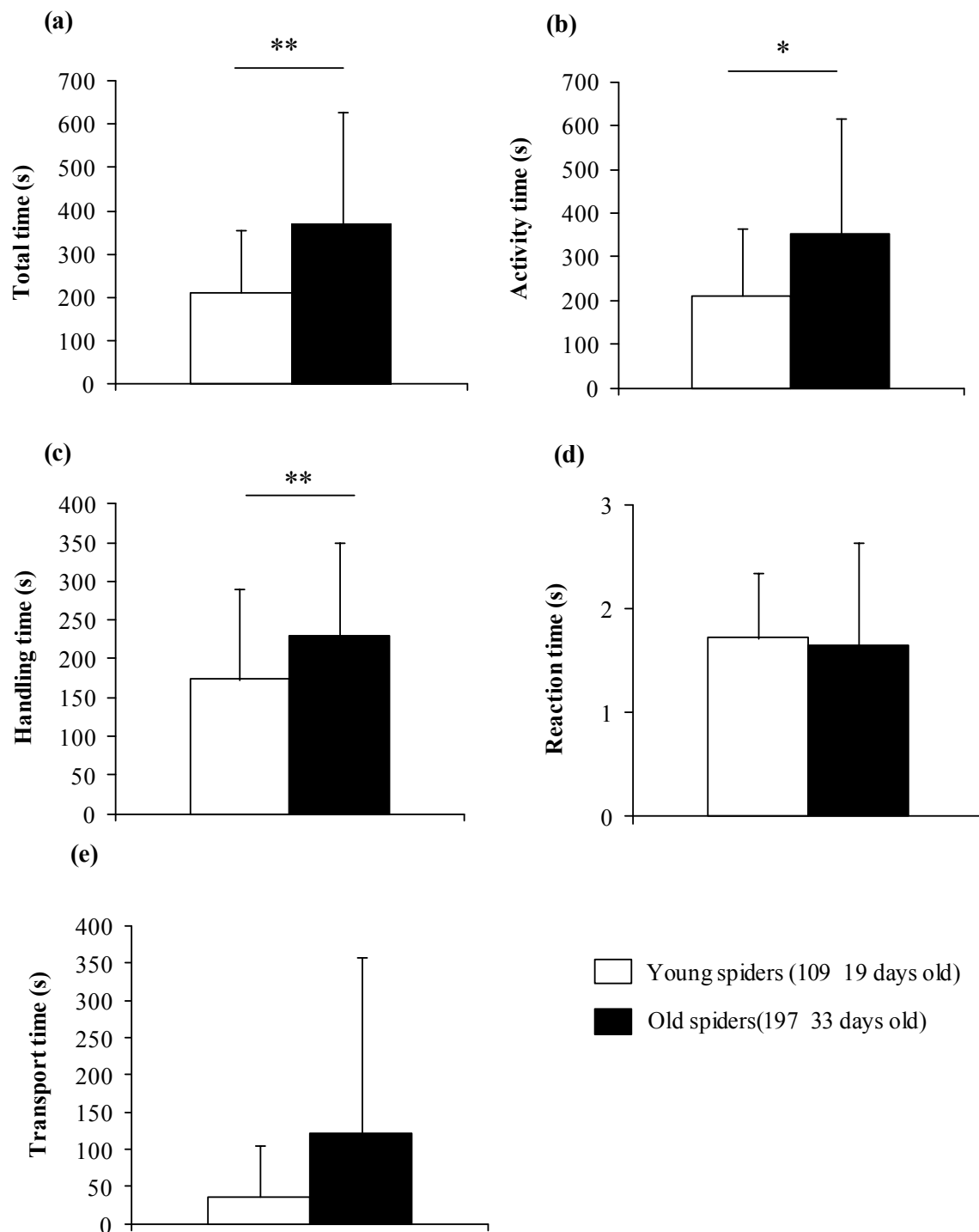


Figure 2. Comparisons of prey capture parameters between young (age: 109±19 days old) and old spiders (age: 197±33 days old). *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

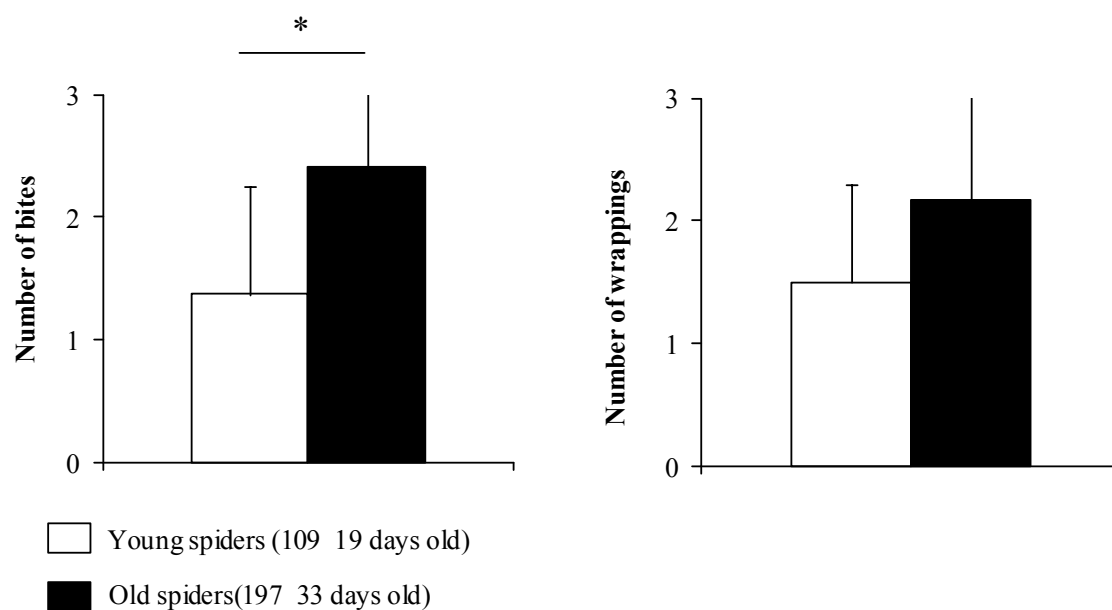


Figure 3. Comparisons of the number of bites and of the number of wrappings between young (age : 109 ± 19 days old) and old spiders (age : 197 ± 33 days old). *: $P < 0.05$



Article 5

Relations entre l'anatomie du cerveau et les caractéristiques de la toile en fonction de l'âge chez une araignée orbitèle (En préparation)

Mylène Anotaux^{1,*}, Camille Toscani², Raymond Leborgne¹, Alain Pasquet¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

²: Université Paris-Est, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, UMR 7179 CNRS MNHN, Maisons-Alfort, F-94704, France.

* Corresponding author: Mylène Anotaux

E-mail: mylene.anotaux@scbiol.uhp-nancy.fr



Résumé de l'article 5



Introduction

Le cerveau constitue l'organe de contrôle du comportement animal. Par conséquent, les déclin comportementaux qui apparaissent avec le vieillissement nous informent sur les dysfonctionnements neurologiques qui apparaissent avec l'âge. Les toiles orbitales représentent des rapports détaillés et exceptionnellement précis des décisions comportementales de l'araignée. Dans cet article, nous recherchons si des relations existent entre les modifications dans la toile et les caractéristiques morphologiques du cerveau des araignées avec l'âge.

Matériel et méthodes

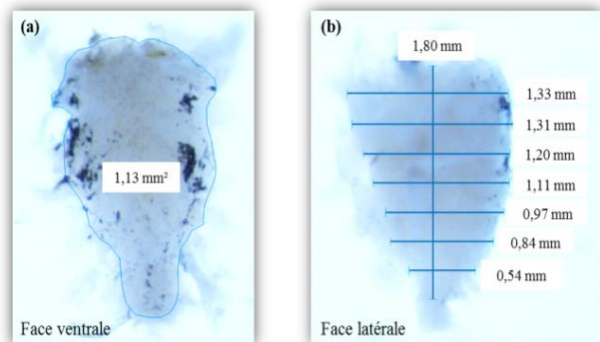
Les araignées (N=33) d'âges différents sont placées dans des cadres pour construire une toile. Des mesures sont effectuées sur les toiles puis les araignées sont tuées par congélation et placées dans une solution aqueuse pendant 4 jours. Leur cerveau est ensuite extrait et des mesures ventrale et latérale sont effectuées. Les paramètres pris en compte sont:

Paramètres morphologiques du cerveau:

- **Poids du cerveau**
- **Proportion masse du cerveau/masse du corps**
- **Volume du cerveau** = Surface ventrale (a) x Moyenne des hauteurs latérale (b) (ci-contre)

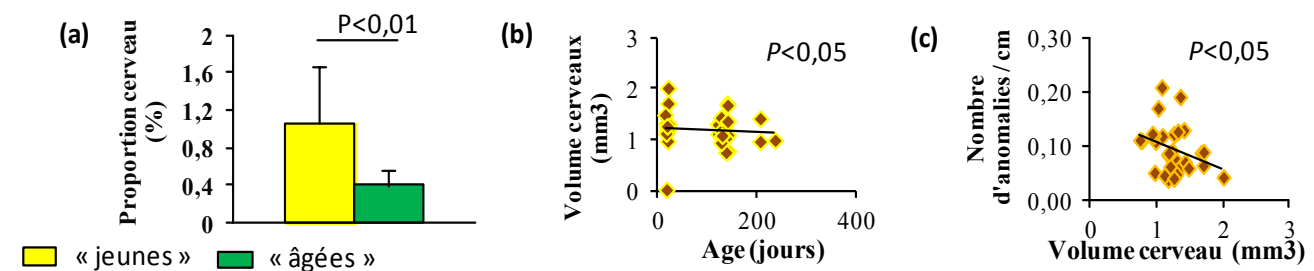
Paramètres de la toile

- **Longueur de fil** de la spirale de capture (CTL)
- **Aire de capture**
- **Nombre d'anomalies par cm** de spirale de capture
- **Nombre d'anomalies de rayons**



Résultats

La proportion de la masse des cerveaux par rapport à la masse totale du corps (a) est presque 3 fois plus importante chez les araignées jeunes (N=12) que chez les araignées âgées (N=20).



La masse et le volume des cerveaux diminuent avec l'âge des araignées (b).

L'âge affecte la structure de la toile et le nombre d'anomalies par cm affectant la spirale de capture augmente quand le volume du cerveau diminue (c).

Conclusion

L'âge affecte les caractéristiques morphologiques du cerveau et la structure de la toile varie avec les paramètres du cerveau. Ceci suggère que des changements neurologiques apparaissant avec l'âge affectent les capacités comportementales des araignées adultes lors de la construction de la toile.

⁽¹⁾ Hesselberg, T. (2012). Web-building flexibility differs in two spatially constrained orb spiders. *Journal of Insect Behaviour*, 1-21.



Résumé

Les araignées orbitèles, par la construction de leur toile géométrique, présentent la possibilité d'établir des liens entre la structure réalisée et les comportements qui ont conduit à la mise en place d'une telle structure. De plus, récemment, nous avons montré que le vieillissement des araignées affecte les caractéristiques de la géométrie de la toile : le modèle araignée à toile géométrique présente ainsi une opportunité d'étudier les rapports entre âge et comportements.

Dans cette étude, nous nous sommes focalisés sur les effets de l'âge non pas sur le comportement, mais sur ce qui pourrait être à l'origine de variations comportementales, à savoir les caractéristiques morphologiques du cerveau chez l'araignée adulte *Zygiella x-notata*. Ces données sont corrélées avec les caractéristiques des toiles construites par les araignées à des âges différents.

Nos résultats montrent que l'âge affecte les caractéristiques morphologiques du cerveau et la structure de la toile. La masse des cerveaux des jeunes araignées (âge moyen : 19 ± 2 jours ; masse moyenne des cerveaux : $0,31 \pm 0,20$ mg) représente 1,06% de la masse totale de leur corps, tandis que ce pourcentage est réduit à 0,41% pour les araignées âgées (âge moyen : 146 ± 32 jours ; masse moyenne des cerveaux : $0,15 \pm 0,03$ mg). La longueur de fil investie dans la spirale de capture ne diffère pas avec l'âge entre les deux lots d'araignées, mais le nombre d'anomalies par cm est plus important pour les araignées âgées. Par ailleurs, ajusté à la masse du corps des araignées, le nombre d'anomalies par cm de spirale de capture augmente quand le volume du cerveau diminue.

Bien que nos résultats soient préliminaires, ils montrent que chez les araignées, l'âge affecte le cerveau et les paramètres de structure de la toile, et semblent supporter l'hypothèse de limitation de la taille (ou miniaturisation), qui prédit que les animaux ayant des plus petits cerveaux soient limités dans leur « capacité » comportementale d'exprimer des comportements complexes.

Mots clés: âge, cerveau, morphologie, toile orbitèle, anomalies, *Zygiella x-notata*.



1. Introduction

Chez les humains, le vieillissement peut être « normal » et caractérisé par la réduction des capacités fonctionnelles de l'organisme, sans être attribué à une maladie, ou il peut être pathologique et s'accompagner de désordres neurologiques et de maladies neurodégénératives comme la schizophrénie, la maladie d'Huntington, de Parkinson ou d'Alzheimer, qui perturbent profondément les comportements des individus (Best et Alderton 2008). Par conséquent, les déclin comportementaux qui apparaissent avec le vieillissement peuvent représenter des indices des dysfonctionnements neurologiques et physiologiques qui apparaissent avec l'âge. L'utilisation de modèles animaux a mené à de nombreuses découvertes dans la compréhension des mécanismes du vieillissement, mais les études portant sur les relations entre l'âge et les comportements chez les animaux demeurent relativement restreintes (Bateson 2002, Carey et al. 2006). Or, elles pourraient nous permettre de prévenir et réduire certaines conséquences des déclin liés au vieillissement dans la fonction -comme la probabilité de développer des maladies neurodégénératives- et dans la condition physique.

Chez les vertébrés comme les rongeurs et les primates, les études ont montré que le vieillissement affecte les comportements des animaux, lors de tâches spatiales notamment, et que ces déclin comportementaux étaient corrélés à des modifications du système nerveux comme la perte de neurones ou la réduction de connexions synaptiques (Gallagher 1997, Lacreuse et Herndon 2009). Chez les invertébrés comme les mollusques, le vieillissement peut altérer les propriétés endogènes des neurones (Yeoman et Faragher 2001), leur morphologie, et l'efficacité des connexions neuronales, pouvant même aller jusqu'à engendrer des pertes de neurones (Yeoman et Faragher 2001). Par ailleurs, l'âge peut perturber les taux de substances neuroactives circulant, comme les neurotransmetteurs, les neuromodulateurs et les neurohormones (Yeoman et Faragher 2001), dont l'équilibre module de nombreux comportements. Ces comportements incluent le comportement de cour chez la mouche drosophile (Certel et al. 2007), la posture et la locomotion chez la langouste (Tierney et al. 2004), la division du travail chez les abeilles (Schulz et Robinson 2001), ou encore le comportement anti-prédateur des araignées (Jones et al. 2011). Les substances neuroactives peuvent être aussi impliquées dans la régulation de la longévité des animaux (Suo et al. 2006),

Depuis quelques années, les araignées à toile orbitale commencent à susciter un intérêt croissant dans le domaine de la neuroéthologie, discipline reliant les comportements aux phénomènes neurobiologiques, car, par la construction de leurs toiles, elles présentent la



possibilité d'établir des liens entre la structure réalisée et les comportements qui ont conduit à une telle structure et qui peuvent se traduire par la mise en place d'algorithmes simples permettant de robotiser le comportement de construction de l'araignée (Krink et Vollrath 1999 ou 1998). En 2004, Hesselberg et Vollrath ont décrit les effets de l'ingestion de drogues (caféine, scopolamine, amphétamine) sur la construction de la toile chez une araignée orbitèle *Araneus diadematus* et ont montré que la prise des drogues altérait la géométrie de la toile. Ils suggèrent que ces neurotoxines perturbent le comportement de construction en affectant différentes fonctions dans le système nerveux des araignées. Récemment, nous avons montré que le vieillissement affectait la géométrie de la toile de la même manière que les neurotoxines testées dans l'étude d'Hesselberg et Vollrath en 2004 (Anotaux et al. 2012). En effet, le vieillissement s'accompagne d'une augmentation des irrégularités structurelles dans la toile, comme la proportion de rayons irréguliers qui augmentent aussi dans les toiles d'araignées droguées. Nous pouvons donc également suggérer que les changements induits par l'âge dans la construction de la toile pourraient résulter de modifications neurologiques. Dans la présente étude, nous testons l'effet de l'âge sur la taille et la masse du cerveau de l'araignée orbitèle *Zygiella x-notata* et émettons l'hypothèse que le vieillissement perturbe certaines parties du programme de construction de la toile en affectant les caractéristiques morphologiques du système nerveux des araignées

1.2 Le cerveau des araignées : morphologie, anatomie, fonctions

Le système nerveux des araignées se situe dans la région antérieure de leur corps, appelé prosoma (ou céphalothorax). Contrairement aux autres arthropodes dont le système nerveux se présente sous la forme d'une chaîne ventrale de ganglions interconnectés, le système nerveux des araignées est extrêmement condensé. Il se présente sous la forme de deux ganglions compacts séparés horizontalement par l'œsophage et reliés entre eux par des connexions œsophagiennes: le ganglion supra-œsophagien (dorsal, au-dessus de l'œsophage) et le ganglion sub-œsophagien (ventral, en-dessous de l'œsophage) (Barth 2002, Foelix 2011, Hesselberg 2011) (Figure 1). Le ganglion supra-œsophagien reçoit l'information directement des yeux et est particulièrement important pour le traitement de l'information visuelle et de l'apprentissage, tandis que le ganglion sub-œsophagien reçoit l'information provenant des pattes et contrôle principalement les fonctions motrices et corporelles de l'araignée (Barth 2002).



La taille du système nerveux des araignées varie selon les espèces et selon le stade de développement de l'araignée. Les études morphologiques et neuro-anatomiques ont montré que les espèces d'araignées les plus petites en taille, comme les autres espèces de petits animaux, ont des systèmes nerveux centraux disproportionnellement grands par rapport à la taille du corps (Quesada et al. 2011). Ces observations sont les mêmes pour une même espèce d'araignée dont la taille augmente au cours de son développement. Ainsi, au stade nymphal, le système nerveux d'une très petite araignée de l'espèce *Mysmena*, dont la masse du corps est inférieur à 0,005 mg, occupe 63% du volume du céphalothorax, tandis qu'il occupe 48% du volume du céphalothorax chez une femelle adulte pesant 0,1mg (Quesada et al. 2011).

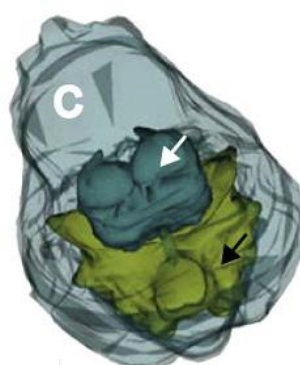


Figure 1. Reconstruction en trois dimensions (vue dorsale) montrant le céphalothorax (C) et les ganglions supra-oesophagien (flèche blanche) et sub-oesophagien (flèche noire) chez une araignée orbitèle adulte femelle *Anapisona simoni*. Partie antérieure vers le haut de la page. (Source : Quesada et al. 2011)

2. Matériel et méthodes

2.1 Test de construction et mesures des toiles

Parmi les araignées que nous avons testées, les plus jeunes sont devenues adultes au laboratoire entre mai et juin 2012 et sont âgées, lors du test, de 10 à 30 jours de vie adulte (N=13, âge moyen : 19 ± 2 jours). Les autres araignées (N=20) ont été collectées déjà adultes dans la nature en septembre 2011 puis ramenées au laboratoire, où elles ont été placées dans nos conditions d'élevage (voir la section 2 "conditions d'élevage") durant 122 à 237 jours. Etant donné que leur âge chronologique n'est pas connu, ces araignées ont donc, au jour du test de construction, de "plus de" 122 jours à "plus de" 237 jours. Avant le test, les araignées sont toutes pesées. Pour réaliser le test de construction, nous avons placé les araignées dans nos conditions standard d'expérimentation (voir la section 3 "conditions d'expérience").

De la même façon qu'après nos tests précédents, les araignées sont placées dans des cadres pour construire une toile. Après la construction, les vitres du cadre sont retirées et l'on



effectue des photographies et des mesures de la toile permettant de calculer l'investissement en soie de l'araignée dans la toile et l'aire de capture de la toile. On compte le nombre d'anomalies présentes dans la spirale de capture, qui est rapporté à la longueur totale du fil de la spirale de capture (CTL) pour nous permettre d'estimer le nombre d'anomalies par cm. On compte également le nombre d'anomalies de rayons.

2.2 Dissection des cerveaux

Une fois les mesures des toiles effectuées, les araignées sont placées dans un congélateur pendant 10 min à -80°C puis dans une solution d'alcool à 70°C (v/v) durant 4 jours afin de faciliter la dissection des cerveaux. On procède ensuite à la dissection sous une loupe binoculaire (Optika, grossissement x3) reliée à un dispositif d'enregistrement vidéo nous permettant d'obtenir des photos sous différents angles.

Pour prélever le cerveau, l'abdomen est d'abord sectionné afin de faciliter l'accès au céphalothorax, puis on immobilise le céphalothorax des araignées à l'aide d'agrafes au niveau des pattes dans une boîte de pétri (Figure 2a). La dissection est effectuée dans une solution d'alcool à 70% (1/3) et d'eau (2/3) afin que les tissus ne sèchent pas et qu'ils soient conservés jusqu'à l'extraction du cerveau. La partie dorsale cuticulaire du céphalothorax est enlevée et laisse apparaître le système nerveux central (SNC) de l'araignée entouré de parties lipidiques et d'apodèmes (Figure 2b). Ces dernières sont retirées à l'aide de pinces fines, de même que les glandes à venins situées sur le dessus du système nerveux. Les huit nerfs périphériques reliant les huit pattes au système nerveux sont sectionnés à la base des pattes puis le SNC est totalement extrait de la cuticule (Figure 2c-d-e, vue latérale dorsale et ventrale du cerveau) ; le cerveau est alors libre dans la solution. Des mesures sont ensuite réalisées sur chaque cerveau en vue ventrale et en vue latérale (le cerveau est placé à 90° par rapport à la position ventrale) à l'aide du logiciel de mesure Archimède (Figure 3) pour calculer le volume de chaque cerveau (V_{cerveau}) d'après la formule :

$$V_{\text{cerveau}} = S_{\text{cerveau}} \times H_{\text{cerveau}}$$

S_{cerveau} : Surface du cerveau

H_{cerveau} : Hauteur moyenne du cerveau

La surface du cerveau est directement mesurée par le logiciel en dessinant le contour du cerveau sur l'écran relié à la loupe binoculaire, en vue ventrale (figure 3a).



La hauteur moyenne du cerveau est obtenue en divisant la longueur latérale du cerveau en 2, puis en 4, puis en 8 parties égales et en calculant la moyenne des 7 hauteurs délimitant ces parties (figure 3b).

Les cerveaux sont ensuite séchés à l'air libre pendant 5 minutes puis pesés (balance Sartorius BASIC BA110S, précision 0.1 mg) avant d'être congelés pour d'éventuelles analyses futures.

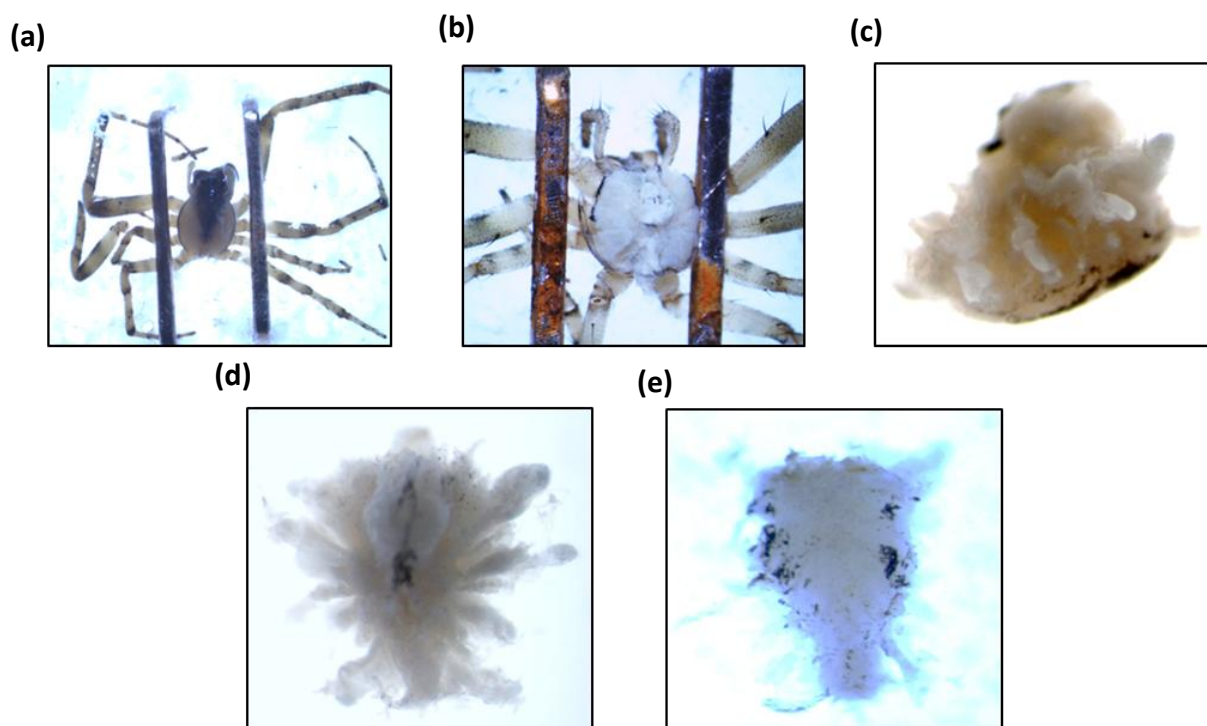


Figure 2. Photographies des différentes étapes de dissection d'un cerveau d'une araignée adulte femelle de l'espèce *Zygiella x-notata* (ici âgée de 21 jours après la mue adulte) et du cerveau en face latérale, dorsale et ventrale (photos : M. Anotaux). (a) Immobilisation du céphalothorax de l'araignée par deux agrafes ; (b) Système Nerveux Central (SNC) entouré de masses graisseuses et d'apodèmes après enlèvement de la cuticule dorsale ; (c) SNC extrait en face latéral droite ; (d) SNC en face dorsal ; (e) SNC en face ventrale.

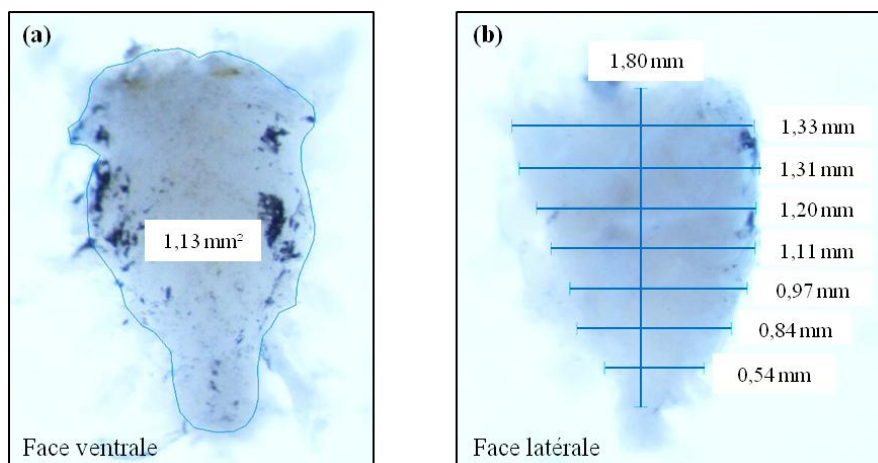


Figure 3. Photographies et mesures de la face ventrale et latérale d'un cerveau d'une araignée adulte femelle *Zygiella x-notata* (ici âgée de 21 jours après la mue adulte). (a) Mesure de la surface du cerveau ; (b) Mesures des 7 hauteurs différentes du cerveau en vue latérale permettant de calculer la hauteur moyenne du cerveau.

2.3 Analyses des données

Pour étudier les relations entre la morphologie du cerveau et les caractéristiques de la toile en fonction de l'âge des araignées, deux analyses interindividuelles ont été réalisées.

Dans une première analyse, nous avons comparé les caractéristiques morphologiques des cerveaux (masse, volume) et les paramètres de structure de la toile (CTL, aire de capture, nombre d'anomalies par cm et nombre d'anomalies de rayons) entre deux lots d'araignées d'âges différents : le lot d'araignées « jeunes » (moyenne d'âge : 19 ± 2 jours) et le lot d'araignées « âgées » (moyenne d'âge : 146 ± 32 jours). Les comparaisons des paramètres entre les deux lots sont réalisées à l'aide de tests indépendants de Student (test t) et de tests non paramétriques de Mann-Withney.

Dans une deuxième analyse, nous avons cherché à établir des relations entre les caractéristiques du cerveau et les performances et caractéristiques des toiles en fonction de l'âge. Deux analyses avec des modèles linéaires généralisés ont été utilisées : la première dans laquelle l'âge chronologique était la variable indépendante et chaque paramètre du cerveau (masse, volume) était la variable dépendante, et la deuxième dans laquelle les paramètres morphologiques des cerveaux (masse, volume) étaient les variables indépendantes et chaque paramètre de la toile (CTL, aire de capture, nombre d'anomalies par cm, nombre d'anomalies



de rayons) était la variable dépendante. Ces modèles étaient ajustés à la masse totale du corps des araignées, collectée à chaque test, comme un facteur confondant potentiel.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R 2.15.0. Les tests paramétriques ont été réalisés après vérification de la normalité. Les moyennes sont données avec l'écart-type (moyenne±écart-type). Les résultats sont considérés significatifs à $P < 0.05$.

3. Résultats

3.1 Comparaisons des caractéristiques morphologiques entre les cerveaux « jeunes araignées » et « vieilles araignées »

La masse du corps diffère entre les deux groupes d'araignées « jeunes » (N=12) et « vieilles » (N=20) (masse moyenne du corps des araignées « jeunes »=29,0±11,4mg ; masse moyenne du corps des araignées « vieilles »=39,4±14,0mg, test de Mann-Whitney : W=77 ; $P=0,05$). La masse des cerveaux des jeunes araignées (N=12) diffère aussi de celle des araignées âgées (N=20) (masse moyenne des cerveaux « jeunes »=0,31±0,20 mg ; masse moyenne des cerveaux « vieux »= 0,15±0,03mg, t-test : $t=2,76$; $df=30$; $P=0,02$). La masse moyenne des cerveaux des jeunes araignées (N=12) représente une moyenne de 1,06±0,62% de la masse totale du corps des araignées. Ce pourcentage est approximativement 3 fois plus important que celui des araignées plus âgées qui ne représente qu'une moyenne de 0,41±0,16% de leurs corps (t-test: $t=3.53$; $df=30$; $P<0,01$; table 1). En revanche, le volume moyen des cerveaux « jeunes » (N=12) ne diffère pas de celui des cerveaux « vieux » (N=20) (Volume moyen cerveaux « jeunes » : 1,31±0,28 mm³ ; Volume moyen cerveaux « vieux » : 1,18±1,20 mm³ ; t-test: $t=1,35$; $df=30$; $P=0,19$; table 1).

Ajusté à la masse du corps des araignées, la masse et le volume du cerveau diminuent avec l'âge des araignées (Masse du cerveau: SE=3,00e-3 ; n=32 ; $P<0,01$, Figure 5b; Volume du cerveau: SE=6,00e-4 ; n=32 ; $P<0,05$; Figure 5c).

3.2 Comparaisons des paramètres des toiles entre les araignées « jeunes » et « vieilles »

La longueur de fil de la spirale de capture (CTL) et l'aire de capture de la toile ne diffèrent pas entre les deux lots d'araignées (CTL : test de Mann-Whitney ; W=130 ; $P=0,82$; table 1 ; Aire de capture : t-test : $t=0,33$; $df=30$; $P=0,74$; table 1). En revanche, le nombre d'anomalies par cm affectant la spirale de capture est plus important pour les toiles construites



par les araignées âgées (N=19) que par les jeunes araignées (N=13) ($t=-3,06$; $df=30$; $P<0,01$; table 1). Le nombre d'anomalies de rayons tend à être plus important chez les jeunes araignées (N=13) que chez les araignées âgées (N=19) mais la différence n'est pas significative (Nombre moyen d'anomalies de rayons « jeunes » $=8\pm3$, Nombre moyen d'anomalies de rayons « vieux » $=6\pm4$, test de Mann-Whitney : $W=181$, $P=0,06$).

3.3 Relations entre les caractéristiques du cerveau et celles de la structure de la toile

Quand les paramètres de la toile sont ajustés à la masse du corps des araignées, le nombre d'anomalies par cm dans la spirale de capture augmente quand le volume du cerveau diminue ($SE=0,03$; $n=31$; $P=0,04$; Figure 4). En revanche, le CTL, l'aire de capture et le nombre d'anomalies de rayons ne diffèrent pas avec le volume du cerveau (CTL: $SE=202,20$; $n=31$, $P=0,50$, table 2A; Aire de capture: $SE=56,82$; $n=31$; $P=0,19$; table 2B; Nombre d'anomalies de rayons: $SE=2,57$; $n=32$; $P=0,76$; table 2D). Par ailleurs, ajustés à la masse du corps des araignées, aucun des paramètres de la toile ne diffèrent avec la masse du cerveau des araignées (CTL: $SE=329,31$; $n=31$; $P=0,55$; table 2A; Aire de capture: $SE=92,55$; $n=31$; $P=0,38$; table 2B ; Nombre d'anomalies par cm: $SE=0,05$; $n=32$; $P=0,13$; table 2C; Nombre d'anomalies de rayons: $SE=4,27$; $n=32$; $P=0,89$; table 2D).

3.4 Relations entre la masse des araignées et les caractéristiques de la toile

Nos résultats montrent aussi que le nombre d'anomalies par cm tend à augmenter avec la masse du corps des araignées ($SE=5,87e-4$; $n=32$; $P=0,08$; table 2C), et que le nombre d'anomalies affectant les rayons de la toile diminuent quand la masse du corps des araignées augmentent ($SE=0,05$; $n=33$; $P<0,01$; table 2D). Cependant, le CTL et l'aire de capture de la toile ne varient pas avec la masse du corps des araignées (CTL: $SE=3,89$; $n=32$; $P=0,55$; table 2A; Aire de capture: $SE=1,09$, $n=32$; $P=0,21$; table 2B).

4. Discussion

Dans cette étude, nous avons montré qu'il existait des modifications de la toile en relation avec l'âge du cerveau chez des araignées orbitèles adultes *Zygiella x-notata*. Nos résultats montrent que l'âge affecte la structure de la toile et parallèlement les caractéristiques



morphologiques du cerveau, et que la structure de la toile varie avec les paramètres du cerveau.

Il est acquis que les anomalies de structure sont une caractéristique générale des toiles géométriques chez les araignées (Pasquet et al. submitted) et qu'elles sont plus nombreuses avec l'âge (Anotaux et al. 2012). Nous retrouvons ce résultat dans notre étude ; le nombre d'anomalies est plus important dans les toiles construites par les araignées « âgées » que celles construites par les araignées « jeunes ». Dans nos travaux précédents (Anotaux et al. 2012), nous avons suggéré que cette augmentation du nombre d'anomalies avec le vieillissement pourrait être causée par des changements induits par l'âge au niveau du système nerveux des araignées. Nos présents résultats semblent confirmer cette hypothèse car ils montrent que le volume et la masse du cerveau diminuent avec l'âge des araignées et que le nombre d'anomalies affectant la spirale gluante de capture augmente quand le volume du cerveau diminue. Le vieillissement étant connu pour altérer les propriétés endogènes des neurones chez les invertébrés (Yeoman et Faragher 2001) et pour entraîner une perte de neurones (Yeoman et Faragher 2001), une explication possible pour expliquer nos résultats serait que les araignées âgées subissent une diminution de la taille et de la masse de leur cerveau car les volumes des tissus nerveux diminuent avec l'âge et/ou qu'elles perdraient des neurones.

Ces résultats pourraient supporter l'hypothèse de limitation de la taille qui prédit que les plus petits animaux sont limités dans leur « capacité comportementale » et l'expression de comportements complexes, car ils possèdent moins de neurones (Eberhard 2007, Hesselberg 2010, Eberhard 2011). En général, les travaux contredisent ce que prédit l'hypothèse (Eberhard 2007, Hesselberg 2010, Eberhard 2011), bien que certains résultats semblent la confirmer (Eberhard 2011). Récemment, Hesselberg (2010) a étudié les changements qui apparaissent dans la structure de la toile au cours du développement de l'araignée (lesquels ?) chez deux espèces orbitèles de tailles et de masses différentes, *Eustala illicita* (taille moyenne, masse de 34 mg en moyenne pour les adultes) et *Nephila clavipes* (grande taille, masse de 582mg en moyenne pour les adultes), entre des très jeunes araignées peu de temps après l'éclosion (nymphe de deuxième stade dans la terminologie de Foelix 2011, première toile construite à ce stade), des jeunes araignées de taille moyenne (quatrième ou cinquième stade) et des adultes, et a constaté qu'aucune des deux espèces ne modifiait les caractéristiques structurales de la toile (aire du moyeu et de la zone libre située entre le moyeu et la spirale de capture, nombre et distances entre les rayons et les spirales, variation de la relation entre la longueur des rayons et l'angle entre les rayons) avec l'âge et le niveau de développement de



l'araignée, de même que la taille, contrairement aux prédictions de l'hypothèse de limitation de la taille. Dans notre étude, l'augmentation du nombre d'anomalies dans la structure de toiles construites par des araignées ayant des plus petits et plus légers cerveaux, pourrait révéler des manifestations possibles de « capacités comportementales » réduites chez ces araignées avec l'âge, et confirmer ce que prédit l'hypothèse de limitation de la taille. Cependant, nous n'avons mis en évidence aucune relation entre les paramètres du cerveau (volume, masse) et le nombre d'anomalies de rayons, sachant que ce paramètre ne diffère pas également avec l'âge des araignées. Etant connu que la mise en place des rayons et de la spirale gluante de capture correspond à des phases différentes de construction de la toile (Foelix 2011), et que la sévérité des changements induits par l'âge dans les neurones est extrêmement variable (Yeoman et Faragher 2001), une explication pourrait être que les différentes structures nerveuses affectent les différentes phases de construction et les comportements, et seraient différemment affectées par l'âge.

Cependant, les structures nerveuses et les mécanismes impliqués dans les comportements de construction de la toile ne sont pas connus et, comme l'évoque Eberhard (2011) : « L'utilisation du volume du cerveau entier plutôt que les portions nerveuses impliquées directement dans la construction de la toile, ne suffit pas pour relier les capacités comportementales et la taille du cerveau ».

Nos données sont des résultats préliminaires car ils concernent seulement le volume total et la masse du cerveau, plutôt que les structures spécifiques associées aux différentes capacités comportementales, et sont donc difficiles à interpréter. Des études supplémentaires pourraient permettre de détailler les changements neurologiques qui apparaissent avec l'âge de l'araignée et affectent les comportements de construction de la toile. Par exemple, le cerveau d'une araignée étant constitué de deux ganglions œsophagiens distincts, chacun impliqué dans la gestion d'informations différentes et de comportements (Barth 2002, Herberstein 2011), il serait intéressant d'analyser chacune de ces deux structures nerveuses indépendamment avec l'âge après la construction de la toile.



Références

- Anotaux, M., Marchal, J., Châline, N., Desquilbet, L., Leborgne, J., Gilbert, C. & Pasquet, A. (2012). Ageing alters spider orb-web construction. *Animal Behaviour*, 84:1113-1121.
- Barth, F.G. (2002). A spider's world: Senses and Behavior. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Bateson, P. (2002). Ethology. In: Encyclopedia of Evolution (Ed. by M. Pagel), pp. 310e317. Oxford: Oxford University Press.
- Best, J.D. & Alderton, W.K. (2008). Zebrafish: An in vivo model for the study of neurological diseases. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 4(3): 567-576.
- Carey, J.R., Papadopoulos, N., Kouloussis, N., Katsoyannos, B., Müller, H.G., Wang, J.L. & Tseng, Y.K. (2006). Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly. *Ceratitis capitata Experimental Gerontology*, 41:93-97.
- Certel, S.J., Savella, M.G., Schlegel, D.C.F. & Kravitz, E.A. (2007). Modulation of *Drosophila* male behavioral choice. *PNAS*, 104:4706-4711.
- Eberhard, W.G. (2007). Miniaturized orb-weaving spiders: behavioural precision in not limited by small size. *Proceedings of the Royal Society B*, 274: 2203-2209.
- Eberhard, W.G. (2011). Are smaller animals behaviourally limited? Lack of clear constraints in miniature spiders. *Animal Behaviour*, 81: 813-823.
- Foelix, R.F. 2011. Biology of spiders, Third Edition. *Oxford University press. Oxford; New York*.
- Gallagher, M. (1997). The use of animals models to study the effects of ageing on cognition. *Annual Review of Psychology*, 48: 339-348.
- Herberstein, M.E. (2011). Spider Behaviour. Flexibility and Versatility. *Cambridge University Press*, 391p.
- Hesselberg, T. & Vollrath, F. (2004). The effects of neurotoxins on web-geometry and web building behavior in *Araneus diadematus* Cl. *Physiology & Behaviour*, 82: 519-529.
- Hesselberg, T. (2010). Ontogenetic changes in web design in two orb-web spiders. *Ethology*, 116:535-545.
- Jones et al. 2011. Octopamine and serotonin have opposite effects on antipredator behavior in the orb-weaving spider *Larinioides cornutus*.
- Quesada, R., Triana, E., Vargas, G., Douglass, J.K., Seid, M.A., Niven, J.E., Eberhard, W.G. & Xcislo, W.T. (2011). The allometry of CNS size and consequences of miniaturization



- in orb-weaving and cleptoparasitic spiders. *Arthropod Structure & Development*, 40:521-529.
- Lacreuse, A. & Herndon, J.G. (2009). Nonhuman primate models of cognitive aging. *Aging Medicine*, pp.1-30.
- Schulz, D.J. & Robinson, G.E. (2001). Octopamine influences division of labor in honey bee colonies. *Journal of Comparative Physiology A*, 187:53-61.
- Suo, S., Culotti, J.G. & Van Tol, H.H.F. (2009). Dopamine suppresses octopamine signaling in *C. elegans*: possible involvement in dopamine in the regulation of lifespan. *Aging*, 1(10): 870-874.
- Tierney, A.J., Greenlaw, M.A., Dam's-O'Connor, K. Aig, S.D. & Perna, A.M. (2004). Behavioral effects of serotonin and serotonin agonists in two species of crayfish, *Procambrus clarkia* and *Orconectes rusticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A*, 139:495-502.
- Yeoman, M.S. & Faragher, R.G.A. (2001). Ageing and the nervous system: insights from studies on invertebrates. *Biogerontology*, 2:85-97.
- Zschokke, S. & Vollrath, F. (1995a). Unfreezing the behaviour of two orb spiders. *Physiology and Behavior*, 58(5):1167-1173.



Table 1. Comparaisons de l'âge entre les araignées «jeunes» et «vieilles», des caractéristiques morphologiques entre les cerveaux «jeunes» et «vieux» et des paramètres des toiles entre les araignées «jeunes» et «vieilles».

	Catégorie araignées	Effectif	Moyenne	Médiane	EC	ES
Age (jours)	Jeune	13	19,10	20,00	1,98	0,55
	Vieux	20	145,90	137,50	31,95	7,14
Poids (mg)	Jeune	13	29,00	26,00	11,4	3,20
	Vieux	20	39,40	40,20	14,0	3,10
Poids cerveau (mg)	Jeune	13	0,31	0,27	0,20	0,06
	Vieux	20	0,15	0,15	0,03	0,01
Proportion poids cerveaux (%)	Jeune	12	1,06	0,92	0,62	0,18
	Vieux	20	0,41	0,39	0,16	0,04
Surface cerveau ventrale (mm ²)	Jeune	12	1,36	1,36	0,21	0,06
	Vieux	20	1,26	1,27	0,19	0,04
Hauteur (mm)	Jeune	12	0,96	0,96	0,08	0,02
	Vieux	20	0,93	0,93	0,02	0,02
Volume (mm ³)	Jeune	12	1,31	1,23	0,28	0,08
	Vieux	20	1,18	1,20	0,26	0,06
CTL (cm)	Jeune	13	570,56	541,03	197,92	54,89
	Vieux	19	587,06	527,55	284,44	65,26
Anomalies capture	Jeune	13	37,85	34,00	15,95	4,42
	Vieux	20	57,15	52,00	23,74	5,31
Aire de capture (cm ²)	Jeune	13	167,99	163,30	75,32	20,89
	Vieux	19	177,23	167,69	79,59	18,26
Anomalies Capture/ CTL	Jeune	13	0,07	0,06	0,03	0,01
	Vieux	19	0,11	0,11	0,04	0,01



Table 2. Associations entre les paramètres de la toile et le volume du cerveau, et entre les paramètres de la toile et le poids du cerveau en utilisant un modèle linéaire généralisé (GLM) ajusté au poids du corps des araignées.

Variables	Std.Err	t	P level
A CTL (cm) Adjusted $r^2 = -0,04$; $p = 0,63$			
Intercept	218,63	1,71	0,10
Volume du cerveau	202,20	0,68	0,50
Poids du cerveau	329,31	(-)0,61	0,55
Poids du corps	3,89	0,60	0,55
B Aire de capture (cm²) Adjusted $r^2 = 0,11$; $p = 0,10$			
Intercept	61,44	0,80	0,433
Volume du cerveau	56,82	1,34	0,19
Poids du cerveau	92,55	(-)0,88	0,38
Poids du corps	1,09	1,29	0,21
C Nombre d'anomalies / cm Adjusted $r^2 = 0,19$; $p = 0,03$			
Intercept	0,03	4,64	7,92e-05
Volume du cerveau	0,03	(-)2,12	0,04
Poids du cerveau	0,05	(-)1,58	0,13
Poids du corps	5,87e-4	1,84	0,08
D Nombre d'anomalies de rayons Adjusted $r^2 = 0,23$; $p = 0,02$			
Intercept	2,82	4,69	6,39e-05
Volume du cerveau	2,57	(-)0,30	0,76
Poids du cerveau	4,27	(-)0,14	0,89
Poids du corps	0,05	(-)2,96	6,25e-3

CTL : longueur du fil de capture ; *: Le résultat est considéré significatif à $P < 0.05$.

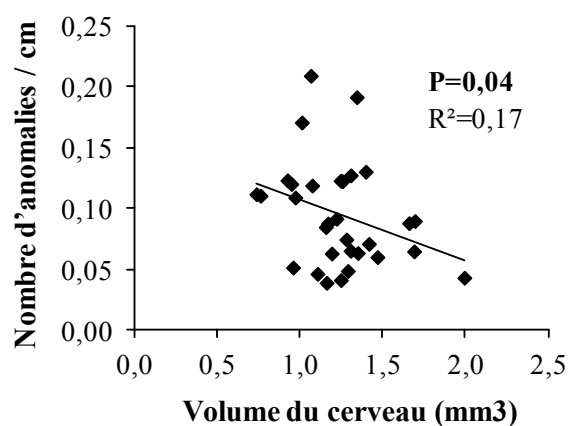


Figure 4. Relation entre le nombre d'anomalies par cm affectant la spirale de capture et le volume du cerveau des araignées.

DISCUSSION
ET PERSPECTIVES





Une toile orbitèle est une structure géométrique construite par une araignée en réalisant une succession complexe de comportements répétés dans le temps (Vollrath 1992). Elle représente par conséquent une partie intégrante du comportement de l'araignée. L'architecture de la toile est principalement constituée de rayons et d'une spirale de capture, également appelée spirale collante ou spirale définitive, qui est elle-même formée d'une succession de segments de fils soie, appelés des unités de spirale, reliées les uns aux autres par les rayons successifs. Malgré une régularité géométrique apparente, conférée notamment par la succession des rayons et des unités de spirale reliées entre elles, et par le parallélisme des tours de spirale dans chaque secteur (un secteur est défini par deux rayons successifs), la toile orbitèle peut, entre deux individus d'une même espèce et pour un même individu au cours du temps voire d'une construction à l'autre, présenter des variations dans sa taille (aire de capture), sa forme (symétrique/asymétrique), et sa structure (nombre et distances entre les rayons et les unités de spirale, longueur de la spirale) (Heiling et Herberstein 2000; Herberstein 2011). Les études ont montré que ces variations sont influencées par un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques associés à l'araignée et à son environnement (par exemple, l'état nutritionnel de l'araignée : Pasquet *et al.* 1999, son état reproductif : Sherman 1994, le type et l'abondance de proies disponibles : Sandoval 1994, la présence de prédateurs : Li et Lee 2004, ou encore les éléments climatiques comme le vent : Vollrath *et al.* 1997. Certains facteurs, comme la gravité (Vollrath et Mohren 1985; Vollrath 1988), la perte de pattes (Vollrath 1987 ; Pasquet *et al.* 2011) ou l'ingestion expérimentale de neurotoxines ou autres substances (Witt et Reed 1965; Hesselberg et Vollrath 2004), peuvent affecter la régularité de la toile en entraînant de fortes modifications dans sa structure. La toile étant la conséquence matérielle d'un ensemble de comportements de l'araignée, les modifications qui apparaissent dans la structure de la toile orbitèle peuvent être considérées comme les reflets directs des changements comportementaux de l'araignée lors de la construction de la toile (Zschokke et Vollrath 1995).

Nous avons étudié les effets du vieillissement sur la structure de la toile chez une araignée orbitèle car la structure de la toile fournit un exemple rare où une partie du comportement peut-être utilisé analytiquement pour fournir des traits de caractères quantitatifs. L'ensemble des résultats de ce travail de thèse a permis de mettre en évidence l'influence de l'âge sur le comportement de construction de la toile chez l'araignée orbitèle, à travers l'étude de la toile elle-même.



I. Synthèse des résultats obtenus et discussion

Trois points seront discutés dans ce chapitre final:

- l'influence de l'âge sur le design et les caractéristiques de la toile
- l'influence de l'âge sur la motricité et la mobilité de l'araignée
- les relations entre certaines caractéristiques morphologiques du cerveau et les performances et caractéristiques des toiles en fonction de l'âge

I.1. Influence de l'âge sur le design et les caractéristiques de la toile

En étudiant la structure des toiles construites par des araignées adultes à des âges différents, nous avons montré que le vieillissement affecte la structure de la toile et, par conséquent, leur comportement lors de la construction de la toile. Les araignées investissent moins de soie dans leur toile, construisent des toiles plus irrégulières en termes de parallélisme entre les unités de spirale de capture et d'angles entre les rayons, et réalisent plus d'anomalies de spirale de capture et de rayons. Nous avons également montré que ces modifications liées à l'âge étaient plus nombreuses chez des araignées âgées ayant une durée de vie courte (150 jours en moyenne) que chez des araignées âgées ayant une durée de vie plus longue (236 jours en moyenne). Ces deux groupes d'araignées semblent correspondre aux deux populations d'araignées présentes dans la nature, la première ne vivant que quelques mois (4-5 mois de vie adulte) et mourant après l'épisode de reproduction et avant l'hiver, l'autre survivant à l'hiver et pouvant se reproduire une seconde fois avant de mourir vers l'âge adulte de 7-8 mois. Ainsi, l'augmentation du nombre d'anomalies affectant la spirale de capture, rapportée à la longueur du fil, et l'augmentation de l'angle entre les rayons, s'appliquent uniquement pour les toiles construites par les araignées âgées ayant une durée de vie courte.

Les études ont déjà mis en évidence des modifications dans la structure de la toile orbitèle avec l'âge mais elles ont toujours porté sur les variations ontogénétiques de la toile apparaissant entre le stade juvénile et le stade adulte de l'araignée (Witt *et al.* 1972; Heiling et Herberstein 1998; Hesselberg 2010; Sensenig *et al.* 2010, 2011; Eberhard 2011). Les études montrent qu'au cours du développement de l'araignée, le nombre de spirales et de rayons incorporés dans la toile augmentent (Zschokke 1999), de même que l'espacement entre les unités de spirale (Heiling et Herberstein 1998) et l'extension asymétrique de la partie basse de



la toile, située sous le moyeu (Herberstein et Heiling 1999). Dans ces études, malgré ces modifications de la toile, la régularité apparente des toiles n'est pas affectée entre les différents stades de développement de l'araignée (Eberhard 2007), contrairement à ce que nous avons montré dans notre étude au cours du stade adulte. Par ailleurs, les auteurs n'ont jamais traité des irrégularités structurelles (anomalies de rayons et de spirale de capture, diminution du parallélisme des fils de soie) pouvant être présentes dans les toiles aux différents stades de développement de l'araignée. Nos résultats nous permettent de constater qu'au stade adulte, le vieillissement chez *Zygiella x-notata* s'accompagne visiblement d'une augmentation des irrégularités structurelles dans les toiles géométriques. Ces irrégularités étant déjà présentes en très faible quantité dans les toiles construites par des araignées adultes jeunes (âgées de 17 à 21 jours de vie adulte), nous montrons qu'elles ont tendance à s'amplifier avec l'âge et pourraient s'apparenter aux conséquences d'une forme de vieillissement « normal » chez ces araignées, c'est-à-dire caractérisé par « la réduction des capacités ou de certaines d'entre elles, sans que l'on puisse attribuer cet amoindrissement des fonctions à une pathologie » (Jeandel 2005). Elles seraient présentes en faible quantité dès le début du stade adulte et s'accentueraient avec l'âge de l'araignée. Les anomalies étant plus nombreuses dans les toiles construites par les araignées âgées présentant une durée de vie courte que dans les toiles construites par les araignées âgées présentant une durée de vie longue, ceci suggère que les araignées ayant une durée de vie courte subissent un vieillissement plus rapide.

Les études ontogénétiques ont également montré que lorsque la taille et le poids de l'araignée augmentent entre les stades juvéniles et adultes, la quantité de soie investie dans la construction des toiles augmente aussi et les toiles sont, de ce fait, considérablement plus grandes quand elle atteint l'âge adulte (Heiling et Herberstein 1998, 2000; Sensenig *et al.* 2010; Herberstein 2011). Notre étude a montré qu'après avoir atteint le stade adulte, avec l'âge, l'araignée diminue la quantité de soie qu'elle investit dans ses toiles. L'âge pouvant altérer la qualité de la soie ainsi que les glandes la produisant (Agnarsson *et al.* 2008), les araignées âgées pourraient être limitées dans leur investissement par le niveau de soie dont elles disposent et ajusteraient ainsi leur toile en fonction de leurs réserves. Par ailleurs, certains auteurs ont pu montrer que les araignées orbitèles pouvaient ingérer la soie d'une toile lors de sa destruction et la réutiliser pour une construction suivante (Peakall 1971; Townley et Tillinghast 1988). Il est possible qu'avec l'âge, les araignées ne soient plus capables de recycler la soie ingérée pour une nouvelle construction et soient contraintes de diminuer la quantité de soie investie dans leur toile.



I.2. Influence de l'âge sur la motricité et la mobilité de l'araignée

I.2.1 Lors de la construction de la toile

La toile géométrique est la conséquence matérielle des mouvements de l'araignée et de l'utilisation de la soie (Vollrath 2000). Nos résultats ne montrent pas d'effet de l'âge chronologique sur la mobilité de l'araignée pendant la construction de sa toile, mais ont permis de mettre en évidence un effet du temps restant à vivre à l'araignée au jour de sa construction (âge pré-mortem) sur son activité motrice. La longueur de fil est positivement corrélée à la distance parcourue par l'araignée qui diminue à l'approche de la mort, et la vitesse de déplacement de l'araignée diminue au fur et à mesure que la distance qu'elle parcourt diminue. Ceci suggère qu'à l'approche de leur mort, les araignées investissent moins de fil dans leur toile et se déplacent moins vite lors du dépôt de leur fil de soie.

Les recherches se sont beaucoup intéressées aux effets de l'âge sur le déclin progressif de la fonction motrice car le vieillissement humain et animal s'accompagne souvent d'un déficit de la mobilité qui représente l'un des changements comportementaux liés au vieillissement le plus sérieux et contraignant (Glenn *et al.* 2004). Les invertébrés subissent également cette conséquence du vieillissement. Les études ont montré que la mobilité des vers nématodes *Caenorhabditis elegans* et *Strogyloides ratti* diminue avec l'âge (Gems 2000; Gardner *et al.* 2004). Il en est de même pour certains insectes comme le cafard *Blaberus discoidalis* (Ridgel et Ritzmann 2005) et la mouche à fruit *Drosophila melanogaster* (Gargano *et al.* 2005), dont la vitesse de déplacement décline avec le vieillissement. Chez la mouche à fruit *D. melanogaster*, les études ont également montré un effet du temps restant à vivre aux mâles sur leurs comportements locomoteurs (Papadopoulos *et al.* 2002; Carey *et al.* 2006). Les mouches manifestent un comportement particulier de « retournement sur le dos » quelques jours avant de mourir. Les auteurs suggèrent que les mouches subissent un déclin de la santé et que la morbidité, c'est-à-dire, dans le cas des mouches, l'apparition d'un caractère qui augmente le risque de mortalité des individus qui le manifestent, est un stade naturel du processus du vieillissement. Dans notre étude, la diminution de la mobilité des araignées lors de leur construction quand elles sont proches de la mort pourrait également, comme le suggèrent ces auteurs, résulter d'un déclin de l'état de santé des araignées, en tant que conséquence naturelle du processus du vieillissement.

Chez les araignées, la construction de la toile repose principalement sur l'utilisation de ses pattes. L'araignée les utilise comme des outils de mesure d'angles et de distances entre les



rayons, et de distances entre les tours de spirale lors de la construction (Vollrath 1992; Krink et Vollrath 1997; Pasquet *et al.* 2011; Toscani *et al.* 2012). Les études ont montré que des modifications dans la longueur des pattes ou le positionnement de celles-ci lors de la construction de la toile entraînent des modifications de structure. Ainsi, les araignées ayant perdu une patte ou possédant une patte régénérée (plus courte que la normale) modifient la structure de leur toile en diminuant notamment la distance entre les unités de spirales de capture car elles utilisent une patte plus courte que la normale (Vollrath 1987). Par ailleurs, une étude récente a montré que la mise en place d'une anomalie de structure dans la spirale de capture résultait de changements dans le positionnement des premières et des quatrièmes pattes de l'araignée sur les rayons lors de la construction de la spirale (Toscani *et al.* 2012). Dans notre étude, les distances entre les unités de spirales sont également modifiées avec l'âge, l'espacement entre unités de spirale étant plus irrégulier dans les toiles construites par les araignées âgées et les unités de spirale étant moins parallèles les unes aux autres dans les secteurs de la toile avec l'âge. Une interprétation de la baisse de la mobilité de l'araignée avec l'âge avant la mort, lors de la construction, et de l'irrégularité de la toile avec l'âge réel des araignées, pourrait être que, dans le cadre d'un vieillissement « normal », l'âge pourrait affecter les propriétés mécaniques des pattes et influencer sur la mobilité des araignées. Les muscles des pattes étant connus pour se fatiguer rapidement lors de la construction d'une toile (Foelix 2011), ils pourraient se fatiguer encore plus rapidement avec l'âge. Les activités de construction pourraient devenir plus difficiles à réaliser pour les araignées âgées présentant une coordination motrice réduite et qui pourraient produire plus d'anomalies et d'irrégularités dans la toile quand elles positionnent leurs pattes durant la construction. La vitesse de l'araignée lors de la construction diminuerait donc car le déclin des propriétés mécaniques des pattes et la mise en place fréquente d'anomalies avec l'âge seraient plus longue à réaliser que l'enchaînement de la pose des fils « normaux ». Par ailleurs, l'araignée utilisant ses pattes comme outils de mesures, la vitesse de l'araignée pourrait aussi diminuer car les distances entre les rayons et les unités de spirale « anormales » seraient plus difficiles à apprécier et à « mesurer » que les rayons et les unités de spirale « normales ».



I.2.2 Lors de la capture des proies

Les araignées orbitèles sont des prédateurs qui, pour se nourrir, construisent des toiles pouvant intercepter et retenir des proies, puis réalisent une séquence comportementale de capture pour capturer la proie piégée dans sa toile. Le vieillissement étant connu pour affecter la motricité des animaux (Le Bourg et Minois 1999; Murakami et Murakami 2005; Altun *et al.* 2007), nous avons émis l'hypothèse qu'un déclin de la fonction motrice de l'araignée avec l'âge affecterait leurs comportements de capture. Notre étude a montré que toutes les araignées, quel que soit leur âge, capturent les proies qui leur sont déposées dans la toile. L'efficacité de capture n'est donc, ici, pas affectée par l'âge des araignées. Cependant, ces résultats sont obtenus en laboratoire et les proies sont toutes déposées par l'expérimentateur sur les toiles au même endroit, au milieu de la partie basse, sous le moyeu. Ce résultat ne peut donc pas être extrapolé à des résultats externes sur le terrain, où les araignées sont constamment soumises aux variations environnementales. Nos travaux montrent également que la durée des comportements de capture (temps de réaction, durée de la maîtrise de la proie, temps d'activité de l'araignée) augmente avec l'âge. En vieillissant, l'araignée devient moins rapide pour capturer ses proies. Les deux aspects du comportement de fourragement de l'araignée (construction de la toile et comportement direct de capture avec recherche et capture de la proie) reposant principalement sur l'activité motrice de l'araignée, la diminution, avec l'âge, du temps et de la rapidité de capture des proies par l'araignée pourrait donc être interprétée comme nous l'avons fait pour la diminution de la mobilité de l'araignée lors de sa construction, à savoir qu'elle pourrait résulter d'un déclin des propriétés mécaniques et/ou de la coordination motrice avec l'âge.

Nous avons aussi émis l'hypothèse que les modifications de structure qui apparaissent dans la toile avec l'âge pourraient représenter des « obstacles » pour l'araignée lors de la réalisation de sa séquence comportementale de capture. En effet, nos résultats semblent confirmer cette hypothèse car ils ont montré que le temps de réaction de l'araignée pour atteindre la proie est plus long quand les anomalies de rayons sont plus nombreuses. Or, nous avons précédemment démontré dans nos travaux qu'une des caractéristiques des effets de l'âge sur la structure de la toile était l'augmentation du nombre d'anomalies dans la toile. L'augmentation de la durée des comportements de capture de l'araignée serait donc due à un effet de l'âge sur le comportement de capture de l'araignée directement et/ou à un effet de



l'âge sur la structure de la toile, et donc sur le comportement de l'araignée lors de la construction de la toile.

Les études sont nombreuses à avoir interprété les variations d'une toile et du comportement de construction de l'araignée selon la théorie de fourragement optimal (Vollrath 1992; Pasquet *et al.* 1999; Heiling et Herberstein 2000; Thevenard *et al.* 2004; Herberstein 2011) qui suggère que les animaux optimisent le taux net de gain d'énergie en essayant de gagner le maximum d'énergie en un minimum de temps de fourragement. Ainsi, les araignées ajusteraient leurs comportements de construction et donc la structure de leur toile dans le but de maximiser leur succès de capture des proies. Certaines araignées modifient la structure de leur toile et orientent leur corps de façon à minimiser le temps de recherche et de capture de la future proie (Nakata et Zschokke 2010) et augmenter leur vitesse de déplacement sur la toile pour aller chercher la proie. Au contraire, dans notre étude, les modifications qui apparaissent dans la toile avec l'âge semblent retarder l'araignée dans sa course lors de sa séquence de capture. Notre étude suggère qu'à partir d'un certain âge, l'araignée ne serait plus capable d'adapter la structure de sa toile et ses comportements de construction dans le but de maximiser le gain d'énergie en un minimum de temps, comme le prétend la théorie du fourragement optimal.

Au laboratoire, les araignées ne sont pas menacées par la présence de prédateurs lorsqu'elles effectuent leur séquence de capture de proie. L'augmentation du temps de réalisation des comportements n'a donc pas de conséquence sur la survie de l'araignée. Dans la nature par contre, l'augmentation du temps de capture avec l'âge pourrait avoir des conséquences néfastes sur la survie de l'araignée car elle contraint l'araignée à rester exposée plus longtemps aux prédateurs sur sa toile.

I.3. Relations entre des caractéristiques morphologiques du cerveau et les performances et caractéristiques des toiles en fonction de l'âge

Après avoir mis en évidence que l'âge affectait la structure de la toile et le comportement de construction de l'araignée, nous nous sommes intéressés aux effets de l'âge sur les caractéristiques morphologiques du cerveau des araignées. Nous avons émis l'hypothèse que les changements qui apparaissent dans la structure des toiles orbitèles au cours du vieillissement de l'araignée pourraient être dus à des modifications induites par l'âge au niveau du système nerveux. Notre étude a montré que l'âge affectait certaines caractéristiques



morphologiques du cerveau. Ainsi, la masse et le volume des cerveaux de l'araignée *Zygiella x-notata* diminuent avec l'âge. Les cerveaux des araignées âgées pèsent deux fois moins que ceux des jeunes araignées adultes et la masse de leur cerveau représente 0,41% de la masse totale de leur corps, contre 1,06% pour les cerveaux des jeunes araignées. Nous avons également établi que la structure de la toile était modifiée avec les paramètres du cerveau. Le nombre d'anomalies dans la spirale de capture augmente avec l'âge des araignées adultes et avec le volume du cerveau : quand le volume du cerveau diminue, le nombre d'anomalies augmente. Ceci pourrait suggérer une relation entre les modifications morphologiques du cerveau et les comportements de construction de l'araignée.

Dans le cadre d'un vieillissement « normal », nos résultats peuvent être comparés avec ceux obtenus par Witt et Reed en 1965 et par Vollrath et Hesselberg en 2004, sur l'effet de la prise de drogues chez des araignées orbitèles. Witt et Reed (1965) sont les premiers à avoir testé l'effet de nombreuses drogues sur la géométrie de la toile et ont pu montrer que presque toutes les drogues testées affectaient la géométrie de la toile. Globalement, leurs études sur les araignées adultes de l'espèce *A. diadematus* and *Z. x-notata* ont montré que la prise de drogue à faible dose entraînait une augmentation de la fréquence de construction des toiles et de la taille des toiles, tandis que la prise de drogue à forte dose entraînait une diminution de la fréquence de construction et du nombre de rayons et d'unités de spirale dans la spirale de capture, et une moindre régularité. Connaissant l'influence des drogues sur certaines actions du système nerveux des araignées, Vollrath et Hesselberg (2004) ont analysé des toiles construites avant et après l'ingestion de drogues par les mêmes individus, suivant des paramètres d'analyse semblables à ceux que nous utilisons, tels que, entre autres, la proportion de rayons irréguliers (rayons déviés et rayon en « Y ») et le nombre de retours effectués par l'araignée au cours du tissage, qui montrent une nette différence entre les toiles construites par les araignées non droguées et les toiles construites par ces mêmes araignées droguées. D'après ces résultats, ils suggèrent que les modifications observées sur les différents comportements de tissage et la structure géométrique des toiles sont associées à l'action des drogues sur le système nerveux des araignées.

Dans notre étude, l'action du vieillissement sur la géométrie de la toile s'apparente à l'action des drogues testées à forte dose par Witt et Reed (1965) et par Hesselberg et Vollrath (2004) sur la géométrie des toiles. De plus, nous avons montré que l'âge peut avoir des effets sur le système nerveux des araignées et avons établi des liens entre les modifications du cerveau et les modifications apparaissant dans la toile avec l'âge. Nous pouvons donc suggérer que les modifications qui apparaissent dans la toile résultent bien de modifications



du système nerveux avec l'âge. Nos travaux ont aussi montré que le vieillissement affectait la mobilité de l'araignée lors de la construction. Sachant que l'activité motrice témoigne de l'activité fonctionnelle du système nerveux (Lliadi et Boulianne 2010), il est probable que les modifications du système nerveux avec l'âge affectent les comportements moteurs des araignées lors de la construction de la toile. Par ailleurs, la diminution de la masse du cerveau avec l'âge, associée à l'augmentation du nombre d'anomalies dans la toile, semble confirmer l'hypothèse de limitation de la taille, souvent réfutée, selon laquelle les petits animaux ont des capacités comportementales limitées en comparaison avec animaux plus gros car ils sont contraints par les limites de miniaturisation de leurs petits cerveaux (Eberhard 2007; Hesselberg 2010; Eberhard 2011). Les études ontogénétiques ont montré que le cerveau des araignées augmentait en masse et en volume avec le développement de l'araignée. Au contraire, notre étude a montré qu'avec l'âge, au stade adulte, la masse et le volume du cerveau diminuent, de même que les capacités comportementales de l'araignée, représentées par les irrégularités de structure de la toile.

II. Perspectives et conclusion générale

II.1. Etudier la création des anomalies

La toile étant le reflet des comportements de construction de l'araignée, nous émettons l'hypothèse que les irrégularités de structure qui apparaissent et/ou s'accroissent avec le vieillissement (anomalies de structure et de rayons) sont le résultat d'erreurs comportementales. Récemment, Toscani *et al.* (2012) ont étudié le comportement de construction de l'araignée orbitèle lors de la création de deux anomalies différentes dans la spirale de capture, et l'ont comparé avec le comportement de l'araignée lors de la création d'une unité de spirale « normale ». A partir d'enregistrements vidéo et d'un logiciel de trajectométrie, ils ont ainsi observé en détail les déplacements des pattes et du corps de l'araignée lors de la création de l'unité de spirale « normale » et des deux unités de spirale « anormales ». Ils ont montré que la création des deux anomalies résultait d'un changement de position de la quatrième paire de pattes (la plus postérieure) sur les rayons. Les deux anomalies créées prises en compte par les auteurs correspondent à deux des 7 anomalies de structure que nous avons définies dans notre étude. Il serait donc intéressant, d'étudier la création des autres types d'anomalie. Dans l'étude de Toscani *et al.*, les araignées ont été



prélevées adultes dans la nature et leur âge n'est pas connu. Il serait également intéressant, à partir d'un suivi précis des comportements de l'araignée, de comparer les comportements mis en place lors de la création des différentes anomalies entre des araignées adultes de différents âges afin de savoir si ces comportements sont les mêmes ou s'ils varient avec l'âge.

Par ailleurs, nous avons montré que, dans les toiles construites par les jeunes araignées adultes (âgées de 17 à 21 jours de vie adulte), les anomalies qui affectent la spirale de capture sont inégalement réparties entre la partie haute et la partie basse de la toile et entre la périphérie de la toile (correspondant au début de construction de la spirale) et l'intérieur de la toile, près du centre (correspondant à la fin de la construction de la spirale) (Pasquet *et al.* soumis). Nous avons suggéré que ces différences de répartition des anomalies entre le haut et le bas de la toile pourraient s'expliquer par des différences de positionnement du corps de l'araignée lors de la construction de ces deux parties de la toile. Des différences de comportements et de positionnement des pattes lors de la pose du fil, entre la périphérie et le centre, pourraient être à l'origine des différences de répartition des anomalies entre l'extérieur et l'intérieur de la spirale de capture. Il serait intéressant d'étudier la répartition des anomalies dans les différentes parties de la toile chez des araignées âgées et de comparer cette répartition avec celle des anomalies présentes dans la spirale des toiles construites par les araignées jeunes, car la répartition de ces anomalies nous renseigne sur la variation comportementale de l'araignée pendant sa construction. Cette comparaison pourrait nous renseigner sur l'état de fatigue et/ou des capacités motrices des araignées en début et fin de construction et/ou sur la difficulté des araignées âgées à changer leur corps de position à des moments précis de leur construction.

II.2. Vieillesse et système nerveux

Nos données neuro-anatomiques ont permis d'établir un lien entre l'augmentation du nombre d'anomalies affectant la spirale de capture et des modifications anatomiques du cerveau des araignées avec l'âge. Pourtant, les structures nerveuses et les mécanismes impliqués dans les comportements de construction de la toile ne sont pas connus, et ces résultats ne nous permettent pas de conclure quant à un effet des modifications neurologiques avec l'âge sur les capacités comportementales des araignées lors de la construction de la toile. Néanmoins, ils ouvrent de nouvelles perspectives à notre travail. Une voie consisterait rechercher des corrélations entre les anomalies observées et les modifications dans des



structures spécifiques du système nerveux des araignées. Chez les invertébrés, les études ont montré que le vieillissement peut altérer les propriétés endogènes des neurones et entraîner une perte des neurones (Yeoman et Faragher 2001). Il serait intéressant de rechercher si la diminution de la taille et de la masse des cerveaux des araignées avec l'âge que nous avons mis en évidence résulte d'une diminution des volumes des tissus nerveux et/ou d'une perte de neurones.

Par ailleurs, nous savons que le cerveau des araignées se présente sous la forme de deux ganglions, chacun impliqué dans le traitement d'informations différentes. Le ganglion supra-œsophagien traite de l'information visuelle et de l'apprentissage, tandis que le ganglion sub-œsophagien contrôle principalement les fonctions motrices de l'araignée (Barth 2002). Or, notre étude a montré que les fonctions motrices de l'araignée étaient affectées par l'âge lors de la construction de la toile et lors de la capture d'une proie. Il serait donc intéressant de dissocier ces deux ganglions et de rechercher si les modifications dans la toile seraient plus corrélées à des modifications du ganglion sub-œsophagien qu'à des modifications du ganglion supra-œsophagien.

Bien que les connaissances sur le fonctionnement cérébral des araignées ne soient que parcellaires, certains actes comportementaux (ou leur régulation) peuvent être imputés à des substances neuronales et actives dans des zones particulières de leur cerveau (Barth 2002). Ainsi, il a été montré que la sérotonine est impliquée dans la régulation des informations sensorielles qui proviennent des mécanorécepteurs et des chémorécepteurs de l'araignée (Barth 2002). Une autre étude a montré que l'octopamine intervient dans la régulation du cycle circadien de l'araignée, agissant comme une hormone circulant dans l'hémolymphe (Seyfarth *et al.* 1993). D'autres analyses histochimiques (dosages de substances neuroactives (bioamines)) et neurologiques des deux ganglions dans des cerveaux « jeunes » et « âgés », présentant des formes de vieillissement normales ou différentes, et ayant préalablement été testés quant à leurs performances comportementales via la toile, seraient nécessaires d'abord pour établir quelles structures nerveuses sont impliquées dans les comportements de construction de la toile, puis, pour rechercher quels changements neurologiques associés au vieillissement affectent exactement les comportements de construction de la toile. Ces analyses pourraient notamment être utiles dans la compréhension des mécanismes de base des maladies neurodégénératives liées au vieillissement et qui entraînent des déclin plus ou moins importants des différentes fonctions de l'organisme.



II.3. Vieillesse pathologique et marqueurs physiologiques

Au laboratoire, nous avons constaté que certaines toiles construites (environ 5% des toiles analysées), présentant des anomalies, étaient fortement désorganisées dans l'agencement des différentes zones (moyeu, rayons et aire de capture) et des fils de soie (Annexe, figure 19) et que ce phénomène ne semble pas lié à des caractéristiques particulières des araignées (âge chronologique, âge avant la mort, nombre de toiles tissées, ...).

En 2002, des auteurs ont montré que les mouches mâles *Ceratitis capitata*, manifestaient un comportement particulier de « retournement sur le dos » quelques jours avant de mourir (Papadopoulos *et al.* 2002). En 2006, d'autres auteurs proposent que les comportements qui sont uniques et communs aux individus âgés, comme les « retournements » chez les mouches, peuvent être considérés comme des « comportements dégénératifs » (Carey *et al.* 2006). Cela pourrait être le cas des irrégularités dans les toiles totalement déstructurées, et de nouveaux paramètres d'analyse tenant compte des désorganisations dans la structure générale de la toile « aberrante » et des modifications des caractéristiques géométriques (anomalies) pourraient permettre de mettre en évidence l'existence d'un type de vieillissement différent s'apparentant à une pathologie. Certaines modifications dans ces toiles totalement déstructurées pourraient servir de biomarqueurs comportementaux du vieillissement, pouvant mieux prédire la capacité fonctionnelle ou le risque de mortalité de certains individus aux vieux âges que l'âge chronologique (comme c'est le cas pour l'apparition du comportement de « retournement sur le dos » chez la mouche drosophile quelques jours avant sa mort (Papadopoulos *et al.* 2002; Carey *et al.* 2006)). Afin de rechercher si la déstructuration de ces toiles « aberrantes » résulte de comportements « aberrants » de l'araignée lors de la construction de la toile, il serait intéressant d'enregistrer les séquences comportementales exprimées lors de la construction de ces toiles, puis de les analyser pour les comparer ensuite avec celles construites par des araignées présentant un vieillissement normal ou, tout au moins, dont la toile finale présente une structure géométrique « normale ».

Il est connu que le vieillissement normal s'accompagne de modifications physiologiques au niveau des tissus et des cellules : augmentation des dommages oxydatifs dans les tissus avec l'âge (Perez-Campo *et al.* 1998) et diminution des capacités antioxydantes des organismes (Cohen *et al.* 2009). Parallèlement, les télomères, régions de l'ADN fortement répétées aux extrémités des chromosomes, atteignent une longueur critique à partir d'un certain âge, contraignant ainsi la cellule à entrer en apoptose (mort cellulaire) ou



en sénescence (Vleck *et al.* 2003). Au laboratoire, des analyses physiologiques et moléculaires ont été réalisées pour la première fois chez l'araignée (travaux de Master 1 de Karen Muller 2010) et ont permis de mettre en évidence une réduction des capacités antioxydantes avec l'âge chez l'araignée orbitèle *Agalenatea redii*, dont la structure de la toile était aussi modifiée avec le vieillissement, et d'établir un lien entre la longueur des télomères et le nombre d'anomalies total dans la toile. Ainsi, seuls les individus dont les télomères sont très réduits ont réalisé un très grand nombre d'anomalies dans la toile. Cette étude a permis de fournir un indice de l'état physiologique interne des individus. De la même façon, afin de rechercher si la déstructuration des toiles « aberrantes » que nous avons pu observer s'apparente à un vieillissement pathologique de l'araignée, il serait intéressant de quantifier des marqueurs physiologiques du vieillissement chez ces araignées, comme la longueur des télomères ou les capacités anti-oxydantes de l'organisme, et de les comparer à ceux constatés chez les araignées âgées présentant un vieillissement « normal » à travers la structure de leur toile et de leurs comportements de construction, comme ceux que nous avons mis en évidence dans notre étude.

II.4. Utilisation des résultats dans le domaine appliqué

Depuis plus d'un siècle, les invertébrés servent d'organismes modèles pour la recherche médicale et les maladies (Wilson-Sander 2011). Grâce à leur utilisation, de nombreuses découvertes ont été faites dans presque tous les domaines de la biologie et de la médecine, depuis les processus embryonnaires jusqu'aux processus du vieillissement. Dans le cadre de l'étude du vieillissement, certains modèles comme la mouche *Drosophila melanogaster* et le ver nematode *Caenorhabditis elegans*, sont devenus d'excellents modèles pour l'étude de la génétique humaine et des maladies (Chan et Bonini 2000; Williams *et al.* 2000; Beckingham *et al.* 2005; Wilson-Sanders 2011). Ils ont notamment servi de modèle pour étudier certaines maladies neurologiques dégénératives associées au vieillissement comme les maladies humaines d'Alzheimer et de Parkinson (Grotewiel 2005). Mais il n'existe que peu de modèles comportementaux du vieillissement. Notre étude a montré que les araignées orbitèles adultes présentent un vieillissement et a permis de valider l'araignée orbitèle et sa toile comme nouveau modèle d'étude du comportement pour le vieillissement. Il y a plus de 40 ans, P. Witt (1971) décidait de tester l'influence de nombreuses drogues sur la géométrie des toiles, avec l'espoir de développer une « toile test » qui pourrait rendre



compte de l'effet de très petites quantités de drogues sur le système nerveux des araignées, dont l'effet était également connu sur le système nerveux des humains (Hesselberg et Vollrath 2004). Toutes les études qui, depuis, ont étudié ces effets des drogues sur les araignées orbitèles, en sont arrivées à la même conclusion que la prise de drogue affectait la géométrie de la toile. Par ailleurs, nous avons observé que la déstructuration de certaines toiles « aberrantes » s'apparentait fortement aux modifications des toiles géométriques construites par des araignées ayant ingéré des doses importantes de certaines drogues, comme la caféine (Witt et Reed 1965; Hesselberg et Vollrath 2004). Les recherches sur le vieillissement pourraient donc envisager d'utiliser la toile géométrique comme une « toile test », qui permettrait par exemple de tester l'efficacité et la toxicité de nouveaux produits médicamenteux pour le vieillissement, tant pour des maladies humaines comme la maladie d'Alzheimer et de Parkinson, qu'animales.

II.5 Conclusion

Le vieillissement est un phénomène obligatoire et irréversible, souvent associé à un déclin des performances et des fonctions de l'organisme. Bien que les comportements nous renseignent sur l'état physiologique et neurologique de l'organisme, et que les modifications comportementales associées à l'âge, comme la diminution de la mobilité, affectent le bien-être des personnes, les relations entre l'âge et les comportements demeurent peu étudiées. La recherche de nouveaux modèles permettant d'appréhender cette relation est donc primordiale.

Nous nous sommes intéressés à l'influence de ce processus biologique sur la construction et la géométrie de la toile chez l'araignée orbitèle *Zygiella x-notata*, car la structure de la toile reflète les comportements de construction de l'araignée et, par conséquent, toute variation dans la toile peut être interprétée comme une variation comportementale de l'araignée lors de sa construction. L'objectif de cette étude était de mettre en évidence des variations structurelles dans la géométrie des toiles qui pourraient être corrélées au vieillissement de l'araignée, et de savoir comment le vieillissement agissait sur la mobilité de l'araignée lors de sa construction et lors de sa capture des proies. Les résultats des comparaisons entre des araignées jeunes et des araignées âgées, en fonction de l'âge chronologique (âge relatif à la mue imaginale) et en fonction de l'âge avant la mort (âge pré mortem), supportent notre prédiction concernant l'influence du vieillissement sur les caractéristiques géométriques de la toile, le comportement de construction et le comportement de capture de l'araignée. **Notre**



étude a permis de valider la pertinence de l'utilisation des araignées orbitales et de leurs toiles géométriques comme modèles innovants pour l'étude du vieillissement.



BIBLIOGRAPHIE





Références

- Abele, D., Brey, T. & Philipp, E. (2009). Bivalve models of aging and the determination of molluscan lifespans. *Experimental Gerontology*, 44(5):307-315.
- Agnarsson, I., Boutry, C. & Blackledge, T.A. (2008). Spider silk aging: initial improvement in a high performance material followed by slow degradation. *Journal of Experimental Zoology*, 309A:494-504.
- Alkon, D.L. (1987). Memory traces in the Brain. Cambridge, New York: *Cambridge University Press*.
- Allada, R. & Chung, B.Y. (2010). Circadian organization of behavior and physiology in *Drosophila*. *Annual Review of Physiology*, 72:605-624.
- Altun, M., Bergman, E., Edström, E., Johnson, H. & Ulfhake, B. (2007). Behavioral impairments of the aging rat. *Physiology & Behavior*, 92:911-923.
- Amin, M.R., Bussière, L.F. & Goulson, D. (2012). Effects of male age and size on mating success in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Journal of Insect Behaviour*, 25:362-374.
- Arundell, M., Patel, B.A., Straub, V., Allen, M.C., Janse, C., O'Hare, D., Parker, K., Gard, P.R. & Yeoman, M.S. (2006). Effects of age on feeding behavior and chemosensory processing in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. *Neurobiology of Aging*, 27:1880-1891.
- Baker, K.D. & Thummel, C.S. (2007). Diabetic larvae and obese flies: Emerging studies of metabolism in *Drosophila*. *Cell Metabolism*, 6:257-266.
- Barrantes, G. & Eberhard, W.G. (2012). Extreme behavioral adjustments by an orb-web spider to restricted spaces. *Ethology*, 118:438-449.
- Barron, A.B. & Robinson, G.E. (2008). The utility of behavioral models and modules in molecular analyses of social behavior. *Genes, Brain and Behavior*, 7:257-265.
- Barth, F.G. (2002). A spider's world: Senses and Behavior. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Beckingham, K.M., Armstrong, J.D., Texada, M.J., Munjaal, R. & Baker, D.A. (2005). *Drosophila melanogaster*: The model organism of choice for the complex biology of multi-cellular organisms. *Gravitational and Space Biology Bulletin*, 18:17-29.
- Behrends, A., Scheiner, R., Baker, N. & Amdam, G.V. (2007). Cognitive aging is linked to social role in honey bees (*Apis mellifera*). *Experimental Gerontology*, 42:1146-1153.



- Bel-Venner, M.C. & Venner, S. (2006). Mate-guarding strategies and male competitive ability: results from a field study in an orb-weaving spider. *Animal Behaviour*, 71:1315-1322.
- Bennett, P.M. & Owens, I.P.F. (2002). Evolutionary Ecology of Birds. *Oxford University Press*, 296p.
- Berdichevsky, A., Viswanathan, M., Horvitz, H.R. & Guarente, L. (2006). *C. elegans* SIR-2.1 interacts with 14-3-3 proteins to activate DAF-16 and extend life span. *Cell*, 125(6):1165-1177.
- Bergeman, C.S. & Plomin, R. (1996). Behavioral genetics. In: Birren JE, editor. *Encyclopedia of Gerontology*. San Diego, CA: Academic Press.
- Berland, L. (1927). Note sur les Araignées recueillies aux îles Marquises par le R.P. Simeon Delmas. *Bulletin of the Museum of Natural History*, 38:366-368.
- Blackledge, T.A. & Zevenbergen, J.M. (2006). Mesh width influences prey retention in spider orb Webs. *Ethology*, 112:1194-1201.
- Blackledge, T.A. & Zevenbergen, J.M. (2007). Condition-dependent spider web architecture in the western black widow, *Latrodectus hesperus*. *Animal Behaviour*, 73:855-864.
- Blamires, S.J., Wu, C.L. & Tso, I.M. (2012). Variation in protein intake induces variation in spider silk expression. *PloS One*, 7(2):e31626.
- Breed, A.L., Levine, V.D., Peakall, D.B. & Witt, P.N. (1964). The fate of the intact orb web of the spider *Araneus diadematus*. *Behaviour*, 23:43-60.
- Brown, S. & Strausfeld, N. (2009). The effect of age on a visual learning task in the American cockroach. *Learning and Memory*, 16(3):210-223.
- Bucheton, A. (1995). The relationship between the *flamenco* gene and *gypsy* in *Drosophila*: How to tame a retrovirus. *Trends in Genetics*, 11:349-353.
- Buffenstein, R. (2008). Negligible senescence in the longest living rodent, the naked mole-rat: insights from a successfully aging species. *Journal of Comparative Psychology*, 118(4):439-445.
- Burton, D.G.A. (2009). Cellular senescence, ageing and disease. *Age*, 31(1):1-9.
- Carey, J.R., Papadopoulos, N., Kouloussis, N., Katsoyannos, B., Müller, H.G., Wang, J.L. & Tseng, Y.K. (2006). Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Experimental Gerontology*, 41:93-97.
- Chan, H.Y.E. & Bonini, N.M. (2000). *Drosophila* models of human neurodegenerative disease. *Cell Death and Differentiation*, 7:1075-1080.



- Charmantier, A., Perrins, C., McCleery, R.H. & Sheldon, B.C. (2006). Quantitative genetics of age at reproduction in wild swans: Support for antagonistic pleiotropy models of senescence. *PNAS*, 103(17):6587-6592.
- Chen, Y.F., Wu, C.Y., Kao, C.H. & Tsai, T.F. (2010). Longevity and lifespan control in mammals: lessons from the mouse. *Ageing Research Reviews*, 9(1):28-35.
- Clutton-Brock, T.H. (1991). The Evolution of Parental Care. *Journal of Evolutionary Biology*, 5(4):719-721.
- Cohen, A.A., Mauck, R.A., Wheelwright, N.T., Huntington, C.E. & McGrawn, K.J. (2009). Complexity in relationships between antioxidants and individual life-history parameters in a seabird and a songbird. *Oikos*, 118:1854-1861.
- Collett, T.S. (2005). Invertebrate memory: Honeybees with a sense of déjà vu. *Current Biology*, 15:R419-R421.
- Collins, J.J., Huang, C., Hughes, S. & Kornfeld, K. (2008). The measurement and analysis of age-related changes in *Caenorhabditis elegans*. 24:1-21.
- Colman, R. & Kemnitz, J.W. (1998). Aging experiments using nonhuman primates. *Methods in Aging Research*, 249-267.
- Cook-Wiens, E. & Grotewiel, M.S. (2002). Dissociation between functional senescence and oxidative stress resistance in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 37(12):1347-1357.
- Coslovsky, M. & Zschokke, S. (2009). Asymmetry in Orb-Webs: An Adaptation to Web Building Costs? *Journal of Insect Behavior*, 22:29-38.
- Cote, J., Arnoux, E., Gaillard, M., Sorci, G. & Faivre B. (2010). Age-dependent allocation carotenoids to coloration versus antioxidant defences. *Journal of Experimental Biology*, 213:271-277.
- Derenne, A. & Barron, A. (2002). Behavior analysis and the study of human aging. *The Behavior Analyst*, 25(2):151-160.
- Descamps, S., Boutin, S., Berteaux, D. & Gaillard, J.M. (2008). Age-specific variation in survival, reproductive success and offspring quality in red squirrels: evidence of senescence. *Oikos*, 117(9):1406-1416.
- Doty, R.L., Shaman, P., Applebaum, S.L., Giberson, R., Siksorki, L. & Rosenberg, L. (1984). Smell identification ability: changes with age. *Sciences*, 226(4681):1441-1443.
- Driscoll, I., Resnick, S.M., Troncoso, J.C., An, Y., O'Brien, R. & Zonderman, A.B. (2006). Impact of Alzheimer's pathology on cognitive trajectories in nondemented elderly. *Annals of Neurology*, 60(6):688-695.



- Driver, C. (2000). The circadian clock in old *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology* 1(2) :157-162.
- Eberhard, W.G. (1969). Computer simulation of orb web construction. *American Zoologist*, 9:229-238.
- Eberhard, W.G. (1970). The predatory behavior of two wasps, *Agnoideus humilis* (Pompilidae) and *Sceliphron caementarium* (Sphecidae), on the orb weaving spider *Araneus cornutus* (Araneidae). *Psyche*, 77(2):243-251.
- Eberhard, W.G. (1981). Construction behaviour and the distribution of tensions in orb webs. *Bulletin of the British Arachnological Society*, 5(5):189-204.
- Eberhard, W.G. (1986). Effects of orb-web geometry on prey interception and retention. In SHEAR, W.A. (ed.): Spiders: webs, behavior, and evolution. *Stanford University Press, Stanford*, pp70-100.
- Eberhard, W.G. (1986). Ontogenic changes in the web of *Epeirotypus* sp. (Araneae, Theridiosomatidae). *Journal of Arachnology*, 14:125-128.
- Eberhard, W.G. (1988). Behavioral flexibility in orb web construction: effects of supplies in different silk glands and spider size and weight. *Journal of Arachnology*, 16(3):295-302.
- Eberhard, W.G. (2007). Miniaturized orb-weaving spiders: behavioural precision is not limited by small size. *Proceedings of the Royal Society B*, 274: 2203-2209.
- Eberhard, W.G. (2011). Are smaller animals behaviourally limited? Lack of clear constraints in miniature spiders. *Animal Behaviour*, 81: 813-823.
- Eberhard, W.G. & Hesselberg, T. (2012). Cues that spiders (Araneae: Araneidae, Tetragnathidae) use to build orbs: lapses in attention to one set of cues because of dissonance with others. *Ethology*, 118(7):610-620.
- Economos, A.C., Michel, J., Binnard, R. & Kessler, S. (1979). Quantitative analysis of mating behavior in aging male *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 10(3-4):233-240.
- Edmonds, D. & Vollrath, F. (1992). The contribution of atmospheric water vapour to the formation and efficiency of a spider's capture web. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 248:145-148.
- Edrey, Y.H., Hanes, M., Pinto, M., Mele, J. & Buffenstein, R. (2011). Successful aging and sustained good health in the naked mole rat: A long-lived mammalian model for biogerontology and biomedical research. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 52:41-53.



- Elekonich, M.M. & Roberts, S.P. (2005). Honey bees as a model for understanding mechanisms of life history transitions. *Comparative Biochemistry and Physiology part A: Molecular Integrative Physiology*, 141:326-371.
- Emlen, J.M. (1966). The role of time and energy in food preference. *The American Naturalist*, 100:611-617.
- Espeland, M.A., Gill, T.M., Guralnik, J., Miller, M.E., Fielding, R., Newman, A.B. & Pahor, M. (2007). Designing clinical trials of interventions for mobility disability: results from the lifestyle interventions and independence for elders pilot (LIFE-P) trial. *The Journals of Gerontology Series A*, 62:1237-1243.
- Fabian, R. & Seyfarth, E.A. (1997). Acetylcholine and histamine are transmitter candidates in identifiable mechanosensitive neurons of the spider *Cupiennius salei*: an immunocytochemical study. *Cell and Tissue Research*, 287:413-423.
- Ferrandon, D., Imler, J.L., Hetru, C. & Hoffmann, J.A. (2007). The *Drosophila* systemic immune response: Sensing and signalling during bacterial and fungal infections. *Nature Reviews Immunology*, 7:862-874.
- Fields, S. & Johnston, M. (2005). Whither model organism research? *Cell Biology*, 307:1885-1886.
- Finch, C.E. (1990). Longevity, Senescence and the Genome. *Chicago, University of Chicago Press*.
- Flurkey, K., Brandvain, Y., Klebanov, S., Austad, S.N., Miller, R.A., Yuan, R. & Harrison, D.E. (2007). PohnB6F1: a cross of wild and domestic mice that is a new model of extended female reproductive life span. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 62(11):1187-1198.
- Foelix, R.F. (2011). Biology of spiders, Third Edition. *Oxford University press. Oxford; New York*.
- Folkis, V.V., Stupina, A.S. Martinenko, O.A., Toth, S. & Timchenko, A.I. (1984). Aging of neurons in the mollusc *Lymnaea stagnalis*. Structure, function and sensitivity to transmitters. *Mechanisms of Ageing and Development*, 25:91-102.
- Gaillard, J.M., Viallefont, A., Loison, A. & Festa-Bianchet, M. (2004). Assessing senescence patterns in population of large mammals. *Animal Biodiversity and Conservation*, 21(1):47-58.
- Gardner, M.P., Gems, D. & Viney, M.E. (2004). Aging in a very short-lived nematode. *Experimental Gerontology*, 39:1267-1276.



- Gardner, M.P., Viney, M.E. & Gems, D. (2006). Strongyloides ratti: A nematode with extraordinary plasticity in aging. *Handbook of models for human aging*, 229-240.
- Gargano, J.W., Martin, I., Bhandari, P. & Grotewiel, M.S. (2005). Rapid iterative negative geotaxis (RING): a new method for assessing age-related locomotor decline in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 40:386-95.
- Gems, D. (2000). Longevity and ageing in parasitic and free-living nematodes. *Biogerontology*, 1:289-307.
- Gerhard, G.S., Kauffman, E.J., Wang, X., Stewart, R., Moore, J.L., Kasales, C.J., Demidenko, E. & Cheng, K.C. (2002). Life spans and senescent phenotypes in two strains of Zebrafish (*Danio rerio*). *Experimental Gerontology*, 37:1055-1068.
- Gilbert, L.I. (2008). *Drosophila* is an inclusive model for human disease growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 293:25-31.
- Giurfa, M. (2003). Cognitive neuroethology: dissecting non-elemental learning in honeybee brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 13:726-735.
- Giurfa, M. (2007). Behavioral and neural analysis of associative learning in the honeybee: A taste from the magic well. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology*, 193:801-824.
- Glenn, C.F., Chow, D.K., Gami, M.S., Iser, W.B., Hanselman, K.B. & Wolcow, C.A. (2004). Behavioral deficits during early stages of aging in *Caenorhabditis elegans* result from locomotory deficits possibly linked to muscle frailty. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 59:1251-1260.
- Gotts, N.M. & Vollrath F. (1992). Physical and theoretical features in the simulation of animal behavior: The spider's web. *Cybernetics and Systems*, 23:41-65.
- Gower, A.J. & Lamberty, Y. (1993). The aged mouse as a model of cognitive decline with special emphasis on studies in NMRI mice. *Behavioural Brain Research*, 57:163-173.
- Gray, P.B. & Garcia, J.R. (2012). Aging and human sexual behavior: biocultural perspectives - a mini review. *Gerontology*, 58(5):446-452.
- Grotewiel, M.S., Martin, I., Bhandari, P. & Cook-Wiens, E. (2005). Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Research Reviews*, 4:372-397.
- Guarente, L. & Kenyon, C. (2000). Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, 408(6809):255-62.
- Guehrs, K.H., Schlott, B., Grosse, F. & Weisshart, K. (2008). Environmental conditions impinge on dragline silk protein composition. *Insect Molecular Biology*, 17(5):553-564.



- Habib, U., Rehman, Ewan, A. & Masson, A. (2001). Neuroendocrinology of ageing. *Age and Ageing*, 30:279-287.
- Hamilton, W.D. (1966). The moulding of senescence by natural selection. *Journal of Theoretical Biology*, 12(1):12-45.
- Hausman, M.F., Vleck, C.M. & Nisbet, I.C. (2003). Calibrating the telomere clock in common terns, *Sterna hirundo*. *Experimental Gerontology*, 38(7):787-789.
- Hayflick, L. (2000). The future of ageing. *Nature*, 408:267-269.
- Heiling, A.M. & Herberstein, M.E. (1998). The web of *Nuctenea scolopetaria* (Araneae, Araneidae): relationship between body size and web design. *The Journal of Arachnology*, 26:91-96.
- Heiling, A.M. & Herberstein, M.E. (1999). The role of experience in web-building spiders (Araneidae). *Animal Cognition*, 2:171-177.
- Heiling, A.M. & Herberstein, M.E. (2000). Interpretations of orb-web variability: a review of past and current ideas. *Ekologia-Bratislava*, 19:97-106.
- Helfand, S.L. & Rogina, B. (2000). Regulation of gene expression during aging. *The Molecular Genetics of Aging*, 29:67-80.
- Herberstein, M.E. & Heiling, A.M. (1999). Asymmetry in spider orb webs: a result of physical constraints? *Animal Behaviour*, 58:1241-1246.
- Herberstein, M.E. (2011). Spider Behaviour. Flexibility and Versatility. *Cambridge University Press*, 391p.
- Herbig, U., Ferreira, M., Condell, L., Carey, D. & Sedivy, J.M. (2006). Cellular senescence in aging primates. *Science*, 311(5765):1257.
- Hesselberg, T. (2010). Ontogenetic changes in web design in two orb-web spiders. *Ethology*, 116:535-545.
- Hesselberg, T. (2012). Web-building flexibility differs in two spatially constrained orb spiders. *Journal of Insect Behaviour*, 1-21. Doi:10.1007/s10905-012-9335-7.
- Hesselberg, T. & Vollrath, F. (2004). The effects of neurotoxins on web-geometry and web-building behavior in *Araneus diadematus* Cl. *Physiology & Behaviour*, 82:519-529.
- Hieber, C.S. (1984). Orb-web orientation and modification by the spiders *Araneus diadematus* and *Araneus gemmoides* (Araneae: Araneidae) in response to wind and light. *Journal of Comparative Ethology*, 65:250-260.
- Higgins, L.E. & Buskirk, R.E. (1992). A trap-building predator exhibits different tactics for different aspects of foraging behavior. *Animal Behaviour*, 44:485-499.
- Hongbao, M.A. & Yang Yan. (2010). *Turritopsis nutricula*. *Nature and Science*, 8(2):15-20.



- Holleley, C.E., Dickman, C.R., Crowther, M.S. & Oldroyd, B.P. (2006). Size breeds success: multiple paternity, multivariate selection and male semelparity in a small marsupial, *Antechinus stuartii*. *Molecular Ecology*, 15(11):3439-48.
- Holmes, D.J. & Kristan, D.M. (2008). Comparative and alternative approaches and novel animal models for aging research: introduction to special issue. *Age*, 30(2-3):63-73.
- Holmes, D.J. & Ottinger, M.A. (2003). Birds as long-lived animal models for the study of aging. *Experimental Gerontology*, 38(11-12):1365-75.
- Hsin, H. & Kenyon, C. (1999). Signals from the reproductive system regulate the lifespan of *C. elegans*. *Nature*, 399:362-366.
- Hu, H.H. & Morse, D.H. (2004). The effect of age on encounters between male crab spiders. *Behavioral Ecology*, 15:883-888.
- Jaskelioff, M., Muller, F.L., Paik, J.H., Thomas, E., Jiang, S., Adams, A.C., Sahin, E., Kost-Alimova, M., Protopopov, A., Cadiñanos, J., Horner, J.W., Maratos-Flier, E. & DePinho, R.A. (2010). Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature*, 469:102-106.
- Jeandel, C. (2005). Les différents parcours du vieillissement. *Les Tribunes de la santé* 2, 7:25-35.
- Jemielity, S., Chapuisat, M., Parker, J.D. & Keller, L. (2005). Long live the queen: studying aging in social insects. *Biomedical and life Sciences*, 27(3):241-248.
- Joeng, K.S., Song, E.J., Lee, K.J. & Lee, J. (2004). Long lifespan in worms with long telomeric DNA. *Nature Genetics*, 36(6):607-611.
- Johnson, S.A. & Jakob, E.M. (1999). Leg autotomy in a spider has minimal costs in competitive ability and development. *Animal Behaviour*, 57:957-965.
- Jones, D. (1983). Guide des Araignées et des Opilions d'Europe. *Paris: Editions Delachaux et Niestlé*.
- Jones, M. & Grotewiel, M.S. (2011). *Drosophila* as a model for age-related impairment in locomotor and others behaviours. *Experimental Gerontology*, 46(5):320-325.
- Jones, T.C., Akoury, T.S., Hauser, C.K., Neblett, M.F., Linville, B.J., Edge, A.A. & Weber, N.O. (2011). Octopamine and serotonin have opposite effects on antipredator behavior in the orb-weaving spider, *Larinioides cornutus*. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural and Behavioral Physiology*, 197(8):819-25.
- Juberthie, C. (1954). Sur les cycles biologiques des Araignées. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle de Toulouse*, 89:299-318.



- Karloovich, C.A., John, R.M., Ramirez, L., Stainier, D.Y. & Myers, R.M. (1998). Characterization of the Huntington's disease (HD) gene homologue in the zebrafish *Danio rerio*. *Gene*, 217:117-125.
- Keller, E.T. & Murtha J.M. (2004). The use of mature zebrafish (*Danio rerio*) as a model for human ageing and disease. *Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 138(3): 335-341.
- Keller, L. & Jemielity, S. (2006). Social insects as a model to study the molecular basis of ageing. *Experimental Gerontology*, 41:553-556.
- Kirkwood, T.B.L. & Austad, S.N. (2000). "Why do we age?". *Nature*, 408(6809):233-238.
- Kirkwood, T.B.L. & Holliday, R. (1979). The evolution of ageing and longevity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 205:531-546.
- Kirkwood, T.B.L. & Rose, M.R. (1991). Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 332(1262):15-24.
- Koh, K., Evans, J.M., Hendricks, J.C. & Sehgal, A. (2006). A *Drosophila* model for age-associated changes in sleep:wake cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (Washington, DC)*, 103:13843-7.
- Korey, C.A. (2007). We hold these truths to be self-evident, that all flies and men are created equal: Recent progress on human disease models. *Fly (Austin)*, 1:118-122.
- Krebs, J. R. (1978). Optimal foraging: decision rules for predators. Ch. 2 in: Krebs, J.R. & Davies N.B. (eds.). *Behavioural Ecology: and evolutionary approach*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Krink, T. & Vollrath, F. (1997). Analysing spider web-building behaviour with rule-based simulations and genetic algorithms. *Journal of Theoretical Biology*, 185:321-331.
- Krink, T. & Vollrath, F. (1998). Emergent properties in the behaviour of a virtual spider robot. *Proceedings of the Royal Society B*, 265:2051-2055.
- Krink, T. & Vollrath, F. (1999). A virtual robot to model the use of regenerated legs in a web-building spider. *Animal Behaviour*, 57:223-232.
- Krink, T. & Vollrath, F. (2000). Optimal area use in orb webs of the spider *Araneus diadematus*. *Naturwissenschaften*, 87:90-93.
- Kropf, C., Bauer, D., Scläppi, T. & Jacob, A. (2011). An organic coating keeps orb-weaving spiders (Araneae, Araneoidea, Araneidae) from sticking to their own capture threads. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 50(1):14-18.



- Kunter, M., Gregoric, M. & Li, D. 2010. Mass predicts web asymmetry in *Nephila* spiders. *Naturwissenschaften*, 97, 1097-1105.
- Languille, S., Blanc, C., Blin, O., Canal, C.I., Dal-Pan, A., Devau, G., Dhenain, M., Dorieux, O., Epelbaum, J., Gomez, D., Hardy, I., Henry, P-Y., Irving, E.A., Marchal, J., Mestre-Francés, N., Perret, M., Picq, J.L., Pifferi, F., Rahman, A., Schenker, E., Terrien, J., Théry, M., Verdier, J.M. & Aujard, F. (2012). The grey mouse lemur: A non-human primate model for ageing study. *Ageing Research Reviews*, 11(1):150-162.
- Laloi, D., Gallois, M., Roger, B. & Pham-Delègue, M.H. (2001). Changes with age in olfactory conditioning performance of worker honey bees (*Apis mellifera*), *Apidologie*, 32(3):231-242.
- Le bourg, E. (1983). Patterns of movement and ageing in *Drosophila melanogaster*. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 2(4):299-306.
- Le bourg, E. (1987). The rate of living theory. Spontaneous locomotor activity, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 22(5):359-369.
- Le Bourg, E. & Minois N. (1999). A mild stress, hypergravity exposure, postpones behavioral aging in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology*, 34(2):157-172.
- Leborgne, R., Lubin, Y. & Pasquet, A. (2011). Kleptoparasites influence foraging behaviour of the spider *Stegodyphus lineatus* (Araneae, Eresidae). *Insectes Sociaux*, 58:255-261.
- Leborgne, R. & Pasquet, A. (1987). Influences of aggregative behavior on space occupation in the spider *Zygiella x-notata* (Clerck). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20:203-208.
- Lecomte, V.J., Sorci, G., Cornet, S., Jaeger, A., Faivre, B., Arnoux, E., Gaillard, A., Trouvé, C., Besson, D., Chastel, O. & Weimerskirch, H. (2010). Patterns of aging in the long-lived wandering albatross. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*, 107(14):6370-6375.
- Le guelte, L. (1966). Structure de la toile de *Zygiella-x-notata* Cl. et facteurs qui régissent le comportement de l'araignée pendant la construction de la toile. Ph.D. Thèse, Université de Nancy, France.
- Leffelaar, D., Grigliatti, T. (1984). Age-dependent behavior loss in adult *Drosophila melanogaster*. *Developmental Genetics*, 4(3):211-227.
- Levi, H.W. (1978). Orb-weaving spiders and their webs. *American Scientist*, 66:734-742.
- Li, D. & She Lee, W. (2004). Predator-induced plasticity in web-building behaviour. *Animal Behaviour*, 67:309-318



- Liao, C.P., Chi, K.J. & Tso, I-M. (2009). The effects of wind on trap structural and materials properties of a sit-and-wait predator. *Behavioral Ecology*, 20(6):1194-1203.
- Llandres, A.L. & Rodríguez-Gironés, M.A. (2011). Spider movement, UV reflectance and size, but not spider crypsis, affect the response of honeybees to Australian crab spiders. *PLoS One*, 6(2):e17136.
- Lliadi, K.G. & Boulianne, G.L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1197:9-18.
- Lubin, Y. (1973). Web structure and function: the non-adhesive orb web of *Cyrtophora moluccensis* (Dolleschall) (Araneae: Araneidae). *Form & Function* 6:337-358.
- Lubin, Y. (1986). Web building and prey capture in the Uloboridae. In: Spider: webs, behavior, and evolution (Shear WS, ed). *Stanford, California: Stanford University Press*, pp132-171.
- Lukowiak, K., Ringseis, E., Spencer, G., Wildering, W. & Syed, N. (1996). Operant conditioning of aerial respiratory behaviour in *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Experimental Biology*, 199(3):683-691.
- Maklakov, A.A., Fricke, C. & Arnqvist, G. (2007). Sexual selection affects lifespan and aging in the seed beetle. *Aging Cell*, 6:739-744.
- Mayer, G. (1952). Untersuchungen über die Herstellung und Struktur des Radnetzes von *Aranea diademata* und *Zilla-x-notata* mit besonderer Berücksichtigung des Unterschiedes von Jugend und Altersnetzen. *Zeitschrift für tierzucht und zuchtungsbiologie-journal of animal breeding and genetics*, 9:337-364.
- Medioni, C., Senator, S., Salmand, P.A., Lalevee, N., Perrin, L. & Semeriva, M. (2009). The fabulous destiny of the *drosophila* heart. *Current Opinion in Genetics and Development*, 19:518-525.
- Medvedev, Z.A. (1990). An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biological Reviews*, 65(3):375-398.
- Menzel, R. (1999). Memory dynamics in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A*, 185:323-340.
- Menzel, R. & Giurfa, M. (2006). Dimensions of cognition in an insect, the honeybee. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 5:24-40.
- Mery, F. (2007). Aging and its differential effects on consolidated memory forms in *Drosophila*. *Experimental Gerontology*, 42(1-2):99-101.
- Moe, B., Ronning, B., Verhulst, S. & Bech, C. (2009). Metabolic aging in individual *Zebra finches*. *Biology Letters*, 5:86-89.



- Monaco, T.O. & Silveira, P.S. (2009). Aging is not senescence: a short computer demonstration and implications for medical practice. *Clinics*, 64(5):451-457.
- Monaghan, P., Charmantier, A., Nussey, D. H. & Ricklefs, R. E. (2008). The evolutionary ecology of senescence. *Functional Ecology*, 22, 371-378.
- Moya-Laraño, J. (2002). Senescence and food limitation in a slowly ageing spider. *Functional Ecology*, 16(6):734-741.
- Muller, K. (2011). Effets de l'âge chez une araignée à toile géométrique : anomalies de construction et corrélats physiologiques. *Rapport de stage de Master 2*.
- Münch, D., Baker, N., Kreibich, C.D., Braten, A.T. & Amdam, G.V. (2010). In the laboratory and during free-flight: old honey bees reveal learning and extinction. *PLoS ONE*, 5(10): e13504.
- Murakami, S. & Murakami, H. (2005). The effects of aging and oxidative stress on learning behavior in *C. elegans*. *Neurobiology of Aging*, 26:899-905.
- Nakata, K. & Zschokke, S. (2010). Upside-down spiders build upside-down orb webs: web asymmetry, spider orientation and running speed in *Cyclosa*. *Proceeding of the Royal Society of London, Series B*, 277:3019-3025.
- Nass, R. Miller, D.M. & Blakely, R.D. (2001). *C. elegans*: a novel pharmacogenetic model to study Parkinson disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 7(3):185-191.
- Omholt, S.W. & Amdam, G.V. (2004). Epigenic regulation of aging in honeybee workers. *Science of Aging Knowledge Environment*, (26):pe28.
- Opell, B.D., Schwend, H.S. & Vito, S.T. (2011). Constraints on the adhesion of viscous threads spun by orb-weaving spiders: the tensile strength of glycoprotein glue exceeds its adhesion. *Journal of Experimental Biology*, 214(13):2237-2241.
- Papadopoulos, N.T., Carey, J.R., Katsoyannos, B.I., Kouloussis, N.A., Müller, H-G. & Liu, X. (2002). Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitis capitata*). *Proceedings of the Royal Society B*, 239: 1633-1637.
- Partridge, L. & Barton, N.H. (1993). Optimally, mutation and the evolution of ageing. *Nature*, 362:305-311.
- Pasquet, A., Leborgne, R. & Lubin, Y. (1999). Previous foraging success influences web-building in the spider *Stegodyphus lyneatus* (Eresidae). *Behavioral Ecology*, 10:115-121.
- Pasquet, A., Anotaux, M. & Leborgne, R. (2011). Loss of legs: is it or not a handicap for an orb-weaving spider? *Naturwissenschaften*, 98(7):557-64.
- Peakall, D. B. (1971). Conservation of web proteins in the spider *Araneus diadematus*. *Journal of Experimental Zoology*, 176: 257-264.



- Perez-Campo, R., Lopez-Torres, M., Cadenas, S., Rojas, C. & Barja, G. (1998). The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *Journal of Comparative Physiology Part B*, 168:149-158.
- Perret, M. & Aujard, F. (2006). Vieillesse et rythmes biologiques chez les primates. *Médecine Sciences*, 22:279-283.
- Pervez, A., Omkar, Richmond, A.S. (2004). The influence of age on reproductive performance of the predatory ladybird beetle, *Propylea dissecta*. *The Journal of Insect Science*, 4:22.
- Picq, J.L. (2007). Aging affects executive functions and memory in mouse lemur primates. *Experimental Gerontology*, 42(3):223-232.
- Pison, G. (2008). « L'avenir démographique des pays du Sud » Les certitudes et les interrogations, *Revue économique*, 59(5):869-891.
- Pribram, K.H. (1973). The comparative psychology of communication: The issue of grammar and meaning. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 223:135-143.
- Ramousse, R. & Le Guelte, L. (1984). Stratégies de construction de la toile chez deux espèces d'araignées (*Araneus diadematus* et *Zygiella x-notata*). *Revue Arachnologique*, 5: 255-265.
- Ramousse, R. (1988). Genèse et régulation du comportement constructeur chez quelques araignées orbitèles: de la vie de groupe à la toile individuelle. *Thèse doctorat d'état, Lyon*, pp1-228.
- Reed, C.F., Witt, P.N. & Jones, R.L. (1965). The measuring function of the first legs of *Araneus diadematus* Cl. *Behaviour*, 25(1-2):98-119.
- Rhisiart, A. & Vollrath, F. (1994). Design features of the orb web of the spider, *Araneus diadematus*. *Behavioral Ecology*, 5:280-287.
- Ricklefs, R. E. (2010). Insights from comparative analyses of aging in birds and mammals. *Aging Cell*, 9(2), 273-284.
- Ridgel, A.L., Ritzmann, R.E. & Schaefer, P.L. (2003). Effects of aging on behavior and leg kinematics during locomotion in two species of cockroach. *The Journal of Experimental Biology*, 206(24):4453-4465.
- Ridgel, A.L. & Ritzmann, R.E. (2005). Insights into age-related locomotor declines from studies of insects. *Ageing Research Reviews*, 4:23-39.
- Roberts, M. J. (1996). Spiders of Britain and Northern Europe. *London: Harper Collins*, 383pp.
- Rose, M.R. (1991). Evolutionary biology of aging. *Oxford University Press*.



- Salomon, M. (2007). Western black widow spiders express state-dependent web-building strategies tailored to the presence of neighbours. *Animal Behaviour*, 73:865-875.
- Sandoval, C.P. (1994). Plasticity in web design in the spider *Parawixia bistriata*: a response to variable prey type. *Functional Ecology*, 8:701-707.
- Sang, T-K. & Jackson, G.R. (2005). *Drosophila* models of neurodegenerative disease. *NeuroRX*, 2(3):438-446.
- Scharf, I., Lubin, Y. & Ovadia, O. (2011). Foraging decisions and behavioural flexibility in trap-building predators : a review. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 86(3):626-639.
- Scheiner, R. & Amdam, G.V. (2009). Impaired tactile learning is related to social role in honeybees. *Journal of Experimental Biology*, 212:994-1002.
- Schneider, J.M. & Vollrath, F. (1998). The effect of prey type on the geometry of the capture web of *Araneus diadematus*. *Naturwissenschaften*, 85(8):391-394.
- Sebastiani, P., Solovieff, N., DeWan, A.T., Walsh, K.M., Puca, A., Hartley, S.W., Melista, E., Andersen, S., Dworkis, D.A., Wilk, J.B., Myers, R.H., Steinberg, M.H., Montano, M., Baldwin, C.T., Hoh, J. & Perls, T.T. (2012). Genetic Signatures of Exceptional Longevity in Humans. *PLoS ONE*, 7(1): e298487.
- Seehuus, S.C., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T. & Amdam, G.V. (2006a). Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103:962-967.
- Seehuus, S.C., Krekling, T. & Amdam, G.V. (2006b). Cellular senescence in honey bee brain is largely independent of chronological age. *Experimental Gerontology*, 41:117-1125.
- Sensenig, A.T., Agnarsson, I. & Blackledge, T.A. (2010). Behavioural and biomaterial coevolution in spider orb webs. *Journal of Evolutionary Biology*, 23:1839-1856.
- Sensenig, A.T., Agnarsson, I. & Blackledge, T.A. (2011). Adult spiders use tougher silk: ontogenetic changes in web architecture and silk biomechanics in the orb-weaver spider. *Journal of zoology*, 285:28-38.
- Seyfarth, E.A., Hammer, K., Spöhrhase-Eichmann, U., Hörner, M. & Vullings, H.G. (1993). Octopamine immunoreactive neurons in the fused central nervous system of spiders. *Brain Research*. 611(2): p197-206.
- Shaw, P.J., Cirelli, C., Greenspan, R.J. & Tononi, G. (2000). Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5459):1834-1837.
- Sherman, P.M. (1994). The orb-web: an energetic and behavioural estimator of a spider's dynamic foraging and reproductive success. *Animal Behaviour*, 48:19-34.



- Simon, A.F. & Liang, D.T. & Krantz, D.E. (2006). Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing Development*, 127:647-651.
- Slade, D. & Radman, M. (2011). Oxidative stress resistance in *Deinococcus radiodurans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(1):133-191.
- Stephenson, R., Chu, K.M. & Lee, J. (2007). Prolonged deprivation of sleep-like rest raises metabolic rate in the Pacific beetle cockroach, *Diploptera punctata* (Eschscholtz), *Journal of Evolutionary Biology*, 210(14):2540-2547.
- Thévenard, L., Leborgne, R. & Pasquet, A. (2004). Web-building management in an orb-weaving spider, *Zygiella x-notata*: influence of prey and conspecifics. *Comptes Rendus. Biologies*, 327:84-92.
- Tofilski, A. (2000). Senescence and learning in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *ACTA Neurobiologiae Experimentalis*, 60:35-39.
- Toscani, C., Leborgne, R. & Pasquet, A. (2012). Behavioural analysis of web building anomalies in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Arachnologische Mitteilungen*, 43:45-49.
- Townley, M.A. & Tillinghast, E.K. (1988). Orb web recycling in *Araneus cavaticus* (Araneae, Araneidae) with emphasis on the adhesive spiral component, GABamide. *The Journal of Arachnology*, 16(3):303-319.
- Townley, M. A., Tillinghast, E. K. & Neefus, C. D. (2006). Changes in composition of orb web sticky droplets with starvation and web removal, and synthesis of sticky droplet compounds. *The Journal of Experimental Biology* 209:1463-1486.
- Tso, I. M., Wu, H. C. & Hwang, I. R. (2005). Giant wood spider *Nephila pilipes* alters silk protein in response to prey variation. *Journal of Experimental Biology*, 208:1053-1061.
- Turner, J., Vollrath, F. & Hesselberg, T. (2011). Wind speed affects prey-catching behaviour in an orb web spider. *Naturwissenschaften*, 98(12):1063-1067.
- Uetz, G.W. (1992). Foraging strategies of spiders. *Trends in Ecology & Evolution*, 7:155-158.
- Van Remmen, H., Qi, W., Sabia, M., Freeman, G., Estlack, L., Yang, H., Mao Guo, Z., Huang, T.T., Strong, R., Lee, S., Epstein, C.J. & Richardson, A. (2004). Multiple deficiencies in antioxidant enzymes in mice result in a compound increase in sensitivity to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(12):1625-1634.
- Venner, S., Pasquet, A. & Leborgne, R. (2000). Web-building behaviour in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*: influence of experience. *Animal Behaviour*, 59:603-611.



- Venner, S., Thevenard, L., Pasquet, A. & Leborgne, R. (2001). Estimation of the web's capture thread length in orb-weaving spiders: Determining the most efficient formula. *Annals of the Entomological Society of America*, 94(3):490-496.
- Venner, S., Bel-Venner, M.C., Pasquet, A. & Leborgne, R. (2003). Body mass dependent cost of web-building behavior in an orb-weaving spider, *Zygiella x-natata*. *Naturwissenschaften*, 90:269-272.
- Venner, S. & Casas, J. (2005). Spider webs designed for rare but life-saving catches. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 272:1587-1592.
- Venner, S., Chadès, Iadine., Bel-Venner, M-C., Pasquet, A., Charpillet, F. & Leborgne, R. (2006). Dynamic optimization over infinite-time horizon : web-building strategy in an orb-weaving spider as a case study. *Journal of Theoretical Biology*, 241: 725-733.
- Vleck, C.M., Haussmann, M.F. & Vleck, D. (2003). The natural history of telomeres: tools for aging animals and exploring the aging process. *Experimental Gerontology*, 38(7):791-795.
- Vleck, C.M., Haussmann, M.F. & Vleck, D. (2007). Avian senescence: underlying mechanisms. *Journal of Ornithology*, 148:611-624.
- Vollrath, F., Downes, M. & Krackow, S. (1997). Design variability in web geometry of orb-weaving spider. *Physiology & Behavior*, 62:735-743.
- Vollrath, F. & Norgaard, T. (2000). Radius orientation in the cross spider *Araneus diadematus*. *European Arachnology*, 107-116.
- Vollrath, F. & Selden, P. (2007). The role of behavior in the evolution of spiders, silks, and webs. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 38:819-846.
- Vollrath, F. & Tillinghast, E.K. (1991). Glycoprotein glue beneath a spider web's aqueous coat. *Naturwissenschaften*, 78:557-559.
- Vollrath, F. & Mohren, W. (1985): Spiral geometry of the garden spider's orb web. *Naturwissenschaften*, 72: 666-667.
- Vollrath, F. (1986). Gravity as an orientation guide during web-construction in the orb spider *Araneus diadematus* (Araneae, Araneidae). *Journal of Comparative Physiology A*, 159:275-280.
- Vollrath, F. (1987). Altered geometry of webs in spiders with regenerates legs. *Nature*, 328:247-248.
- Vollrath, F. (1988). Spiral orientation of *Araneus diadematus* orb webs built during vertical rotation. *Journal of Comparative Physiology A*, 162:413-419.



- Vollrath, F. (1992). Analysis and interpretation of orb spider exploration and web-building behavior. *Advances in the study of behavior*, 21:147-199.
- Vollrath, F. (2000). Strength and structure of spiders' silks. *Reviews in Molecular Biotechnology*, 74:67-83.
- Vollrath, F. (2000). Coevolution of behaviour and material in the spider's web. In *Biomechanics in Animal Behaviour*, 315–329.
- Williams, G.C. (1957). Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution*, 11:398-411.
- Williams, P.L., Anderson, G.L., Johnstone, J.L., Nunn, A.D., Tweedle, M.F. & Wedeking, P. (2000). *Caenorhabditis elegans* as an alternative animal species. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, 61:641-647.
- Wilson-Sanders, S.E. (2011). Invertebrate models for biomedical research, testing, and education. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 52:126-156.
- Witt, P.N. & Reed, C.F. (1965): Spider-web building. *Science*, 149: 1190-1197.
- Witt, P.N. (1971). Drugs alter web-building of spiders: a review and evaluation. *Behavioral Sciences*, 16(1):98-113.
- Witt, P.N., Rawlings, J.O. & Reed, C.F. (1972). Ontogeny of web building behaviour in two orb-weaving spiders. *Integrative and Comparative Biology*, 12(3):445-454.
- Yeoman, M.S. & Faragher, R.G.A. (2001). Ageing and the nervous system: insights from studies on invertebrates. *Biogerontology*, 2:85-97.
- Zschokke, S. & Vollrath, F. (1995a). Unfreezing the behaviour of two orb spiders. *Physiology and Behavior*, 58(5):1167-1173.
- Zschokke, S. & Vollrath, F. (1995b). Web construction patterns in a range of orb-weaving spiders (Araneae). *European Journal of Entomology*, 92(3):523-541.
- Zschokke, S. (1997). Factors influencing the size of the orb web in *Araneus diadematus*. *Proceedings of the 16th European Colloquium of Arachnology*, 329-334.
- Zschokke, S. (1999). Nomenclature of the orb-web. *Journal of Arachnology*, 27:542-546.
- Zschokke, S. (2000). Form and function of the orb-web. *European Arachnology Aarhus University Press*, 99-106.
- Zschokke, S. (2011). Spiral and web asymmetry in the orb webs of *Araneus diadematus* (Araneae, Araneidae). *The Journal of Arachnology*, 39:358-362.



Annexes





Article 6

Loss of legs : is it or not a handicap for an orb-weaving spider?

Alain Pasquet^{1,*}, **Mylène Anotaux**¹, Raymond Leborgne¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

* Corresponding author : Alain Pasquet,

E-mail : alain.pasquet@univ.lorraine.fr

Naturwissenschaften

Loss of legs: is it or not a handicap for an orb-weaving spider?

Alain Pasquet · Mylène Anotaux · Raymond Leborgne

Received: 4 February 2011 / Revised: 7 April 2011 / Accepted: 8 April 2011 / Published online: 28 April 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract Leg loss is a common phenomenon in spiders, and according to the species 5% to 40% of the adults can present at least one missing leg. There is no possibility of regeneration after adult moult and the animal must manage with its missing appendages until its death. With the loss of one or more legs, female orb-weaving spiders can be penalized twice: firstly, because the legs are necessary for web construction and secondly, the legs are essential for the control of the prey after its interception by the web. During development, spiders may be also penalized because regeneration has energetic costs that take away resources for survival, growth and reproduction. All these consequences should influence negatively the development of the spider and thus its fitness. We investigated the impact of leg loss in the orb-weaving spider, *Zygiella x-notata* by studying its frequency in a natural population and web building and prey capture behaviours in laboratory. In field populations, 9.5% to 13%, of the adult females presented the loss of one or more legs; the majority of individuals had lost only one leg (in 48% of cases, a first one). Leg loss seems to affect all the adult spiders, as there is no difference of mass between intact spiders and those with missing leg. Data obtained with laboratory-reared spiders, showed that the loss of legs due to the moult is rare (less than 1%).

Considering changes in web design, spiders with missing legs decreased their silk investment, increased the distance between spiral turns but did not change the capture surface of the web. Under our laboratory experimental conditions, spiders with one or two lost legs did not present any difference in prey capture efficiency. In laboratory conditions, spiders with lost leg(s) did not show any difference in egg sac production or in longevity (adult lifespan) compared to intact spiders.

Keywords Autotomy · Spider · *Zygiella x-notata* · Web construction · Prey capture

Introduction

Autotomy is found in multiple taxa, but is especially common in invertebrates (Crustacea, Echinodermata, Insecta, Arachnida) and only rarely in a few vertebrate species (Reptilia, Amphibia, Osteichthyes; for review see Maginnis 2006). Autotomy consists of the capacity of losing a grabbed or blocked appendage by reflex, and can be followed in some species by the regeneration of the lost limb. In arthropods, it can appear in three main situations: to escape from a predator, to flee from a conspecific during fight or to release the individual from the exuviae during a faulty moult (for review see Maginnis 2006; Fleming et al. 2007).

The loss of an appendage could first be viewed as a handicap, resulting in the reduction of mobility and in perturbations of the behaviours using this appendage (locomotion, web construction, escape from predation and reduced mobility for reproduction; Uetz et al. 1996; Taylor et al. 2006; Brock and Smith 1998). Autotomy could thus generate high costs in terms of survival in a

Communicated by: Sven Thatje

A. Pasquet · M. Anotaux
Université de Strasbourg, IPHC, DEPE, CNRS UMR7178,
23 rue Becquerel,
67087 Strasbourg, France

A. Pasquet (✉) · M. Anotaux · R. Leborgne
Laboratoire: Expression and Evolution des Comportements,
Université Henri Poincaré, Nancy-Université,
B.P. 239, 54506 Vandœuvre-Les-Nancy, France
e-mail: alain.pasquet@scbiol.uhp-nancy.fr

long-term perspective. However, to evolve as an adaptive trait, it is necessary that the benefits of autotomy (escape from the critical situation) at least equal or overcome the costs (Maginnis 2006, and for review see Fleming et al. 2007).

Observations of spiders missing one or more appendages have been reported and, depending on species, up to 40% of field caught adults can be found missing at least one leg (Eisner and Camazine 1983; Formanowicz 1990; Vollrath 1990). However, only a few studies investigated the consequences of this loss on the reproductive and predatory capacities of individuals. Johnson and Jakob (1999) showed that in male *Holocnemus pulchei* (a spider building an irregular web), the loss of one or more legs had limited consequences on the competitive ability of the injured males. From a theoretical point of view, Guffey (1999) proposed the ‘spare-leg’ hypothesis for arachnids, where individuals may lose up to three legs before experiencing more than a minimal cost. More recently, Lutz and Morse (2008) showed that males *Misumena vatia* (a wandering species without a web) having lost one or more legs had reduced mobility, but this was also related to a lower physical condition of these individuals. Thus when it comes to the effect of leg loss on prey capture, some studies showed negative effects (Amaya et al. 2001; Wrinn and Uetz 2008), while other studies showed no effect (Brueseke et al. 2001; Rypstra et al. 2007).

In orb-weaving spiders, the use of the eight legs is of extreme importance during web construction. Indeed, a full complement of leg is utilized during the installation of various types of silk (framework threads, radii, sticky spirals; Foelix 1996). After autotomy, juvenile individuals may regenerate the lost appendage during a subsequent moult. It is known however that a regenerated leg, which is generally shorter than a normal one, generates structural modifications of the web (Witt et al. 1968; Vollrath 1987). When autotomy occurs in adults, which are not able to moult anymore, regeneration is not possible. Then, for orb-weaving spiders during their adult life, autotomy could first result in the modification of construction behaviours, inducing possible alterations of the web properties, and thus decreased prey interception efficiency. Secondly, handicapped spiders could be less efficient in locomotor activity to capture the prey. In these cases, autotomy could disturb female fitness (since males do not build webs as adults), in particular by reducing the accumulation of reserves necessary for egg development. This could be increased by the costs of regeneration or cicatrizing processes that take resources from survival, growth and reproduction.

Compared to previous studies focusing on spiders that do not build webs (Amaya et al. 2001; Wrinn and Uetz 2008; Brueseke et al. 2001; Rypstra et al. 2007), the handicap for adult orb-weaving spiders that are unable to

regenerate lost appendages as adults could be twofold. The loss of one or more legs could have consequences firstly on the structure and the efficiency of the trap, and secondly, on the capture behaviour. In this paper, we investigated the effects of leg loss on the predatory behaviour of adult females of the orb-weaving spider *Zygiella x-notata* (Clerck) (Araneae, Araneidae). We estimated the occurrence of leg loss in field populations, and in laboratory experiments, we approached the impact of leg loss by studying its consequences for web structure and prey capture efficiency. As autotomy is a biological process and leg loss is what we observed in the spiders, we will use the terminology ‘leg loss’ in our work.

Material and methods

Spiders

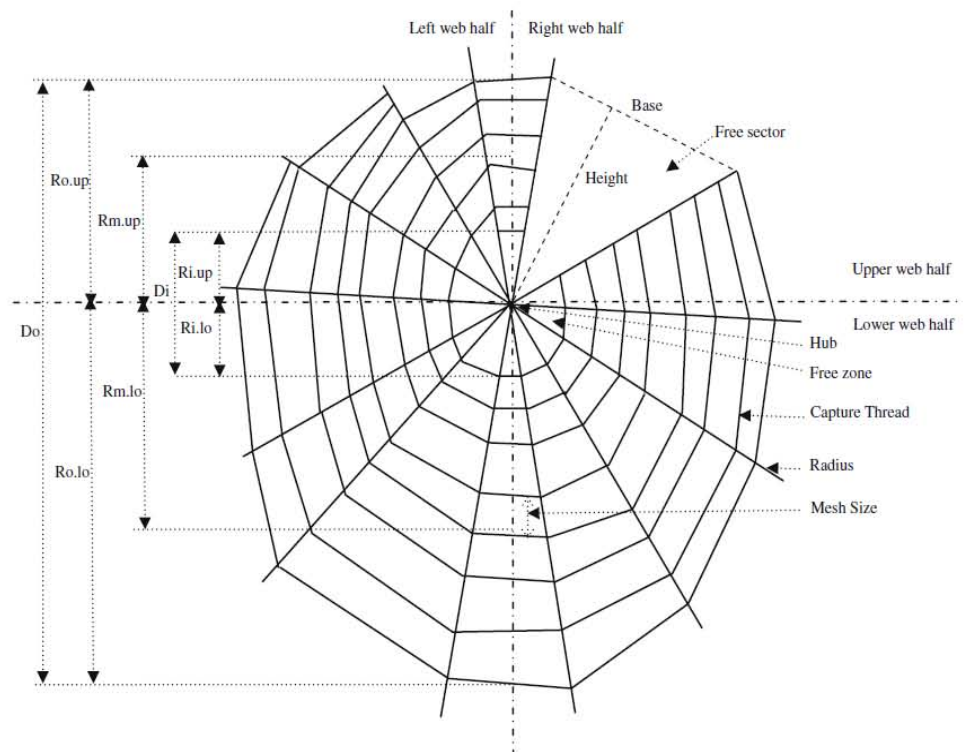
Zygiella x-notata is a small spider (adult female, 5 to 7 mm) that builds a geometrical web and occupies preferentially the outside of human constructions. It feeds primarily on flying prey (generally Diptera) intercepted by its web. Juveniles and adult females build a web that is renewed frequently (almost daily). Once adults, males search for females and do not build web anymore. In the study area (Lorraine, east of France), adult females can be found from July until the end of October. Reproduction takes place in autumn, and females lay several egg sacs before winter. Juveniles leave the egg sacs the following spring and undergo several moults before becoming adults (Roberts 1996).

The geometrical web of *Z. x-notata* is characterized by the presence of a free sector with a signal thread that connects the hub with the retreat (Fig. 1), where the spider rests most of the time. During prey capture, the spider must go to the hub of the web to reach the prey. Then the prey is bitten, wrapped with silk and transported to the retreat where it is ingested.

Studied populations

Spiders were collected in the fields from July to November 2008, and from August to October 2009 from different sites located in the surroundings of Nancy (France). In the laboratory, spiders were examined with a binocular magnifying glass to determine their developmental stage (sub-adult or adult), their sex and the number of missing legs. After that, they were put into individual plastic boxes (10×7×2 cm), and maintained under the following conditions: temperature 20°C, humidity 50% to 55%, 12-h-light cycles (lights on from 8 am to 8 pm). Spiders were fed once a week with a fly (*Lucilia caesar*) and provided with water

Fig. 1 Representation of an orb-web of *Zygiella x-notata*. Parameters used to calculate the capture thread length; Do and Di are the outermost and innermost diameters and Ro , Ri and Rm the outermost, innermost and median radii, respectively, in the upper (*up*) and lower (*lo*) parts of the web. The parameters used to estimate the free sector area (*triangle*) are: the height, and the length of the base (according to Venner et al. 2001). Area of free sector is used to calculate the capture area of the web



spread on the box, and they were checked every day to note deaths and moults.

After their capture (2008 and 2009), some adult females (with or without missing legs) brought back to the laboratory laid egg sacs. The number of egg sacs produced in the laboratory by each female was noted. By determining the date of the imaginal moult in the laboratory, for sub-adult females (collected in 2008 and 2009), we calculated their adult longevity under laboratory-standardized conditions (food, humidity and temperature): longevity was equal to the difference in days between the date of moult and this of death. As prey capture efficiency may be dependent on spider size, several measurements were made on spiders after their death using a binocular with a micrometre (preciseness, 1/100 mm). Femur, tibia, metatarsus and tarsus were measured on the four right legs from a dorsal view, to evaluate total length of each leg. The length and the width of the cephalothorax and the length of the sternum were also measured. Missing right-sided legs resulted in the absence of data for the considered spider.

Impact of leg loss on web construction

Web building

Adult female spiders brought back in the laboratory in 2009 were used for this experiment. We found natural variation in the number of legs lost (one, two or three) on the two sides of the spider. We constituted two groups of spiders:

spiders with missing legs and intact spiders. Spiders of both groups were weighed prior to the test (Sartorius model BA110S, 0.1 mg). Spiders of the two groups had homogeneous mass. Spiders were then placed within wooden frames (50×50×10 cm) closed by two window-panes, containing a water cup ensuring a degree of humidity of 55–60%. All frames were placed in a room at a constant ambient temperature of 19°C (±0.5°C). Spiders were left 3 days within the frames. The frames were checked every day for the presence of webs.

Web characteristics

In order to avoid any influence of the experience of individuals on their web construction, web parameters were determined from the first web woven by each female spider after their introduction into the frame. Web parameters were measured according to Venner et al. (2001) (Fig. 1). In this method, we ignored plasticity in thread diameter, which could vary between treatment groups. The efficiency of the web for prey interception was characterised by calculating the surface occupied by the sticky spiral and estimating the average distance between two consecutive turns of the spiral in the lower sector. In addition, we estimated the energy investment by determining the length of the sticky spiral (Venner et al. 2001); with this method, we ignored differences of energy required by intact and missing leg spiders in building this spiral. Data were collected for each web from digitized photographs.

Impact of leg loss on prey captures

Prey capture

Web capture efficiency was tested on the spiders used in the above experiments. After measuring initial female webs, two flies (*Lucilia caesar*) were introduced within each frame at noon. These prey represent about two thirds of the size of a spider and can thus be considered as large prey for *Z. x-notata*. To estimate prey capture efficiency, frames were checked every hour during the first 4 h after the introduction of the flies and 24 h after. Observers noted whether the spider was capturing or ingesting a fly, the number of flies alive, the presence of pellets (remains rejected after ingestion), and dead and partially ingested flies within the frame. Dead flies were examined under magnification to detect indices of its capture and ingestion by the spider (presence of silk on the prey, and/or bites, holes due to the penetration of the chelicerae in particular in the cuticle of the head or of the thorax).

Consequences of prey capture

Since in these tests, the flies cannot flee out the frames, they can escape from the web and subsequently be intercepted several times. Generally, a prey interception (with or without capture) results in holes in the web (broken spiral turns and radii). Here, we considered a hole when at least three spiral turns and one radius were broken as the minimum damages after prey interception. For each spider, we calculated an index (HC), which is the number of holes minus the number of captures (one or two); it could indicate if the spider captured the prey after one or more interceptions by the web. The spiders were weighed prior to web building and after prey ingestion (Sartorius model BA 110, 0.1 mg) as estimation of the costs of both weaving and prey capture or benefits by prey ingestion.

Data analysis

Measured or calculated parameters were compared between the two sets of spiders: intact and spiders with missing legs. Statistical tests performed were Student's *t* tests and ANOVA (Statview statistical software). For these tests, data were log transformed when they did not fit a normal distribution. Comparisons between frequencies of intact spiders and frequencies of spiders with missing legs relatively to the sites or the 2 years were carried out using a test of χ^2 . We tested the independence of consecutive leg loss using a binomial distribution to generate random probabilities of losing one, two and more legs; the total number of captured spiders was used to generate the expecting binomial distribution. For reasons of convenience

of presentation, the results corresponding to the loss of two legs and more were combined and comparisons with observed data were realised using a χ^2 test. Statistical significance was considered for $p < 0.05$. Results were expressed as means and SEM.

Results

The sub-adult spiders brought back to the laboratory with at least one missing leg did not show any regeneration after their imaginal moult. The absence of regeneration after autotomy in this species appears to be a general rule (Foelix 1996). Only three spiders brought back as adults to the laboratory (of 1,684 individuals) had shorter legs or missing articles (as consequences of a problem during the moult).

Studied populations

Leg loss and spider size

In 2008, whatever the parameter (length of legs, cephalothoraxes width and length and sternum length), the spiders with missing legs did not differ from the intact spiders (Table 1).

Frequency of leg loss in natural populations

Leg loss was observed in 10.7% of the collected adult and sub-adult female spiders (years 2008, 2009 combined; Table 2). A difference in leg loss frequency was observed between the 2 years (9.5% in 2008; 13.0% in 2009, $\chi^2 = 4.51$, $df = 1$, $p = 0.03$). The leg loss was more frequent in adult (14.2%) than in sub-adult females (6.5%, $\chi^2 = 14.24$, $df = 1$, $p < 0.001$).

Table 1 Comparisons of the means (and SEM) of *Zygiella x-notata* size parameters (in millimetre) between intact individuals and spiders with missing leg

	Intact spiders	Spiders with missing leg	<i>t</i> test	<i>p</i> value
L1	9.72 (0.09)	9.78 (0.22)	0.21	0.83
L2	7.18 (0.07)	7.23 (0.17)	0.28	0.78
L3	4.35 (0.04)	4.29 (0.11)	0.58	0.56
L4	6.01 (0.06)	5.84 (0.16)	1.13	0.26
LC	2.65 (0.02)	2.55 (0.06)	1.49	0.14
IC	1.94 (0.02)	1.88 (0.04)	1.22	0.22
LS	1.34 (0.01)	1.34 (0.04)	0.00	0.99

Comparisons were done with a *t* test

L1, L2, L3 and L4 legs from the anterior one (L1) to the posterior one (L4), LC=length of the cephalothorax, LC=width of the cephalothorax and LS=length of the sternum

Table 2 Observed number of spiders and expected numbers with a theoretical binomial distribution (under brackets) of *Zygiella x-notata* with 0.1 or more (>1) missing legs (adult spiders from 2008 to 2009). Comparisons were done with a χ^2 test

	0	1	>1	χ^2	p value
2008	1,000 (990)	81 (101)	14 (4)	7.804	0.020
2009	521 (507)	53 (77)	15 (5)	9.621	0.008
Total	1,521 (1,497)	134 (178)	29 (9)	16.662	0.0002

Using a theoretical binomial distribution, the spiders missing more than one leg were more numerous than predicted by chance (Table 2). Hence when a spider loses one leg, the probability to lose a second one (or more) is higher than it appears at random.

Data on sub-adult females were too few to be included in the analysis. We found that 83% of the adult females had lost only one leg, 15% two legs and 2% three legs; there was no difference in these percentages between 2008 and 2009 ($\chi^2=1.34$, $df=2$, $p=0.51$). When a spider missed only one leg, it was primarily one of the forelegs L1 (in 48% of the cases), then we found: 27% L2, 18% L4 and 7% L3 (Table 3). When a spider had lost two legs ($n=24$), a foreleg (L1) was lost in 79% of the cases and in only two cases (8.3%) L1 or L2 were not the missing legs.

Longevity and egg sac production

In 2008, we followed under laboratory conditions 88 female spiders (12 with one or more missing legs and 76 intact) from their last moult until their death. There was no difference in their longevity (number of days of adult life) ($t=0.11$, $df=86$, $p=0.91$, spiders with leg loss, $m=128\pm 6$ days; intact spiders, $m=130\pm 5$ days).

We compared egg sac production between intact and leg lost spiders. Four hundred and three-seven adult female spiders (from 2008 to 2009) produced one or more egg sacs in the laboratory; 54.5% produced one, 28.5% produced two, 11% produced three, 4.3% produced four, 1.5% produced five and 0.2% laid six egg sacs (Table 4). In laboratory, females captured earlier in season (September) produced more egg sacs than spiders taken later in November ($\chi^2=21.32$, $df=2$,

Table 3 Number of *Zygiella x-notata* (and percentage in brackets) with one leg lost according to this missing leg (L1, L2, L3, L4 from the anterior to the posterior one) and the year of collect (2008–2009)

	L1	L2	L3	L4	Total
2008	44 (54)	21 (26)	5 (6)	11 (13)	81
2009	24 (45)	14 (26)	4 (7)	11 (21)	53
Total	68	35	9	22	134

Table 4 Number of *Zygiella x-notata* that produced none (0), one (1) or more (>1) egg sacs in the laboratory according to the month of their collect in the field (September or November) for intact individuals and spiders with missing leg

Number of egg sacs		0	1	>1
September	Intact spiders	12	20	17
	Spiders with missing leg	2	9	5
November	Intact spiders	27	5	4
	Spiders with missing leg	11	4	1

$p<0.001$). There was no difference in production between the intact and spiders with missing legs (earlier in the season: $\chi^2=1.49$, $df=2$, $p=0.47$ and later in the season: $\chi^2=1.12$, $df=2$, $p=0.57$). So, under laboratory conditions, leg loss did not affect egg sac production.

Impact of leg loss on web construction

Web building

We tested 123 adult female spiders (60 intact spiders, 63 spiders with missing leg). At the beginning of the test (introduction into the frames), the masses of the spiders of the two sets did not differ (intact spiders= 45.9 ± 2.1 mg, spiders with missing leg= 44.8 ± 2.2 mg, $t=0.35$, $df=121$, $p=0.72$). More over there was no difference between spiders with one or two legs lost (one leg lost= 44.7 ± 2.5 mg, two legs lost= 45.2 ± 5.0 mg, $t=0.10$, $df=50$, $p=0.99$). The absence of weight differences cannot be due to the loss of one or two legs, because the weight of one leg is less than 3% of the total weight of a spider (mean weight of L1= 1.24 ± 0.36 mg and of L2= 0.79 ± 0.25 mg, $n=20$ for both legs).

The percentage of spiders that build a web during the 3 days of the test did not differ (intact spiders, 88%; spiders with missing leg, 87%, $\chi^2=0.07$, $df=1$, $p=0.99$). There was no difference in the daily web construction: first day (intact spiders, 73%; spiders with missing leg, 70%), second day (intact spiders, 15%; spiders with missing leg, 13%) and third day (intact spiders, 0%; spiders with missing leg, 3%).

Web characteristics

Spiders having lost three legs ($n=2$), wove webs so irregular that they could not be measured and taken into account in the analysis. This means that after two legs lost, the handicap is so important that survival is compromised because web construction (and so prey capture) is greatly affected.

Capture areas of webs did not differ between intact and spiders with one or two missing legs ($t=0.98$, $df=106$, $p=0.33$; Fig. 2). Spiders with leg loss had higher average interspiral distances ($t=2.03$, $df=106$, $p=0.04$; Fig. 2) and tended to spin

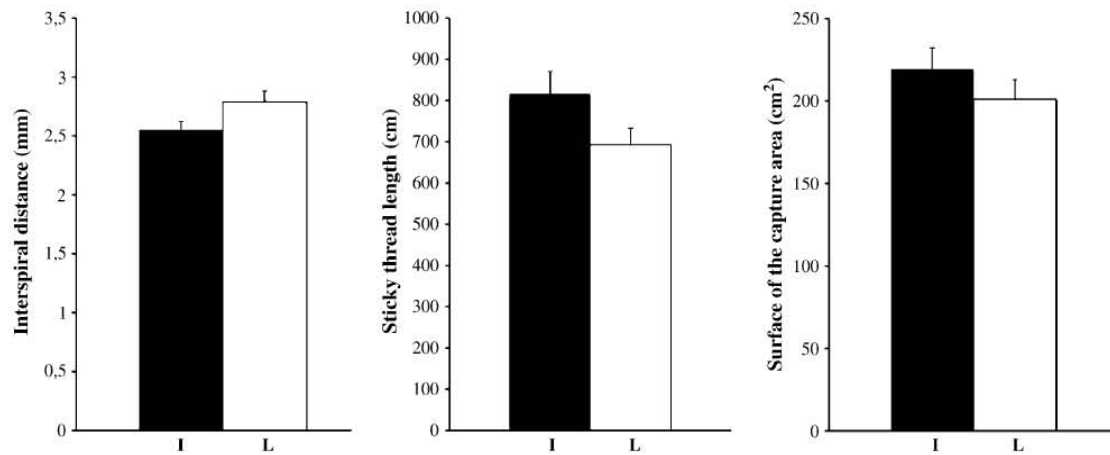


Fig. 2 Means and SEM of the parameters used to characterize the web of *Zygiella x-notata* (mean interspiral distances, sticky thread length and surface of the capture spiral in the lower part of the web). *Black bars (I)*: intact spiders, *empty bars (L)*: spiders with missing leg

a smaller spiral thread than intact spiders ($t=1.86$, $df=106$, $p=0.06$; Fig. 2). There was no difference between spiders with one or two legs lost for the three parameters (capture area, one leg lost= 212 ± 13 cm², two legs lost= 177 ± 22 cm², $t=1.22$, $df=51$, $p=0.23$, interspiral distances in the lower part of the web, one leg lost= 2.75 ± 0.10 mm, two legs lost= 2.85 ± 0.13 mm, $t=0.49$, $df=51$, $p=0.63$ and, length of the spiral thread, one leg lost= 732 ± 44 cm, two legs lost= 598 ± 86 cm, $t=1.39$, $df=51$, $p=0.17$).

Impact of leg loss on prey capture

Prey capture

The number of spiders that captured at least one fly did not differ between the two sets (intact spiders, $n=45$ out of 51 trials, spiders with missing leg, $n=37$ out of 46 trials) ($\chi^2=0.29$, $df=1$, $p=0.58$). Throughout the test there was no difference in prey capture (Table 5). Under our experimental conditions, leg loss did not affect prey capture efficiency and there was no difference between one or two legs lost (χ^2 corrected=0.00, $df=1$, $p=0.99$).

Consequences of prey capture

The comparison of the HC index (intact spiders, HC=0: 51%, HC=1: 20%, HC>1: 29%, spiders with missing leg,

HC=0: 41%, HC=1: 15%, HC>1: 46%) reflecting prey interception without capture, did not show any significant differences between the intact and spiders with missing leg ($\chi^2=2.03$, $df=2$, $p=0.36$).

After prey ingestion, there was no difference (intact vs spiders with missing leg) in weight increase after prey capture (for spiders that captured one prey: intact spiders=34% vs spiders with missing leg=41%, $t=0.96$, $df=26$, $p=0.35$, and for spiders that captured two prey: intact spiders=52% vs. spiders with missing leg=47%, $t=0.86$, $df=41$, $p=0.40$). It was not possible to compare these parameters between one and two missing leg spiders, as there were too few individuals in the two missing leg group.

Discussion

In laboratory experiments, we demonstrated that in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*, the loss of less than three legs without regeneration had little impact on the characteristics of the web, and had no impact on prey capture. But, under natural conditions, it has been shown that internal and environmental features may influenced web characteristics and prey capture (for review see Scharf et al. 2010). The variations in the web characteristics may affect predatory behaviours and in nature spiders with missing legs could be penalized relative to intact spiders.

Our prey capture tests with large prey (fly) showed that spiders with missing legs were as efficient as intact spiders. Venner and Casas (2005) showed that, in the field, the majority of prey caught by *Zygiella* were small (less than 2 mm) while large prey (greater than 10 mm) are rare and that spiders cannot survive or produce eggs without catching these large rare prey. Under laboratory conditions, we recorded that spiders with leg loss did not differ from the intact spiders in their physical characteristics, their

Table 5 Cumulative number of flies captured and ingested over time (from the first hour after prey introduction into the enclosure until 24 h after) by intact or with missing leg *Zygiella x-notata*

	1 h	2 h	3 h	4 h	24 h
Intact spiders	16	24	32	32	46
Spiders with missing leg	14	20	24	27	37

development, their longevity and their egg sac production. If what occurs in the laboratory does in fact accurately reflect what occurs in natural conditions, the loss of one or two legs may not be a handicap for survival and/or egg production. These results would be similar to previous studies of non-orb-weaving spiders but different from studies of orb weavers. Indeed, leg loss seems largely widespread in non-orb weaver species; it does not seem to affect global survival or reproduction (Johnson and Jacob 1999; Lutzky and Morse 2008). Consequences of leg loss could be on foraging efficiency by reducing the spider mobility (Johnson and Jakob 1999; Wrinn and Uetz 2007), which can affect the individual's general state (Amaya et al. 2001; Apontes and Brown 2005). Until now, it seems that the most important costs of leg loss should be a delay in moult (Wrinn and Uetz 2007). But sometimes, the conclusions are not so clear. In the spider *Schyzocosa ocreata* (Araneae, Lycosidae), autotomy and regeneration did not affect prey capture efficiency under artificial conditions in laboratory but in more complex situations (natural conditions), prey capture rate was affected (Wrinn and Uetz 2008). In orb-weaving spiders, leg loss could have an effect on prey capture. In these species, the maximum size of the captured prey would be partly given by the length of L1, which makes it possible to practice efficient wrapping of the prey (Murakami 1983) by maintaining the prey at a certain distance from the spider. In our experiments, the majority of the spiders that had lost L1 did not seem handicapped when capturing large prey such as flies.

However, in orb-weaving species, before the spider captures prey, it has to build a web whose design is important for prey interception and retention. Consequently, energy intake results in the performance of the complex system of the spider and its web. All components of this system require the use of legs with good mobility. So we have to examine the consequence of leg loss on web building. Concerning the structure of the web, Vollrath (1987) showed that spiders with regenerated forelegs (thus shorter than the normal) modified some structural characteristics of their web in particular the distance between spiral turns. We found similar consequences in the web structure of the *Zygiella* spiders with missing legs. Data revealed that the forelegs are used by the spiders as 'instruments' of measurement to determine the distances between the radii and between two spiral turns; when these legs are lost by autotomy, the shorter leg 2 does this function and that involves modifications of the web parameters (Vollrath 1987; Krink and Vollrath 1999). The design of the web, especially the interspiral distance, determines intercepted prey and variability in web design induces variable prey types (Sandoval 1994). The geometrical web should be formatted in order to capture the most profitable prey, i.e. large-sized prey (Venner and Casas 2005). In our predatory

tests, the prey used belongs to this category: its size and mass represent on average two thirds of that of a spider. The capture of large prey depends on the size of the web (the larger the web, the greater the probability of capturing a large prey, Venner and Casas 2005), but also on spacing of the meshes (a web with low interspiral distances increases the probability of capture of large-sized prey) (Herberstein and Heiling 1998; Blackledge and Zevenbergen 2006; Blackledge and Eliason 2007). By not modifying the web size and by weaving a web with larger interspiral distances, the probability of capture of large prey should decrease. However, under our experimental conditions (using flies as prey), it appears that these web modifications are without notable consequences on foraging.

Guffey (1999) proposed the 'spare-leg' hypothesis for arachnids, where individuals may lose up to two legs before experiencing more than minimal costs. Our study of the complex system by field observations and laboratory tests, seem to confirm this hypothesis. In the tests, spiders missing one or two legs showed that such handicapped individuals did not suffer important costs. In natural populations of *Zygiella x-notata* that we studied, more than 10% of adult females had at least one leg lost, but rarely two and exceptionally three. Our results on web construction showed that spiders with three legs missing had a large handicap in weaving a 'normal' structure; their webs were irregular. Under natural conditions, such constructions could have dramatic consequences for spider survival. It is perhaps the reason why we found so few spiders with three legs missing in the field. This could result either because it is extremely rare that a spider loses more legs or, as supposed by Guffey (1999), because the cost of missing more than three legs is very high (death).

To approach the process of autotomy in an evolutionary context, we have to look at the consequence of leg loss for reproduction at the level of each sex. In the spider, *Holocnemus pulchei* (Araneae, Pholcidae), autotomy in males seems to have no effect on their competitive ability (Johnson and Jakob 1999). In *Zygiella x-notata*, it has been demonstrated that there is competition between males during the precopulatory mate guarding of premoult females (Bel-Venner and Venner 2006). Moreover, the larger males mainly acquired females by evicting smaller competitor. Without more data, we cannot dismiss the hypothesis that autotomy could affect mate competitiveness. In the context of reproduction, pedipalp autotomy could also protect paternity. In fact, spider males can obstruct the female's genitalia with parts of their copulatory organs (i.e. the tip of the pedipalp, Fromhage and Schneider 2006). The males lose a part of the pedipalp with the same processes used in leg autotomy and this ensures them the paternity of the offspring.

Autotomy is a complex process that may imply energy for cicatrizing and regeneration of the loss limb. When they occur, physiological processes take away resources from survival and reproduction (Maginnis 2006), but our results showed that longevity and egg sac production were not different between intact and leg loss spiders. In conclusion, all of our laboratory results seem to reflect no noticeable consequences of autotomy on foraging behaviour, longevity and egg sac production. The functionality of the spider/web was not affected by the loss of leg. Autotomy was retained by selection and if we want to approach its evolution, it cannot be treated only by its consequence on female survival and foraging behaviour, but also on risk avoidance and eventually on sexual selection (autotomy of the male pedipalp and copulatory plug). So we can hypothesize that the mechanism of autotomy (under a critical limit) has been selected in some animal groups where it presents low costs (i.e. on foraging) and high benefits (survival and insurance of paternity).

Acknowledgements This study has been conducted at the H. Poincaré Nancy University. We thank J. Marchal and L. Bahans who helped us collect and rear spiders in 2008 and 2009. Many thanks also to Dr. Y. Lubin, Dr. C. Gilbert and anonymous reviewers for their helpful comments on the manuscript.

References

- Amaya CC, Klawinski PD, Formanowicz DR (2001) The effects of leg autotomy on running speed and foraging ability in two species of wolf spider (Lycosidae). *Am Midl Nat* 145:201–205
- Apontes P, Brown CA (2005) Between-sex variation in running speed and a potential cost of leg autotomy in the wolf spider *Pirata sedentarius*. *Am Midl Nat* 154:115–125
- Bel-Venner MC, Venner S (2006) Mate-guarding strategies and male competitive ability in an orb-weaving spider: results from a field study. *Anim Behav* 71:1315–1322
- Blackledge TA, Eliason CM (2007) Functionally independent components of prey capture are architecturally constrained in spider orb webs. *Biol Lett* 22:456–458
- Blackledge TA, Zevengergen JM (2006) Mesh width influences prey retention in spider orb webs. *Ethology* 112:1194–1201
- Brock RE, Smith LD (1998) Recovery of claw size and function following autotomy in *Cancer productus* (Decapoda: Brachyura). *Biol Bull* 194:53–62
- Brueseke MA, Rypstra AL, Walker SE, Persons MH (2001) Leg autotomy in the wolf spider *Pardosa milvina*: a common phenomenon with apparent few costs. *Am Midl Nat* 146:153–160
- Eisner T, Camazine S (1983) Spider leg autotomy induced by prey venom injection: an adaptative response to “pain”? *Proc Natl Acad Sci Unit States Am* 80:3382–3385
- Fleming PA, Muller D, Bateman PW (2007) Leave it behind: a taxonomic perspective of autotomy in invertebrates. *Biol Rev* 82:481–510
- Foelix RF (1996) *Biology of spiders*. Oxford University Press, Oxford
- Formanowicz DR (1990) The antipredator efficacy of spider leg autotomy. *Anim Behav* 40:400–401
- Fromhage L, Schneider J (2006) Emasculation to plug up females: the significance of pedipalp damage in *Nephila fenestrata*. *Behav Ecol* 10:353–356
- Guffey C (1999) Costs associated with leg autotomy in the harvestmen *Leiobunum nigripes* and *Leiobunum vittatum* (Arachnida: Opiliones). *Can J Zool* 77:824–830
- Herberstein ME, Heiling AM (1998) Does mesh height influence prey length in orb webs spiders (Araneae). *Eur J Entomol* 95:367–371
- Johnson SA, Jakob EM (1999) Leg autotomy in a spider has minimal costs in competitive ability and development. *Anim Behav* 57:957–965
- Krink T, Vollrath F (1999) A virtual robot to model the use of regenerated leg in a web-building spider. *Anim Behav* 57:223–232
- Lutzy RM, Morse DH (2008) Effects of leg loss on male crab spiders *Misumena vatia*. *Anim Behav* 76:1519–1527
- Maginnis TL (2006) The costs of autotomy and regeneration in animals: a review and framework for future research. *Behav Ecol* 17:857–872
- Murakami Y (1983) Factors determining the prey size of the orb-web *Argiope amoena* (L. Koch) (Argiopidae). *Oecologia* 57:72–77
- Roberts MJ (1996) *Spiders of Britain and Northern Europe*—Collins Field Guide. Harper Collins Publishers Ltd, London
- Rypstra AL, Schmidt JM, Reif BD, DeVito J, Persons MH (2007) Tradeoffs involved in site selection and foraging in a wolf spider: effects of substrate structure and predation risk. *Oikos* 116:853–863
- Sandoval CP (1994) Plasticity in web design in the spider *Parawixia bistriata*: a response to variable prey type. *Funct Ecol* 8:701–707
- Scharf I, Lubin Y, Ovadia O (2010) Foraging decisions and behavioural flexibility in trap building predators: a review. *Biol Rev Camb Philos Soc*. doi:10.1111/j.1469-185X.2010.00163.x
- Taylor PW, Roberts JA, Uetz GW (2006) Compensation for injury? Modified multi-modal courtship of wolf spiders following autotomy of signalling appendages. *Ethol Ecol Evol* 18:79–89
- Uetz GW, McClintock WJ, Smith EI, Cook KK (1996) Limb regeneration and subsequent asymmetry in a male secondary sexual character influences sexual selection in wolf spiders. *Zool Sci* 6:927–933
- Venner S, Casas J (2005) Spider webs designed for rare but life-saving catches. *Pro R Soc B* 272:1587–1592
- Venner S, Thevenard L, Pasquet A, Leborgne R (2001) Estimation of the web's capture thread length in the orb-weaving spiders: determination of the most efficient formula. *Ann Entomol Soc Am* 94:490–496
- Vollrath F (1987) Altered geometry of webs in spiders with regenerated leg. *Nature* 328:247–248
- Vollrath F (1990) Leg regeneration in web spiders and its implication of Weaver phylogeny. *Bull Brit Arachnol Soc* 8:177–184
- Witt PN, Reed CF, Peakall DB (1968) *A spider's web, problems in regulatory biology*. Springer, New York
- Wrinck KM, Uetz GW (2007) Impacts of leg loss and regeneration on body condition, growth, and development time in the wolf spider *Schizocosa ocreata*. *Can J Zool* 85:823–831
- Wrinck KM, Uetz GW (2008) Effects of autotomy and regeneration on detection and capture of prey in a generalist predator. *Behav Ecol* 19:1282–1288



Article 7

Does building activity influence web construction and web characteristics of an orb web?

Alain Pasquet^{1,*}, Julia Marchal², **Mylène Anotaux**¹, Raymond Leborgne¹

¹: Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Techniques: Laboratoire « Expression et Evolution des Comportements », BP 239 Bld des Aiguillettes, 54506 Vandoeuvre-Les-Nancy, France.

² Museum National d'Histoire naturelle, UMR CNRS 7179, Avenue du petit château 91800 Brunoy,

* Corresponding author : Alain Pasquet,

E-mail : alain.pasquet@univ.lorraine.fr



**Abstract:**

In spiders, orb web construction is a succession of repetitive and stereotyped behaviours. A lot of studies have been realized on web building in orb web species, but none had controlled the influence of a regular activity of construction on the web structure. Does the repetition of web building improve the structure?

Spiders were caught in the field and brought back in the laboratory where they were put in two different situations; first all spiders were let in small boxes where they could not build a web, and second half of them were put into large enclosures where they were allowed to build orb webs. In both situations, they were fed with flies. All spiders were tested twice at 12 weeks interval; for each test all of them were put in the enclosures. Their building performances were appreciated through silk investment (length of the capture spiral, number of radii), and anomalies in the regularity of the structure. All spiders were tested two weeks after their capture (test 1) and 12 weeks later (test 2).

There was no difference in web construction ratio and spider masses between the two spider groups, whatever the test (test 1 or test 2). There was no influence of rearing conditions on all web parameters between spiders in boxes and enclosures for test 1 and test 2. Independently, for both group of spiders, the length of the spiral capture decreased and the ratio of the number of anomalies per unit of silk deposited increased from test 1 to test 2.

These results showed that there was no notable effect of a regular activity of web construction on the web structure and silk investment, but there was an effect of the spider age on these parameters in the two groups.

Key Words: Web characteristics, Experience, Orb webs, Spiders, *Zygiella x notata*.



1. Introduction

Lorentz (1937) defined the term of stereotyped behaviours, as «repetitive, predictive motor patterns ». In this acceptance, the term stereotyped has been used recently for example to behaviours that show low variation (Deban et al. 2001, Nashikawa 2000) or to behaviours that did not vary as response to environmental changes (i.e. prey type, Mattot et al. 2005, Wainwright and Lauder 1986). In a general point of view, stereotyped behaviours had been more described and studied in invertebrates and one of the best examples is the web building behaviours of the orb web spiders.

The web building in these spider species shows three different phases: the construction of the frame and radii, the laying down of an auxiliary spiral and the weaving of the sticky spiral (Foelix 2011). The construction of the auxiliary spiral begins at the hub and ends before reaching the peripheral framework. To lay down the sticky spiral, the spider starts at the periphery and uses the auxiliary spiral as a guide. During the sticky spiral construction, the legs play an important role; one front leg reaches the next radius and touches it to ascertain its position. At the same time, one of the fourth legs pulls the thread out of the spinnerets and dabs it against the radius. Step by step, the spider advances in the laying of the sticky spiral keeping the distance between successive turns about equal (Vollrath & Moren 1985). It seems that the achievement of the sticky spiral results of the realisation of a successive and repetitive behaviours corresponding to the definition of the stereotypy mentioned above.

In this context, juvenile spiders build web as regular as those of the adults: they don't need learning (Reed et al. 1970). But it seems that if there are differences between webs of young spiderlings (Szlep, 1961, Burch 1979) and adults, the webs of spiderlings were more regular and symmetric than those of adults; it could be due an increase of spider weight (Venner et al. 2003) and the influence of gravity on the construction process. But, we can't conclude that web building is entirely stereotyped; the highly regular structure of a geometrical web present flexibility (Barrentes & Eberhard 2012, Eberhard 2007, 2011, Hesselberg 2012) and it could be altered (Vollrath & Moren 1985, Vollrath et al. 1997, Nakata 2010, Coslovsky & Zoschkke 2009). These alterations might be due to environmental features (wind, vegetation, prey...see also for review Heiling & Heberstein 2000) but also to the spider itself. It has been showed that when a spider had a regenerated leg, it modified the structure of the web (Vollrath 1987) but did not alter the prey capture efficiency (Pasquet et



al. 2011). They also changed some elements of symmetry and regularity in the web under the influence of drugs (Witt et al 1968, Hesselberg & Vollrath 2004) or with age (Anotaux et al. submitted). The building conditions (under natural environment or in the laboratory) may also alter the investment in silk and the global design of the web (Sensenig et al. 2010).

As the web construction in orb-web spider species could be considered as a perfect model result of the succession of fixed and repetitive behaviours, it is a good object to test the effects of deprivation of web building on the construction, and on web characteristics. Web construction involves motor activities (leg and abdomen displacements) and cognitive properties (laying of threads according to the presence of previous threads). These properties exist in juveniles as they are able to spin orb web similar to adults (Reed 1970). Modifications in relation with the geometrical structures of the web could be viewed at two different levels : on the global design of the web, which is generally measured by its variations in web symmetry (Eberhard & Hesselberg 2012, Hesselberg 2010, 2012), but also at a more fine level on the deposit of each thread segment, which forms the sticky spiral (Pasquet et al. Submitted) and, which depends on the quantity of available silk (Eberhard 1988).

The absence of construction during a long period could lead to an alteration of the performances in web building while the repetition of building behaviours during web construction could induce an improvement. In this context, we may predict that the web structure might be less perfect in webs of spiders without regular building (i.e. to be prevented from weaving) than in webs of spiders that have the possibility to build regularly a geometrical structure.

2. Material and methods

Spiders

Zygiella x-notata (Clerck) (Araneae, Araneidae) is an orb weaving spider common in Europe, building webs mostly on human constructions. Its size is medium for spiders (female 5.5-8 mm and males 3-5mm, Roberts, 1995). It has an annual life cycle, with the presence of adult at the end of summer and in autumn. Females lay cocoons in autumn and juveniles develop next spring. We collected sub adult females in August and September, and brought them back to the laboratory. They were put in individual boxes (10x7x2cm) where they could not build a web but they weaved a silky structure owing them to capture prey. In their boxes, they were fed with flies (*Lucifera caesar*) and spread with water once a week. Every day all spiders



were controlled to determine their status: as they were collected as sub adult, most of them moulted in the boxes and became adults. Their age was noted 0 when they moulted. As they were maintained in laboratory conditions, we controlled their date of death and so we obtain their longevity under the two rearing conditions.

Protocol design

After their moult, spiders were maintained during two weeks in their small boxes. After that, they were put in larger frames (50x50x10 cm) where they could build a first web. It was called test 1 (T1). After this test, some spiders (Sample B for the box group n=112) were randomly chosen and returned back to their small boxes while the others (sample F for the frame group n=111) were let into the frames. After that, in each group (boxes and frames) spiders were fed with two flies (*Lucifera caesar*) and spread with water once a week: for the spiders of the frame group, we verified each day that the prey was captured and eaten during the week; when it was not the case and that the fly was died, it was replaced by a new one. Twelve weeks later after the first test T1, living spiders (sample B, n=82, sample F, n=75) were placed into frames for the test 2 (T2). During the two tests (T1 and T2), the spiders were not fed so there was no fly in the frames. The spiders were weighted before each test (Sartorius balance 0.1mg).

For each test (T1 and T2), spiders (sample B and sample F) were put into the frames and stayed in it 72 hours. We looked at the first web built during this period. The first web built for T1 and for T2 by each spider was measured and photographed (Panasonic DMC-FZ18). Using a black background behind the web and an artificial light did these photographs. All these photographs were transformed into a negative (with Photofiltre) to give a black silky thread on a white background.

Parameters

Characteristics of the web

Webs were considered at the two different levels: on the general shape and for that we take into account parameters, which were known to represent it, on the anomalies in the sticky spiral, which could appear during web construction. The first group of parameters were represented by classical data.



We used two parameters defined by Venner *et al* (2001) to quantify the webs of *Zygiella x-notata*: the length of the capture thread (CTL) that is the thread constituting the capture sticky spiral and the capture area (CA) that represented the surface of the web minus the surface of the free sector (sector without spiral thread, characteristic of some webs of *Zygiella*). We counted the total number of radii. We characterized the asymmetry of the web; web of *Zygiella* is asymmetric: the lower part under the hub is larger than the upper one. The increase of the web surface in the lower part is an adaptation to prey capture; larger is the difference between the two parts (and so the asymmetry) and higher is the probability of prey capture.

In this context, we added parameters characterizing the lower part of the web located under the hub, which was, for this species, the most important part in surface for foraging activity (Nakata and Zschokke 2010). There were several parameters: the web asymmetry measured as the ratio between the length of the part above the hub and the length of the part below the hub, the number of spiral turns of the lower sector and the length of this lower sector measured as the distance between the outermost and the innermost spiral turns. The mean distance between two successive turns was calculated by dividing the lower part length by the number (minus one) of turns – minus one - of this lower part.

Web anomalies

From the observations of the web photographs, we defined imperfections or anomalies (Pasquet *et al.* submitted) as defaults from a perfect geometrical structure that could affect the web during its construction: the spiders induced them during web construction. They could affect the radii or the final spiral). Three anomalies concerned with the radii: deviated radii, Y radii and supernumerary radii. Seven anomalies concerned with the capture surface of the web, which was limited by the innermost and outermost spiral turns of the capture area. The capture spiral could be considered as a succession of threads joining two radii that we called spiral units. Anomalies affected these spiral units and were named: returns, holes, spiral units stuck by two, or s stuck by three or more, not parallel spiral units, zigzag spiral units and discontinuity. As the total number of anomalies in a web was dependent of the number of spiral units deposited by the spider (Pasquet *et al.* submitted), we calculated a ratio of anomalies per cm of length in the final spiral. This ratio was noted A/CTL.



Statistical analysis

For the comparison of the percentage of web built in the two groups (sample B vs sample F) in T1 and T2, we used a Khi-deux (χ^2) test. For web parameters in each group of data, we applied a Kolmogorov-Smirnov test for normality. When the data did not fit normality, we applied a log-transformation. The analysis of the influence of the rearing conditions (sample B vs sample F and T1 vs T2) on all web parameters was conducted with one way repeated measure ANOVA. For the comparisons of the spider weight and the web parameters between T1 and T2, we used a t-test for paired data and used only the spiders that build a web in both tests (n=25). We used a t-test for non-paired data to compare weight, longevity, and web parameters between the sample B and sample F in T1 and T2. Significance was considered at $p < 0.05$. Statistical tests were conducted with Software Statview on a Mac Intosh platform.

3. Results

Spider longevity and spider mass in the two rearing conditions

The longevity differs between the spiders of the two groups; spiders in boxes, had a higher longevity than those in the frames (sample B, 146 days $\pm$ 44 (n=82) and sample F, 128 days $\pm$ 47 (n= 60), t-test $t=2.35$; $df=141$, $p=0.02$). There was no difference of spiders weight between sample B and sample F neither in T1 (Table 2) (t-test, $t=0.12$, $df=36$, $p=0.90$) nor in T2 (t-test; $t=0.45$, $df=36$, $p=0.65$). There was no weight variation between T1 and T2 (Table 2) neither for spiders of the sample B (t-test for paired, $t=0.26$, $df=19$, $p=0.79$) or for spiders of the sample F (t-test for paired, $t= 0.26$, $df=17$, $p=0.80$).

Web building and web characteristics in each sample

Sample B

If we took into account only spiders that built a web in test 1 and test 2 (n=25) the differences between web parameters at test 1 and test 2 were significant (t-test paired data Student's paired t-test) (Table 3) for all the parameters except for the number of radii and the mean inter spiral turn distances in the lower part of the web. There was a decrease of silk investment (CTL, surface of capture, length and number of spiral turns in the lower part of the web) and



an increase in the ratio of number of anomalies (Table 3). There was no difference for asymmetry between the two tests for the spiders reared in boxes (Table 4).

Sample F

The comparisons between test 1 and test2 for the spiders that built a web in the two tests, showed significant differences for all parameters except for the inter spiral turn distances in the lower part of the web and the total number of anomalies per web (t-test for paired data (Table 4). There was also a decrease in the silk investment (CTL, capture area , number of radii, length and inter spiral turn distances in the lower part of the web) and an increase in the ratio of the number of anomalies on the length of the spiral capture thread). The asymmetry decreased between the two tests for spiders reared in frames (Table 4).

Comparisons between spiders of the two groups

The number of spiders that spun a web did not differ between the two samples neither in T1 (Table 1, $X^2 = 0.66$, $df=1$, $p= 0.41$) nor in T2 (Table 1, $X^2 = 1.30$, $df=1$, $p=0.25$).

A global analysis (ANOVA with repeated measures) was realized to separate the influence of the rearing conditions for the spiders from the effect of age (Table 6). Rearing conditions were introduced as variable and time effect was tested through repeated measures; twenty-five spiders combined in the two groups, were taken into account in this analysis.

The results showed a strong influence of time on all the parameters except on the inter spiral turn distances in the lower part of the web (Table 5). All parameters characterizing the investment in silk showed a decrease with time and anomalies increased if we took into account the ratio of the number of anomalies per unit of length of the final spiral thread (Table 6). There was no influence of the rearing conditions on the web parameters (Table 5).

4. Discussion

Our results showed that there was variability between spiders in the characteristics of their orb webs. This variability existed at different levels: on characteristics that were linked to silk spider investment (Length of the spiral thread and capture area), on characteristics of the web



design (number of radii, asymmetry and characteristics of the lower part of the web) and on anomalies. This variability was verified under controlled laboratory conditions.

The design and the characteristics of the web are known to vary with environmental or internal conditions. Web structure may be affected by gravity (Witt et al., 1968, 1977; Vollrath & Mohren, 1985), by the absorption of drugs (Witt & Reed, 1965; Reed & Witt, 1968; Hesselberg & Vollrath, 2004) or by a morphological disability (missing or shorter leg) (Vollrath, 1987; Pasquet et al., 2011). Moreover, studies showed that webs characteristics present variations at intraspecific and intra-individual level (Herberstein & Heiling, 1999; Heiling & Herberstein, 2000) and it is known that web structure was the direct reflection of spider behaviour (Zschokke & Vollrath, 1995). This is the context in which we placed our present work.

The first result is that there is no influence of the breeding conditions on several of the orb web. They do not affect the weight of the spiders; whatever there breeding conditions, spiders did not gain weight during the experiment (12 weeks). It could be surprising, but we used virgin females and their energetic needs were very different from reproductive females. Breeding conditions do not influence also the design of the web (the web asymmetry or the interspiral distance) or the level of investment (length of the sticky spiral or the number of radii and the number of spiral turns in the lower part of the web) and the number of behavioural errors in the silk laying leading to web anomalies. So we can say that the behaviour of spiders, which did not build a web during a long period, was not affected; when they had the possibility (available space), they built a classical orb web. A different work obtain the same result on the general design of the web by comparing web built under natural conditions (fence) and in laboratory; there was no difference in the structure of the web (Sensenig et al. 2010). But these authors found important differences in the investment; spiders under natural conditions invest more than those under laboratory situation; it could be linked to the fact that the conditions in laboratory are very poor and spiders access no prey presence that could influence their web building behaviour (Pasquet et al. 1994). So we can say that the privation of express stereotyped complex behaviours involved in the web construction, had no effect on the final realized object, here the orb-web. It could a real advantage for using the orb webs as study material if we are sure that the breeding conditions have no influence on the building behaviour expression. In these conditions, we showed that we can breed numerous spiders in a small space and test their orb web construction in larger enclosures.



The other important point is that in this work, we analysed the presence of anomalies on the final spiral. If the spider does not execute the building program of the spiral unit, some behaviour may vary and the consequences are the construction of a unit with an anomaly. Most of the time, variations of building behaviour were studied through geometrical parameters of the web; the length of the spiral thread, the symmetry or not of the orb or the inter spiral turn distance. Anomalies were less studied in orb web ; they were taken into account in experiments where spiders were put in extreme conditions : weightlessness (Witt et al. 1968), drugs (Witt et Reed 1965, Hesselberg & Vollrath 2004) and feeding (Blamirez 2010). Anomalies are difficult to use as parameter as there are numerous and different (Pasquet et al. submitted). This is a phenomenon, which is very difficult to reveal under natural conditions: the geometrical design of an orb-web is never perfect in the field. Just after the end of the construction, even during web building, the structure may support some damages from external events (wind, insects, vegetal). In fact in these conditions, it is difficult to determine what anomaly is a consequence of behavioural variation or due to external event. So we showed under laboratory conditions, that anomalies of the orb structure were due to spider behaviours during the capture spiral construction. So our study reveals some individual particularities of spider and could be used to differentiate each individual.

The second result of this study is the fact that the web structure is modified by time. The modifications of the web affect the investment by a reduction of the length of the capture spiral and also its surface, and by an increase of the number of anomalies. There are very few studies showing that time or spider age may affect spider behaviours. Time may affect spider female mobility (Moya-larano 2002), which can influence their reproductive effort (Moya-Larano 2002). Age influences the investment in sticky silk in the orb and the number of errors in the sticky spiral deposit (Anotaux et al. 2012). This plasticity seems to be linked to individual characteristics as younger spiders build a web with a higher number of anomalies than older ones, but for all spiders the number of anomalies in the web increases with age whatever. This variation in behavioural variability seems to be independent of the absolute age.

The web for orb-weaving spiders is necessary for prey capture and so for survival and egg production. As the web structure has plasticity in size, in the number of spiral turns and in inter spiral distance, its web could be considered as an extended phenotype of the spider (Dawkins 1982). The spider adapts to the environment, interacts with it creating phenotype-



environment interactions that goes through generations. Here we showed that this variability exists under standardized conditions and create a special profile for each spider. This could be understood as an increase of the concept of « extended phenotype in spiders in what, this extended phenotype might be linked to physiological or morphological individual characteristics.

Acknowledgments: This work has been supported by a grant from the « Longevity and ageing » program of the CNRS and the University of Lorraine. We thank also L. Bahans for her technical help for breeding the spiders and realizing the experiments.

Références

- Anotaux M., Marchal J., Chaline N., Desquilbet L., Leborgne R., Gilbert C. & Pasquet A. 2012. Ageing alters spider orb-web construction. *Anim. Behav.* 84: 1116-1121.
- Barrantes, G., Eberhard, W.G. 2012 Extreme behavioral adjustments by an orb-web Spider to restricted spaces. *Ethology* 118: 438-449.
- Blamirez S.J. 2010 Plasticity in extended phenotypes: orb web architectural responses to variations in prey parameters. *The journal of Experimental Biology* 213, 3207-3212.
- Burch T.L. 1979 The importance of communal exposure to survival for spiderlings of *Araneus diadematus*. *J. Arachnol.* 7: 1-18.
- Coslovsky M., & Zschokke S. 2009 Asymmetry in orb-webs: an adaptation to web building costs. *J. Insect Behav.* 22: 29-38.
- Dawkins R. 1982: *The extended phenotype*. Oxford University Press, Oxford UH, 320pp.
- Deban S.M., O'Reilly J.C. & Nishikawa K.C. 2001 The evolution of the motor control of feeding in amphibians. *Am. Zool.* 41, 1280-1298.
- Eberhard W.G. 1988 Behavioral flexibility in orb web constructions: effects of supplies in different silk glands and spider size and weight. *J. Arachnol.* 16: 295-302.
- Eberhard W.G. 2007. Miniaturized orb-weaving spiders: behavioural precision is not limited by small size. *Proc. R. Soc. B* 274: 2203-2209.



- Eberhard W.G. 2011 Are smaller animals behavioural limited? Lack of clear constraints in miniature spiders. *Anim. Behav.* **81**, 813-823.
- Eberhard W.G. & Hesselberg T. 2012 Cues that spiders (Araneae: Araneidae, Tetragnathidae) use to build orbs: lapses in attention to one set of cues because of dissonance with others? *Ethology* (on line - 10.1111/j.1439-0310.2012.02048.x).
- Foelix R.F. 2011 Biology of spiders. 3rd edition. *Oxford University Press, Oxford*.
- Heiling A.M. & Herberstein M.E. 2000 interpretations of orb-web variability: a review of past and current ideas. *Ekologia* **19**, 97-106.
- Herberstein M.E. & Heiling A.M. 1999: Asymmetry in spider orb web (Araneidae): a result of physical constraints? *Anim. Behav.* **58**, 1241-1246.
- Hesselberg T. 2010: Ontogenetic changes in web design in two orb-web spiders. *Ethology* **116**: 535-545.
- Hesselberg T. 2012: Web-building flexibility differs in two spatially constrained orb spiders. *J. Insect Behav.* (on line – 10.1007/s10905-012-9337-7).
- Hesselberg T. & Vollrath F. 2004 The effect of neurotoxins on web-geometry and web-building behaviour in *Araneus diadematus* Cl.. *Physiology & Behavior* **82**, 519-529.
- Lorentz K. 1937: Über die Bildung des Instinktbegriffes. *Naturwissenschaften* **25**, 289-300. .
- Mattot M.P., Motta P.J. & Hueter R.E. 2005 Modulation in feeding mechanisms and motor pattern of the nurse shark *Gynclimostoma cirratum*. *Environ. Biol. Fishes* **74**, 163-174.
- Moya-Larano J. 2002 Senescence and food limitation in a slowly ageing spider. *Functional Ecology* **16**, 734-741.
- Nakata K. 2010: Does ontogenetic change in orb-web asymmetry reflect biogenetic law? *Naturwissenschaften* **97**, 1029-1032.
- Nakata K. & Zschokke S. 2010 Upside-down spiders build upside-down orb-webs : web asymetry, spider orientation and running speed in Cyclosa. *Proceeding of the Royal Society London B, Biological Sciences* **277**, 3019-3025.
- Nishikawa K.C. 2000 Feeding in frogs. In *Feeding : form, function and évolution in Tetrapod Vertebrates* (ed. K. Schwenk) pp 117-147. *San Diego, CA Academic Press*.
- Pasquet A., A. Ridwan & R. Leborgne. 1994 Presence of potential prey affects web-building in an orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Anim. Behav.* **47**, 477– 480.
- Pasquet A., Anotaux M. & Leborgne R. 2011: Loss of legs : is it or not a handicap for an orb-weaving spider? *Naturwissenschaften* **98**, 557-564



- Pasquet A., Marchal J., Anotaux M. & Leborgne R. . Imperfections in a perfect architecture: the spider orb web. (Submitted).
- Reed C.F., Witt P.N., Scabro M.B., & Peakall, D.B. 1970 Experience and the orb web. *Developmental Psychobiology* 3: 251-265.
- Roberts M. J. 1985 Collins field guild: Spiders of Britain and Northern Europe, *Delachaux and Niestlé, S.A. Paris*.
- Sensenig A., Agnarsson I., Gondek T. & Blackledge T.A. 2010: Webs in vitro and in vivo: spiders alter their orb-web spinning behavior in the laboratory. *J. Arachnol.* 38:183-191.
- Szlep R.1961 Some differences in the running pattern in two families Uloboridae and Argiopidae. *Bull. Res. Counc. Israel*, 9B, 1.
- Venner. S., Tevenard L., Pasquet A. & Leborgne R. 2001 Estimation of the web's capture thread length in orb-weaving spiders: determining the most efficient formula. *Entomological Society of America* 90, 490-496.
- Venner S, Bel-Venner M.C, Pasquet A, Leborgne R. 2003 Body mass-dependent cost of web-building behaviour in an orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Naturwissenschaften*. 90, 269–272..
- Vollrath F. 1987 Growth, foraging and reproductive success. In W. Nentwig (ed.).*Ecophysiology of spiders*, pp. 57-70. **Berlin: Springer**.
- Vollrath F. & Moren W. 1985 Spiral geometry of the garden spider's orb web. *Naturwissenschaften* 72: 666-667.
- Vollrath F. , Downes M. & Krackow S. 1997 Design variables in web geometry of an orb weaving spider. *Physiol. Behav.* 62:735–743.
- Wainwright P.C. & Lauder G.V. 1986 Feeding biology of sunfishes: patterns of variation in the feeding mechanism. *Zool. J. Linnean Soc . Lond.* 88, 217-228.
- Witt P.N. & C.F. Reed 1965 Spider-web building. *Science* 149: 1190–1197
- Witt P.T., Reed C.F. & Peakall D.B. 1968 A spider 's web, prolems of regulatory biology. *Springer-verlag, New York*.
- Witt P.N., Peakall D.B. & Gause R.L. 1977: Spider web building in outer space; evaluation of records from the Skylab spider experiment. *J. Arachnol.* 4, 115-124.
- Zschokke S. & F. Vollrath 1995 Unfreezing the behaviour of two orb spiders. *Physiology & Behaviour* 58: 1167-1173.



Table 1: Number (and percentage) of webs built during the test 1 and the test 2 by the spiders in the boxes and in the frames.

	Boxes		Frames	
	Number (percentage) of webs	Total number of spiders tested	Number (percentage) of webs	Total number of spiders tested
Test 1	88 (78%)	112	92 (83%)	111
Test 2	44 (54%)	82	47 (55%)	75



Table 2: Mean (SD) spider weight (mg) in each group at the test 1 and the test 2.

	Spiders in boxes (n=20)	Spiders in the frames (n=18)
Test 1	30.9 (8.6)	30.6 (8.9)
Test 2	31.6 (9.3)	29.7 (15.6)

Table 3: Mean (SD) of the parameters measured and calculated on the webs of the spiders bred in the boxes. Comparisons were done between test 1 and test 2 (t-test for paired data, n=25).

Parameters	Test 1 Mean (SD)	Test 2 Mean (SD)	<i>t-test (p)</i>
Length of the spiral thread (cm)	520 (25)	373 (29)	4.22 (<.001)
Surface of the capture area (cm ²)	114 (11)	98 (12)	4.02 (<.001)
Asymetry	0.31 (.03)	0.26 (.03)	1.28 (0.21)
Number of radii	26 (1)	24 (1)	1.27 (0.217)
Length of the lower part (cm)	8 (0.)	6 (0.)	3.54 (.002)
Number of spiral turns	31 (1)	26 (2)	2.39 (.025)
Inter spiral distance (mm)	2.7 (0.2)	2.7 (0.2)	0.34 (0.737)
Ratio of anomalies	8 (0.)	16 (2)	4.34 (<.001)



Table 4: Mean (SD) of the parameters measured and calculated on the webs of the spiders bred in the frames. Comparisons were done between test 1 and test 2 (t-test for paired data, n=25).

Parameters	Test 1	Test 2	t-test (p)
	Mean (SD)	Mean (SD)	
Length of the spiral thread (cm)	492 (40)	358 (32)	5.05 (<.001)
Surface of the capture area (cm ²)	132 (12)	86 (12)	6.58 (<.001)
Asymetry	0.29 (.02)	0.19 (.02)	3.30 (.004)
Number of radii	25 (1)	22 (1)	3.29 (.004)
Length of the lower part (cm)	8 (0.)	5 (0.)	6.24 (<.001)
Number of spiral turns	30 (2)	25 (2)	2.08 (.049)
Inter spiral distance (mm)	2.6 (0.1)	2.3 (0.2)	1.43 (.165)
Ratio of anomalies	8 (0.)	12 (1)	3.39 (.002)



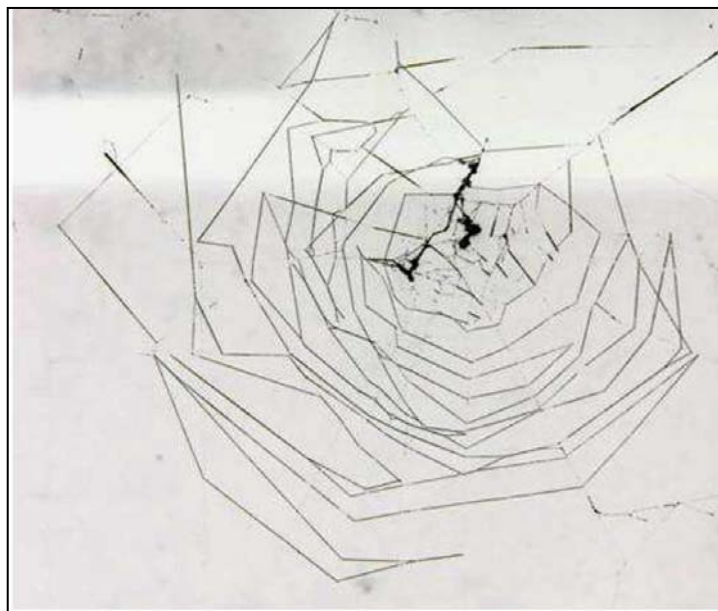
Table 5: ANOVA with repeated measures, by using the test as a temporal parameter and spiders in boxes and frames as variable.

Parameters	Test1/Test2		Boxes/frames		Interaction	
	F	p	F	p	F	p
Length of the spiral thread (cm)	45.3	<.0001	0.25	.62	0.32	.57
Surface of the capture area (cm ²)	49.7	<.0001	0.67	.42	0.04	.83
Asymetry	9.1	.004	2.61	.11	0.90	.32
Number of radii	7.5	.008	1.35	.25	0.06	.81
Length of the lower part (cm)	42.6	<.001	1.41	.24	0.44	.52
Number of spiral turns	10.3	.002	0.36	.55	0.15	.70
Inter spiral distance (mm)	1.2	.28	1.06	.31	0.34	.56
Ratio of anomalies	30.6	<.0001	1.83	.18	2.36	.13



TOILES « ABERRANTES »

(a)



(b)



Figure 19. Photographies de deux toiles aberrantes. (a) Araignée âgée de 55 jours de vie adulte. (b) Araignée âgée de 67 jours de vie adulte.

Study of a behavioural model of ageing : the web construction in an orb-weaving spider

Ageing is an obligatory and natural progressive process often associated with a decline in organism functions and performances. Although behaviours inform us about the physiological and neurological state of an organism, relationship between behaviour and ageing remains largely misunderstood. Thus, the research of new animal models that could assess this relationship would be crucial. In orb weaving spiders, the web is a complex geometrical structure, which presents a visible regularity. Its construction results of a succession of organized and repeatable behaviours and each variation in web characteristics could be interpreted as a behavioural variation during web construction. The objective of this study was to highlight structural variations in web's structure of the spider *Zygiella-x-notata*, which were correlated with spider's age, and to know how ageing affected spider mobility during web construction and prey capture. Our results showed that ageing influenced the geometrical structure of the orb-web, and the spider web-building and prey capture behaviours. Our study allowed to validate the pertinence of the use of spiders and their orb web as innovative models for studies of relationships between ageing and behaviour.

Key words: Ageing, Web building, Prey capture, Mobility, Orb-web, spider

Etude d'un modèle comportemental du vieillissement : la construction de la toile chez une araignée orbitèle

Le vieillissement est un phénomène naturel, obligatoire et irréversible, souvent associé à un déclin des performances et des fonctions de l'organisme. Bien que les comportements nous renseignent sur l'état physiologique et neurologique de l'organisme, très peu d'études ont portées sur les relations entre l'âge et les comportements. La recherche de nouveaux modèles permettant d'appréhender cette relation pourrait donc être primordiale. Chez les araignées orbitèles, la toile est une structure géométrique complexe d'une apparente régularité. Sa construction résulte d'une succession de comportements organisés et répétés et chaque variation dans la structure de la toile peut être interpréter comme une variation comportementale de l'araignée lors de la construction. L'objectif de cette étude était de mettre en évidence des variations structurelles dans la géométrie de la toile de l'araignée *Zygiella x-notata* qui pourraient être corrélées au vieillissement de l'araignée, et de savoir comment le vieillissement agissait sur la mobilité de l'araignée lors de sa construction et lors de la capture des proies. Nos résultats montrent que le vieillissement a affecté les caractéristiques géométriques de la toile, le comportement de construction et le comportement de capture de l'araignée. Notre étude a permis de valider la pertinence de l'utilisation des araignées orbitèles et de leurs toiles géométriques comme modèles innovants pour l'étude des relations entre vieillissement et comportement.

Mots clés: Vieillissement, Construction d'une toile, Capture des proies, Mobilité, Toile géométrique, Araignée.