Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay, 2025 Vol. 34 (1): e34.1.12 ISSN 2393-6940 https://journal.szu.org.uy DOI: https://doi.org/10.26462/34.1.12



FILOGENIA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE Paratrochosina amica (LYCOSIDAE: ALLOCOSINAE), UNA ARAÑA LOBO DE PASTIZAL

Verónica Gonnet^{1,2,3,*}, Anita Aisenberg², Miguel Simó³, Agustín Carbonell^{1,2,3}, Álvaro Laborda³, Damián Hagopián³, Matías A. Izquierdo⁴, Luis N. Piacentini⁵, Leticia Bidegaray-Batista^{1,*}

 ¹Departamento de Biodiversidad y Genética, Centro de Investigación en Ciencias Ambientales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, CP 11600, Montevideo, Uruguay.
 ²Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, Centro de Investigación en Ciencias Ambientales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, CP 11600, Montevideo, Uruguay.
 ³Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, CP 11400, Montevideo, Uruguay.

⁴Laboratorio de Biología Reproductiva y Evolución, Instituto de Diversidad y Ecología Animal, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) – Universidad Nacional de Córdoba (UNC), Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

⁵División Aracnología, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Av. Ángel Gallardo 470, C1405DJR, Buenos Aires, Argentina.

* Autoras de correspondencia: veronica.gonnetc@gmail.com, letigaray@yahoo.com

Fecha de recepción: 28 de octubre de 2024 Fecha de aceptación: 07 de diciembre de 2024

RESUMEN

Paratrochosina amica es una especie de araña lobo de la subfamilia Allocosinae que habita en pastizales y jardines de Uruguay y otras regiones del sur de Sudamérica, donde presenta una amplia distribución. A diferencia de otras especies de esta subfamilia, P. amica posee tamaños corporales similares en ambos sexos y los machos son quienes buscan pareja activamente e inician el cortejo. Dado que se está intentado entender los factores que modelan los comportamientos sexuales y dimorfismo de tamaño en Allocosinae, los estudios en esta especie se vuelven clave. En este trabajo se amplía la representación de datos genéticos de estudios previos, incluyendo especímenes que abarcan una mayor parte de su distribución, y se infieren sus relaciones filogenéticas y analiza su diversidad genética. Los resultados del análisis filogenético corroboran la monofilia de Allocosinae y de P. amica, y ésta a su vez se ubica en la misma posición en el árbol filogenético como lo reportado previamente. La red de haplotipos sugiere una alta conectividad entre los individuos de las localidades estudiadas. Finalmente, el análisis de GMYC muestra que todos los individuos analizados pertenecen a un mismo linaje evolutivo.

Palabras clave: marcadores moleculares, licósido, Neotrópico.

ABSTRACT

Phylogeny and genetic diversity of Paratrochosina amica (Lycosidae: Allocosinae), a grassland wolf spider. Paratrochosina amica is an Allocosinae wolf spider species that inhabits grasslands and gardens in Uruguay and southern South America, where it has a wide distribution. In this study, we extended the representation of genetic data from previous studies by including specimens that cover most of the distribution range. Conversely to what has been reported for other species of the subfamily, P. amica shows similar body sizes in both sexes and males are the mobile sex that initiates courtship. As we are trying to understand the factors shaping sexual behaviour and size dimorphism in Allocosinae, studies in P. amica are crucial. We analysed the phylogenetic relationships and genetic diversity in this species. The analysis corroborated the monophyly of Allocosinae and P. amica, which is also located in the same phylogenetic position as reported in previous studies. The haplotype network suggests high connectivity between individuals from the studied localities. Finally, the GMYC analysis showed that the individuals belong to the same evolutionary lineage.

Key words: molecular markers, lycosid, Neotropics.



INTRODUCCIÓN

Los licósidos (Fam. Lycosidae: Sundevall, 1833) son una familia de arañas lobo muy diversa y abundante en todo el mundo (World Spider Catalog, 2024). Actualmente la familia contiene 134 géneros y más de 2400 especies (World Spider Catalog, 2024). Mayoritariamente, son arañas errantes que no construyen telas y que cazan activamente a sus presas, ya sea emboscándolas o corriendo tras ellas (Foelix, 2011). Dentro de las características que las distinguen se encuentra la disposición de ocho ojos en tres filas, una fila anterior formada por cuatros ojos pequeños de tamaño similar y dos filas posteriores de ojos de mayor tamaño. Otra característica de este grupo es que las hembras transportan la ooteca en sus hileras (Barth, 2002; Foelix, 2011; Nentwig et al., 2022).

La subfamilia Allocosinae Dondale (1986) es un grupo dentro de las arañas lobo (Piacentini & Ramírez, 2019) que se caracteriza porque sus especies presentan bulbo con una apófisis terminal en forma de pico y una apófisis media bífida en el caso de los machos, y hembras con epigino sin tabique medio ni atrio (Dondale, 1986; Piacentini & Ramírez, 2019). A su vez, este grupo presenta una alta homogeneidad en sus características genitales, que dificulta la identificación y reconocimiento de las especies utilizando exclusivamente datos morfológicos (Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017). Se han reportado en esta subfamilia tres especies sudamericanas costeras, Allocosa senex (Mello-Leitão, 1945), Allocosa marindia (Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017) y Allocosa alticeps (Mello-Leitão, 1944), que presentan características peculiares en su comportamiento sexual, siendo los primeros reportes en arañas (Aisenberg, Viera & Costa, 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Aisenberg, 2014; Guerra, Ferreti & Aisenberg, 2022). En A. senex y A. marindia los machos son más grandes que las hembras, y en las tres especies son las hembras quienes se acercan a las cuevas de los machos e inician el cortejo (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Aisenberg, 2014; Guerra et al., 2022).

Estudios previos realizados por Piacentini y Ramírez (2019) utilizando datos moleculares, recuperaron a Allocosinae como un grupo monofilético. En un análisis filogenético reciente de esta subfamilia, Gonnet et al. (2021), incluyeron por primera vez a la especie *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941) ubicándola dentro de Allocosinae. A su vez, realizaron la descripción morfológica de la hembra y la redescripción del macho de esta especie (Gonnet et al., 2021). Posteriormente, Laborda et al. (2022) describieron un nuevo género dentro de la subfamilia denominado *Abaycosa*, continuando con la profundización en los estudios de las relaciones de parentesco entre los individuos de esta subfamilia.

Paratrochosina amica (Fig. 1) habita en pastizales y jardines de Uruguay y de otras regiones del sur de Sudamérica (Gonnet et al., 2021). Es una especie de tamaño pequeño (aproximadamente 6 milímetros de largo total del cuerpo), con hembras y machos de tamaño corporal similar, a diferencia de lo reportado en A. senex, A. marindia y otras especies de la subfamilia que habitan ambientes costeros (Gonnet, 2022; Aisenberg et al., 2023). Adicionalmente, a diferencia de las dos especies que han sido más estudiadas de esta subfamilia (A. senex y A. marindia), en P. amica los machos son quienes buscan pareja activamente e inician el cortejo (Gonnet, 2022; Aisenberg et al., 2023). Para entender los factores que conducen el origen y la evolución de los comportamientos sexuales y dimorfismo de tamaño en Allocosinae, es relevante estudiar esta especie que habita en los pastizales de nuestro país. Los datos de colección muestran que la especie presentaría una amplia distribución, variación en los patrones de coloración entre el marrón claro y el oscuro, y con o sin bandas oscuras en las patas, por lo que se han identificado tres morfotipos (Gonnet et al., 2021; Laborda, 2023).

Estudios previos en otras especies de licósidos con amplia distribución han demostrado la existencia de especies crípticas, es decir, especies morfológicamente similares (González, Peretti & Costa, 2015; González, Kacevas, Nori, Piacentini & Bidegaray-Batista, 2023). En este sentido, se torna particularmente difícil diferenciar la situación de *P. amica*, por poseer una amplia distribución y escasa variación morfológica (Simó et al., 2017; Gonnet, 2022).

El avance de las técnicas moleculares mediante la utilización de secuencias de ADN para estudios de taxonomía contribuye al descubrimiento de especies crípticas, delimitación de especies, entre otros (DeSalle, Egan & Siddall, 2005; Bickford et al., 2007; Lemey, Salemi & Vandamme, 2009; Macías-Hernández, Oromí & Arnedo, 2010). Particularmente, estas técnicas junto con observaciones de comportamiento sexual, donde además se reporta aislamiento reproductivo entre poblaciones (de lo que se consideraba una misma especie), y estudios de modelos de distribución, han permitido diferenciar linajes en especies simpátricas de arañas lobo (González, Peretti, Viera & Costa, 2013; González et al., 2015; Kacevas, 2022; González et al., 2023).

Considerando los argumentos mencionados anteriormente, el objetivo de este estudio fue ampliar la representación de datos genéticos reportados en *P. amica*, incluyendo especímenes que abarcaran mayor parte de su extensa distribución, evaluar si corresponden al mismo linaje, y analizar su diversidad genética.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras analizadas

Las muestras utilizadas fueron especímenes identificados como Paratrochosina amica depositados en



Fig. 1. Ejemplar macho de Paratrochosina amica en su ambiente natural. Foto: M. Casacuberta.

las colecciones aracnológicas de Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay (FCE Ar) y del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Buenos Aires, Argentina (MACN-Ar) (Tabla 1). Sumado a estos especímenes, se utilizaron las secuencias publicadas en Gonnet et al. (2021) de 29 individuos de P. amica, y además se secuenciaron otros genes en cuatro individuos (una pareja adultos de Melilla y otra pareja recolectada en el IIBCE) de esos 29 (Tablas 1 y 2). Por lo tanto, los individuos analizados de P. amica en este estudio provienen de 10 localidades distintas distribuidas entre Argentina y Uruguay (Tablas 1 y 2; Fig. 2). El mapa con las localidades analizadas se construyó con SimpleMappr (Shorthouse, 2010). Los individuos preservados en alcohol 95% fueron clasificados según su patrón de coloración (descriptos en Gonnet et al. (2021)) al morfotipo de especímenes vivos más similar. La información de cada individuo se encuentra detallada en la Tabla 2.

Obtención de datos moleculares

Se extrajo ADN de las patas izquierdas III y IV de ocho individuos (con códigos de ADN "VGA": 69, 70, 71, 72, 73, 74, 80 y 81). En casos en los cuales no fue posible acceder a las patas III y IV completas, se utilizaron partes de las patas disponibles. La extracción de ADN genómico total se realizó utilizando el kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) y se siguió el protocolo del fabricante. Se amplificaron fragmentos parciales de los genes mitocondriales de la subunidad I del citocromo c oxidasa (cox1), el ARNr 12S (12S), la subunidad I de la NADH deshidrogenasa (nad1), y del gen nuclear histona 3 (h3). Se utilizaron los siguientes pares de cebadores: (cox1) C1-J-1490 y C1-N-2198 (Folmer, Black, Hoeh, Lutz, y Vrijenhoek, 1994), (12S) SR-J-14233 (Simon et al., 1994) y SR-N-14503 (Croom, Gillespie & Palumbi, 1991), (nad1) TL-1-N-12718 (Hedin, 1997) y M510 (Murphy et al., 2006),

Especies	Subfamilia	Nº Colección	Código de ADN	Sexo	Morfotipo <i>P. ami</i> ca	Localidad	Provincia/ Departamento	País	12S	nad1	cox1	h3
Arctosa cinerea	Tricassinae	_	_	-	_	_	_	_	DQ019763	DQ019651	GBBSP1285-15	_
Arctosa lutetiana	Tricassinae	_	_	—	_	_	_	_	MK524585	MK524643	SPDAR1294-15	MK524677
Aglaoctenus lagotis	Sosippinae	—	—	—	_	—	—	—	MK524583	DQ019640	SPDAR298-13	MK524669
Pardosa alacris	Pardosinae	_	_	_	_	—	_	_	—	_	SPDAR1298-15	MK524695
Wadicosa fidelis	Pardosinae	-	—	—	_	-	_	—	KP100666	KP100666	KP100666	MK524708
Lycosa tarantula	Lycosinae	-	—	—	_	-	_	—	KC551085	DQ019666	KC550669	—
Pavocosa gallopavo	Lycosinae	-	—	—	_	-	_	—	DQ019800	DQ019695	SPDAR365-14	—
<i>Hippasa</i> sp.	Hippasinae	_	_	_	_	—	_	_	_	MK524652	SPDAR1378-16	MK524684
Lobizon humilis	Artoriinae	—	—	—	_	—	_	—	—	MK524655	SPDAR252-13	MK524711
Navira naguan	Artoriinae	—	_	_	_	_	—	_	MK524594	MK524657	SPDAR376-14	MK524692
Allocosa funerea	Allocosinae	-	—	—	_	—	—	—	—	—	SPDAR1405-16	MK524671
Allocosa senex	Allocosinae	-	—	_	_	_	_	—	MF410703	MK524638	SPDAR375-14	MK524670
Arctosa sapiranga	Allocosinae	_	_	—	_	_	_	—	MK524586	MK524653	SPDAR247-13	MK524685
Abaycosa nanica	Allocosinae	_	_	_	_	_	_	—	MK524597	MK524661	SPDAR404-14	_
Gnatholycosa spinipalpis	Allocosinae	_	_	_	_	_	—	_	MK524590	MF410714	SPDAR973-15	MK524710
Abaycosa nanica	Allocosinae	FCE Ar-10124	AbnaAL76_h	h	_	_	Entre Ríos	Argentina	OL956807	OL956803	OL960042	OL956799
Abaycosa nanica	Allocosinae	FCE Ar-12535	AbnaAL06_h	h	—	—	Montevideo	Uruguay	OL956805	OL956801	OL960040	OL956797

Tabla 1. Lista de especies analizadas y números de referencia de GenBank o BOLD System de secuencias extraídas de Piacentini y Ramírez, (2019), Gonnet et al., (2021) y Laborda et al., (2022). Se indican con "*" los códigos de ADN de las extracciones y las secuencias generadas en este trabajo. La letra "h" corresponde a "hembra" y la "m" a "macho".

Bol. Soc. Zool. Uruguay (2ª época). 2025. Vol. 34 (1): e34.1.12 ISSN 2393-6940 • •

Especies	Subfamilia	Nº Colección	Código de ADN	Sexo	Morfotipo <i>P. amica</i>	Localidad	Provincia/ Departamento	País	12S	nad1	cox1	h3
Abaycosa nanica	Allocosinae	FCE Ar-12536	AbnaAL07_m	m	—	—	Montevideo	Uruguay	OL956806	OL956802	OL960041	OL956798
Abaycosa paraguensis	Allocosinae	FCE Ar-12533	AbpaAL03_h	h	_	_	Canelones	Uruguay	_	OL956800	OL960038	OL956795
Abaycosa paraguensis	Allocosinae	FCE Ar-12533	AbpaAL04_m	m	—	_	Canelones	Uruguay	OL956804	_	OL960039	OL956796
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-11442	VGA42	h	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ661112	PQ787341*	MZ644104	PQ787327*
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-9214	VGA37	m	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ661115	PQ787342*	MZ644108	PQ787326*
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-11452	VGA44	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ661110	PQ787343*	MZ644102	PQ787328*
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-11450	VGA50	h	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ661107	PQ787340*	MZ644096	PQ787329*
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-10927	VGA67	m	2	Los Gigantes	Córdoba	Argentina	MZ661097	PQ787339*	MZ644082	PQ787330*
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-10934	VGA81*	m	3	Alférez	Rocha	Uruguay	PQ771126*	_	PQ740217*	PQ787335*
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 27539	VGA69*	m	1	Ingeniero Adolfo Sourdeaux	Buenos Aires	Argentina	PQ771125*	PQ787338*	PQ740213*	PQ787331*
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 30119	VGA70*	h	1	Viedma	Río Negro	Argentina	PQ771127*	_	PQ740211*	PQ787332*
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 31093	8 VGA71*	m	2	San José de Mayo	San José	Uruguay	PQ771128*	PQ787336*	PQ740212*	PQ787333*
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 34448	8 VGA72*	m	1	Fortín Lagunita	Río Negro	Argentina	PQ771129*	_	PQ740214*	_
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 34449	VGA73*	h	1	Fortín Lagunita	Río Negro	Argentina	_	_	PQ771130*	_
Paratrochosina amica	Allocosinae	MACN-Ar 33423	8 VGA74*	h	2	Valle Fértil	San Juan	Argentina	PQ771131*	_	PQ740215*	_
Paratrochosina amica	Allocosinae	FCE Ar-16527	VGA80*	h	2	Montes del Queguay	Paysandú	Uruguay	PQ771124*	PQ787337*	PQ740216*	PQ787334*

Bol. Soc. Zool. Uruguay (2ª época). 2025. Vol. 34 (1): e34.1.12 ISSN 2393-6940 • •

2

Tabla 2. Individuos de *Paratrochosina amica* analizados en este estudio con detalles sobre número de colección, código de ADN, sexo (m: macho, h: hembra, msuba: macho subadulto), morfotipo, localidad de recolección, provincia/departamento, país y número de haplotipos para el gen *cox1* con el código de secuenciación asignado por el GenBank. Con asterisco "*" se indican los ADN y secuencias generadas en este estudio, el resto de los ADNs (N=29) y secuencias *cox1* fueron generadas en Gonnet et al. 2021.

Nº Colección	Código de ADN	Sexo	Morfotip	o Localidad	Provincia/Departamento	País	cox1	Haplotipo cox1
FCE Ar-10934	VGA81*	m	3	Alférez	Rocha	Uruguay	PQ740217*	Haplotipo 12
MACN-Ar 34448	VGA72*	m	1	Fortín Lagunita	Río Negro	Argentina	PQ740214*	Haplotipo 11
FCE Ar-11498	VGA56	m	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644090	Haplotipo 3
FCE Ar-11442	VGA42	h	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644104	Haplotipo 5
FCE Ar-11444	VGA38	h	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644107	Haplotipo 3
FCE Ar-9214	VGA37	m	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644108	Haplotipo 3
FCE Ar-9348	VGA55	h	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644091	Haplotipo 3
FCE Ar-10448	VGA57	m	1	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644089	Haplotipo 8
FCE Ar-11437	VGA58	m	2	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644088	Haplotipo 3
FCE Ar-11439	VGA39	m	2	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644106	Haplotipo 3
FCE Ar-11446	VGA52	h	2	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644094	Haplotipo 3
FCE Ar-11447	VGA53	m	2	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644093	Haplotipo 3
FCE Ar-11441	VGA46	h	3	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644100	Haplotipo 3
FCE Ar-11443	VGA49	h	3	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644097	Haplotipo 3
FCE Ar-11449	VGA45	h	3	IIBCE	Montevideo	Uruguay	MZ644101	Haplotipo 3
MACN-Ar 27539	VGA69*	m	1	Ingeniero Adolfo Sourdeaux	Buenos Aires	Argentina	PQ740213*	Haplotipo 2
FCE Ar-10927	VGA67	m	2	Los Gigantes	Córdoba	Argentina	MZ644082	Haplotipo 10
FCE Ar-10928	VGA68	h	2	Los Gigantes	Córdoba	Argentina	MZ644081	Haplotipo 10
FCE Ar-11454	VGA41	msuba	1	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644105	Haplotipo 3
FCE Ar-11455	VGA54	m	1	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644092	Haplotipo 8
FCE Ar-11458	VGA65	m	1	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644109	Haplotipo 9
FCE Ar-11459	VGA64	h	1	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644084	Haplotipo 3
FCE Ar-10930	VGA66	m	1	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644083	Haplotipo 3
FCE Ar-11451	VGA43	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644103	Haplotipo 6
FCE Ar-11452	VGA44	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644102	Haplotipo 4
FCE Ar-11453	VGA51	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644095	Haplotipo 4
FCE Ar-11450	VGA50	h	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644096	Haplotipo 6
FCE Ar-10227	VGA61	h	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644086	Haplotipo 4
FCE Ar-10228	VGA60	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644087	Haplotipo 9
FCE Ar-11457	VGA47	h	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644099	Haplotipo 4
FCE Ar-11456	VGA48	m	2	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644098	Haplotipo 7
FCE Ar-10931	VGA63	m	3	Melilla	Montevideo	Uruguay	MZ644085	Haplotipo 3
FCE Ar-16527	VGA80*	h	2 1	Montes del Quegua	ay Paysandú	Uruguay	PQ740216*	Haplotipo 2
MACN-Ar 31093	VGA71*	m	2	San José de Mayo	o San José	Uruguay	PQ740212*	Haplotipo 2
MACN-Ar 33423	VGA74*	h	2	Valle Fértil	San Juan	Argentina	PQ740215*	Haplotipo 10
MACN-Ar 30119	VGA70*	h	1	Viedma	Río Negro	Argentina	PQ740211*	Haplotipo 1

(h3) H3F y H3R (Colgan et al., 1998).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, en inglés *Polymerase Chain Reaction*) se realizó según el protocolo para la ADN polimerasa Dream Taq (Thermo

Scientific) en las siguientes condiciones: etapa de desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 min; seguida por 38 ciclos de 95 °C durante 45 s, de 42 °C a 45 °C durante 45 s (dependiendo de los cebadores, ver deba-





jo), y una extensión a 72 °C por 45 s; con un paso de extensión final a 72 °C durante 5 min. Para el fragmento del gen cox1, y del 12S se logró una amplificación exitosa con una temperatura de hibridación de 42 °C, mientras que para el nad1 ésta fue entre 38 °C y 42 °C, y para el h3 entre 45 °C y 48 °C. Los productos de PCR se visualizaron mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1 % y se purificaron con las enzimas FastAP (Thermosensitive Alkaline Phosphatase) y Exonuclease I de Thermo Fisher Scientific. Los productos amplificados se secuenciaron en ambas direcciones utilizando el servicio de secuenciación de Humanizing Genomics Macrogen, Seúl, Corea. Las secuencias de ADN se editaron utilizando la versión de prueba gratuita del software Geneious Prime (https://www.geneious.com) y se depositaron en el GenBank (cox1: PQ740211 -PQ771124 - PQ771131; nad1: PQ740217; 12S: PQ787336 - PQ787343; h3: PQ787326 - PQ787335) (Tabla 1).

Análisis filogenéticos y diversidad genética

La alineación de las secuencias de *cox1*, *nad1* e *h3* se realizó con el software Geneious y fue trivial ya que son fragmentos de genes codificantes para proteínas y no se observaron inserciones/deleciones al realizar el alineamiento. Las secuencias del *12S* se alinearon usando la versión en línea del programa MAFFT (v.7) (Katoh, Rozewicki & Yamada, 2019) seleccionando el algoritmo G-INS-I.

Para el análisis filogenético, se construyó una matriz de datos 1 (M1) en la que se incluyeron 33

secuencias los genes de cox1 (N=8), 12S (N=7), nad1 (N=8) y h3 (N=10) generadas en este estudio y 78 secuencias (cox1: N=25; 12S: N=20; nad1: N=17 y h3: N= 16) de representantes de Allocosinae depositadas en el GenBank o en BoldSystem (Tabla 1). Los taxa de Allocosinae fueron seleccionados de trabajos de Piacentini y Ramírez (2019), Gonnet et al. (2021) y Laborda et al. (2022). Los genes fueron concatenados para 33 individuos (Tabla 1). Con esta matriz se realizó el análisis de Máxima Verosimilitud (MV) con el objetivo de evaluar la posición filogenética de P. amica respecto a las especies secuenciadas y disponibles de Allocosinae. El mejor esquema de partición se seleccionó con ModelFinder Kalyaanamoorthy, Minh, Wong, Von Haeseler & Jermiin, 2017) en la interfaz web de IQTREE (Nguyen, Schmidt, Von Haeseler, y Minh, 2015) y el análisis MV se realizó con IQTREE (Nguyen et al., 2015), seleccionando el algoritmo de Ultrafast Bootstrap (Hoang, Chernomor, Von Haeseler, Minh & Vinh, 2018) y la búsqueda del árbol de MV con la mejor puntuación en una sola ejecución. Se realizaron 1000 réplicas de Ultrafast Bootstrap. El árbol se visualizó con el programa Figtree v1.4.4.

Con el fin de evaluar si todos los individuos identificados como *P. amica* pertenecen al mismo linaje evolutivo se construyó la matriz dos (M2) con los genes mitocondriales (*cox1*, *12S* y *nad1*) concatenados para 13 individuos de *P. amica* (Tabla 1), seleccionando aquellos individuos que presentaran la mayor cantidad de secuencias de estos genes disponibles y abarcando el rango de distribución analizado. Para

evaluar los linajes evolutivamente independientes, se realizó el análisis Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) (Pons et al., 2006; Fontaneto et al., 2007), utilizando la M2 y el servidor web GMYC (https://species.h-its.org/gmyc/), y la opción de umbral único. El árbol ultramétrico requerido para los análisis se estimó en BEAST v2.7.5 (Bouckaert et al., 2019), bajo un reloj estricto y una tasa de sustitución media fijada en 1. Para esto, el modelo coalescente de tamaño constante se especificó a priori. Se realizaron dos corridas independientes de 10⁷ generaciones y se tomaron muestras cada 10³ generaciones. La convergencia y la mezcla de cadenas de MCMC (Markov Chain Monte Carlo) se evaluaron con TRACER v1.7 (Rambaut, Drummond, Xie, Baele & Suchard, 2018). Las ejecuciones independientes se combinaron con LogCombiner (con un 10 % de muestras descartadas al comienzo de cada corrida), y se utilizó TreeAnnotator para resumir la información de los árboles muestreados.

Para analizar la diversidad genética de P. amica se constuyó la matriz tres (M3) con el gen cox1 para todos los individuos secuenciados de P. amica (N=36) de los cuales 29 son los publicados en Gonnet et al. (2021) y siete fueron secuenciados en este estudio (Tabla 2). Para esto se calculó la diversidad haplotídica (h), la diversidad nucleotídica (πn), y el número de haplotipos, y se realizaron los tests de neutralidad de D de Tajima (Tajima, 1989), Fs de Fu (Fu, 1997) y R2 (Ramos-Onsins & Rozas, 2002), en todos los casos utilizando el programa DnaSP versión 6.11.01 (Rozas et al., 2017). La red de haplotipos se infirió utilizando parsimonia estadística en TCS (Clement, Snell, Walker, Posada & Crandall, 2002), implementada en el programa PopART versión v 4.8.4 (Leigh, Bryant, Nakagawa y Evolution, 2015).

RESULTADOS

Análisis filogenéticos

Se obtuvieron siete secuencias de cox1 (cuatro machos y tres hembras), ocho secuencias de 12S (cuatro machos y cuatro hembras), ocho secuencias del nad1 (cinco machos y tres hembras) y 10 secuencias del gen h3 (seis machos y cuatro hembras) (Tabla 1). La alineación de las secuencias cox1 (matriz M3) resultó en 657 caracteres y la correspondiente al gen 12S, resultó en 265 caracteres. Por otra parte, la alineación del gen nad1, resultó en 620 caracteres y finalmente la del gen h3, resultó en 331 caracteres. La matriz M1, resultado de la concatenación de los genes cox1, 12S, nad1, y h3, dio como resultado una matriz combinada de 1876 caracteres. La matriz M2 construida a partir de la concatenación de los genes mitocondriales, cox1, 12S y nad1, dio como resultado una matriz combinada de 1544 caracteres.

El mejor modelo de sustitución para el *cox1* fue GTR+F+I+G4 (LogL= -3812,9679), para el *12S* fue TIM3+F+G4 (LogL= -1499.2975), para el *nad1* fue TIM+F+I+G4 (LogL= -4045.4676) y para la *h3* fue TIM2e+G4 (LogL= -1164.8977). A partir del análisis de MV se recupera a Allocosinae como grupo monofilético (con un soporte mayor a 95 %), y a *P. amica* formando un grupo monofilético (con un soporte mayor a 95 %), y a *P. amica* formando un grupo monofilético (con un soporte mayor a 95 %) (Fig. 3). El análisis mostró una estrecha relación entre los individuos estudiados de las diferentes localidades y morfotipos. El análisis de GMYC no identificó linajes evolutivos independientes entre las localidades y morfotipos estudiados (LR test: 0.5479812).

8

En el análisis de diversidad genética se identificaron 12 haplotipos que se visualizan en una red de haplotipos (Fig. 4). La red de haplotipos mostró que no hay una marcada estructuración genética relacionada con la distribución geográfica de la especie. Hay haplotipos provenientes de diferentes localidades del rango de distribución de la especie que están conectados por pocos pasos mutacionales, y a su vez hay haplotipos compartidos entre individuos que provienen de diferentes localidades. El haplotipo 12 (Alférez, Rocha, Uruguay) es el más divergente, está conectado con el resto por 13 a 20 pasos mutacionales. La diversidad nucleotídica (πn) fue 0.00868 (SD= 0.00122) y la diversidad de haplotídica (h) fue 0.810 (SD= 0.059). En cuanto a los test de neutralidad los resultados fueron: D de Tajima (D: -1.1337; P= 0.133), Fs de Fu (Fs: -0.0708; P= 0.560), R2 de Ramos Onsins y Rozas (R2: 0.0817; P=0.154).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizaron ejemplares de *P. amica* que aumentaron la representatividad genética reportada hasta el momento, y en este caso, abarcando gran parte de la distribución reportada para la especie (Gonnet et al., 2021). Se incrementó la información disponible de esta especie en los repositorios de datos genéticos, aumentando tanto el número de individuos analizados como el número de marcadores moleculares. Esto permitió contrastar la hipótesis filogenética planteada en Gonnet et al. (2021) que propone que los morfotipos estudiados de *P. amica*, constituyen un único linaje. Los resultados de estos estudios confirmaron lo anterior y permitieron analizar la diversidad genética de la especie en un mayor rango de su distribución.

Se corroboró la monofila de Allocosinae, lo cual coincide con Gonnet et al. (2021), Piacentini y Ramírez (2019), y Laborda et al. (2022). A su vez, todos los ejemplares analizados de *P. amica*, se recuperaron dentro de un clado y en la misma posición en el árbol filogenético (Fig. 3), lo que coincide con lo reportado por Gonnet et al. (2021). Los resultados del GMYC







mostraron que los individuos analizados, dentro del rango de distribución, pertenecen a un único linaje evolutivo. Esto confirma, considerando los datos genéticos, la co-especificidad de los individuos estudiados en las distintas localidades y morfotipos lo cual ya fue sugerido por Gonnet et al. (2021) para dos localidades de Uruguay. Dado estos resultados no existe hasta el momento evidencia para sustentar la hipótesis que existen especies crípticas dentro de P. amica, lo que difiere de lo encontrado en otras arañas lobo de amplia distribución (González et al., 2015). Las diferencias de coloración observadas para cada morfotipo podrían deberse a variaciones geográficas esperables para una especie de amplio rango de distribución, similarmente a lo que ha sido reportado en otras arañas lobo (Aisenberg et al., 2023; González et al., 2023).

La conectividad sugerida por la red de haplotipos entre los individuos de las localidades estudiadas de P. amica, con haplotipos de distintas localidades y lejanas en distancia conectada por pocos pasos mutacionales y haplotipos compartidos en diferentes localidades, podría estar relacionada con el alto grado de dispersión de los licósidos (Bishop & Riechert, 1990; Bell, Bohan, Shaw & Weyman, 2005; Bidegaray-Batista et al., 2017; Piacentini & Ramírez, 2019), específicamente en sitios perturbados (Entling, Stämpfli & Ovaskainen, 2011). Al tratarse P. amica de una especie de pastizal, que actualmente sufre modificación, reducción y fragmentación (Brazeiro, Achkar, Toranza y Bartesaghi, 2020), estudiar el mecanismo que utiliza para poder dispersarse es muy importante para evaluar el estatus de conservación de la especie. Una alta capacidad de dispersión aérea mediante el "ballooning" y alta conectividad entre poblaciones ha sido reportada para otras especies de arañas lobo de la subfamilia Allocosinae, Allocosa senex y Allocosa marindia (Bidegaray-Batista et al., 2017; Postiglioni, Aisenberg, Carlozzi & Bidegaray-Batista, 2017; Carlozzi, Bidegaray-Batista, González-Bergonzoni & Aisenberg, 2018; Postiglioni, Bidegaray-Batista, Simó & Arnedo, 2019), y la subfamilia Sosippinae, Aglaoctenus lagotis (Kacevas, 2022; Kacevas, Bidegaray-Batista, Gobel & González, 2024).

Con el fin de ampliar la cobertura geográfica de este estudio, las futuras investigaciones estarán enfocadas en incluir ejemplares de otras regiones de Sudamérica, partiendo de datos de colección y nuevas colectas. Pretendemos también, incorporar datos genómicos tipo SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) con el fin de obtener un número mayor de sitios variables en el genoma que nos permita obtener más información para realizar estudios demográficos, evaluar la conectividad y estructura poblacional de *P. amica* y realizar comparaciones con otras especies de la subfamilia Allocosinae.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a M. Casacuberta, M. González, C. Toscano-Gadea por su colaboración en las salidas de campo. Agradecemos a M. Casacuberta por las fotografías de las arañas en sus hábitats naturales. Agradecemos a M. González Barbosa, M. Panzera, E. Olivera, G. Morera, por su colaboración en el laboratorio. Este estudio fue financiado por los proyectos FCE_1_2017_1_136269 (Fondo Clemente Estable, ANII), National Geographic WW204R_17, FCE_1_2023_1_176160 (Fondo Clemente Estable, ANII) y por Dr. Carlos Carbajal Campi, FAICE GENBIO. A.A., L.B.B., M.S., A.L., D.H., agradecen al Programa Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA, Uruguay); y A.A., L.B.B, A.L., M.S, también al Sistema Nacional de Investigadores (SNI, ANII, Uruguay).

Le dedicamos este manuscrito a Mateo Piero Rivoir Gonnet y Giulia Viana Bidegaray, que nos acompañan y apoyan siempre. Agradecemos los comentarios y sugerencias de un/una revisor/a anónima, revisor NF y Editoras que mejoraron la versión final de este manuscrito.

REFERENCIAS

- Aisenberg, A. (2014). Adventurous females and demanding males: sex role reversal in a Neotropical spider. En R. H. Macedo & G. Machado (Eds.). Sexual Selection: Perspectives and Models from the Neotropics (pp. 163-182). USA Elsevier.
- Aisenberg, A., Bollatti, F., Oviedo-Diego, M., Albín, A., Alves Días, M., Arnedo, M., ... & Bidegaray-Batista, L. (2023). Breaking The Cliché: Sex Reversal In Size Dimorphism And Mobility In South American Allocosinae (Lycosidae) Spiders. *Biological Journal of The Linnean Society*, 140(2), 224-39.
- Aisenberg, A., & Costa, F.G. (2008). Reproductive isolation and sex-role reversal in two sympatric sand-dwelling wolf spiders of the genus Allocosa. *Canadian Journal of Zoology*, *86*(7), 648-658.
- Aisenberg, A., Viera, C., & Costa, F.G. (2007). Daring females, devoted males, and reversed sexual size dimorphism in the sand-dwelling spider *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Lycosidae). *Behavioral Ecology Sociobiology*, 62, 29-35.
- Barth, F.G. (2002). A spider's world. Senses and behavior. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Bell, J., Bohan, D., Shaw, E., & Weyman, G. (2005). Ballooning dispersal using silk: world fauna, phylogenies, genetics and models. *Bulletin of Entomological Research*, 95(2), 69-114.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., & Das, I.J.

(2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(3), 148-155.

- Bidegaray-Batista, L., Arnedo, M., Carlozzi, A., Jorge, C., Pliscoff, P., Postiglioni, R., Simó, M., & Aisenberg, A. (2017). Dispersal strategies, genetic diversity and distribution of two wolf spiders (Araneae, Lycosidae), potential bioindicators of ecosystem health of coastal dune habitats of South America. En C. Viera & M.O. Gonzaga (Eds.). Behavior and ecology of Neotropical spiders - contributions of studies from the Neotropical region (pp. 109-135). Springer, Cham.
- Bishop, L., & Riechert, S.E. (1990). Spider colonization of agroecosystems: mode and source. *Environmental Entomology*, *19*(6), 1738-1745.
 BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Computational Biology*, *15*(4), e1006650.
- Brazeiro, A., Achkar, M., Toranza, C., & Bartesaghi, L. (2020). Agricultural expansion in Uruguayan grasslands and priority areas for vertebrate and woody plant conservation. *Ecology Society*, *25*(1), 15.
- Carlozzi, A., Bidegaray-Batista, L., González-Bergonzoni, I., & Aisenberg, A. (2018). Flying sand-dwelling spiders: aerial dispersal in Allocosa marindia and Allocosa senex (Araneae: Lycosidae). The Journal of Arachnology, 46(1), 7-12.
- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., & Crandall, K. (2002). TCS: Estimating gene genealogies. *Parallel Distributed Processing Symposium, International Proceedings*, 2, 184.
- Colgan, D.J., McLauchlan, A., Wilson, G.D., Livingston, S., Edgecombe, G., Macaranas, J., Cassis, G., & Gray, M. (1998). Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. *Australian Journal of Zoology*, *46*(5), 419-437.
- Croom, H.B., Gillespie, R.G., & Palumbi, S.R. (1991). Mitochondrial DNA sequences coding for a portion of the RNA of the small ribosomal subunits of *Tetragnatha mandibulata* and *Tetragnatha hawaiensis* (Araneae, Tetragnathidae). *Journal of Arachnology*, 210-214.
- DeSalle, R., Egan, M.G., & Siddall, M. (2005). The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions* of the Royal Society B: Biological Sciences, 360(1462), 1905-1916.
- Dondale, C. (1986). *The subfamilies of wolf spiders* (*Araneae: Lycosidae*). Actas X Congreso Internacional de Aracnología, Jaca, España.
- Entling, M.H., Stämpfli, K., & Ovaskainen, O. (2011). Increased propensity for aerial dispersal in

disturbed habitats due to intraspecific variation and species turnover. *Oikos*, *120*(7), 1099-1109.

- Foelix, R. (2011). *Biology of Spiders*. Oxford University Press.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C., & Barraclough, T.G. (2007). Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS biology*, 5(4), e87.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2), 915-925.
- Gonnet, V. (2022). Dimorfismo y comportamiento sexual en una especie de Allocosinae (Araneae, Lycosidae) de nuestros pastizales: un abordaje taxonómico, molecular y comportamental. (Tesis de Maestría), PEDECIBA. Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Gonnet, V., Bidegaray-Batista, L., Aisenberg, A., Laborda, Á., Hagopián, D., Izquierdo, M.A., Piacentini, L.N., & Simó, M. (2021). A wolf spider from South American grasslands: phylogenetic placement and redescription of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941). *Zoologischer Anzeiger, 295*, 1-11.
- González, M., Kacevas, N., Nori, J., Piacentini, L.N., & Bidegaray-Batista, L. (2023). Not the same: phylogenetic relationships and ecological niche comparisons between two different forms of *Aglaoctenus lagotis* from Argentina and Uruguay. *Organisms Diversity Evolution*, 23(1), 103-124.
- González, M., Peretti, A.V., & Costa, F.G. (2015). Reproductive isolation between two populations of *Aglaoctenus lagotis*, a funnel-web wolf spider. *Biological Journal of the Linnean Society*, 114(3), 646-658.
- González, M., Peretti, A.V., Viera, C., & Costa, F.G. (2013). Differences in sexual behavior of two distant populations of the funnel-web wolf spider *Aglaoctenus lagotis. Journal of Ethology*, *31*, 175-184.
- Guerra, C.B., Ferretti, N., & Aisenberg, A. (2022). Testing sexual size dimorphism and nocturnal surface activity in the coastal wolf spider *Allocosa alticeps. Arachnology*, *19*, 537-42.
- Hedin, M.C. (1997). Molecular phylogenetics at the population/species interface in cave spiders of the southern Appalachians (Araneae:

Nesticidae: Nesticus). *Molecular Biology and Evolution*, 14(3), 309-324.

- Hoang, D.T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B.Q., & Vinh, L.S. (2018). UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. *Molecular Biology Evolution*, 35(2), 518-522.
- Kacevas, N. (2022). Dispersión, distribución y estructuración genética en Aglaoctenus lagotis: una araña lobo de tela prioritaria para la conservación en Uruguay. (Tesis de Mestría), PEDECIBA. Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Kacevas, N., Bidegaray-Batista, L., Gobel, N., & González, M. (2024). Should I stay or should I fly: Aerial dispersal in a funnel-web wolf spider from the grasslands of southern South America. *Ethology*, 130(6), e13455.
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B.Q., Wong, T.K., Von Haeseler, A., & Jermiin, L.S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6), 587-589.
- Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K.D. (2019). Access the recommendation on F1000 MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, 20, 1160-1166.
- Laborda, Á. (2023). Taxonomía y sistematica de la Subfamilia Allocosinae (Araneae: Lycosidae) en Sudamérica. (Tesis de Doctorado), PEDECIBA. Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Laborda, Á., Bidegaray Batista, L., Simó Núñez, M., Brescovit, A.D., Beloso, C., & Piacentini, L.N. (2022). Abaycosa a new genus of South American wolf spiders (Lycosidae: Allocosinae). Arthropod Systematics & Phylogeny, 80, 59-74.
- Leigh, J.W., Bryant, D., & Nakagawa, S. (2015). PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology & Evolution*, 6(9), 1110e1116.
- Lemey, P., Salemi, M., & Vandamme, A.M.E. (2009). *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing.* Cambridge University Press, New York.
- Macías-Hernández, N., Oromí, P., & Arnedo, M.A. (2010). Integrative taxonomy uncovers hidden species diversity in woodlouse hunter spiders (Araneae, Dysderidae) endemic to the Macaronesian archipelagos. Systematics Biodiversity, 8(4), 531-553.
- Murphy, N.P., Framenau, V.W., Donnellan, S.C., Harvey, M.S., Park, Y.-C., & Austin, A.D.J. (2006). Phylogenetic reconstruction of the wolf spiders (Araneae: Lycosidae) using sequences from the 12S rRNA, 28S rRNA, and NADH1

genes: implications for classification, biogeography, and the evolution of web building behavior. *Molecular Phylogenetics Evolution*, 38(3), 583-602.

- Nentwig, W., Ansorg, J., Bolzern, A., Frick, H., Ganske, A.S., Hänggi, A., Kropf, C., & Stäubli, A. (2022). *All You Need to Know About Spiders.* Springer Cham. Switzerland.
- Nguyen, L.-T., Schmidt, H.A., Von Haeseler, A., & Minh, B.Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximumlikelihood phylogenies. Molecular biology evolution, 32(1), 268-274.
- Piacentini, L.N., & Ramírez, M.J. (2019). Hunting the wolf: a molecular phylogeny of the wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Molecular Phylogenetics Evolution*, 136, 227-240.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D., & Vogler, A.P. (2006). Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55(4), 595-609.
- Postiglioni, R., Aisenberg, A., Carlozzi, A., & Bidegaray-Batista, L. (2017). The dark side of ballooning: nocturnal aerial dispersal in wolf spiders from the South American coastline. *Arachnology*, *17*, 312-316.
- Postiglioni, R., Bidegaray-Batista, L., Simó, M., & Arnedo, M.A. (2019). Move to stay: genetic structure and demographic history of a wolf spider inhabiting coastal sand dunes of southern South America. Systematics Biodiversity, 17(7), 635-649.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G., & Suchard, M.A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, *67*(5), 901-904.
- Ramos-Onsins, S.E., & Rozas, J. (2002). Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, *19*(12), 2092-2100.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology Evolution*, 34(12), 3299-3302.
- Shorthouse, D.P. (2010). SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. [Tomado de https://www.simplemappr.net]. Acceso 22/10/2024.
- Simó, M., Lise, A.A., Pompozzi, G., & Laborda, Á. (2017). On the taxonomy of southern South American species of the wolf spider genus *Allocosa* (Araneae: Lycosidae: Allocosinae). *Zootaxa*, 4216(3), 261-278.

- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6), 651-701.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymor-

phism. Genetics, 123(3), 585-595.

World Spider Catalog. (2024). World Spider Catalog. Version 25.5. Natural History Museum Bern. [Tomado de http://wsc.nmbe.ch]. Acceso 22/10/2024. doi: 10.24436/2

> Editoras de Sección: Macarena González, Carolina Rojas-Buffet

