

Dimorfismo y comportamiento sexual en una especie de  
Allocosinae (Araneae, Lycosidae) de nuestros pastizales:  
un abordaje taxonómico, molecular y comportamental



Foto: M. Casacuberta

**Lic. Verónica Gonnet Cendán**

*Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas  
Clemente Estable (IIBCE), Ministerio de Educación y Cultura (MEC)  
Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, IIBCE, MEC  
Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

**Orientadora: Dra. Leticia Bidegaray Batista**

*Departamento de Biodiversidad y Genética, IIBCE-MEC*

**Co-Orientadora: Dra. Anita Aisenberg**

*Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, IIBCE-MEC*

**Co-Orientador: Dr. Miguel Simó**

*Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República*

**Tesis de Maestría**

PEDECIBA-Biología

Sub-Área Zoología

**2022**

**Tribunal**

Dra. Carmen Viera

Dr. Fernando Pérez-Miles

Dra. Lucía Calbacho-Rosa

# INDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	3
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	9
<b>OBJETIVOS</b> .....	15
Objetivo general .....	15
Objetivos específicos, hipótesis y predicciones .....	15
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	17
<b>Una araña lobo de los pastizales sudamericanos: ubicación filogenética y redescrición de <i>Paratrochosina amica</i> (Mello-Leitão, 1941)</b> .....	17
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	18
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
<i>Muestras de campo y especímenes de estudio</i> .....	20
<i>Taxonomía</i> .....	21
<i>Obtención de datos moleculares</i> .....	22
<i>Análisis filogenéticos</i> .....	26
<b>RESULTADOS</b> .....	31
<i>Revisión taxonómica</i> .....	31
<i>Análisis filogenéticos</i> .....	47
<b>DISCUSIÓN</b> .....	52
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	54
<b>Actividad nocturna de superficie, dimorfismo sexual de tamaño y comportamiento sexual en <i>Paratrochosina amica</i> (Mello-Leitão, 1941), una especie de Allocosinae de pastizal</b> .....	54
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	55
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	59
<i>Actividad nocturna de superficie, fenología y dimorfismo sexual de tamaño</i> .....	59
<i>Recolección y mantenimiento de individuos en el laboratorio</i> .....	61
<i>Observaciones comportamentales</i> .....	61
<i>Análisis estadísticos</i> .....	63
<b>RESULTADOS</b> .....	65
<i>Actividad de superficie y fenología</i> .....	65
<i>Dimorfismo sexual de tamaño</i> .....	66
<i>Observaciones de cortejo y cópula</i> .....	68
<b>DISCUSIÓN</b> .....	74
<b>CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS</b> .....	78

<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	83
<b>ANEXO</b> .....	101

## **AGRADECIMIENTOS**

A los miembros del tribunal Carmen Viera, Fernando Pérez-Miles y Lucía Calbacho-Rosa por sus aportes y sugerencias que enriquecieron y mejoraron la versión final de esta tesis.

A PEDECIBA, ANII, American Arachnological Society, Animal Behavior Society, CSIC, Fondo Clemente Estable - ANII y National Geographic por los apoyos financieros recibidos para realizar esta Maestría.

A Damián Hagopían y su familia que nos abrieron las puertas de su casa y nos recibieron tan cálidamente en las salidas de campo en Melilla.

A Anita, Leti, Miguel, Alvarito, Dami, Andrea, Diego, Nadia K, Rodrigo, Paulina, Leandro, Néstor, Noelia, Nadia B, Carlos Perafán, Tommy, Marcelo, Lore, Maite, Hernán, por colaborar en las salidas de campo.

A Álvaro Laborda y Damián Hagopían por su gran ayuda en taxonomía y armado de las planchas con las imágenes.

A Luis Piacentini por sus enriquecedores intercambios en aspectos de taxonomía, y los intercambios divertidos no académicos.

A Matías Izquierdo por su colaboración con material desde Córdoba.

A Marcelo Casacuberta por las hermosas fotos que registró de tigrín, aunque me ofrezca lupas para verlo je je.

A Andrea Albín por enseñarme a registrar las medidas y a Diego Cavassa, Estefanía Stanley y Álvaro Laborda porque con ellos corroboré medidas algunas veces.

A Nadia, Paulina, Maca, Lore y Laurita por haber cuidado de las arañas en momentos en que no estuve.

A Laurita por la cría de las presas para las arañas.

A Tommy y Diego por su colaboración en las experiencias de comportamiento.

A Maca y Toscano por prestarme materiales y aconsejarme con las experiencias.

A Ivana, Anahí y Nadia por su ayuda con la estadística en R y a Estefa y Mari también por su ayuda en estadística y en el diagrama de flujo.

A Paulina por su ayuda en el formato de las tablas e imágenes de la tesis.

A Nadia Bou, Hernán, Maca y Naty por las corridas de geles compartidos.

A Alejandro y Elías de portería por su disposición en salidas de campo en el jardín del IIBCE.

A María Noel, Eliana y Carolina de administración por siempre facilitarme los trámites.

A las chicas de FAICE Marian y Magela por la gestión de los proyectos, y a Ximena y Jenny de asistentes académicos.

A Héctor y Joaquín por su colaboración en la parte informática.

A Nadia K, Mari y Caro, por su acompañamiento emocional y por estar presentes en todo.

Al Depto. de Ecología y Biología Evolutiva, el laboratorio más cool del mundo jeje. A Anita por abrirme las puertas del laboratorio y recibirme antes de comenzar a trabajar con las arañas. A Maca, Nadia, Pauli, Mari, Caro, Carlitos, Lore, Laurita, Diego, Rodri, Ire, Paty, Anahí, Ivana, Iván, David, Perafán, Daniel.

Al Depto. de Biodiversidad y Genética. A Susana y Leti por recibirme en el Departamento y permitirme realizar la maestría. A Fede, Nadia, Mariana, Matías, Germán, Lucía, Vero, Caro, Naty, Néstor y Hernán.

A la Sección Entomología. A Fernando y Miguel por abrirme las puertas de la Sección para realizar la Maestría. A Alvarito, Damián, Caro, Vale (la negra), Perafán, Manuel, Gabriel, Carmen, Viviana, Enrique, Estrellita, Patricia, Silvana, Analisa y Belén.

A Alicia Caballero por acompañarme en todo este proceso.

A mis orientadores Leti, Anita y Miguel. Por todas sus enseñanzas, su dedicación y sobre todo por su humanidad, acompañamiento y apoyo siempre. Estuvieron en mis momentos

más duros y también en los más felices, gracias por estar, apoyarme y darme para adelante siempre. Tuve una orientación excelente en todo sentido.

Leti, gracias por haber tomado el desafío de orientarme, por siempre apoyarme y por tu cariño.

Anita, gracias por invitarme a formar parte de este grupo maravilloso y mostrarme el fantástico mundo de las arañas. Gracias por tu apoyo siempre, por tu amor y siempre creer en mí.

Miguel, gracias por tu dedicación, apoyo y paciencia a la hora de enseñarme.

A los tres Gracias por haberme orientado y por haber hecho de esta tesis algo increíble.

A mis amigos y amigas, gracias por siempre escucharme y apoyarme cuando más los he necesitado. A mis amigas y amigos no aracnólogos, gracias además por siempre escucharme cuando les cuento nuestros súper proyectos y mis aventuras con las arañas y más específicamente con tigrín. En esta sección incluyo también a mi amigo perruno Idefix je je.

A lean, mi compañero de vida, gracias por tanto amor, compañerismo, amistad y camino recorrido juntos. Gracias por todos los detalles que tuviste y tienes conmigo a lo largo de este recorrido. Gracias por que en esta etapa nunca faltó el calor de hogar. Gracias por ser y estar.

A mis suegros Norma y Erwin, gracias por apoyarme y darme para adelante siempre.

A mi familia, a mis padres Magela y Mario, gracias por siempre apoyarme incondicionalmente y motivarme a hacer lo que quiero. A mis hermanos, Leti, Sil y Germán, gracias por su apoyo siempre. Leti gracias por siempre hacerme reír mucho cuando te cuento sobre mis proyectos con las arañas y muestras tu sorpresa y admiración. No voy a olvidar nunca los “wowwww, arañas lobo otra vez” y todas tus felicitaciones constantes.

A Germán, gracias por las discusiones enriquecedoras que tenemos.

Sil, gracias por estar cuando lo he necesitado.

A mis sobrinos: Nacho, Luli, Sofi y Emi.

A Vale por darme siempre para adelante.

A mis padres Mario y Magela. Pasamos momentos muy duros en este tiempo, pero si hay algo que aprendí de ustedes es a nunca rendirme y luchar por salir adelante. Gracias papá por ser un ejemplo de lucha, resistencia y calma en las peores tormentas. Gracias mamá por ser ejemplo de apoyo incondicional, dedicación total y fuerza. Gracias a los dos por enseñarme de amor verdadero.

A mi querida Gra, que seguro está presente de otra forma. Gracias infinitas por siempre motivarme a seguir este camino. Por apoyarme y siempre creer en mí. Te dedico con mucho amor esta tesis.

Gracias a todas/os las/os presentes y a quienes se conectaron virtualmente.

## RESUMEN

La familia Lycosidae comprende a las arañas lobo y es uno de los grupos más diversos de araneomorfos. Una de las subfamilias de Lycosidae, Allocosinae, es conocida a través de pocas especies en Sudamérica. Se han realizado estudios de taxonomía, comportamiento, ecología y filogeografía en dos especies nativas de esta subfamilia: *Allocosa senex* (Mello-Leitão, 1945) y *A. marindia* Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017. Ambas especies habitan en arenales costeros y presentan inversión parcial de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño típico en arañas. En varios grupos animales se ha vinculado la existencia de inversión de roles sexuales con ambientes duros y/o impredecibles. En este sentido, una de las posibles causas que podría conducir la aparición de estos comportamientos atípicos en *A. marindia* y *A. senex* podría estar vinculada al ambiente costero en el que habitan. Hasta el momento, no hay estudios en especies sudamericanas de Allocosinae que habiten otros ambientes, como los pastizales.

En este proyecto de maestría se identificó y ubicó filogenéticamente una especie de Allocosinae que habita en los pastizales, se investigó su dimorfismo sexual de tamaño y su comportamiento sexual. El objetivo general fue investigar los roles sexuales y dimorfismo sexual de tamaño en una especie de Allocosinae, que habita los pastizales uruguayos. El primer objetivo específico consistió en la delimitación taxonómica y molecular de la especie e inferir su posición filogenética. El segundo objetivo fue estudiar la actividad nocturna de cada sexo y el tercero consistió en evaluar el dimorfismo sexual de tamaño en dicha especie. Por último, el cuarto objetivo fue describir el comportamiento de búsqueda de pareja, cortejo y apareamiento de la especie.

Se revisaron colecciones aracnológicas y se realizaron muestreos nocturnos en dos localidades de Montevideo, Melilla e IIBCE: Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (Parque Batlle), donde se capturaron individuos subadultos y adultos.

Se identificaron tres morfotipos basados en patrones de coloración, pero se estudió su genitalia y no se encontraron diferencias entre los tres morfotipos. Se extrajo ADN de 31 individuos representativos de los tres morfotipos, se amplificaron y secuenciaron 5 genes mitocondriales. El modelo GMYC (Generalized Mixed Yule Coalescent) no identificó linajes evolutivamente independientes y los análisis filogenéticos ubicaron a la especie en la subfamilia Allocosinae. Los resultados genéticos y taxonómicos indican que la especie estudiada es *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941) y que los tres morfotipos serían conespecíficos. Se redescibió la especie y se describió por primera vez a la hembra de *P. amica*.

En relación a los estudios de movilidad nocturna, se registró el número de individuos adultos desplazándose por la superficie en las localidades mencionadas. En el IIBCE se encontraron 17 hembras y 9 machos y en Melilla 18 hembras y 9 machos. Se midió el ancho del prosoma, el largo del segmento tibia-patela de pata I y II, y el largo del segmento basal de los quelíceros. No se encontraron diferencias significativas en el tamaño corporal (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=2,46$ ,  $p=0,12$ ) entre los sexos, pero los machos mostraron mayor tamaño que las hembras en las tibia-patelas de pata I (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=7,35$ ;  $p=0,008$ ) y II (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=5,24$ ;  $p=0,02$ ), así como mayor tamaño que las hembras en sus quelíceros (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=18,81$ ,  $p<0,0001$ ).

Se realizaron encuentros de hembras y machos con tierra como sustrato en el laboratorio y se registraron sus comportamientos. Se obtuvieron 10 cópulas y en todos los casos los machos iniciaron el cortejo y se aproximaron a las hembras. La duración del cortejo fue  $324,00 \pm 327,39$  s mientras que la duración de la cópula fue  $386,40 \pm 801,32$  s. De acuerdo con los resultados, esta especie de Allocosinae de pastizal presentaría el dimorfismo sexual típico y comportamientos de búsqueda y cortejo tradicionales en arañas lobo.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La selección sexual es el conjunto de procesos evolutivos que conducen al éxito diferencial al momento del apareamiento entre los individuos (Darwin, 1871). Como consecuencia de la anisogamia, históricamente se ha considerado que los machos por su menor producción y gasto en el mantenimiento de los gametos son considerados el sexo competitivo que buscarán maximizar el número de apareamientos. Las hembras, por su parte, con una mayor inversión en el tamaño de los gametos se considera que serán el sexo selectivo con mayor inversión parental (Darwin, 1871; Trivers, 1972; Andersson, 1994). Estas divergencias en la reproducción llevan a que machos y hembras desempeñen distintas estrategias de búsqueda de pareja, cortejo, cópula, e inversión parental (Darwin, 1871; Andersson, 1994; Chapman, 2006; Davies et al., 2012; Eberhard et al., 2018).

Si bien en general en el reino animal estos son los patrones más extendidos, existen excepciones (Gwynne, 1991; Bonduriansky, 2001; Berglund et al., 2005; Aisenberg et al. 2007; Aisenberg & Costa, 2008). Cuando la inversión en la reproducción por parte de los machos es alta, los comportamientos sexuales tradicionales y el dimorfismo sexual pueden cambiar respecto a los patrones esperados para ese grupo animal (Gwynne, 1991). De esta forma los machos se vuelven el sexo selectivo y las hembras el sexo móvil quienes realizan la búsqueda de pareja, compiten por su acceso e inician el cortejo (Gwynne, 1991; Andersson, 1994; Bonduriansky, 2001). Estos patrones no tradicionales han sido reportados para varios grupos animales como las aves, los peces, los anfibios, los crustáceos, los insectos y las arañas (Gwynne, 1991; Eens & Pinxten, 2000; Bonduriansky, 2001; Berglund et al., 2005; Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008).

El dimorfismo sexual comprende las diferencias morfológicas que machos y hembras de una misma especie presentan en tamaño, ornamentos, color u otros rasgos corporales, y es el producto de la interacción entre las presiones de selección sexual y natural (Prenter et al., 1999; Bonduriansky & Rowe, 2005; Aisenberg et al., 2010b; McLean et al., 2018). Estas diferencias se encuentran muy extendidas en el reino animal y han representado un desafío para los biólogos evolutivos (Darwin, 1871; Hormiga et al., 2000; Blanckenhorn, 2005; Aisenberg et al., 2010b). Existen casos de dimorfismo sexual en distintos grupos animales, desde insectos, arañas, anfibios, peces, reptiles, aves a mamíferos (Owens & Hartley, 1998; Schütz & Taborsky, 2000; Fairbairn et al., 2007; Maan & Cummings, 2009; Aisenberg et al., 2010b; Stillwell et al., 2010).

Las arañas son consideradas excelentes modelos para estudios de dimorfismo sexual y comportamiento reproductivo (Eberhard, 2004; Huber, 2005). Entre las características que presentan se incluye la presencia de genitalia doble, bilateralmente simétricas (lo que permite el uso del mismo animal como experimento y de control) en ambos sexos. A su vez, usualmente la genitalia de las arañas es fácilmente visible durante la cópula. Gran parte del movimiento de las estructuras de la genitalia masculina es observable porque ocurre fuera de la hembra, lo que permite que sean cuantificables. A su vez, el esperma es inmóvil y es transportado y activado por la hembra, lo que implica un rol muy activo de este sexo en la elección críptica y en la fecundación (Eberhard, 2004).

En la mayoría de las arañas las hembras son más grandes que los machos, pero el dimorfismo sexual de tamaño puede variar desde un sesgo mínimo o moderado hacia las hembras hasta un sesgo extremo, como es el caso de algunas arañas de tela de la familia Tetragnathidae y Araneidae (Hormiga et al., 2000; Foellmer & Fairbairn, 2005a; Moya-Laraño et al., 2009). Existen diversas teorías que se han planteado para explicar la

evolución del dimorfismo sexual de tamaño en arañas. En algunos casos, la selección favorecería un mayor tamaño en las hembras debido a las ventajas asociadas con la fecundidad (Prenter et al., 1999; Foellmer & Moya-Laraño, 2007) o por necesidades de forrajeo (Walker & Rypstra, 2001). En especies de arañas de tela, el tamaño menor de los machos les favorecería al momento de trepar hacia la tela y encontrar a las hembras (Moya-Laraño et al., 2002). A su vez, los machos más pequeños podrían ser seleccionados por las ventajas en la competencia para llegar a las hembras más rápido o porque podrían escapar de los depredadores más eficientemente (Vollrath & Parker 1992). Si bien se han propuesto varias teorías, éstas no pueden explicar por sí solas el origen y la evolución del dimorfismo sexual de tamaño en todas las especies de arañas y por lo tanto se debería ser cautelosos al momento de buscar explicaciones generalizadas (Hormiga et al., 2000).

Lycosidae es una familia de arañas conocidas como arañas lobo y que pertenecen al infraorden Araneomorphae (Foelix, 2011). La familia contiene 127 géneros y 2444 especies (World Spider Catalog, 2022). Son arañas errantes que cazan activamente a sus presas, ya sea emboscándolas o corriendo tras ellas (Foelix, 2011). Son reconocidas por su disposición de ojos 4:2:2, cuatro ojos uniformemente pequeños en la fila anterior de ojos (ojos primarios), dos ojos medios posteriores grandes, y dos ojos laterales posteriores (ojos secundarios). Los ojos secundarios, presentan a su vez una membrana denominada tapetum que refleja la luz (Barth, 2002; Foelix, 2011; Nentwig et al., 2020). Otra característica de las arañas lobos es que las hembras transportan la ooteca en sus hileras (Foelix, 2011; Nentwig et al., 2020). En general, los licósidos presentan dimorfismo sexual de tamaño moderado a bajo, con hembras más grandes que los machos (Vollrath & Parker, 1992; Walker & Rypstra, 2001; Framenau, 2005; Logunov, 2011). Los licósidos han sido un grupo muy estudiado en comportamiento sexual y comunicación. Sin embargo, la mayoría de los estudios de la familia están relacionados con especies

norteamericanas y europeas, apareciendo reportes desde 1900s. En América del Sur los estudios se iniciaron entre mediados de la década de 1970 y 1990 (Costa, 1975; Costa, 1979; Costa & Capocasale, 1984; Costa & Sotelo, 1994; Costa, 1998; Costa & Toscano-Gadea, 2003).

Lycosidae es una familia diversa y ampliamente distribuida en todo el mundo. Comprende 10 subfamilias: Allocosinae, Artoriinae, Hippasinae, Evippinae, Lycosinae, Pardosinae, Sosippinae, Tricassinae, Venoniinae, Zoicinae (Piacentini & Ramírez, 2019). La subfamilia Allocosinae, Dondale, 1986, se caracteriza por la presencia de bulbo con apófisis terminal en forma de pico y apófisis media bífida en los machos y epigino sin tabique ni atrio medio en las hembras (Dondale, 1986). El conocimiento sobre la sistemática de Allocosinae en Sudamérica es escaso. A su vez, la alta homogeneidad en la morfología genital que presentan los representantes de este grupo hace particularmente difícil el reconocimiento de las especies (Simó et al., 2017). En tal sentido, la sistemática molecular se torna una herramienta muy valiosa a la hora de delimitar las especies (Nei & Kumar, 2000; Edwards, 2009; Lemey et al., 2009; San Mauro & Agorreta, 2010; Chroni et al., 2017; Luo et al., 2018) y particularmente para hacer inferencias sobre las relaciones filogenéticas (Page & Holmes, 1998; Bidegaray-Batista et al., 2011; Bidegaray-Batista et al., 2014; Wheeler et al., 2016; Huber et al., 2018; Domènech et al., 2020; Piacentini & Ramírez, 2019; Laborda et al., 2022).

Durante las últimas décadas se ha avanzado en estudios de taxonomía, comportamiento, ecología y filogeografía de *Allocosa senex* (Mello-Leitão, 1945) y *Allocosa marindia* Simó, Lise, Pompozzi y Laborda, 2017 (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Aisenberg et al., 2009; Aisenberg et al. 2010a, 2010b; Aisenberg & González, 2011; Aisenberg et al., 2011a, 2011b, 2011c; Aisenberg & Peretti, 2011a, 2011b; Jorge et al., 2015; Albín et al., 2017; Bidegaray-Batista et al., 2017;

Postiglioni et al., 2017, 2019; Simó et al., 2017; Cavassa et al., 2022). Ambas especies habitan en los arenales costeros del sur de Sudamérica (Capocasale, 1990; Simó et al., 2017). Construyen cuevas donde permanecen durante el día y el invierno, volviéndose activas en las noches de verano (Costa, 1995; Costa et al., 2006). Se trata de los primeros casos de inversión de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño típico en arañas, siendo los machos más grandes que las hembras, y éstas el sexo móvil que se aproxima a las cuevas de los machos e inicia el cortejo (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008).

Evidencias en otros grupos de animales establecen que la aparición de comportamientos sexuales atípicos se encuentra asociada con ambientes duros y/o impredecibles (Gwynne, 1991; Karlsson et al., 1997; Lorch, 2002). Una de las posibles causas que podría conducir la aparición de estos comportamientos peculiares en *A. marindia* y *A. senex* podría estar vinculada al ambiente costero en el que habitan, que es considerado altamente estresante y dinámico, caracterizado por grandes cambios estacionales y diarios de temperatura, humedad, vientos, así como variaciones en la disponibilidad de refugios y presas (Defeo & Martínez, 2003; Costa et al., 2006; Aisenberg et al., 2011b; Aisenberg, 2014; Bidegaray-Batista et al., 2017; Postiglioni et al., 2019; Cavassa et al., 2022).

Hasta el momento, hay poca información disponible sobre otras especies pertenecientes a la subfamilia Allocosinae que habiten otros ambientes, dificultando las comparaciones entre especies. Características relacionadas con el dimorfismo sexual o las estrategias sexuales en otras especies de esta subfamilia, podrían ser clave para comprender y determinar si el ambiente costero estaría modelando el origen y la evolución de la inversión de roles sexuales en algunas especies de Allocosinae.

Estos antecedentes motivan a estudiar a una especie de Allocosinae de los pastizales uruguayos, que se colectó en muestreos previos en el campo y posteriormente se reconoció por su morfología como una especie perteneciente a esta subfamilia, previamente identificada como *Allocosa* sp. (Cavassa et al., 2019). En esta tesis se identifica la especie como *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941), utilizando caracteres morfológicos y moleculares y, se evalúa el dimorfismo sexual de tamaño, la movilidad de superficie y se estudia su comportamiento sexual.

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Investigar los roles sexuales y dimorfismo sexual de tamaño en una especie de Allocosinae, que habita los pastizales uruguayos.

Hipótesis: La especie de Allocosinae de los pastizales presenta patrones de movilidad de superficie, dimorfismo sexual de tamaño y comportamientos sexuales extendidos en arañas lobo.

Predicción: Los machos de la especie de Allocosinae de pastizal se acercarán con mayor frecuencia a las hembras e iniciarán el cortejo y las hembras presentarán un tamaño semejante o moderadamente mayor que los machos, como es usual en este grupo.

### Objetivos específicos, hipótesis y predicciones

**Objetivo específico 1:** Delimitar taxonómica y molecularmente la especie.

Hipótesis: La Allocosinae de pastizal es una nueva especie aún no registrada en Uruguay.

Predicción: Se encontrará evidencia que permita identificar morfológicamente y molecularmente a la especie.

(Capítulo 1).

**Objetivo específico 2:** Estudiar la actividad de superficie nocturna de la especie.

Hipótesis: La Allocosinae de pastizal presenta machos más móviles que hembras.

Predicción: Se encontrará un número mayor de machos activos en la superficie durante la noche en comparación con las hembras.

(Capítulo 2).

**Objetivo específico 3:** Estimar el dimorfismo sexual de tamaño de la especie.

Hipótesis: La Allocosinae de pastizal presenta dimorfismo sexual de tamaño moderado y sesgado hacia las hembras o ausente.

Predicción: Las hembras mostrarán porte semejante o moderadamente mayor a los machos.

(Capítulo 2).

**Objetivo específico 4:** Describir el comportamiento de búsqueda, cortejo y apareamiento.

Hipótesis: La especie de Allocosinae de pastizal presenta roles sexuales similares a los reportados para la mayoría de arañas lobo.

Predicción: Se espera que los machos de la especie de Allocosinae de pastizal se acerquen a las hembras e inicien el cortejo.

(Capítulo 2).

# CAPÍTULO 1

**Una araña lobo de los pastizales sudamericanos: ubicación filogenética y redescrición de *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941)**

**Publicado en:** Gonnet V., Bidegaray-Batista L., Aisenberg A., Laborda Á., Hagopían 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. Vol: 295, p: 1 – 11.

## INTRODUCCIÓN

La familia Lycosidae Sundevall, 1833 es la quinta más rica del orden Araneae, con más de 2440 especies descritas (World Spider Catalog, 2022). Dentro de este grupo de arañas lobo, la subfamilia Allocosinae Dondale, 1986 se caracteriza porque los machos presentan bulbo con una apófisis terminal en forma de pico, apófisis media bífida y hembras con epigino sin tabique ni atrio medio (Dondale, 1986). Brescovit & Taucare-Ríos (2013), Simó et al. (2017) y Piacentini & Ramirez (2019), estudiaron la taxonomía y las relaciones filogenéticas de Lycosidae a nivel de subfamilia y Allocosinae fue recuperada como monofilética. Estudios previos en Allocosinae de América del Sur reportan una inversión en los roles sexuales típicos esperados para las arañas en dos especies costeras, *Allocosa senex* (Mello-Leitão, 1945) y *Allocosa marindia* Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017 (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Aisenberg, 2014). Ambas especies se consideran bioindicadores potenciales para los ecosistemas costeros de Uruguay (Aisenberg et al., 2011c; Ghione et al., 2013).

Estudios recientes de campo y de especímenes depositados en colecciones aracnológicas de América del Sur (Argentina, Brasil y Uruguay) permitieron reconocer representantes de Allocosinae de hábitats no costeros. Estos hallazgos son relevantes ya que la información sobre taxonomía, ecología o comportamiento en esta subfamilia aún es escasa. Se identificaron los ejemplares recolectados como pertenecientes a *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941) y se reconocieron tres morfotipos basados en la coloración de los especímenes vivos. La descripción original de esta especie se basó en un solo macho de Anisacate, Córdoba, Argentina. El género *Paratrochosina* Roewer, 1960 fue propuesto con la especie Neártica *Paratrochosina insolita* (Koch, 1879) como su especie tipo. Roewer (1955) también transfirió a la especie Paleártica *Tarentula sagittigera* Roewer, 1951 y la especie Neotropical *Alopecosa amica* Mello-Leitão, 1941

a *Paratrochosina*. Los cambios nomenclaturales fueron realizados sin fundamentación taxonómica. Actualmente, el género está representado por *P. amica*, *P. insolita* y *Paratrochosina sagittigera* (Roewer, 1955) (World Spider Catalog, 2022).

La subfamilia Allocosinae presenta una alta homogeneidad en sus características genitales, lo que hace que el reconocimiento de especies sea particularmente difícil en este grupo (Simó et al., 2017). Los avances en las técnicas moleculares han incrementado el uso de secuencias de ADN en estudios de taxonomía (Lemey et al., 2009; Padial et al., 2010). Estos estudios han contribuido al descubrimiento de especies crípticas, la delimitación de especies y la identificación de especies mediante el análisis de arañas juveniles (Bickford et al., 2007; DeSalle et al., 2005; Hudson, 2007; Macías-Hernández et al., 2010). Los objetivos de este capítulo son confirmar el estado y ubicación filogenética de *P. amica* utilizando datos morfológicos y moleculares, corroborar si los tres morfotipos recolectados pertenecen a la misma especie, describir a la hembra y redescubrir el macho de esta especie.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Muestras de campo y especímenes de estudio*

Los individuos se recolectaron manualmente en los años 2018, 2019 y 2020 durante la noche utilizando linterna de minero en dos localidades de Montevideo, Uruguay: pastizales en Melilla (34°43'53"S 56°19'23,4"W), y jardines del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (34°53'15,6"S 56°08'34,8"W). Se utilizaron adultos para estudios taxonómicos y moleculares, y los subadultos se mantuvieron en condiciones de laboratorio (temperatura:  $22.5 \pm 2.5$  °C, rango (16.5 – 27.5 °C); porcentaje de humedad:  $80.4 \pm 7.8$  %, rango (57.0 – 94.0 %)), hasta su madurez sexual. Los ejemplares fueron depositados en la colección aracnológica de Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (FCE Ar, M. Simó). Adicionalmente, se examinaron especímenes depositados en las siguientes instituciones: Museo de La Plata, La Plata, Argentina (MLP, L. Pereira); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil (MCTP, R. Texeira); Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (FCE Ar, M. Simó); Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”, Buenos Aires, Argentina (MACN, M. Ramírez); Laboratorio de Biología Reproductiva y Evolución, Instituto de Diversidad y Ecología Animal, Córdoba, Argentina (LABRE-Ar, M. Izquierdo).

Los individuos vivos recolectados en Melilla e IIBCE se clasificaron en tres morfotipos según sus patrones de coloración y diseño. El mapa con el registro de distribución de la especie se construyó con SimpleMappr (Shorthouse, 2010). Las coordenadas proporcionadas en las etiquetas se indicaron entre paréntesis y las estimadas con Google Earth entre corchetes.

## *Taxonomía*

Los detalles de la genitalia de machos y hembras de cada morfotipo se observaron con una lupa estereoscópica (Nikon SMZ-10). Se revisaron en detalle los palpos izquierdos de machos de cada morfotipo y se expandieron los bulbos con KOH al 10 % y agua destilada. Se disecaron los epiginos, se limpiaron en una solución de tripsina para la lisis de tejidos blandos, y se clarificaron con aceite de clavo para la posterior visualización de conductos y espermatecas.

Las fotografías siguieron el protocolo de Álvarez-Padilla et al. (2020), utilizando una cámara digital (Nikon D3000) acoplada a un microscopio (Nikon YS100). El apilamiento de las fotografías se realizó con Helicon Focus versión 7.6.4 Lite. Se realizaron dibujos digitalmente a partir de las fotografías de las genitalias. Para los estudios realizados en el microscopio electrónico de barrido (MEB), las partes del cuerpo de los individuos se sometieron a una limpieza ultrasónica, se secaron en puntos críticos y se cubrieron con oro utilizando un dispositivo de pulverización catódica. Las imágenes se obtuvieron con el microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-5900 (MEB) de Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. Se tomaron fotografías de individuos en sus hábitats naturales con una cámara digital Canon 7D.

El formato de descripción de las especies, la nomenclatura de los órganos copuladores y las medidas siguen a Piacentini & Laborda (2013). En el texto y las figuras se utilizan las siguientes abreviaturas: AM, apófisis media; AP, ancho del prosoma tomado en la zona de la fóvea; AT, apófisis terminal; CE, cabeza de la espermateca; CF, conducto de fertilización; CV, cámara vulvar; E, émbolo; FOA, fila de ojos anteriores; HLA, hilera lateral anterior; HPM, hilera posterior media; HLP, hilera lateral posterior; LT, longitud total; OC, orificio copulatorio; OLA, ojos laterales anteriores; OLP, ojos laterales posteriores; OMA, ojos medios anteriores; OMP, ojos medios posteriores; RP,

región de la pálea; SGAm, “spigot” de la glándula ampulácea menor; SGC, “spigot” de la glándula aciniforme; SP, “spigot” piriforme; ST, subtegulum; T, tegulum; TE, tallo de la espermateca. Todas las medidas están en milímetros.

#### *Obtención de datos moleculares*

Se extrajo el ADN de 31 individuos de cada morfotipo (16 machos, 14 hembras, 1 macho subadulto) fijados en alcohol 95 % y almacenados a -20 °C. Se incluyeron ejemplares de las dos localidades mencionadas anteriormente y dos ejemplares (1 macho y 1 hembra) de la localidad Los Gigantes (31°23'43.9"S 64°47'16.9"W), Córdoba, Argentina. Esta localidad se encuentra a aproximadamente 50 km de Anisacate, Córdoba, Argentina, localidad tipo de *P. amica*. Estos dos individuos fueron clasificados como morfotipo 2 ya que su patrón de diseño se asemejaba al de los especímenes vivos. Los códigos de extracción de ADN de todos los individuos con sus respectivos sexos, morfotipos y localidades de las que provienen se muestran en la Tabla 1.

Los procedimientos de laboratorio se realizaron en el Departamento de Biodiversidad y Genética del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay, siguiendo los protocolos descritos en Planas et al. (2013) y Wheeler et al. (2016). El ADN se extrajo de las patas izquierdas III y IV de las muestras, utilizando el DNeasy Tissue Kit (Qiagen) y siguiendo 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*), el ARNr 16S (*16S*), la subunidad I de la NADH deshidrogenasa (*nad1*) y el ARNt leucina completo (*L1*) utilizando los siguientes pares de cebadores: (*cox1*) C1-J-1490 y C1-N-2198 (Folmer et al., 1994), (*12S*) SR-J-14233 (Simon et al., 1994) y SR-N-14503 (Croom et al., 1991), (*16S + L1 + nad1*) LR-N-13398 (Simon et al., 1994) y N1-J-12581 (Hedin & Maddison, 2001).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo siguiendo el protocolo para la ADN polimerasa Taq con tampón estándar (M0273, New England Biolabs Inc.). Las condiciones de PCR fueron las siguientes: etapa de desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min; seguido de 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, de 42 a 48 °C durante 45 s (dependiendo de los cebadores, ver más abajo), y extensión a 68 °C durante 45 s; con un paso de extensión final a 68 °C durante 5 min. Para el fragmento del gen *cox1* se logró una amplificación exitosa con una temperatura de hibridación a 45 °C, para el *12S* fue a 42 °C, mientras que para el *16S + L1 + nad1* fue en un rango de 45 a 48 °C. Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % y se purificaron con enzimas FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase y Exonuclease I (Thermo Fisher Scientific). Los productos de PCR 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 y se depositaron en GenBank (*cox1*: MZ644081 - MZ644109; *12S*: MZ661096 - MZ661115; *16S + L1 + nad1*: MZ748478 - MZ748496).

**Tabla 1.** Especímenes y números de secuencias asignadas incluidas en este estudio con detalles sobre morfotipo, código de ADN, número de voucher, sexo (m: macho, h: hembra, msuba: macho subadulto), localidad de recolección y número de haplotipos para los genes concatenados (*cox1*, *12S* and *16S*, *L1*, *nad1*) y para el gen *cox1* solo.

Morfotipo	Código ADN	Número de voucher	Sexo	Localidad	<i>cox1</i>	<i>12S</i>	<i>16S+L1+nad1</i>	Haplotipos ( <i>cox1</i> , <i>12S</i> and <i>16S</i> , <i>L1</i> , <i>nad1</i> )	Haplotipos <i>cox1</i>
1	VGA56	FCE Ar-11438	m	IIBCE	MZ644090	MZ661102	MZ748484	Haplotipo 5	Haplotipo 2
1	VGA42	FCE Ar-11442	h	IIBCE	MZ644104	MZ661112	MZ748494	Haplotipo 10	Haplotipo 8
1	VGA38	FCE Ar-11444	h	IIBCE	MZ644107	MZ661114	MZ748496	Haplotipo 11	Haplotipo 2
1	VGA37	FCE Ar-9214	m	IIBCE	MZ644108	MZ661115	MZ748478	Haplotipo 3	Haplotipo 2
1	VGA55	FCE Ar-9348	h	IIBCE	MZ644091	MZ661103	MZ748485	Haplotipo 3	Haplotipo 2
1	VGA57	FCE Ar-11448	m	IIBCE	MZ644089	-	-	-	Haplotipo 5
1	VGA41	FCE Ar-11454	msuba	Melilla	MZ644105	-	-	-	Haplotipo 2
1	VGA54	FCE Ar-11455	m	Melilla	MZ644092	MZ661104	MZ748486	Haplotipo 6	Haplotipo 5
1	VGA65	FCE Ar-11458	m	Melilla	MZ644109	MZ661098	MZ748481	Haplotipo 12	Haplotipo 4
1	VGA64	FCE Ar-11459	h	Melilla	MZ644084	MZ661099	-	-	Haplotipo 2
1	VGA66	FCE Ar-10930	m	Melilla	MZ644083	-	-	-	Haplotipo 2
2	VGA58	FCE Ar-11437	m	IIBCE	MZ644088	-	-	-	Haplotipo 2
2	VGA39	FCE Ar-11439	m	IIBCE	MZ644106	MZ661113	MZ748495	Haplotipo 5	Haplotipo 2
2	VGA40	FCE Ar-11440	h	IIBCE	-	-	-	-	-
2	VGA59	FCE Ar-11445	h	IIBCE	-	-	-	-	-
2	VGA52	FCE Ar-11446	h	IIBCE	MZ644094	MZ661106	MZ748488	Haplotipo 7	Haplotipo 2

2	VGA53	FCE Ar-11447	m	IIBCE	MZ644093	MZ661105	MZ748487	Haplotipo 5	Haplotipo 2
2	VGA43	FCE Ar-11451	m	Melilla	MZ644103	MZ661111	MZ748493	Haplotipo 8	Haplotipo 6
2	VGA44	FCE Ar-11452	m	Melilla	MZ644102	MZ661110	MZ748492	Haplotipo 9	Haplotipo 3
2	VGA51	FCE Ar-11453	m	Melilla	MZ644095	-	-	-	Haplotipo 3
2	VGA50	FCE Ar-11450	h	Melilla	MZ644096	MZ661107	MZ748489	Haplotipo 8	Haplotipo 6
2	VGA61	FCE Ar-10227	h	Melilla	MZ644086	MZ661101	MZ748483	Haplotipo 4	Haplotipo 3
2	VGA60	FCE Ar-10228	m	Melilla	MZ644087	-	-	-	Haplotipo 4
2	VGA47	FCE Ar-11457	h	Melilla	MZ644099	-	-	-	Haplotipo 3
2	VGA48	FCE Ar-11456	m	Melilla	MZ644098	-	-	-	Haplotipo 7
2	VGA67	FCE Ar-10927	m	Los Gigantes	MZ644082	MZ661097	MZ748480	Haplotipo 2	Haplotipo 1
2	VGA68	FCE Ar - 10928	h	Los Gigantes	MZ644081	MZ661096	MZ748479	Haplotipo 1	Haplotipo 1
3	VGA46	FCE Ar - 11441	h	IIBCE	MZ644100	MZ661108	MZ748490	Haplotipo 3	Haplotipo 2
3	VGA49	FCE Ar - 11443	h	IIBCE	MZ644097	-	-	-	Haplotipo 2
3	VGA45	FCE Ar - 11449	h	IIBCE	MZ644101	MZ661109	MZ748491	Haplotipo 3	Haplotipo 2
3	VGA63	FCE Ar - 10931	m	Melilla	MZ644085	MZ661100	MZ748482	Haplotipo 3	Haplotipo 2

## *Análisis filogenéticos*

La alineación de las secuencias de *cox1* fue trivial ya que no se observaron inserciones/deleciones. Las secuencias de *12S* y *16S + LI + nad1* se alinearon usando la versión en línea v. 7 del programa de alineación automática MAFFT (Kato et al., 2002), usando el algoritmo G-INS-I. Los fragmentos de genes mitocondriales alineados se concatenaron dando como resultado una matriz de 19 individuos (es decir, todos los individuos que tenían las secuencias de todos los genes). Además, se construyó una matriz *cox1* incluyendo a 29 individuos. Se calculó la diversidad nucleotídica ( $\pi_n$ ), diversidad haplotídica ( $h$ ) y el número de haplotipos utilizando el programa DnaSP versión 6.11.01 (Rozas et al., 2017). Las redes de haplotipos se estimaron utilizando parsimonia estadística en TCS (Clement et al., 2002) implementado en el programa PopART versión v 1.7 (Leigh et al., 2015). Los índices estadísticos y las redes de haplotipos se calcularon y construyeron, utilizando la matriz mitocondrial con todos los fragmentos de los genes concatenados y con la matriz del fragmento del gen *cox1*.

El análisis “Generalized Mixed Yule Coalescent” (GMYC) (Pons et al., 2006; Fontaneto et al., 2007) se realizó utilizando la matriz mitocondrial concatenada para evaluar si los morfotipos correspondían a linajes evolutivamente independientes. Este análisis se realizó en el servidor web GMYC utilizando la opción de umbral único. El árbol ultramétrico requerido para los análisis se estimó en BEAST v1.8.4 (Drummond & Rambaut, 2007), bajo un reloj estricto y una tasa media fijada en 1. El modelo coalescente de tamaño constante se especificó como árbol previo. Se realizaron dos corridas independientes de  $10^7$  generaciones y se tomaron muestras cada  $10^3$  generaciones. La convergencia y la mezcla de cadenas de MCMC (Markov Chain Monte Carlo) se evaluaron con TRACER v1.7.1 (Rambaut et al., 2018). Las ejecuciones independientes se combinaron con LogCombiner (con un 10 % de muestras descartadas al comienzo de

cada corrida), y se utilizó Tree Annotator para resumir la información de los árboles muestreados.

Finalmente, se realizaron análisis de máxima verosimilitud (MV) con el objetivo de evaluar la posición filogenética de las especies estudiadas dentro de Lycosidae. En los análisis se incluyeron las secuencias *cox1* y *12S* generadas en este estudio (Tabla 1) y las secuencias de *cox1*, *12S*, *nad1*, *h3* y *28S* depositadas en GenBank y BOLD System de representantes de subfamilias de Lycosidae (Tabla 2). Para la selección de los taxa de la familia se siguió a Piacentini & Ramirez (2019). El mejor esquema de partición se seleccionó con PartitionFinder2 (Lanfear et al., 2017) y el análisis MV se realizó con RAxML v8 (Stamatakis, 2014). Ambos análisis se realizaron de forma remota en el portal CIPRES (Miller et al., 2010). Los análisis de MV se realizaron seleccionando el algoritmo de “rapid bootstrapping” y la búsqueda del árbol de MV con la mejor puntuación en una sola ejecución. El criterio de “majority-rule” se utilizó para detener automáticamente el “bootstrapping”. El árbol se visualizó con el programa FigTree v1.4.4.

**Tabla 2.** Lista de números de referencia de GenBank o BOLD System de terminales extraídos de Piacentini & Ramirez, 2019 y utilizados en los análisis de Máxima Verosimilitud.

Especies	Subfamilias	28S	12S	nad1	cox1	h3
<i>Paratrechalea ornata</i>		KY190293	KY190229	KY199545	SPDAR1332-15	KY190279
<i>Allocosa funerea</i>	Allocosinae	MK524604			SPDAR1405-16	MK524671
<i>Gnatholycosa spinipalpis</i>	Allocosinae	MF410707	MK524590	MF410714	SPDAR973-15	MK524710
<i>Allocosa senex</i>	Allocosinae	MF410705	MF410703	MK524638	SPDAR375-14	MK524670
<i>Pardosa flammula</i>	Allocosinae		MK524597	MK524661	SPDAR404-14	
<i>Arctosa sapiranga</i>	Allocosinae	MK524609	MK524586	MK524644	SPDAR247-13	MK524678
<i>Lobizon humilis</i>	Artoriinae	MK524619		MK524655	SPDAR252-13	MK524711
<i>Navira nagan</i>	Artoriinae	MK524621	MK524594	MK524657	SPDAR376-14	MK524692
<i>Diahogna pisauroides</i>	Artoriinae	DQ019743	DQ019822	DQ019676	-	-
<i>Tetrallycosa oraria</i>	Artoriinae	DQ019720	DQ019811	DQ019703	-	-
<i>Artoriopsis expolita</i>	Artoriinae	DQ019721	DQ019769	DQ019706	BIOUG13681-G02	-
<i>Notocosa bellicosa</i>	Artoriinae	DQ019750	DQ019789	DQ019684	SPDAR1452-16	-
<i>Artoria howquaensis</i>	Artoriinae	DQ019724	DQ019770	DQ019658	-	-
<i>Artoria separata</i>	Artoriinae	DQ019748	DQ019772	DQ019659	AY059993	-
<i>Artoria flavimana</i>	Artoriinae	DQ019712	DQ019771	DQ019657	AY059992	-
<i>Anoteropsis adumbrata</i>	Artoriinae	DQ019749	DQ019762	DQ019650	SPDAR1456-16	-
<i>Evippomma</i> sp.	Evippinae	MK524613	MK524588	MK524650	SPDAR1379-16	MK524683
<i>Xerolycosa nemoralis</i>	Evippinae	MK524636	DQ019821	DQ019710	SPDAR1291-15	MK524709
<i>Proevippa albiventris</i>	Evippinae	MK524629	-	-	SPDAR1380-16	MK524698
<i>Hippasa</i> sp.	Hippasinae	MK524615	-	MK524652	SPDAR1378-16	MK524684
<i>Hippasa holmerae</i>	Hippasinae	DQ019728	DQ019776	DQ019663	-	-
<i>Arctosa ebicha</i>	Lycosinae		DQ019766	DQ019652	JN817180	-
<i>Allocosa paraguayensis</i>	Lycosinae	MK524605	MK524584	MK524639	SPDAR929-15	MK524672
<i>Lycosa fasciiventris</i>	Lycosinae	KC550820	KC551079	-	KC550722	-
<i>Lycosa muniari</i>	Lycosinae	KC550830	KC550945	-	KC550749	-
<i>Lycosa oculata</i>	Lycosinae	KC550829	-	-	KC550670	-
<i>Lycosa bedeli</i>	Lycosinae	KC550831	KC551047	-	KC550713	-
<i>Lycosa hispanica</i>	Lycosinae	KC550845	KC550969	-	KC550661	MK524690
<i>Lycosa tarantula</i>	Lycosinae	KC550842	KC551085	DQ019666	KC550669	-
<i>Lycosa baulnyi</i>	Lycosinae	KC550848	KC550960	-	KC550802	-
<i>Lycosa vachoni</i>	Lycosinae	KC550833	KC551088	-	KC550775	-
<i>Geolycosa missouriensis</i>	Lycosinae	DQ019727	DQ019775	DQ019662	BIOUG25726-E02	-
<i>Tigrosa georgicola</i>	Lycosinae	MK524631	MK524601	-	SPDAR1400-16	MK524703
<i>Varacosa avara</i>	Lycosinae	DQ019740	DQ019817	DQ019707	SPDAR1398-16	MK524706
<i>Schizocosa ocreata</i>	Lycosinae	KY017172	KY015465	AF223242	KY017784	-
<i>Gladicosa pulchra</i>	Lycosinae	MK524614	MK524589	MK524651	SPDAR1397-16	-
<i>Ovia</i> sp.	Lycosinae	MK524622	MK524595	MK524659	SPDAR1383-16	MK524694
<i>Geolycosa insulata</i>	Lycosinae	MK524620	MK524592	MK524656	SPDAR251-13	MK524688
<i>Schizocosa malitiosa</i>	Lycosinae	-	-	KY199543	KY190307	KY190277
<i>Lycosa erythrognatha</i>	Lycosinae	DQ019729	DQ019782	DQ019670	SPDAR393-14	MK524689

<i>Birabenia birabenae</i>	Lycosinae	MK524611	-	MK524647	SPDAR262-13	MK524680
<i>Alopecosa moesta</i>	Lycosinae	MK524608	-	MK524641	CORAR-050	MK524674
<i>Hogna gumia</i>	Lycosinae	MK524616	-	MK524653	SPDAR235-13	MK524685
<i>Alopecosa nigricans</i>	Lycosinae	MK524607	-	MK524640	SPDAR285-13	
<i>Hogna radiata</i>	Lycosinae	KC550823	KC551070	MK524654	KC550817	MK524686
<i>Knoelle clara</i>	Lycosinae	DQ019714	DQ019818	DQ019667	-	-
<i>Pavocosa gallopavo</i>	Lycosinae	DQ019735	DQ019800	DQ019695	SPDAR365-14	-
<i>Dingosa simsoni</i>	Lycosinae	MK524612	-	MK524648	MK524716	MK524681
<i>Vesubia jugorum</i>	Lycosinae	MK524634	-	-	MK524717	MK524707
<i>Trochosa terricola</i>	Lycosinae	DQ019739	DQ019813	DQ019705	SPDAR1277-15	MK524705
<i>Trochosa ruricola</i>	Lycosinae	JN816972	DQ019814	DQ019704	GBCNC087-09	
<i>Alopecosa kochi</i>	Lycosinae	KM225035	DQ019755	DQ019645	KM225089	KM225191
<i>Alopecosa pulverulenta</i>	Lycosinae	DQ019711	DQ019756	DQ019648	SPDAR1299-15	MK524675
<i>Alopecosa albostriata</i>	Lycosinae	-	DQ019757	DQ019643	SPIEU180-10	-
<i>Rabidosa punctulata</i>	Lycosinae	DQ019736	DQ019806	DQ019700	-	-
<i>Hogna cf. frondicola</i>	Lycosinae	KY017166	-	-	KY017782	KY018283
<i>Rabidosa rabida</i>	Lycosinae	KY017171	DQ019807	DQ019701	SPDAR1404-16	MK524699
<i>Hoggicosa bicolor</i>	Lycosinae	DQ019713	DQ019777	DQ019668	-	-
<i>Tasmanicosa leuckartii</i>	Lycosinae	DQ019717	DQ019810	DQ019672	-	-
<i>Tasmanicosa godeffroyi</i>	Lycosinae	DQ019716	DQ019809	DQ019671	-	-
<i>Venatrix konei</i>	Lycosinae	DQ019742	DQ019820	DQ019708	-	-
<i>Pardosa hedinii</i>	Pardosinae	-	DQ019795	DQ019690	-	-
<i>Pardosa brevivulva</i>	Pardosinae	-	DQ019793	DQ019686	-	-
<i>Pardosa laura</i>	Pardosinae	-	DQ019797	DQ019692	KY467121	-
<i>Pardosa isago</i>	Pardosinae	-	DQ019796	DQ019691	-	-
<i>Pardosa lugubris</i>	Pardosinae	MK524625	MK524598	DQ019693	SPDAR1279-15	MK524697
<i>Pardosa alacris</i>	Pardosinae	MK524623	-	-	SPDAR1298-15	MK524695
<i>Pardosa amentata</i>	Pardosinae	MK524624	-	-	SPDAR1281-15	MK524696
<i>Pardosa prativaga</i>	Pardosinae	-	KY190235	KY199549	KY190313	KY190284
<i>Pardosa astrigera</i>	Pardosinae	-	DQ019792	DQ019685	-	-
<i>Pardosa palustris</i>	Pardosinae	-	DQ019799	DQ019694	-	-
<i>Wadicosa fidelis</i>	Pardosinae	MK524635	KP100666	KP100666	KP100666	MK524708
<i>Draposa tenasserimensis</i>	Pardosinae	KM225054	-	-	KM225107	KM225207
<i>Draposa burasantiensis</i>	Pardosinae	-	-	MK52464	SPDAR1369 9-16	MK524682
<i>Pardosa pseudoannulata</i>	Pardosinae	MK524626	MK524599	MK524662	SPDAR1376-16	-
<i>Arctosa kwangreungensis</i>	Sosippinae	JN816973	DQ019767	DQ019653	JN817181	-
<i>Melocosa fumosa</i>	Sosippinae		MK524593		SPICA359-10	MK524691
<i>Aglaoctenus lagotis</i>	Sosippinae	KY190291	DQ019753	DQ019640	SPDAR298-13	MK524669
<i>Sosippus floridanus</i>	Sosippinae	-	-	MK524664	SPDAR1388-16	MK524700
<i>Sosippus michoacanus</i>	Sosippinae	-	-	MK524664	SPDAR1388-16	MK524700
<i>Hippasella alhue</i>	Sosippinae	-	MK524591	MF410715	SPDAR956-15	MK524714
<i>Diapontia uruguayensis</i>	Sosippinae	MF410706	MF410704	MF410713	SPDAR258-13	-

<i>Arctosa cinerea</i>	Tricassinae	-	DQ019763	DQ019651	ZFMK-TIS-2504863	-
<i>Arctosa lutetiana</i>	Tricassinae	-	MK524585	MK524643	SPDAR1294-15	MK524677
<i>Arctosa stigmosa</i>	Tricassinae	-	DQ019764	DQ019654	-	-
<i>Arctosa maculata</i>	Tricassinae	-	DQ019768	DQ019656	KX039092.1	-
<i>Allotrochosina schauinslandi</i>	Venoniinae	MK524606	DQ019754	DQ019642	SPDAR1455-16	MK524673
<i>Venonia micarioides</i>	Venoniinae	DQ019738	DQ019819	DQ019709	SPDAR1393-16	-
<i>Anomalosa kochi</i>	Venoniinae	DQ019722	DQ019761	DQ019649	-	-
<i>Aulonia albimana</i>	Venoniinae	MK524610	DQ019823	MK524645	-	MK524679
<i>Trabeops aurantiacus</i>	Venoniinae	MK524632	-	-	ARONW1725-15	-
<i>Zoica</i> sp.	Zoicinae	MK524637	MK524603	MK524666	SPDAR1372-16	MK524713
<i>Katableps pudicus</i>	Zoicinae	MK524618	-	-	SPDAR1381-16	MK524687
<i>Pirata subpiraticus</i>	Zoicinae	JN816979	DQ019804	DQ019698	JN817187	-
<i>Piratula hygrophila</i>	Zoicinae	MK524627	DQ019801	DQ019696	SPDAR1302-15	-
<i>Pirata piraticus</i>	Zoicinae	MK524628	MK524600	MK524663	SPDAR1282-15	-
<i>Agalenocosa pirty</i>	Zoicinae	MK496221	MK524583	MK524667	SPDAR245-13	MK524668

## RESULTADOS

### *Revisión taxonómica*

Lycosidae Sundevall

*Paratrochosina* Roewer

*Paratrochosina amica* (Mello-Leitão) (Figs. 1–9).

*Alopecosa amica* Mello-Leitão, 1941: 121, pl. 4, f. 14 (Dm).

*Paratrochosina amica* Roewer, 1955: 282.

**Material tipo.** Holotipo macho de Anisacate [31°43'20"S, 64°24'14"W], Córdoba, Argentina, M. Birabén depositado en MLP con el número 14670. Examinado.

**Diagnósis.** *Paratrochosina amica* se puede distinguir de *A. senex* y *A. marindia* por las hileras laterales anteriores, más cortas en machos y hembras de *P. amica* (Fig. 1) y por la longitud corporal, que es similar en machos y hembras de *P. amica* (ver en variación). Se diferencia de los machos de *A. yurae* (Strand, 1908), *A. alticeps* (Mello-Leitão, 1944) y *A. brasiliensis* (Petrunkevitch, 1910) por las macrosetas apicales más pequeñas y el cymbium menos elongado (Fig. 2A-C; 3D). Se diferencia de las especies de *Allocosa* neárticas y centroamericanas por el prosoma setáceo y el área cefálica elevada (Fig. 1A, 1C).

**Nota taxonómica.** La ilustración y descripción de *P. insolita* proporcionada por Koch (1879) muestra el epigino de la hembra con un tabique en forma de T invertida y dos aurículas laterales anchas, caracteres que excluyen a esta especie y género de Allocosinae.

*P. sagittigera* fue propuesta por Grube (1861) a partir de un macho y una hembra de Siberia, Rusia. La descripción original es muy breve y no incluye ilustraciones de las genitales. Se desconoce el estado taxonómico de *P. sagittigera*, pero considerando que se registró en el norte de Asia, no debería ser congénica con *P. amica* de América del Sur. No es posible incluir *P. amica* en otro taxón descrito de la subfamilia considerando el conocimiento actual sobre la taxonomía de especies sudamericanas de Allocosinae.

## Descripción

**Hembra** (FCE-Ar 10926). Color en etanol (Fig. 1C-D): prosoma dorsal marrón claro con varias setas. Luz de banda mediana. Bandas amarillentas marginales irregulares. Esternón de color marrón claro con manchas más oscuras en el centro y con setas más abundantes en los márgenes. Labio marrón oscuro y amarillento en el ápice. Quelíceros de color marrón rojizo cubiertos de setas marrones; tres dientes promarginales (el mediano más grande) y tres dientes retromarginales (el basal más pequeño). Abdomen amarillento, con banda cardíaca marrón con dos líneas paralelas longitudinales de manchas oscuras. Vientre amarillento con varias manchas oscuras; hileras amarillentas; HLA y HPM con dos segmentos y tamaño similar; HPM con un segmento; “spigots” que se muestran en la Fig. 4D. Coxas amarillentas. Fémures, patelas, tibias, tarsos y metatarsos amarillentos con bandas oscuras. Escópulas en las patas I y II de los tarsos y metatarsos ventrales, en las patas III y IV sólo en los tarsos. Epigino constituido por una placa setácea con proyecciones lateral y posterior (Figs. 1D, 2H, 3A); aberturas copulatorias ubicadas en el margen posterior de la placa epiginal (Figs. 2I, 3A-B). Vulva: cabeza de las espermatecas redondeada con una proyección apical, tallo visible y cámaras vulvares situadas ventralmente (Figs. 2I, 3B). Patrón de espinación: fémur I p 1ap d 1-1-1ap, II p 1ap d 1-1-1ap, III p 1ap d 1-1-1ap, IV d 1-1-1ap; patela II p 1, III p 1, r 1, IV p 1 r 1; tibia I p 0-

1-0 v 1seta-1-0, II p 1-0-1 v 1-1-0, III p 0-1-1 d 1setas-1-0 r 1-1-0 v 1(1seta)- 1(1seta)-2ap, IV p 1-0-1 d 0-0-1 r 1-0-1 v 1(1seta)-1(1 seta)-2ap; metatarso I p 0-1-2ap v 2-0-1ap, II p 0-1-2ap v 2-0-1-ap, III p 1-1-1 d 0-0-2ap r 1-1-1ap v 2-2-1ap, IV p 1-1-2ap r 1-1-2ap v 1-1-0.

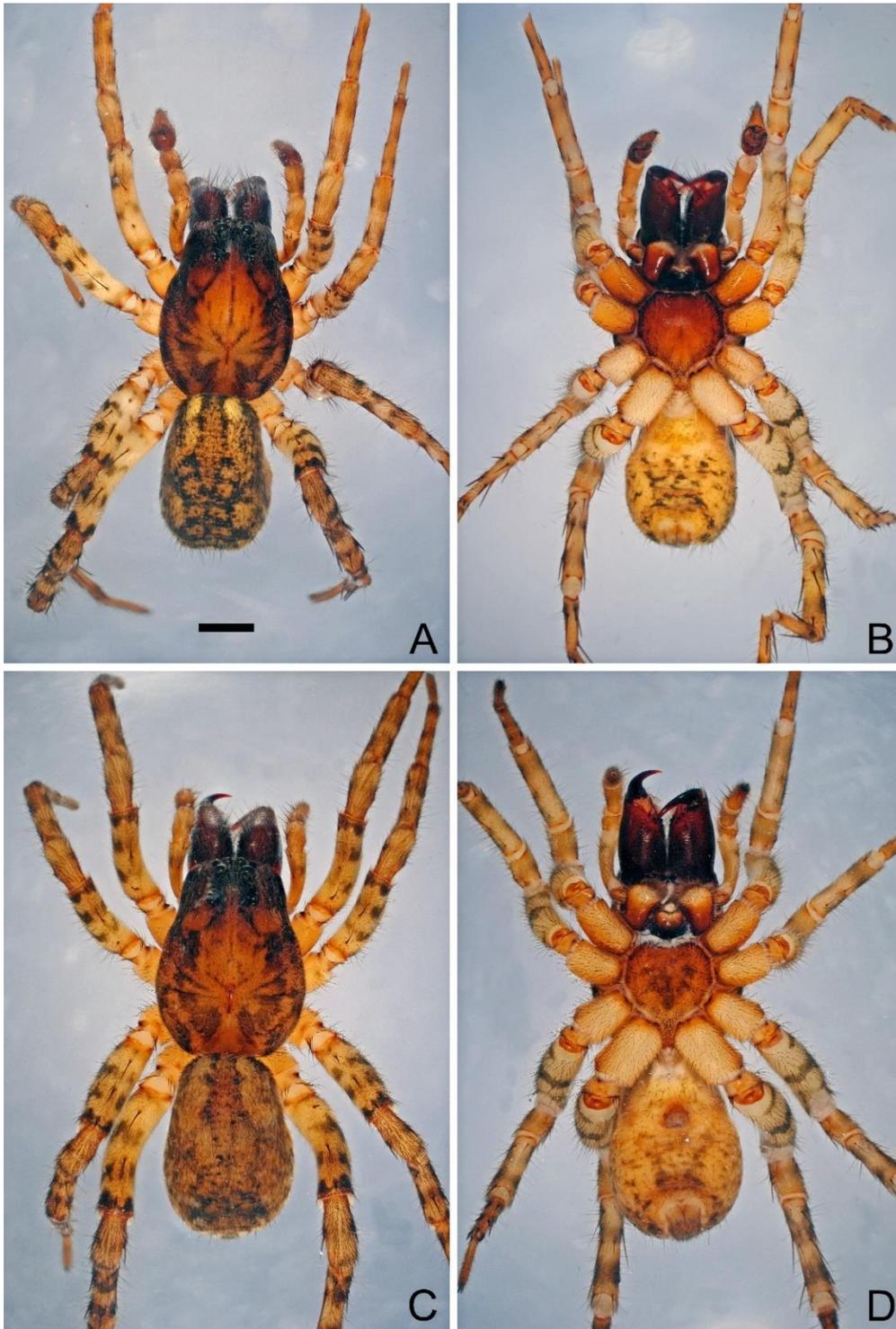
**Macho** (FCE-Ar 10925). Color en etanol (Figs. 1A-B): como en la hembra, pero con colores más contrastados, excepto por el esternón sin manchas oscuras. Palpos con tibia más larga que ancha (Fig. 2B). Los “*spigots*” de las hileras se muestran en las Figs. 4A-C. Cymbium pardusco con dos macrosetas en el externo apical (Figs. 2A-C, 3D); tegulum grande, que ocupa la mayor parte del lado ventral del bulbo (Figs. 2B-E, 3C); apófisis media bífida y curvada ventralmente, con una rama apical más grande; émbolo delgado, (Figs. 2B-G, 3C); pálea con apófisis terminal con extremo puntiagudo (Figs. 2B-E, 3C). Patrón de espinación: fémur I p 1ap d 1-1-1ap, II p 1ap d 1-1-1ap, III d 1-1-1 r 1ap, IV d 1-1-1; patela I p 1setas II p 1, III p 1, r 1, IV p 1 r 1; tibia I p 0-1-(1setas)- 1 v 2-0-2, II p 1-0-1 v 1-1-2ap, III p 1-1-0 d 0-1-0 r 1-1-0 v 2-2-2, IV p 1-1-0 d 1setas-1-0 r 1-1-0 v 2-2-2; metatarso I p 0-2-1ap r 2ap v 2-2-1ap, II p 0-1-1ap r 2ap v 2-2-1ap, III p 1-1-1 r 1-1-1 v 2-2-1ap, IV p 1-1-2 r 1-1-2 v 1-1-1.

**Medidas.** Hembra, FCE-Ar 10926 (Macho, FCE-Ar 10925). Fórmula de: 4123 (4123). LT 6,70 (5,80), AP 2,65 (2,35). Ojos: OMA 0,15 (0,15), OLA 0,12 (0,12), OMP 0,20 (0,22), OLP 0,22 (0,22). Fila de ojos: FOA 0,75 (0,75), OMP 0,70 (0,70), OLP 0,95 (0,90).

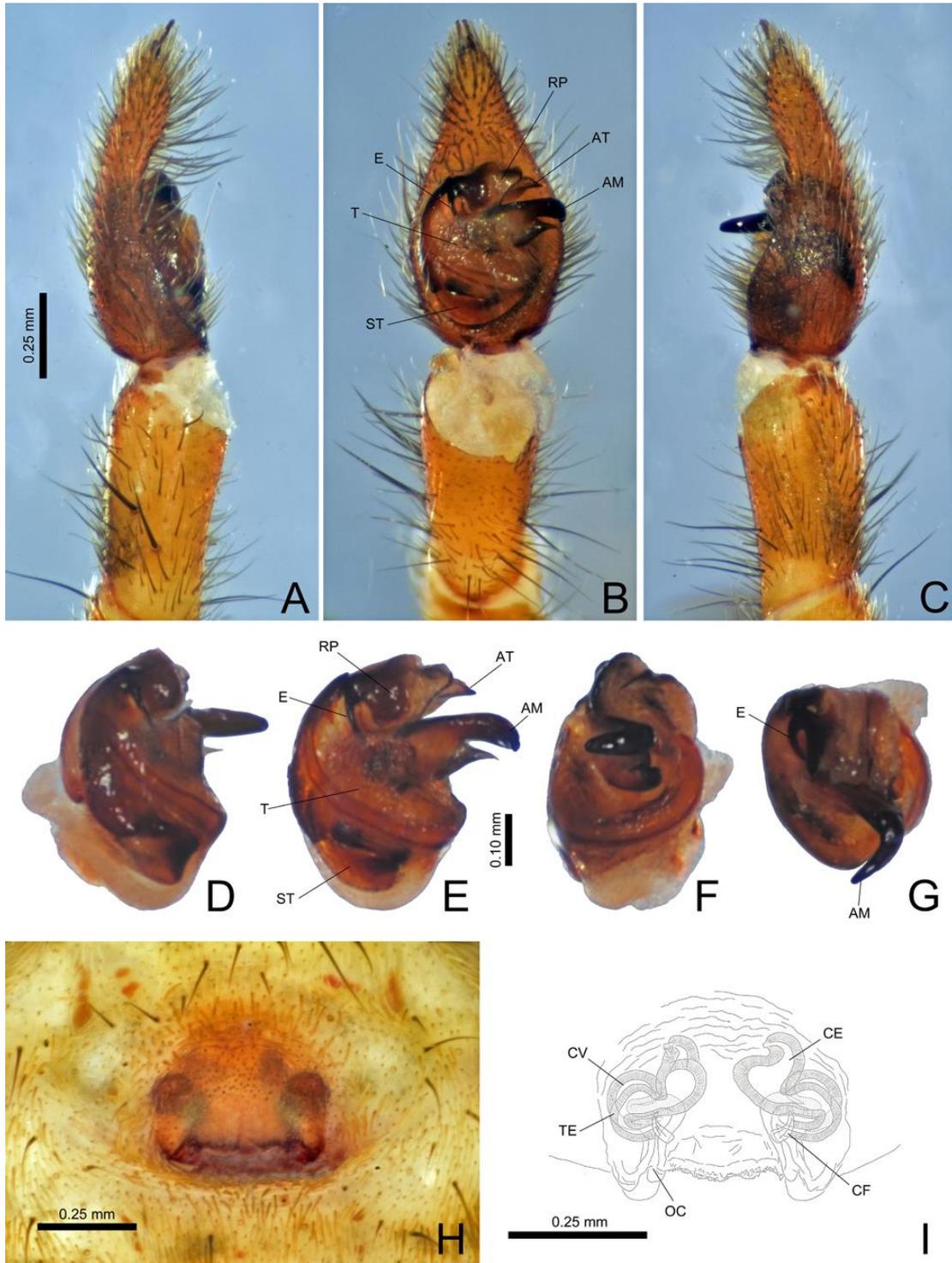
**Patas:** longitudes de los segmentos (fémur + patela/tibia + metatarso + tarso = longitud total): I 2.10 + 2.65 + 1.45 + 0.95 = 7,15, II 1.90 + 2.60 + 1.40 + 0.90 = 6.80, III 1.95 + 2.15 + 1.65 + 0.90 = 6.65, IV 2.50 + 3.10 + 2.60 + 1.25 = 9,45 (I 1.95 + 2.50 + 1.60 +

0.95 = 7.00, II 1.75 + 2.20 + 1.40 + 0.90 = 6.25, III 1.70 + 1.95 + 1.60 + 0.90 = 6.15, IV  
2,15 + 2,75 + 2,35 + 1,10 = 8,35).

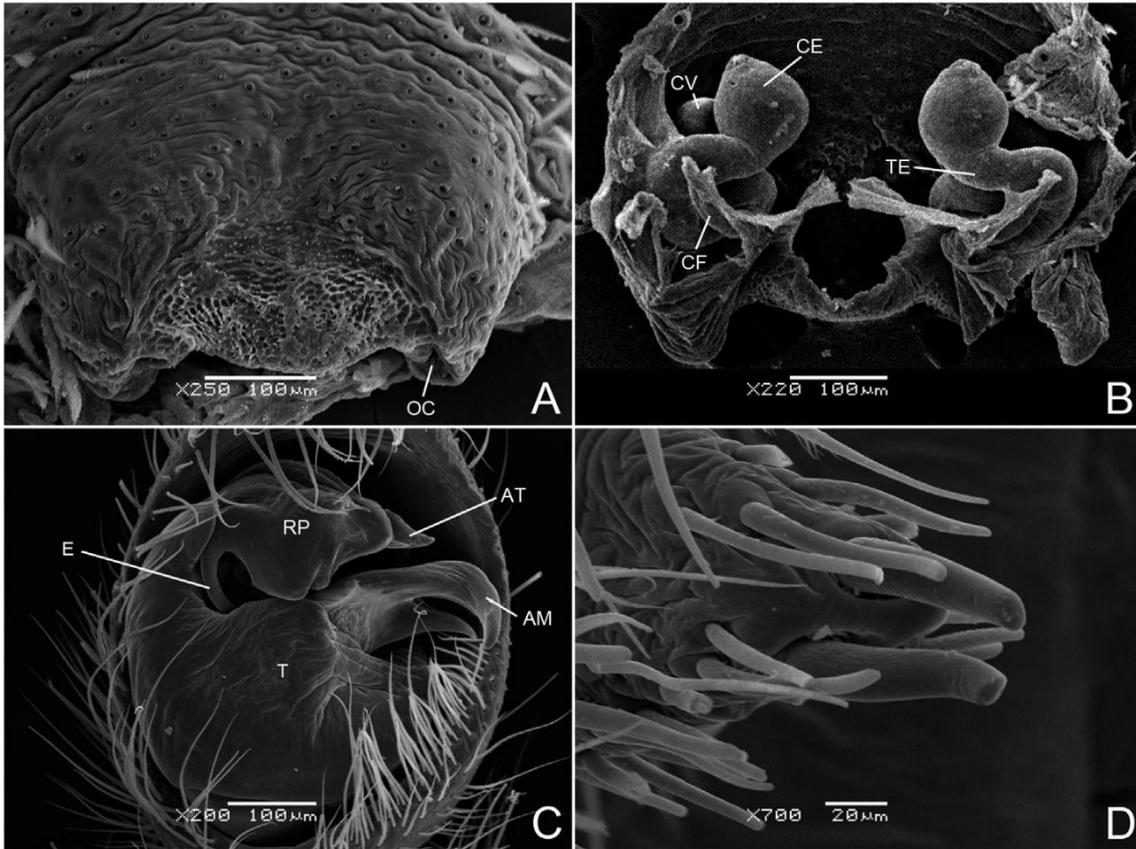
Variación. Hembras (machos) (rango, media  $\pm$  SD): LT 6,10–8,00, 7,30  $\pm$  0,85; AP 2,40–  
2,75, 2,60  $\pm$  0,15; n = 5 (LT 5,30–6,10, 6,00  $\pm$  0,54; OC 2,35–2,60, 2,43  $\pm$  0,10; n= 5).



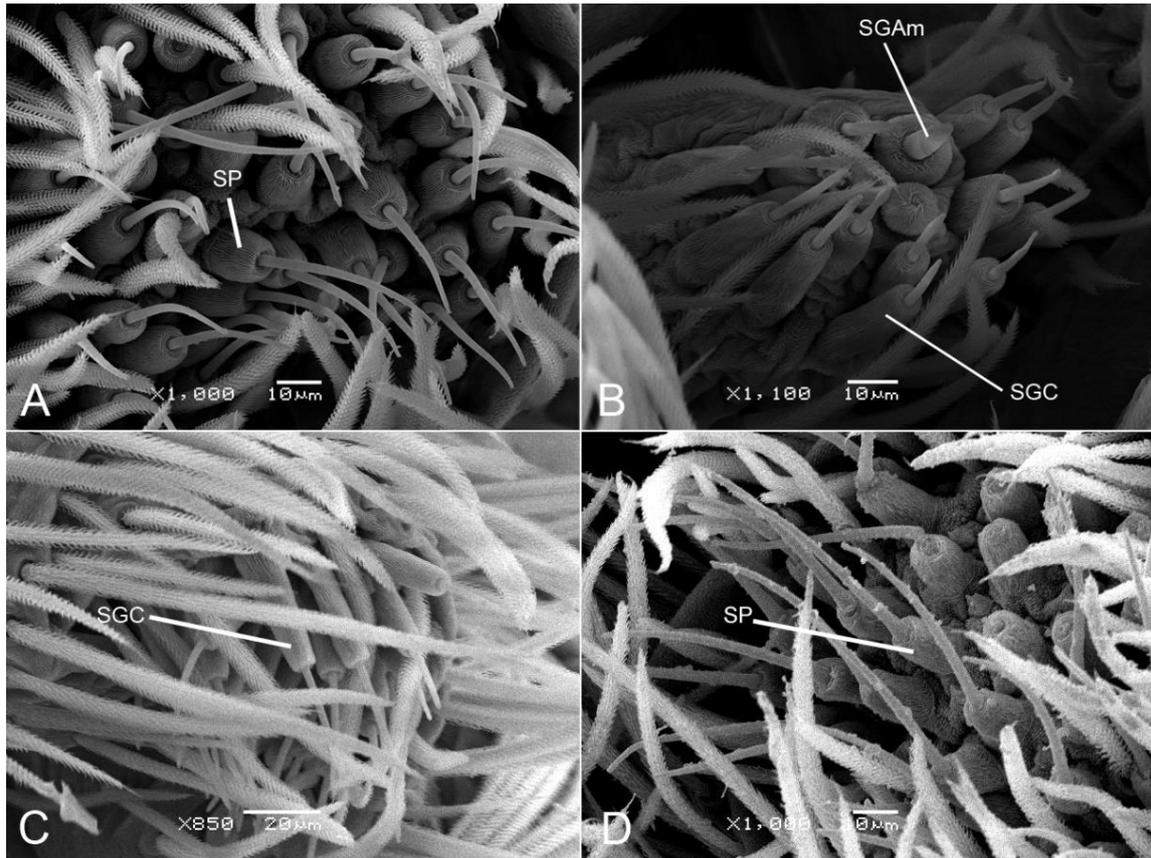
**Fig.1.** *Paratrochosina amica*, habitus (A–B), macho (FCE-Ar 10925), (A) dorsal, (B) ventral, (C–D) hembra (FCE-Ar 10926), (C) dorsal, (D) ventral. Barra de escala: 1mm.



**Fig. 2.** *Paratrochosina amica*, macho (FCE-Ar 10925) y hembra (FCE- Ar 10926) genitalia (A–C), vista general del pedipalpo (A), prolateral (B), ventral (C), retrolateral (D–G), bulbo (D), prolateral (E), ventral (F), retrolateral (G), apical (H), vista ventral del epigino (I), vista dorsal de la vulva. Abreviaturas: AM, apófisis mediana; AT, apófisis terminal; CE, cabeza de la espermateca; CV, cámara vulvar; E, émbolo; OC, orificio copulatorio; RP, región de la palea; ST, subtegulum; T, tegulum; TE, tallo de la espermateca.

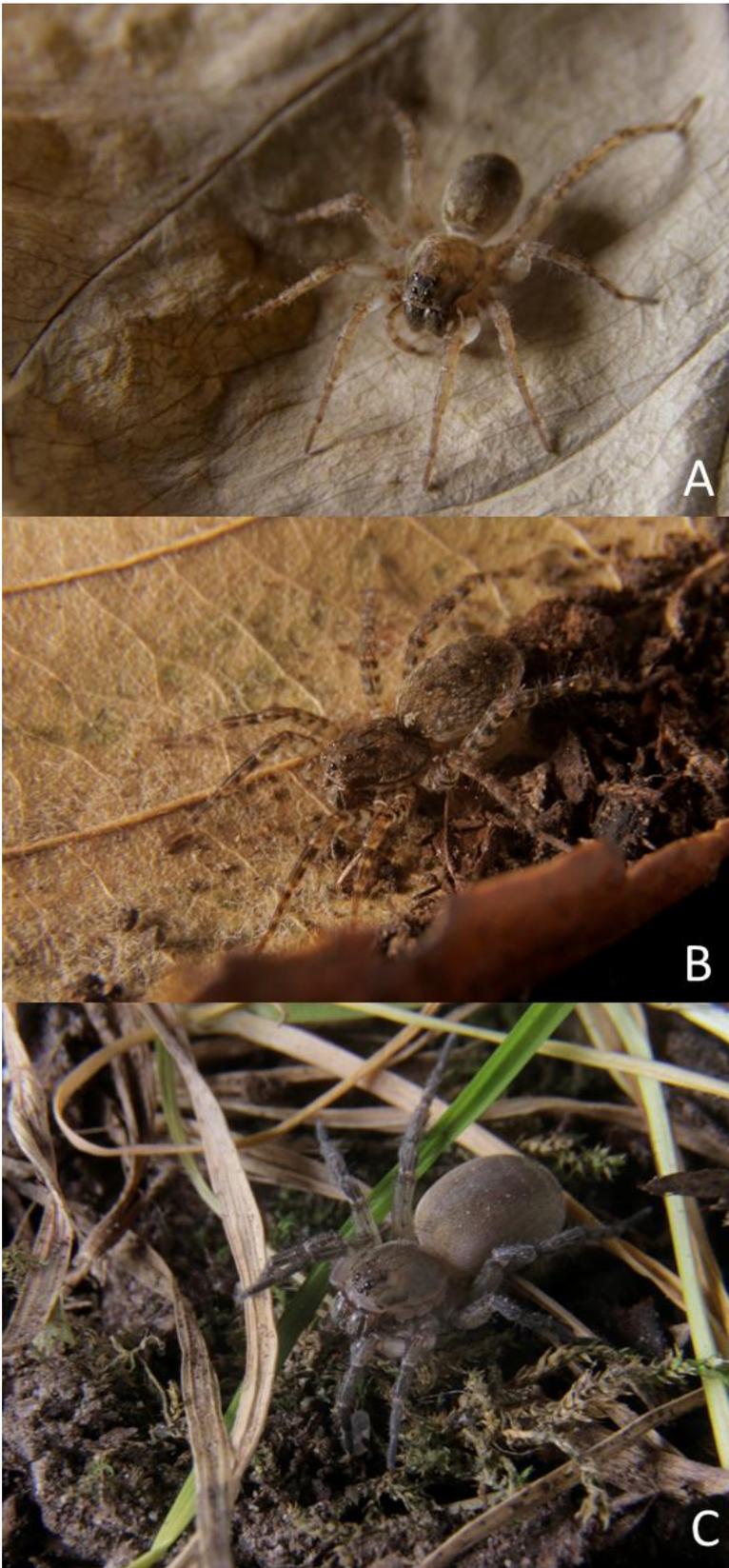


**Fig. 3.** Imágenes de MEB de *Paratrochosina amica*, (A–B) genitala de la hembra (A), vista ventral del epigino (FCE-Ar 10947), (B) vista dorsal de la vulva (FCE-Ar 11460), (C) bulbo, vista ventral (FCE-Ar 11653), (D) macrosetas apicales del cymbium (FCE-Ar 11653). Abreviaturas: AM, apófisis mediana; AT, apófisis terminal; CE, cabeza de la espermateca; CF, conducto de fertilización; CV, cámara vulvar; E, émbolo; OC, orificio copulatorio; RP, región de la palea; T, tegulum; TE, tallo de la espermateca.



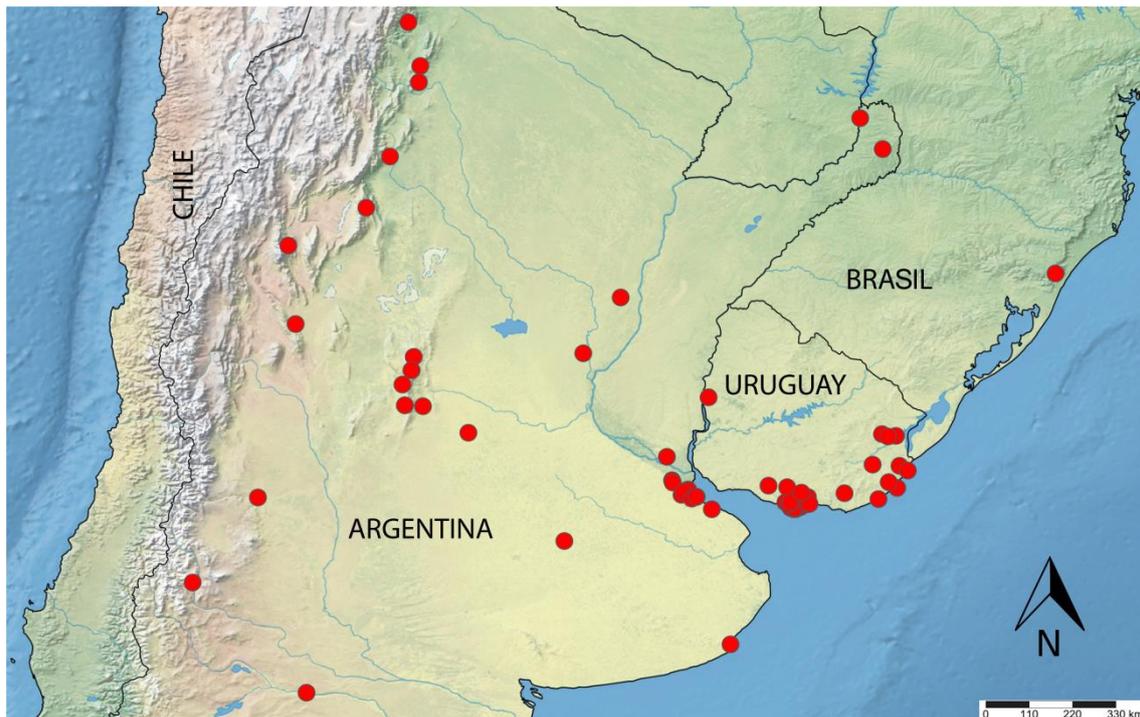
**Fig. 4.** Imágenes de MEB de *Paratrochosina amica*, hileras (A–C) macho (FCE-Ar 11653), y (D) hembra (FCE-Ar 11461), (A) HLA izquierda, (B) HPM derecha, (C) HLP izquierda, (D) HLA derecha. Abreviaturas: SGC, “spigot” de la glándula aciniforme; SGAm, “spigot” de la glándula ampulácea menor; SP, “spigot” piriforme.

Patrones de diseño y coloración: a partir de los patrones de color de los ejemplares vivos de Melilla y del IIBCE se reconocieron tres morfotipos. Morfotipo 1, los individuos presentan un color marrón generalizado y sin bandas oscuras en las patas (Fig. 5A). Morfotipo 2, más oscuro que el morfotipo 1 y con bandas oscuras en las patas (Fig. 5B). Morfotipo 3, habitus marrón claro sin bandas oscuras en las patas (Fig. 5C).



**Fig. 5.** Especímenes vivos de *Paratrochosina amica*, (A) morfotipo 1 hembra de Melilla, (B) morfotipo 2 hembra de Melilla y (C) morfotipo 3 hembra del IIBCE. Fotos: Marcelo Casacuberta

**Distribución.** La especie presenta una amplia distribución en el sur de Sudamérica: Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Jujuy, La Rioja, Misiones, Mendoza, Tucumán, Río Negro, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe), Brasil (Río Grande do Sul) y Uruguay (Canelones, Maldonado, Montevideo, Paysandú, Rocha, San José, Treinta y Tres) (Fig.6).



**Fig. 6.** Registros de distribución de *Paratrochosina amica*.

**Historia Natural.** Los ejemplares de Uruguay pertenecientes a los tres morfotipos fueron encontrados caminando de noche en jardines de pastos bajos urbanos y pastizales abiertos en áreas naturales suburbanas (Fig. 7C-D); algo similar ocurrió en Brasil, donde se encontró a la especie caminando sobre pasto corto cerca de construcciones (Fig. 7B). Los ejemplares de Córdoba fueron capturados en trampas de caída colocadas en pastizales a 1854 m de altura (Fig. 7A).



**Fig. 7.** Habitats de *Paratrochosina amica*. (A) Los Gigantes, Córdoba, Argentina; (B) Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza PRÓ-MATA PUCRS, São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil; (C) Melilla, Montevideo, Uruguay; (D) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay.

**Otro material examinado.** ARGENTINA: *Jujuy*: Parque Nacional Calilegua, Seccional Aguas Negras (23°42'41.8"S 64°54'41.7"W), 06-11.XII.2008, C.J. Grismado, M. Izquierdo, F.M. Labarque, G.D. Rubio, M. Burger, P. Michalik, P. Carrera, A.A. Ojanguren Affilastro y C. Mattoni, 1 ♂ (MACN-Ar 32893). *Salta*: Camino entre El Rey y Lumbra [25°5'17.4"S 64°40'14.5"W], 17.XI.1966, Galiano, 1 ♂ (MACN-Ar 42005). Parque Nacional El Rey [24°42'59.9"S 64°38'19.2"W], 14.XI.1966, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 42003). *Misiones*: Puerto Bemberg [25°54'55.4"S 54°37'11.2"W], X.1987, R. Crifila, 1 ♀ (MACN 42024). San Pedro [26°37'17.7"S 54°6'33.5"W], XI.1940, Exp. Z. Seravaglieri – Armanini, 1 ♂ (MACN-Ar 1058). *Tucumán*: Horco Molle

[26°47'33.8"S 65°19'6.3"W], 23.X.1963, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 41992). San Javier [32°1'55.0"S 65° 2'58.7"W], II.1943, Exc. Maniglia, Cravio, 1 ♀ (MACN-Ar 41994). *Catamarca*: Los Talas [27°58'0.0"S 65°52'0.0"W], 15.II.1953, Partridge, 1 ♀, 1 juvenil (MACN-Ar 42023). *La Rioja*: Base del Famatina, altitud 2115m [28°50'02"S 67°38'35"W], 30.I.2006, L.N. Piacentini, L. Compagnucci y A. Ojanguren, 3 ♀, 11 juveniles (MACN-Ar 41995). *Córdoba*: Uacha, Laguna La Felipa [33°8'0.9"S 63°32'50.1"W], 13-14.II.2006, M. Izquierdo, 1 ♀ (MACN-Ar 28956); misma fecha, 1 ♂, 1 juvenil (MACN-Ar 35219); misma localidad y colector, 12.IV.2006, 1 ♂ (MACN-Ar 28957); misma localidad y colector, 21-23.III.2006, 1 ♀ (MACN-Ar 28959). Camino a Pampa de Achala [31°41'9.2"S 64°50'30.8"W], 16.XI.1984, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 41999). El Sauce, Calamuchita [32°31'45.8"S 64°34'59.8"W], XII.1939, J.M. Viana, 1 ♀ (MACN-Ar 876). Los Gigantes [31°23'43.9"S 64°47'16.9"W], 21.VII-4.IX.2019, M. Izquierdo, trampas de caída en pastizales, 1 ♀ (FCE-Ar 10928); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 10927); mismos datos, 3 ♂, 2 ♀, 2 juveniles (LABRE-Ar 535). *San Juan*: Parque Provincial Valle Fértil, playa del dique San Agustín (30°38'23.0"S 67°28'58.3"W), 06-07.XII.2014, L.N. Piacentini y E.M. Soto, 1 ♀ (MACN-Ar 33423); misma localidad y colectores, 12.VI.2014, 1 ♀ (MACN-Ar 33457). *San Luis*: Cortaderas [32°30'23.8"S 64°59'2.1"W], 10.XI.1982, A. Roig, 1 ♀ (MACN-Ar 42006); misma fecha y colector, [32°30'19.3"S 64°59'4.7"W], 1 ♀ (MACN-Ar 42001). *Mendoza*: San Rafael [34°37'13.1"S 68°20'10.3"W], 24-25.XII.2012, G.D. Rubio, 1 ♂ (MACN-Ar 29995). Laguna Coipo Lauquen [36°34'32.9"S 69°49'35.2"W], I.1975, Maury, 1 ♀ (MACN-Ar 42013). *Santa Fe*: Calchaquí, Laguna El Cristal [30°1'59.6"S 60°4'39.9"W], 07.XII.2010, I. Ortega Insaurralde, 1 ♀ (MACN-Ar 27475). Tambo, 15 Km al N de Esperanza, lindero al Río Salado (31°18'49.3"S 60°55'49.3"W), 04.VIII.2011, J.A. Sarquis, 1 ♂ (MACN-Ar 35264); misma localidad y colector, 11.IV.2011, 1 ♂ (MACN-Ar 35263); mismos datos,

1 ♀ (MACN-Ar 35214), misma localidad y colector, 20.VII.2011, 1 ♀ (MACN-Ar 35280). *Entre Ríos*: Villa Paranacito [33°41'16.2"S 59°01'26.9"W], I.2010, E.N. López Carrión, y N.E. Olejnik, 1 ♀ (MACN-Ar 39009). *Buenos Aires*: Mar del Plata [37°59'50.0"S 57°34'35.7"W], 16-21.I.2008, N. Olejnik y I. Crudele, 1 ♂ (MACN-Ar 39008). San Fernando [34°26'21.4"S 58°32'59.9"W], 2.XII.2002, L. N. Piacentini, 1 ♀ (MACN-Ar 42008). San Isidro [34°29'0.0"S 58°31'56.1"W], II.2007, M.J. Ramírez, 1 ♂ (MACN-Ar 24014). Ingeniero Adolfo Sourdeaux [34°30'3.0"S 58°39'40.35"W], 19.X.2009, L.N. Piacentini, 1 ♂ (MACN-Ar 27539); misma localidad y colector X.2002, 2 ♂, 1 ♀ (MACN-Ar 42018). Ingeniero Otamendi, [34°13'49.5"S 58°54'20.9"W], 18.X.1997, B. Fuentes, 1 ♂ (MACN-Ar 28495); misma localidad y colector, 25.X.1997, 2 ♂, 1 ♀, 2 juveniles (MACN-Ar 28496). Delta del Paraná, 3ra sección, Río Barca Grande y Arroyo Barquita (34°26'8.4"S 58°32'15.9"W), 24.I-26.I.2012, L. Zapata y C.J. Grismado, 1 ♂ (MACN-Ar 31196). Ringuelet (34°53'4.8"S 57°59'9.9"W), 25.XI.2017, A. Pérez González, 1 ♂ (MACN-Ar 35999). Carlos Casares [35°37'18.5"S 61°21'39.3"W], 1978-1979, Goloboff, 1 ♂ (MACN-Ar 42032); mismos datos, 1 ♂ (MACN-Ar 42033). Bella Vista [34°33'49.1"S 58°41'27.6"W], 23.XII.2002, C. Pautazzo, 1 ♀ (MACN-Ar 41998). Partido de Campana, Estación Río Luján del F.C. Nac. Mitre [34°16'51.8"S 58°53'28.9"W], 12.I.1980, Zanetic y P. Goloboff, 1 ♀ (MACN-Ar 42013). *Ciudad Autónoma de Buenos Aires*: Flores [34°38'7.2"S 58°27'27.5"W], II.1962, Massoia, 1 ♂ (MACN-Ar 28974). Reserva Ecológica Costanera Sur, pastizales sendero medio (34°36'30.1"S 58°21'15.9"W), 20.XII.2008, P. Turienzo, 1 ♂ (MACN-Ar 39017); misma localidad, 16.II.2009, A. Mamani y P. Turienzo, 1 ♀ (MACN-Ar 39026); Reserva Ecológica Costanera Sur, Laguna de los Macáes (34°36'22.6"S 58°20'55.7"W), 08.XI.2008, P. Turienzo. 1 ♂ (MACN-Ar 39018); misma localidad, 16.2.2009, A. Mamani y P. Turienzo, 1 ♂ (MACN-Ar 39020); misma localidad y colector, 29.IX.2008,

1 ♂ (MACN-Ar 39022); misma localidad y colector, 02.II.2009, 1 ♀ (MACN-Ar 39023); misma localidad, 27.X.2008, A. Mamani, 1 ♂ (MACN-Ar 39013). *Río Negro*: Balneario Fortín Lagunita 4.3 km (por aire) SE Ingeniero Luis A. Huergo (39°6'18.7"S 67°13'7.6"W), 20-22.I.2015, L.N. Piacentini, 1 ♂ (MACN-Ar 34448); mismos datos, 1 ♀ (MACN-Ar 34449). Viedma [40°49'8.2"S 63° 0'9.2"W], I.2013, H.A. Iuri, 1 ♀ (MACN-Ar 30118); mismos datos, 1 ♀ (MACN-Ar 30119); mismos datos, 1 ♂ (MACN-Ar 30120). BRASIL: *Río Grande do Sul*: Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata, PUCRS [29°28'50.4"S 50°10'27.2"W], 17.X.2018, F. Bollati, Á. Laborda, M. Izquierdo, R. Teixeira 13 ♂, 14 ♀, 2 juveniles (MCTP 43598); misma localidad y colectores, 18.X.2018, 7 ♂, 2 ♀ (MCTP 43599); misma localidad y colectores, 17.X.2018, 1 ♀ (MCTP 43600); mismos datos, 1 ♀ (MCTP 43601); mismos datos, 1 ♂ (MCTP 43602); mismos datos, 1 ♂ (MCTP 43604); mismos datos, 1 ♀ (MCTP 43605); misma localidad y colectores, 16.X.2018, 1 ♀ (MCTP 43603). URUGUAY: *Paysandú*: Ciudad de Paysandú [32°19'16.7"S 58°04'31.8"W], 24.VIII.2009, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 2829). *Treinta y Tres*: Charqueada [33°12'17"S 53°48'18"W], 26.XII.2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♀ (FCE-Ar 8271); mismos datos, 26.XII.2013, 1 ♂, 2 ♀ (FCE-Ar 8298); misma localidad y colectores, 14.XI.2013, 1 ♂, 1 ♀ (FCE-Ar 8280); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 8291); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 8296); misma localidad y colectores, 21.XI.2015, 1 ♀ (FCE-Ar 8307); misma localidad y colectores, 21.X.2015, 1 ♂ (FCE-Ar 8345); mismos datos, 2 ♂, 1 ♀ (FCE-Ar 8356); misma localidad, 21.X.2015, L. Bao, M. Carballo, 1 ♀ (FCE-Ar 8304); misma localidad, 12.XII.2014, L. Bao, L. Casales, M. Carballo, 2 ♂ (FCE-Ar 8279); misma localidad, 12.II.2015, L. Bao, M. Carballo, 2 ♀ (FCE-Ar 8308). Julio María Sanz [33°09'50"S 54°07'21"W], 19.XI.2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♂ (FCE-Ar 8297). Ruta 17 Km. 328 [33°13'11"S 53°59'08"W], 14.XI.2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♂ (FCE-Ar 8277); misma localidad y colectores, 28.XI.2013, 1 ♂

(FCE-Ar 8269); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 8278); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 8281); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 8340); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 8283); misma localidad y colectores, 26.XII.2013, 1 ♀ (FCE-Ar 8263); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 8282); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 8300). *San José*: San José de Mayo [34°20'54"S 56°42'27"W], XI.2013, M. Lacava y L.F. García Hernández, 1 ♂ (MACN-Ar 31093). *Canelones*: Balneario Lagomar, [34°50'31.9"S 55°58'59.9"W], 28.X.2004, M. Simó, 2 ♀, 2 ♂ (FCE-Ar 2713). Estación Pedrera, Establecimiento "Las Luciérnagas" [34°36'59.8"S 55°48'59.8"W], 12.XII.2002, F.G. Costa y G. Useta, 1 ♀ (FCE-Ar 2719). Las Piedras [34°43'59.9"S 56°12'59.8"W], 19.XII.2003, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 2795); misma localidad y colector, 28.IX.2005, 1 ♀ (FCE-Ar 2796). Villa Argentina [34°46'0.6"S 55°46'43.4"W], IV.2009, M. Simó, 1 ♂ (FCE-Ar 4561). Ruta 5, Río Sta. Lucía, Paso Pache [34°23'01"S 56°16'57"W], 1.III.2015, M. Simó, 2 ♂, 2 ♀ (FCE-Ar 7892). San Jacinto, [34°30'48.2"S 55°57'38.8"W], 12.II.2021, N. Kacevas, 1 ♀ (FCE-Ar 12255). *Maldonado*: Sierra de Carapé [34°31'18"S 54°58'37"W], 13.IV.2019, D. Hagopían, 1 ♂, 3 ♀, 1 juvenil (FCE-Ar 11652). *Montevideo*: Arroyo Miguelete B [34°51'36.8"S 56°12'35.7"W], 12.IV.2009, F.G. Costa, 1 ♂ (FCE-Ar 4560). Barrio Malvín Norte, [34°52'56.9"S 56°07'05.8"W], 22.II.2005, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 6800). Barrio Portones, [34°53'26.5"S 56°5'4.1"W], 19.VIII.2013, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 4687). Barrio Prado, [34°51'47.1"S 56°12'07.0"W], 20.IX.2003, F.G. Costa, 1 ♂ (FCE-Ar 1037); misma localidad y colector, 24.II.2009, 1 ♀ (FCE-Ar 4558); misma localidad y colector, 6.XII.2008, 1 ♀ (FCE-Ar 4559). Euskalerría [34°52'31.9"S 56°07'07.8"W], 22.X.2005, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 2794). Facultad de Ciencias [34°46'49.9"S 55°49'34.1"W], 16.X.2014, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 6220). Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) [34°53'15,6"S 56°08'34,8"W], X.2010, F.G. Costa, 1 ♀ (FCE-Ar 4562); misma localidad, 31.I.2018, N. Kacevas, M. Simó y V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar

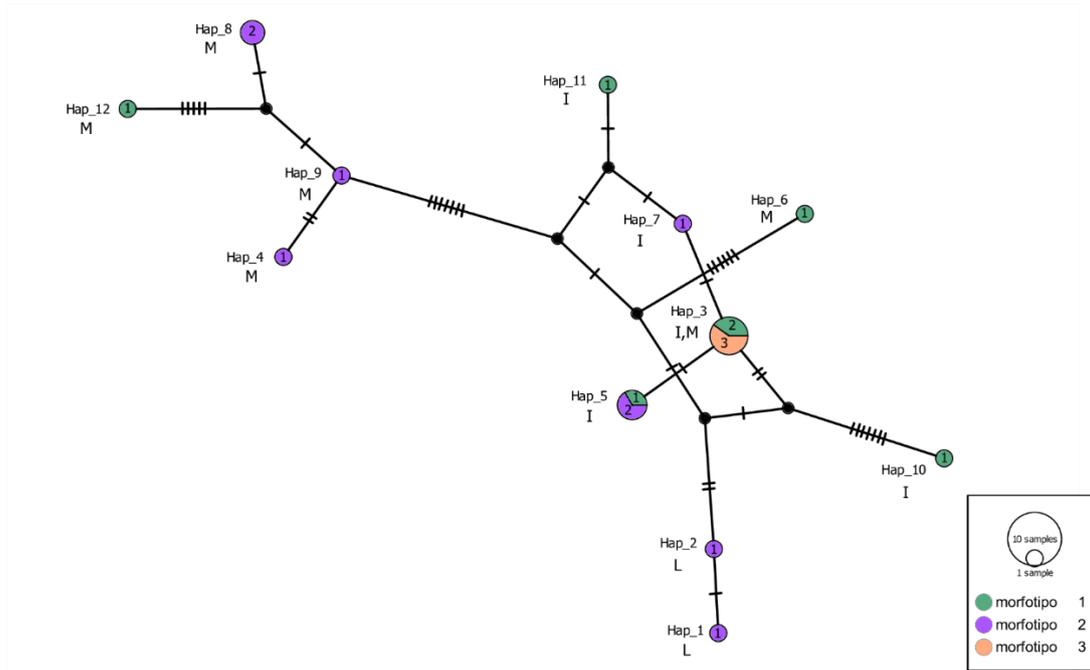
9214); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11437); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11438); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11439); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11440); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11441); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11442); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11443); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11444); 01.II.2018, A. Albín, Á. Laborda y V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 9348); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11445); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11446); 02.II.2018, D. Cavassa, R. Postiglioni y V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 11447); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11448); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11449); misma localidad, 20.III.2020, Á. Laborda, y V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 10935); misma localidad y colectores, 16.IV.2020, 1 ♂ (FCE-Ar 10936); misma localidad, 20.XI.2019, P. Pintos y C. Perafán, 1 ♀ (FCE-Ar 10948); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 10937). Melilla [34°43'53''S 56°19'23,4''W], 20.III.2018, L. Bidegaray, Á. Laborda y V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 10227); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11450); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11451); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11452); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11453); misma localidad, 21.III.2018, A. Aisenberg, M. Simó y V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 10228); mismos datos, 1 juvenil (FCE-Ar 11454); misma localidad, 22.III.2018, A. Albín, R. Postiglioni y V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 11455); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 11456); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 11457); misma localidad, 18.IX.2018, V. Gonnet, D. Cavassa y D. Hagopían, 1 ♂ (FCE-Ar 11458); misma localidad, 5.II.2019, N. Kacevas, D. Hagopían y V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 11459); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 10930); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 10947); misma localidad y colectores, 8.IV.2019, 1 ♂ (FCE-Ar 10931); misma localidad, 20.II.2020, D. Hagopían, R. Postiglioni y V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 11461). Aeropuerto de Melilla [34°46'59.9"S 56°15'00.0"W], 23.X.2002, F.G. Costa, M. Simó, 1 ♀ (FCE-Ar 2722); mismos datos, 1 ♂ (FCE-Ar 2727); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 2728); mismos datos, 1 ♂, (FCE-Ar 2729). Rocha: Cabo Polonio [34°24'00.0"S 53°46'59.9"W], 21.XII-31.XII.2004, F. Achával, 3 ♂, 5 ♀ (FCE-Ar 2808).

Laguna de Castillos [34°16'1.5"S 53°58'1.5"W], 19.V.1993, M. Ramírez, F. Pérez-Miles, 1 ♀ (MACN-Ar 42012). La Paloma, Playa La Serena [34°39'25"S 54°12'09"W], 2.XII.2019, C. Toscano-Gadea, 1 ♀ (FCE-Ar 10932); misma localidad, 3.XII.2019, N. Kacevas, 1 ♀ (FCE-Ar 10933). Paraje Alférez [33°51'53"S 54°20'22,5"W], 20.III.2019, M. González, N. Kacevas, D. Cavassa, L. Bidegaray y V. Gonnet, 1 ♀, 3 ♂ (FCE-Ar 10934). Potrero Grande, (33°53'59.8"S 53°43'43.3"W), 3.III.2001, C. Toscano-Gadea, 3 ♀ (FCE-Ar 2753); mismos datos, 1 ♀ (FCE-Ar 2763); misma localidad y colectores, 4.IV.2001, 1 ♂ (FCE-Ar 2759); misma localidad y colector, 23.XII.2000, 1 ♂ (FCE-Ar 2781). Santa Teresa [34°0'1.4"S 53°32'18.2"W], 24.XI.2013, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 6555).

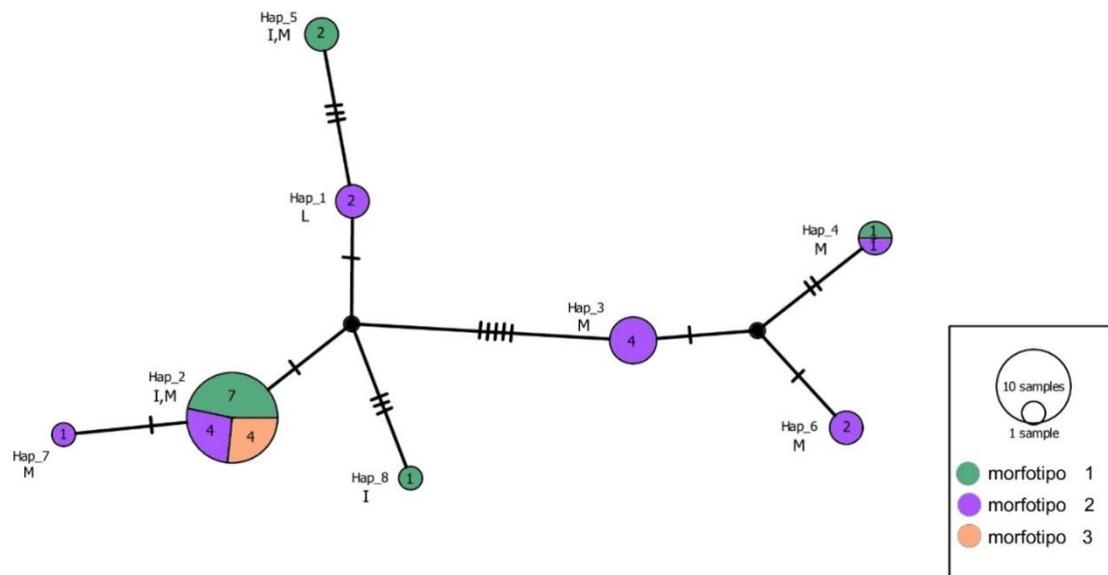
#### *Análisis filogenéticos*

Se obtuvieron secuencias de *cox1* para 29 individuos (16 machos, 12 hembras, 1 macho subadulto), 20 secuencias del gen *12S* (10 machos y 10 hembras) y 19 secuencias del gen *16S*, *L1*, *nad1* (10 machos y 9 hembras) (Tabla 1). La alineación de las secuencias *cox1* resultó en 657 caracteres. La alineación de los genes *12S* y *16S + L1 + nad1* en MAFFT, resultó en 266 y 708 caracteres, respectivamente. Los genes mitocondriales se concatenaron dando como resultado una matriz combinada de 1631 caracteres. El conjunto de datos mitocondriales de la matriz concatenada incluyó 12 haplotipos (excluyendo los sitios con “gaps”/“missing data”) (Figura 8), mientras que para la matriz de 29 individuos sólo para el gen *cox1*, se incluyeron 8 haplotipos (excluyendo sitios con “gaps”/“missing data”) (Figura 9). La diversidad de nucleótidos ( $\pi_n$ ) en la matriz concatenada fue 0,00652 (0,65%) mientras que para la matriz *cox1* fue 0,00658 (0,66%). La diversidad de haplotipos ( $h$ ) fue 0,918 y 0,717, respectivamente.

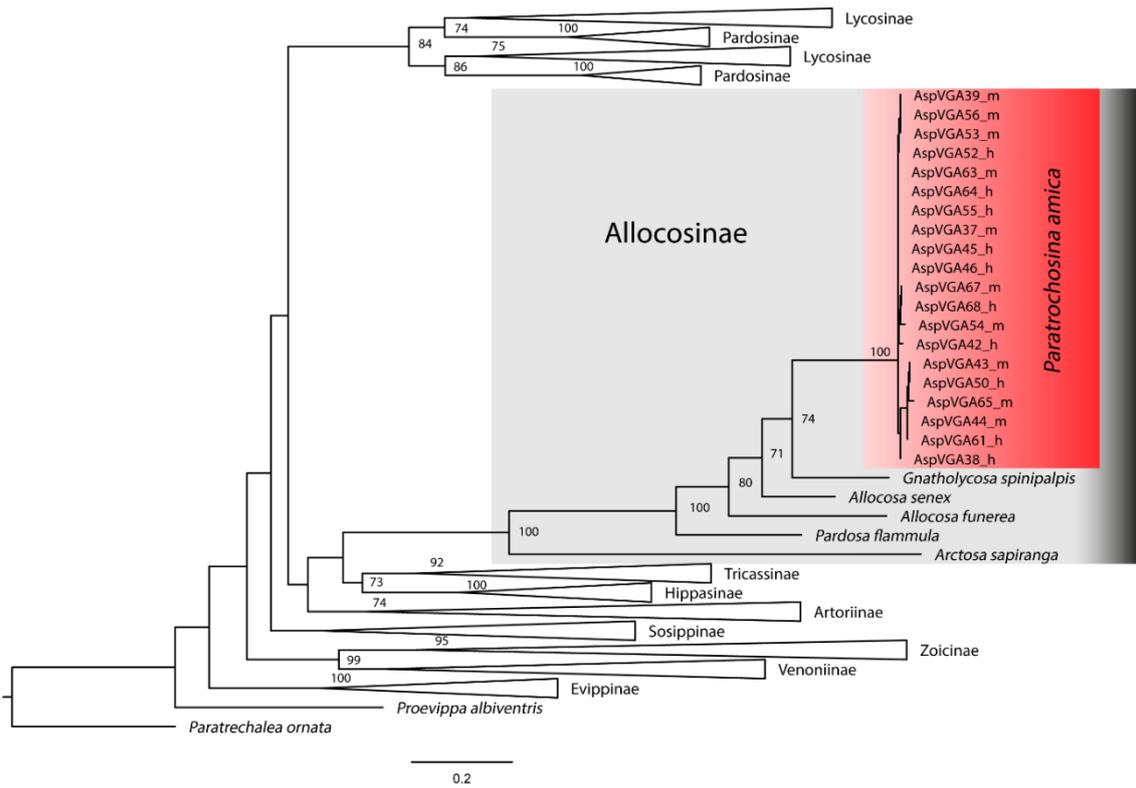
Los resultados de los análisis de máxima verosimilitud (MV) se resumen en la Fig. 10. El análisis mostró una estrecha relación entre los individuos de Melilla y el IIBCE de Uruguay y Los Gigantes de Argentina (localidad cercana a la localidad tipo de *P. amica*). Todos los individuos secuenciados constituyen un grupo monofilético y se ubican en la subfamilia Allocosinae (ver el clado de *P. amica* coloreado en rojo en la Fig. 10). Tanto las redes de haplotipos mitocondriales concatenados como el gen *cox1* no mostraron un patrón de relación entre haplotipos y morfotipos (Figs. 8 y 9). Como ejemplo, en la red de haplotipos *cox1*, el haplotipo 2 es el más dominante y está presente en individuos de los tres morfotipos de las localidades de Melilla e IIBCE (Fig. 9). Además, el modelo GMYC no identificó linajes evolutivos independientes entre los morfotipos. En consecuencia, todos los haplotipos pertenecen al mismo grupo coalescente único, conformando un linaje único sin diferenciación genética entre los tres morfotipos.



**Fig. 8.** Red de haplotipos obtenida de la matriz concatenada utilizando el algoritmo TCS en el programa Popart. Los círculos representan los haplotipos encontrados y cada color y número representan los individuos identificados como morfotipo 1 (verde), morfotipo 2 (violeta) y morfotipo 3 (naranja). Las líneas cortas en las ramas representan el número de mutaciones entre haplotipos. Abreviaturas de localidades: I (IIBCE, Montevideo, Uruguay), M (Melilla, Montevideo, Uruguay) y L (Los Gigantes, Córdoba, Argentina).



**Fig. 9.** Red de haplotipos obtenida del *coxI* usando el algoritmo TCS en el programa Popart. Los círculos representan los haplotipos encontrados y cada color y número representan los individuos identificados como morfotipo 1 (verde), morfotipo 2 (violeta) y morfotipo 3 (naranja). Las líneas cortas en las ramas representan el número de mutaciones entre haplotipos. Abreviaturas de las localidades: I (IIBCE, Montevideo, Uruguay), M (Melilla, Montevideo, Uruguay) y L (Los Gigantes, Córdoba, Argentina).



**Fig. 10.** Árbol de máxima verosimilitud de representantes de subfamilias de Lycosidae obtenido del esquema de partición preferido. Las subfamilias de Lycosidae están colapsadas. Los cuadros de colores representan en rojo individuos de *P. amica* y en gris la subfamilia *Allocosinae*. Sólo se indica bootstrap con soporte >70%.

## DISCUSIÓN

Se realizó un estudio integrativo de la sistemática con un enfoque morfológico y molecular. La hembra de esta especie se describe por primera vez y también se redescubre al macho. Se realiza una caracterización genética de la especie, que corrobora que los tres morfotipos reconocidos por los patrones de diseño son coespecíficos.

La filogenia, basada en datos moleculares, ubica a *P. amica* en Allocosinae, como grupo hermano de *Gnatholycosa spinipalpis* Mello-Leitão, 1940 (Fig. 10). Esta posición también está respaldada por datos morfológicos, ya que los machos de *P. amica* tienen bulbo con apófisis terminal en forma de pico y apófisis media bífida; las hembras tienen el epigino sin tabique ni aurícula media, caracteres indicados por Dondale (1986) como diagnósticos para la subfamilia. La descripción original de la especie tipo del género *Paratrochosina*, *P. insolita*, reveló que la morfología genital de esta especie no presenta los caracteres diagnósticos de Allocosinae. Esto llevó a concluir que esta especie no es congénica con *P. amica* y a excluir *P. insolita* y el género *Paratrochosina* de esta subfamilia. A pesar de los resultados obtenidos, evitamos transferir *P. amica* a *Gnatholycosa* Mello-Leitão, 1940 o *Allocosa* Banks, 1900 ya que los límites de esos dos géneros aún no están resueltos. Además, sobre la base de las redes de haplotipos (Fig. 8 y Fig. 9), confirmamos la co-especificidad de machos y hembras de cada morfotipo. Los resultados moleculares en todo el modelo GMYC mostraron que estos tres morfotipos no difieren genéticamente y respaldan los resultados encontrados con respecto a su distribución en la red de haplotipos. Esta evidencia es congruente con el análisis morfológico, que indicó que los tres morfotipos mostraron una morfología genital similar. También, para la identidad de especie en los análisis moleculares, se incluyeron ejemplares de Los Gigantes, Córdoba, Argentina, recolectados cerca de la localidad tipo. En Uruguay los tres morfotipos se encontraron en microhábitats similares: en pastizales

naturales, así como en jardines en áreas urbanas y suburbanas. Recientemente Pompozzi et al. (2022) citó esta especie para pasturas dedicadas a la ganadería. Los estudios futuros se centrarán en las relaciones filogenéticas de la especie, incluyendo más individuos que representen toda su distribución y otros representantes de la subfamilia.

# CAPÍTULO 2

**Actividad nocturna de superficie, dimorfismo sexual de tamaño y comportamiento sexual en *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941), una especie de Allocosinae de pastizal**

## INTRODUCCIÓN

El dimorfismo sexual de tamaño (DST), definido como la diferencia en la media del tamaño corporal de machos y hembras, es un fenómeno común en el reino animal en organismos con sexos separados (Andersson, 1994; Foellmer & Fairbairn, 2005a; Fairbairn, 2007). El DST moderado (en el que los sexos difieren en tamaño un 10 % o menos) y sesgado hacia las hembras es el patrón más común en los animales (Fairbairn, 2007). En especies en las que existe competencia entre machos por el acceso a recursos limitados, ya sea hembras, territorios reproductivos, entre otros, los machos serán más grandes que las hembras (Andersson, 1994). La selección natural, selección sexual, o ambas actuando conjuntamente, pueden explicar el origen y evolución del dimorfismo sexual de tamaño (Fairbairn, 2007).

En la mayoría de las arañas, las hembras son más grandes que los machos, pero el dimorfismo sexual de tamaño varía desde un sesgo mínimo o moderado hasta un sesgo extremo. Existen casos en los que las hembras poseen un peso 100 veces mayor que los machos, como ocurre en ciertas especies de arañas de tela de las familias Tetragnathidae y Araneidae, y en arañas cangrejo de la familia Thomisidae (Hormiga et al., 2000; Foellmer & Fairbairn, 2005a; Foellmer & Moya-Laraño, 2007; Moya-Laraño et al., 2009). Las arañas son el único grupo animal terrestre que exhibe una amplia gama de DST y en el que el DST extremo es relativamente común. Por lo tanto, las arañas brindan un sistema único y tangible para estudiar los factores últimos y próximos que impulsan la evolución del DST (Foellmer & Moya-Laraño, 2007).

Existen varias teorías que explican la evolución del DST en arañas. Una de ellas propone que en algunos casos la selección favorecería un mayor tamaño en las hembras debido a las ventajas asociadas con la fecundidad (Prenter et al., 1999; Foellmer & Moya-Laraño, 2007). En este sentido, el tamaño de las hembras se correlaciona positivamente

con el tamaño de puesta en algunas especies de arañas (Marshall & Gittelman, 1994; Prenter et al., 1999). Otra de las teorías, la teoría de la gravedad, propone que en arañas constructoras de telas orbiculares un menor tamaño en los machos les favorecería al momento de trepar y encontrar a las hembras, que suelen habitar en lugares más altos (Moya-Laraño et al., 2002). Los machos más pequeños serían seleccionados porque tendrían una ventaja en la competencia para llegar a las hembras más rápido o porque podrían escapar de los depredadores más eficientemente mientras se mueven en superficies verticales (Vollrath & Parker 1992). Otra teoría para explicar el menor tamaño en los machos (enanismo), se relaciona con el canibalismo sexual y propone que los machos pequeños podrían ser menos nutritivos para la hembra y, por lo tanto, serían menos propensos a ser comidos luego del apareamiento (Newman & Elgar, 1991; Blanckenhorn, 2005). Aunque se han planteado varias teorías, es muy difícil encontrar patrones que se puedan generalizar y que expliquen la evolución del dimorfismo sexual de tamaño en arañas (Hormiga et al., 2000).

Las arañas lobo, pertenecientes a la familia Lycosidae, son errantes durante casi toda su vida y emboscan o cazan libremente a sus presas (Foelix, 2011). Generalmente presentan un DST de moderado a bajo, con machos 10 a 20 % más pequeños que las hembras y con patas comparativamente más largas (Logunov, 2011). Existen varios ejemplos de estudios en arañas lobo vinculados al DST (Walker & Rypstra 2001, 2002; Framenau & Hebets, 2007; Wilder & Rypstra, 2008; Bowden et al., 2013; González et al., 2013; Zhang et al., 2021). En general estas diferencias en el DST en arañas lobo se han atribuido al comportamiento más activo por parte de los machos en la búsqueda de pareja. Una mayor movilidad puede aumentar las tasas de encuentro de los machos con hembras y por lo tanto aumentar su éxito reproductivo (Trivers, 1972; Framenau, 2005; Schärer et al., 2012; Hare & Simmons, 2018).

En un escenario de inversión de roles sexuales, cuando la inversión en la reproducción por parte de los machos es alta, el dimorfismo sexual, los patrones de movilidad y el comportamiento de cortejo pueden cambiar respecto a los patrones esperados. Los machos se vuelven selectivos y las hembras quienes buscan pareja, compiten por parejas e inician el cortejo (Gwynne, 1991; Andersson, 1994; Bonduriansky, 2001). Estos patrones no tradicionales han sido reportados en arañas costeras de la subfamilia Allocosinae (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008, Aisenberg, 2014).

*Allocosa senex* (Mello-Leitão, 1945) y *Allocosa marindia* Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017, son dos especies de arañas lobo pertenecientes a la subfamilia Allocosinae Dondale, 1986. *A. senex* se distribuye en los arenales costeros de Argentina, Brasil y Uruguay, mientras que *A. marindia* se encuentra en las costas al sur de Brasil y Uruguay (Capocasale, 1990; Simó et al., 2017). Individuos de ambas especies construyen cuevas donde se refugian durante el invierno, volviéndose activas en las noches de verano (Costa, 1995; Aisenberg, 2014). Ambas especies presentan inversión en sus roles sexuales y en el dimorfismo sexual de tamaño típico en arañas. Los machos son más grandes que las hembras y éstas son quienes salen a buscar pareja e inician el cortejo asomándose a las cuevas masculinas (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Aisenberg, 2014). La cópula ocurre dentro de la cueva del macho, y consta de varias montas y desmontas. En varios grupos animales se ha vinculado la existencia de inversión de roles sexuales con ambientes rigurosos, con variaciones radicales de temperatura entre el día y la noche, vientos fuertes, escasez de refugios y variaciones en la disponibilidad de presas (Karlsson et al., 1997; Lorch, 2002). En este contexto, Aisenberg (2014) propone que el origen y mantenimiento de rasgos sexuales atípicos en *A. marindia* y *A. senex* podría estar relacionado con el ambiente costero en el que habitan. Hasta el momento, no se cuenta

con información sobre otras especies de Allocosinae que permitan contrastar los comportamientos de cortejo y cópula y dimorfismo sexual dentro de esta subfamilia. *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941) es una especie de Allocosinae que habita en pastizales con una amplia distribución en el sur de Sudamérica y se la puede encontrar en jardines en zonas urbanas y pastizales abiertos en áreas naturales. Es una especie de tamaño pequeño, que no realiza cuevas, de coloración marrón oscura con bandas oscuras en las patas (Fig. 1; Capítulo 1).

En el presente capítulo los objetivos son estudiar la actividad de superficie nocturna, estimar el dimorfismo sexual de tamaño, describir el comportamiento de búsqueda, cortejo y apareamiento de *P. amica*. Dado que *P. amica* habita en ambientes más favorables que las especies de Allocosinae de la costa, se espera encontrar los patrones típicos de arañas lobo, o sea una mayor movilidad de machos que de hembras, y hembras con tamaño similar o moderadamente mayor que los machos. Se espera que el macho sea el sexo que busque a las hembras e inicie el cortejo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Actividad nocturna de superficie, fenología y dimorfismo sexual de tamaño*

Para estimar la actividad nocturna de superficie de cada sexo, se realizaron muestreos de 3 noches consecutivas en dos localidades de Uruguay: Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (Montevideo) 34°53'15,6''S 56°08'34,8''W y Melilla 34°43'53''S 56°19'23,4''W (Montevideo), desde el 31 de enero al 2 de febrero de 2018 y desde el 18 de febrero al 20 de febrero de 2020, respectivamente.

Para los estudios de fenología se realizaron 5 muestreos de una noche cada uno, en cada estación del año durante 2018 y 2019 en la localidad de Melilla, Montevideo. Los muestreos se realizaron, por tres recolectores con linterna minera. Se comenzó el muestreo una hora luego de la caída del sol y durante 2 horas. Se registró el número de individuos adultos desplazándose por la superficie. Previo a los muestreos y al final de cada uno se registró la temperatura y la humedad. Los individuos fueron transportados al laboratorio y fijados en alcohol para el registro de medidas corporales. En cada muestreo se colocaron 10 trampas de caída o pitfall durante 48 horas, con propilenglicol y tapadas para evitar desbordes por lluvias. Las trampas se distribuyeron formando pentágonos con una separación de 1 m entre cada punto, en dos sitios distintos (Figura 2) para aumentar la probabilidad de captura de las muestras. Uno de los sitios elegidos fue un sector con predominancia de tierra sin vegetación (34°43'51,6''S 56°19'24,6''W; Figura 2, A), mientras que el otro sitio contenía cobertura vegetal (34°43'52,6''S 56°19'27,1''W; Figura 2, B).

Para los estudios de dimorfismo sexual se midieron el ancho del prosoma, el largo del segmento tibia-patela de patas I y II, y el largo del segmento basal del quelícero de 94 individuos (51 hembras y 43 machos) utilizando lupa estereoscópica Olympus SZ61 con

micrómetro ocular. Por localidad, 39 individuos corresponden al IIBCE (25 hembras y 14 machos) y 55 individuos a Melilla (26 hembras y 29 machos). El ancho del prosoma se considera una medida representativa del tamaño corporal en arañas (Eberhard et al., 1998; Moya-Laraño & Cabeza, 2003; Foellmer & Moya-Laraño, 2007). Tibia-patela se considera una medida representativa del largo de las patas en arañas (Foellmer & Fairbairn, 2005b). Las patas y los quelíceros son estructuras involucradas en comportamientos y cavado en otras Allocosinae (Aisenberg et al., 2010b; Aisenberg, 2014).



**Fig. 1.** *P. amica* en su ambiente natural. Foto: M. Casacuberta.



**Fig. 2.** Trampas de caída. A) Sector con predominancia de tierra; B) sector con cobertura vegetal.

### *Recolección y mantenimiento de individuos en el laboratorio*

Se recolectaron un total de 8 individuos en Melilla y 30 en el IIBCE, entre octubre de 2020 y febrero de 2021. Individuos subadultos y adultos (machos y hembras) de *P. amica* fueron acondicionados individualmente en placas de Petri de 9,5 cm de diámetro y 1,5 cm de alto, con sustrato y suministro de agua mediante un algodón humedecido. Las arañas se alimentaron dos veces por semana con una larva de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1759 (Coleoptera, Tenebrionidae) y/o moscas *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae). Los individuos se monitorearon dos veces por semana, registrándose las mudas para determinar la llegada a la adultez. Se depositaron especímenes referenciales en la Colección Aracnológica de Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

### *Observaciones comportamentales*

Se utilizaron individuos vírgenes, capturados en el campo como subadultos, que alcanzaron la madurez sexual en el laboratorio e individuos recolectados como adultos en el campo, todos pertenecientes al morfo 2 reportado en el Capítulo 1. Los individuos utilizados para las observaciones fueron asignados aleatoriamente. Se utilizaron adultos

de al menos 11 días de capturados en el campo o 12 días luego de mudar y alcanzar su estado adulto, siguiendo lo descrito para *A. marindia* y *A. senex* (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008). Para las observaciones se utilizaron placas de Petri de vidrio de 15 cm de diámetro y 2,5 cm de altura con tierra como sustrato, un tubo de vidrio de 1 cm de diámetro y 4 cm de largo como posible refugio y un algodón humedecido en agua (Figura 3, A). Las hembras fueron colocadas al menos 48 horas previo a las observaciones para que depositen seda en el sustrato. Cada prueba comenzó cuando el macho fue colocado en el terrario. Las observaciones duraron 15 minutos cuando no ocurrió ni cortejo ni cópula, 30 minutos cuando ocurrió sólo cortejo y si ocurrió cópula se esperó 15 minutos luego de finalizada la última monta para finalizar la observación. No se reutilizaron individuos copulados.

Las observaciones se realizaron entre el 5 de febrero de 2021 y el 5 de mayo de 2021 (Figura 3, B), en la tarde y en horario diurno. Datos de colección y recolecciones puntuales de ejemplares durante el día indican que la especie presenta también actividad diurna (Laborda com. pers.). También, en experiencias piloto realizadas durante la tarde se observó cortejo y cópula en esta especie (V. Gonnet obs. pers).

Todas las observaciones fueron registradas con una video-cámara Sony DCR-SR87. Se analizaron los videos cuadro a cuadro y se definieron y cuantificaron las unidades comportamentales de cortejo y cópula. La erección de las espinas de las patas traseras de los machos se utilizó como medida indirecta de la cantidad de eyaculaciones (Rovner, 1972; Costa, 1979). Los comportamientos que duraron menos de un segundo se consideraron como instantáneos y su duración no se cuantificó, pero sí se tomó en cuenta el número de apariciones (frecuencia de aparición) de dichos comportamientos. La duración total del cortejo se consideró desde que el macho inicia el cortejo con la unidad “sacudida de patas” hasta la monta; en las observaciones que ocurrieran más de una

monta, se consideró adicionalmente el cortejo entre montas. Por otra parte, para la duración del tiempo total de cópula se consideró la duración de cada monta por observación, desde que inicia la monta hasta que finaliza. Se registró la latencia de cortejo, que se calculó como el tiempo desde la colocación del macho hasta que éste inició el cortejo. En un caso no fue posible registrar los comportamientos de la hembra ni el comportamiento copulatorio, porque ocurrieron dentro del refugio que la hembra había construido.



**Fig. 3.** A) Terrario para experiencias de comportamiento sexual de *P. amica*. B) Dispositivo de registro de comportamiento sexual.

### *Análisis estadísticos*

Los análisis estadísticos se realizaron en PAST (Paleontological Statistics) versión 4.03 (Hammer et al., 2001) y RStudio (RStudio Team, 2020). Las frecuencias de aparición de los comportamientos se compararon mediante Fisher's Exact Test. Para estimar el dimorfismo sexual de tamaño, se realizaron las comparaciones de las variables entre los sexos mediante test de ANOVA. Previamente se evaluó gráficamente la función de distribución que mejor se ajustaba a los datos mediante el paquete "fitdistrplus"

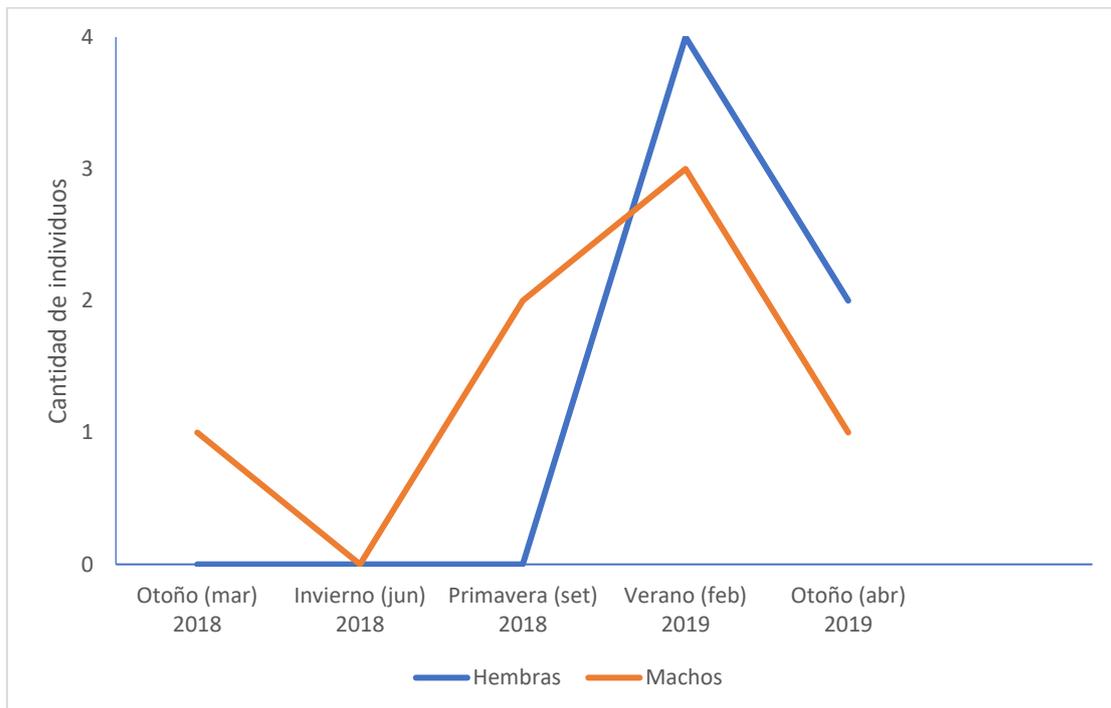
(Delignette-Muller & Dutang, 2015) y posteriormente se validó el modelo mediante un análisis visual de la homogeneidad de varianza y normalidad de los residuos. Se cuantificó la aparición y duración de las unidades comportamentales y se construyó un diagrama de flujo. Los comportamientos que aparecieron una sola vez y/o que su duración promedio fue menor a 10 segundos, no se consideraron en el diagrama de flujo. Se realizó el análisis de cadenas de Markov para evaluar cuáles transiciones de los comportamientos observados fueron estadísticamente significativas.

## RESULTADOS

### *Actividad de superficie y fenología*

Durante los muestreos de actividad de superficie de 3 noches consecutivas en el IIBCE en 2018 se encontraron 17 hembras y 9 machos, y en Melilla en 2020 se encontraron 18 hembras y 9 machos. No se realizaron cálculos estadísticos debido al número reducido de individuos encontrados.

En los muestreos estacionales para estudiar la fenología se encontraron en total 6 hembras y 7 machos caminando por la superficie (Figura 4). Se puede observar que los machos y las hembras presentaron un pico máximo en febrero, época estival (4 hembras y 3 machos; Figura 4). En las trampas de caída no se registró ningún individuo durante los muestreos.



**Fig. 4.** Fenología de adultos de *P. amica*

La temperatura y humedad registrada durante los muestreos en el IIBCE y Melilla se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Registros de temperatura y humedad previo y posterior a cada muestro en las localidades IIBCE y Melilla. Los valores están expresados como media con su correspondiente desvío estándar y rango.

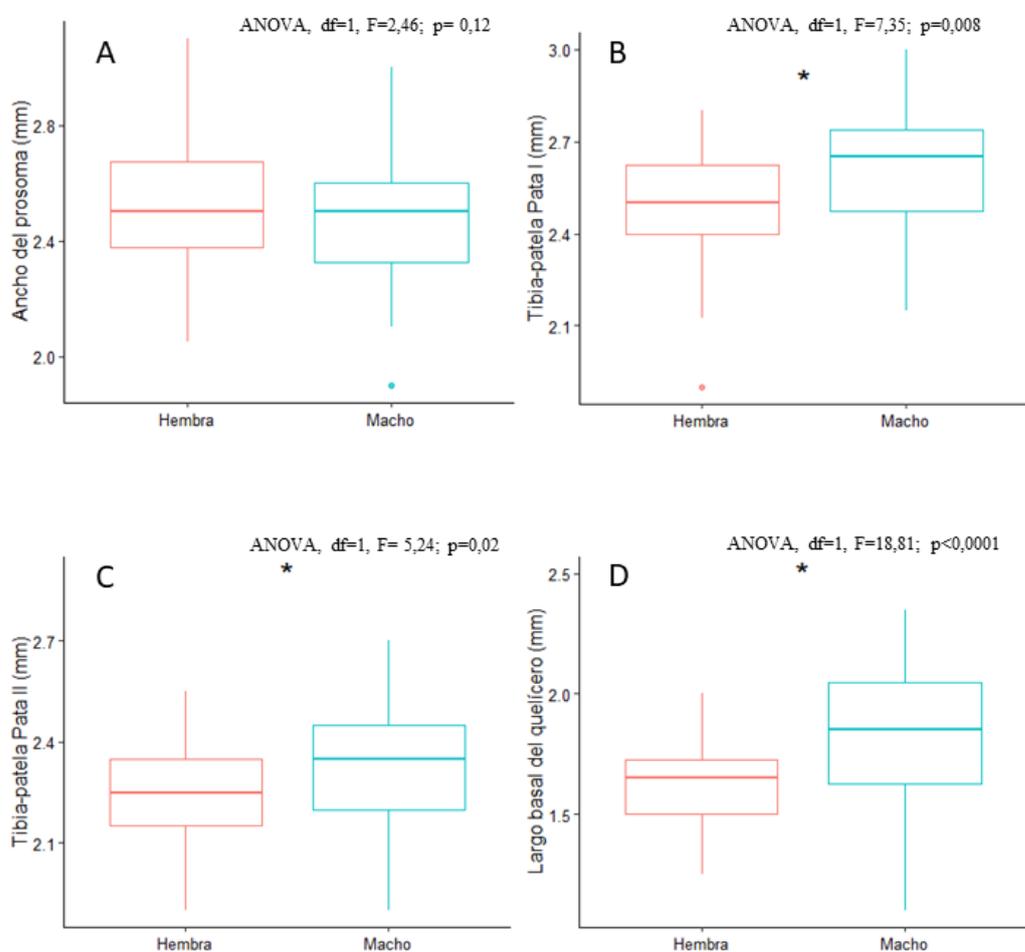
	<b>Previo al muestreo</b>	<b>Posterior al muestreo</b>
<b>Muestreo IIBCE tres noches</b>		
Temperatura	25,5 ± 0,46 °C rango, (25 – 25,9 °C)	24,7 ± 1,04 °C rango, (23,4 – 25,4 °C)
Humedad	52,00 ± 1,00 % rango (52 – 54 %)	62 ± 8,00 % rango (63 – 69 %)
<b>Muestreos Melilla tres noches</b>		
Temperatura	24,67 ± 2,53 °C rango (22,4 – 27,4 °C)	20,27 ± 1,36 °C rango, (19,1 – 21,8 °C)
Humedad	57,00 ± 2,64 % rango (56 – 60 %)	60,33 ± 10,01 % rango (50 – 70 %)
<b>Muestreos estacionales Melilla</b>		
Temperatura	20,86 ± 3,50 °C rango (15 – 24 °C)	17,08 ± 4,17 °C rango (9,7 – 19,8 °C)
Humedad	59,00 ± 7,10 % rango (49 – 66 %)	66,00 ± 7,58 % rango (57 – 66 %)

#### *Dimorfismo sexual de tamaño*

Se midió el ancho del prosoma, el largo del segmento tibia-patela de pata I y II y el largo del segmento basal del quelícero de 94 individuos (51 hembras y 43 machos). (Tabla 2). No se encontraron diferencias significativas en el tamaño corporal (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=2,46$ ,  $p=0,12$ ) entre hembras y machos. Se encontraron diferencias significativas en el largo del segmento tibia-patela de pata I (ANOVA,  $df= 1$ ,  $F=7,35$ ;  $p=0,008$ ), pata II (ANOVA,  $df=1$ ,  $F= 5,24$ ;  $p=0,02$ ) y en el largo basal del quelícero (ANOVA,  $df=1$ ,  $F=18,81$ ;  $p<0,0001$ ), presentando los machos mayores tamaños en estos rasgos (Figura 5). Al comparar entre localidades, no se encontraron diferencias significativas en el tamaño corporal de las hembras (ANOVA,  $df=1$ ,  $F= 3,831$ ,  $p=0,06$ ), ni en el de los machos (ANOVA,  $df=1$ ,  $F= 0,303$ ,  $p=0,585$ ).

**Tabla 2.** Medidas de ancho del prosoma, largo del segmento tibia-patela de pata I y II y el largo del segmento basal del quelícero para hembras y machos de *P. amica*. Los resultados se muestran como media con su correspondiente desvío estándar y rango. El “N”, corresponde al número de medidas en cada caso.

	Ancho prosoma (mm)	Tibia-patela pata I (mm)	Tibia- patela pata II (mm)	Quelícero (mm)
Hembras N=51	2,53 ± 0,21 (2,05 – 3,1)	2,49 ± 0,19 (1,9 – 2,8) N=49	2,24 ± 0,14 (1,9 – 2,55) N= 48	1,62 ± 0,15 (1,25 – 2)
Machos N=43	2,45 ± 0,22 (1,9 – 3)	2,60 ± 0,18 (2,15 – 3)	2,32 ± 0,17 (1,9 – 2,7)	1,84 ± 0,29 (1,1 – 2,35)



**Fig. 5.** Comparación entre machos y hembras de: A) ancho del prosoma; B) segmento tibia-patela de pata I; C) segmento tibia-patela de pata II; D) largo del segmento basal del quelícero. Los resultados están expresados en milímetros y se representan como media y su desvío estándar. Se indica el test de ANOVA y los valores estadísticamente significativos se resaltan con un asterisco.

### *Observaciones de cortejo y cópula*

Se observaron 17 encuentros sexuales entre el 5 de febrero de 2021 y el 5 de mayo de 2021. Se registraron 10 experiencias de cópulas exitosas, en dos casos no hubo cortejo ni cópula, en otros dos se registró sólo cortejo y tres experiencias fueron descartadas porque a pesar de la monta no se observó erección de las espinas en las patas traseras de los machos durante la inserción palpar.

Se identificaron y cuantificaron 22 unidades comportamentales, 11 de cortejo y 11 de cópula (Tabla 3). En las Tablas 4 y 5 se resumen los números de aparición y duraciones de cada comportamiento, respectivamente. Todos los resultados están expresados como media  $\pm$  SD y su rango. El promedio de latencia de cortejo masculina fue  $194,00 \pm 306,4409$  s (rango= 0 – 797). Por otra parte, la duración promedio del cortejo fue  $324,00 \pm 327,39$  s (rango= 15 – 1049), mientras que la duración de cópula promedio fue  $386,40 \pm 801,32$  s (rango= 4 – 2098). La temperatura y la humedad durante el período de cría fue  $22,94 \pm 1,20$  °C rango, (20,25 – 26),  $82,20 \pm 3,74$  % (70 – 90 %), respectivamente. La temperatura durante los experimentos fue  $23,88 \pm 1,74$  °C rango (21,7- 28,5 °C) y humedad  $60,90 \pm 4,48$  % rango (45 – 65 %).

En todas las experiencias los machos iniciaron el cortejo y se acercaron a las hembras. El cortejo usualmente comenzó cuando el macho realizó “sacudida de patas”. Luego, el macho usualmente contactó a la hembra y ésta se orientó hacia él, y luego ambos realizaron “toque de patas”. La unidad “toque de patas”, fue alternada por el macho con “salto” y “toque de patas”, previo al apareamiento.

La monta ocurrió tras el descenso del abdomen de la hembra y con el macho posicionándose sobre su dorso, quedando en sentidos opuestos (Rovner, 1972, Costa, 1979). El macho luego insertó uno de sus palpos, homolateralmente, realizando una

inserción por monta y totalizando por cópula  $5,44 \pm 6,15$  (2 – 21) inserciones y  $20,9 \pm 34,04$  (1 – 101) eyaculaciones promedio. Durante las inserciones palpare el macho realizó “movimientos abdominales”. Generalmente las montas fueron breves  $386,40 \pm 801,32$  (4 – 2098) s y el número de montas varió  $4,10 \pm 2,51$  (2 – 9). La cópula finalizó tras un movimiento de la hembra de levantar su abdomen seguido por desmonte masculino (Figura 6).

**Tabla 3.** Unidades comportamentales y su descripción correspondiente. Se especifican para hembras, machos y unidades en común entre los sexos, para cortejo y cópula,

### HEMBRA

UNIDAD	Descripción
<b>CORTEJO</b>	
<b>LLAMADO</b>	La hembra golpea las patas 1 y 2 alternadas contra el sustrato
<b>CÓPULA</b>	
<b>DESCENSO ABDOMEN</b>	La hembra apoya el abdomen sobre el sustrato
<b>LORDOSIS</b>	La hembra curva su abdomen durante la monta
<b>QUIESCENCIA</b>	Luego de la monta la hembra queda sin actividad motora

### MACHO

UNIDAD	Descripción
<b>CORTEJO</b>	
<b>ASEO DE PALPOS</b>	El macho lleva sus palpos hacia su boca consecutivamente luego de la inserción
<b>SACUDIDA DE PATAS</b>	El macho sacude sus patas 1 y 2 extendidas sobre el sustrato asincrónicamente, a la vez que realiza tamborileo palpar sobre el sustrato
<b>SALTO</b>	El macho se eleva unos milímetros desde el sustrato, con sus 4 pares de patas levantadas

<b>CÓPULA</b>	
<b>ERECCIÓN DE ESPINAS</b>	Las espinas de las patas traseras del macho se elevan y bajan mientras inserta su palpo
<b>INSERCIÓN DE PALPO DERECHO</b>	El macho inserta su palpo derecho en el orificio copulatorio derecho de la hembra
<b>INSERCIÓN DE PALPO IZQUIERDO</b>	El macho inserta su palpo izquierdo en el orificio copulatorio izquierdo de la hembra
<b>MOVIMIENTOS ABDOMINALES</b>	El macho vibra verticalmente su abdomen durante la monta (Costa, 1979)
<b>MOVIMIENTO PSEUDOLOCOMOTORES</b>	El macho mueve sus patas coordinadamente sobre el dorso de la hembra, sin realizar desplazamiento (Costa, 1979)

## UNIDADES EN COMÚN

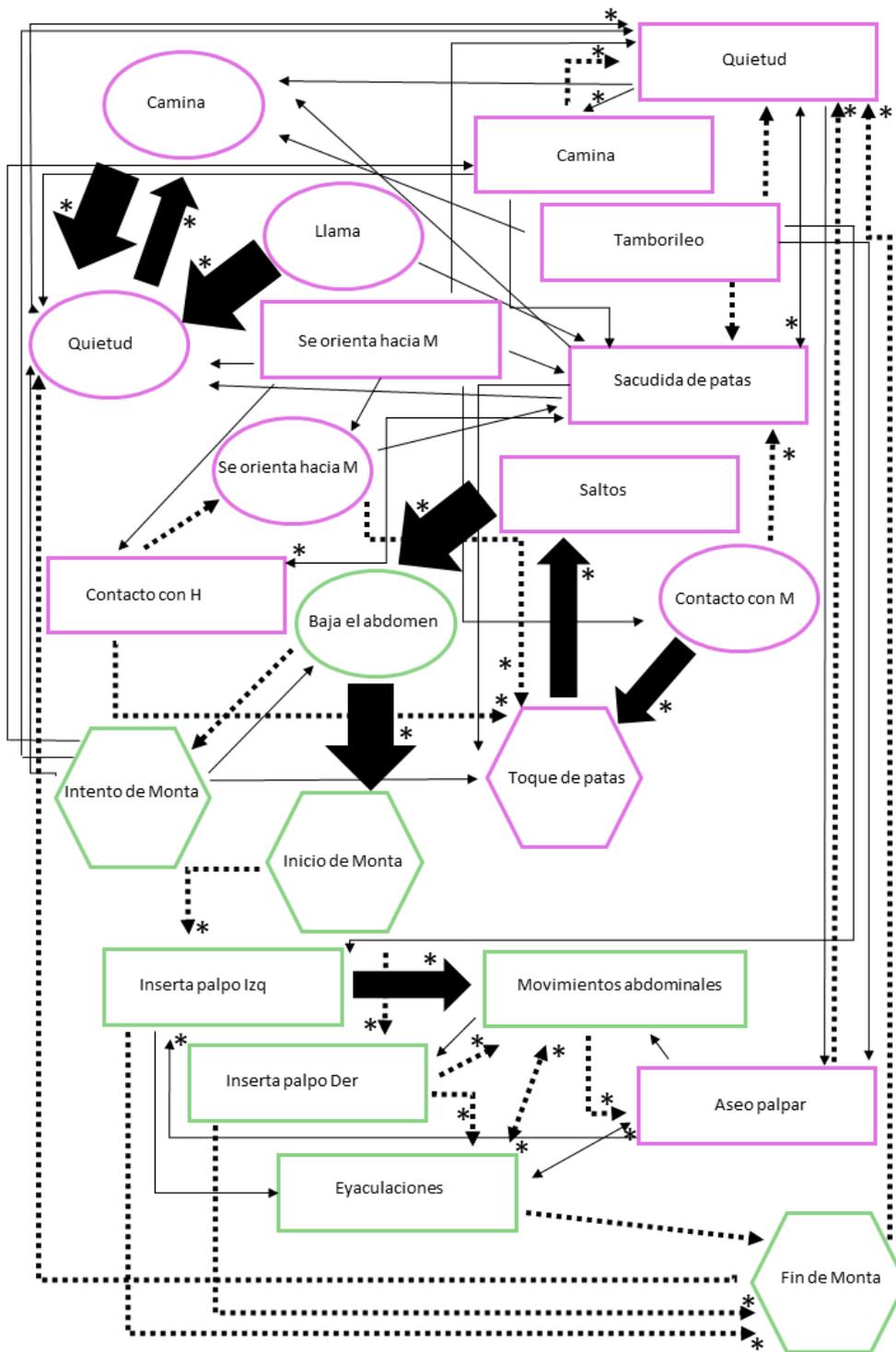
<b>UNIDAD</b>	<b>Descripción</b>
<b>CORTEJO</b>	
<b>CONTACTO</b>	La hembra o el macho tocan al sexo opuesto
<b>GIRO</b>	El macho o la hembra rotan en el lugar
<b>LOCOMOCIÓN</b>	La hembra o el macho caminan
<b>ORIENTACIÓN</b>	La hembra o el macho giran posicionándose frente al sexo opuesto
<b>QUIETUD</b>	La hembra o el macho permanecen inmóviles
<b>TAMBORILEO</b>	La hembra o el macho golpean sus palpos sobre el sustrato, asincrónicamente (Costa, 1975)
<b>TOQUE DE PATAS</b>	La hembra o el macho enfrentados contactan patas 1 y 2
<b>CÓPULA</b>	
<b>INICIO DE MONTA</b>	El macho se posiciona sobre la hembra, en la posición típica de arañas lobo (Rovner, 1971; Costa, 1979)
<b>INTENTO DE MONTA</b>	El macho busca posicionarse sobre la hembra, en la posición típica de arañas lobo (Rovner, 1971; Costa, 1979), sin éxito
<b>FIN DE LA MONTA</b>	La hembra mueve su abdomen levantándolo y el macho desmonta

**Tabla 4.** Frecuencia de aparición de los comportamientos de cortejo (lavanda) y cópula (verde) de machos y hembras, y unidades simultáneas en machos y hembras. Los valores se expresan como media  $\pm$  desvío standard y su rango correspondiente. El “n” corresponde al número de individuos que mostraron cada comportamiento.

Unidad comportamental	Machos	Hembras
<b>CORTEJO</b>		
Aseo palpar	12,00 $\pm$ 12,30 (1 - 25) n=4	-
Contacto	2,43 $\pm$ 2,15 (1 - 6) n=7	3,0 $\pm$ 2,20 (1 - 8) n=8
Giro	2,00 n=1	1,33 $\pm$ 0,57 (1 - 2) n=3
Locomoción	4,55 $\pm$ 2,83 (1 - 11) n=9	24,14 $\pm$ 24,68 (4 - 77) n=7
Llamado	-	4,0 $\pm$ 3,56 (1 - 9) n=4
Movimientos pseudolocomotores	8,00 n=1	-
Orientación	1,28 $\pm$ 0,48 (1 - 2) n=7	3,5 $\pm$ 1,64 (2 - 6) n=6
Sacudida de patas	8,50 $\pm$ 7,12 (3 - 23) n=10	-
Salto	13,78 $\pm$ 4,71 (5 - 20) n=9	-
Tamborileo	4,00 $\pm$ 2,55 (1 - 7) n=5	6,00 n=1
Quietud	11,10 $\pm$ 7,72 (1 - 21) n=10	25,55 $\pm$ 24,25 (2 - 85) n=9
<b>CÓPULA</b>		
Descenso abdomen	-	4,00 $\pm$ 2,29 (2-9) n=9
Erección de espinas	20,9 $\pm$ 34,04 (1 - 101) n=10	-
Lordosis	-	1,00 n=1
Movimientos abdominales	7,78 $\pm$ 12,45 (1 - 33) n=9	-
Nro Inserciones palpo derecho	2,78 $\pm$ 2,33 (1 - 7) n=9	-
Nro Inserciones palpo izquierdo	2,67 $\pm$ 4,27 (1 - 14) n=9	-
Quiescencia	-	1,00 n=1
<b>Unidades simultáneas machos y hembras</b>		
<b>CORTEJO</b>		
Toque de patas	4,5 $\pm$ 2,67 (2 - 9) n=10	
<b>CÓPULA</b>		
Intentos de monta	4,0 $\pm$ 3,0 (1 - 7) n=3	
Montas	4,1 $\pm$ 2,51 (2 - 9) n=10	

**Tabla 5.** Duración de los comportamientos de cortejo (lavanda) y cópula (verde) de machos y hembras, y unidades simultáneas de machos y hembras, en segundos. Los valores se expresan como media  $\pm$  desvío standard y su rango correspondiente. El “n” corresponde al número de individuos que mostraron cada comportamiento.

Unidad comportamental	Macho (segundos)	Hembra (segundos)
<b>CORTEJO</b>		
Aseo de palpos	168,25 $\pm$ 167,48(7-333) n=4	-
Contacto	6,00 $\pm$ 4,24 (3-9) n=2	3,0
Descenso abdomen	-	241,11 $\pm$ 696,35 (4-2098) n=9
Giro	14,00 n=1	1,00 $\pm$ 0,00 n=2
Locomoción	13,37 $\pm$ 18,39 (1-45) n=8	110,50 $\pm$ 212,78 (1-544) n=6
Llamado	-	1,33 $\pm$ 0,57 (1-2) n=2
Quiescencia	-	13,00 n=1
Movimientos pseudolocomotores	32,00 n=1	-
Movimientos abdominales	193,22 $\pm$ 378,88(1-864) n=9	-
Orientación	1,67 $\pm$ 1,15 (1-3) n=3	3,00 $\pm$ 2,75 (1-8) n=6
Sacudida de patas	76,10 $\pm$ 61,52 (5-195) n=10	-
Tamborileo	13,00 $\pm$ 10,46 (2-25) n=5	28,00 n=1
Quietud	468,80 $\pm$ 499,39 (48-1688) n=10	499,67 $\pm$ 414,92 (55-1264) n=9
<b>CÓPULA</b>		
Inserciones palpo derecho	34,33 $\pm$ 94,41 (1-286) n=9	-
Inserciones palpo izquierdo	38,89 $\pm$ 111,79 (1-337) n=9	-
Lordosis	-	2,00 n=1
Orientación	1,67 $\pm$ 1,15 (1-3) n=3	3,00 $\pm$ 2,75 (1-8) n=6
<b>Unidades simultáneas machos y hembras</b>		
<b>CORTEJO</b>		
Toque de patas	21,2 $\pm$ 15,84 (8-49) n=10	
<b>CÓPULA</b>		
Intento de monta	6,33 $\pm$ 4,93 (3-12) n=3	
Montas	386,40 $\pm$ 801,32 (4-2098) n=10	



0,10 – 0,24 → 0,25 – 0,49 ..... 0,50 – 0,74 → 0,75 - 1 →

**Fig. 6.** Diagrama de flujo del comportamiento sexual de *P. amica*. El grosor de las flechas indica la probabilidad de transición de una unidad comportamental a la siguiente. Los asteriscos indican transiciones significativas. Los rectángulos corresponden a los comportamientos del macho, los círculos a los de la hembra y los hexágonos a las unidades comportamentales en común. El color lavanda indica los comportamientos contemplados en el cortejo y el verde los comportamientos durante la cópula.

## DISCUSIÓN

En este capítulo se describe por primera vez la actividad de superficie nocturna, el dimorfismo sexual de tamaño y el comportamiento sexual de *P. amica*. Nuestros resultados muestran una tendencia a una mayor actividad nocturna de superficie en hembras. No encontramos diferencias en tamaño corporal entre machos y hembras. Los machos en todos los casos fueron quienes se acercaron a las hembras e iniciaron el cortejo. Los patrones típicos de cortejo y dimorfismo sexual de tamaño esperados en arañas lobo (Logunov, 2011; Bollatti et al., en prensa) encontrados en *P. amica* no concordarían con un escenario de inversión de roles sexuales en esta especie de Allocosinae de pastizal.

En lo que respecta a la actividad nocturna en superficie los resultados obtenidos no nos permiten concluir si existen o no diferencias en los patrones de movilidad entre los sexos. Los datos arrojados por los muestreos de tres días consecutivos en el período estival y los datos del muestreo anual de fenología realizados estacionalmente fueron diferentes. En los muestreos de tres noches en IIBCE y Melilla, encontramos mayor cantidad de hembras y en los muestreos estacionales encontramos similar cantidad de hembras y machos. A su vez, los muestreos indicaron que *P. amica* presentaría una baja densidad en dichas localidades y que por tanto se requiere más esfuerzo de muestreo incluyendo nuevas localidades para determinar si la movilidad presenta sesgos en esta especie. Futuros estudios podrían emplear métodos alternativos como el marcado – recaptura de hembras y machos, técnica que se ha utilizado eficientemente en arañas lobo (Kiss & Samu, 2000; Jorge et al., 2015; Albín et al., 2017), durante el período reproductivo de la especie. Para emplear este método, es preciso tener en cuenta que hay estudios que reportan una mayor recaptura de arañas lobo en períodos cortos de tiempo

luego de la primera captura (Kiss & Samu, 2000); por lo tanto, el estudio debería realizarse en noches consecutivas.

Asimismo, en las trampas de caída no se capturaron individuos. Estos datos también sugieren una baja densidad o baja movilidad de la especie, contrario a lo que se ha reportado en otros estudios en arañas (Simó et al., 2015; Laborda et al., 2018) y particularmente en arañas lobo (Costa et al., 2006; Costa & Simó, 2014), utilizando trampas de caída. Datos de colección coinciden con los resultados de este trabajo, donde se han encontrado individuos en muy bajas cantidades en diferentes momentos del año y localidades (Gonnet et al., 2021). La máxima cantidad de individuos de *P. amica* encontrados para Uruguay coincide con el comienzo de la temporada estival, con un registro de 3 machos y 5 hembras en la localidad de Cabo Polonio [34°24'00.0"S 53°46'59.9"W], Rocha, entre el 21 y 31 de diciembre de 2004 (Gonnet et al., 2021). A lo largo de los muestreos estacionales también se observó que *P. amica* presentaría su pico máximo en febrero, con lo cual se trataría de una especie estival, de acuerdo con lo reportado para las otras especies de Allocosinae costeras (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008; Guerra et al., 2022), y en general para la mayoría de los licósidos (Costa et al., 2006).

Se encontró que *P. amica* no presenta diferencias en el tamaño corporal entre los sexos. Se encontraron diferencias significativas en el tamaño de los segmentos tibia-patela de pata I y II y en los quelíceros (mayores en los machos). En lo que respecta al tamaño corporal, los resultados están de acuerdo con los patrones esperados de dimorfismo sexual de tamaño moderado o ausente en licósidos (Foellmer & Fairbairn, 2005a; Logunov, 2011). El mayor tamaño encontrado en el largo de las patas y quelíceros de los machos coincide con los reportado para las especies de la costa *A. marindia* y *A. senex*, aunque en estas especies se vinculan estas estructuras con el cavado de cuevas

(Aisenberg et al., 2010b; Aisenberg & Peretti, 2011a). Patas y quelíceros más largos en los machos de *P. amica* les podrían conferir ventajas en la búsqueda de pareja, estimulación sexual y/o durante interacciones antagónicas, similarmente a lo reportado en otras especies de arañas (Foellmer & Fairbairn, 2005a). Los machos en todos los casos se acercaron a las hembras e iniciaron el cortejo, en respuesta al contacto con la seda depositada por las hembras, lo que coincide con lo reportado en numerosas especies de arañas (Suter & Renkes, 1982; Gaskett, 2007; Vaccaro et al., 2010; Foelix, 2011; Scott et al., 2018). El cortejo en *P. amica*, como en otras especies de arañas sería multimodal incluyendo señales visuales, táctiles, y posiblemente químicas y vibratorias (Uetz & Roberts, 2002; Foelix, 2011), que combinadas resultan en un cortejo estereotipado. La duración del cortejo en *P. amica* es muy breve y considerablemente menor a lo reportado en las especies costeras *A. senex* y *A. marindia* (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008). En comparación con otras arañas lobo, la duración del cortejo también es menor al de otras especies como *Schizocosa malitiosa* (Tullgren, 1905) (Costa 1975; Estramil & Costa, 2006) o *Lycosa inornata* Blackwall, 1862 (Toscano-Gadea & González, 2019), pero es mayor al de *Pavocosa gallopavo* (Mello-Leitão, 1941) (Toscano-Gadea & Costa, 2016) y *Aglaoctenus lagotis* (Holmberg, 1876) forma sur de Uruguay (González et al., 2013). Durante el cortejo, se registró un comportamiento masculino que se denominó “salto”, sin registro previo en otras especies de arañas lobo sudamericanas estudiadas hasta el momento (ver revisión de Bollatti et al., en prensa).

En *P. amica*, la cópula consta de varias montas y desmontas y en general dura unos pocos segundos, aunque encontramos variación en este aspecto con dos cópulas de varios minutos. La duración de cópula en esta especie podría estar vinculado con el lugar donde ocurre el apareamiento. En *A. marindia* y *A. senex* el apareamiento ocurre en cuevas en la arena (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa, 2008, Aisenberg, 2014),

a diferencia de *P. amica* que ocurre probablemente en lugares abiertos donde el riesgo a ser predado es mayor. El patrón copulatorio en *P. amica* consistió en una única inserción palpar por monta totalizando un promedio de 5,44 inserciones por cópula, con pocas erecciones de espinas, pero con varias montas y desmontas, lo que se consideraría como patrón copulatorio primitivo en arañas lobo (Costa & Sotelo, 1994; Stratton et al., 1996). El patrón copulatorio y la presencia de varias montas y desmontas en cada cópula de *P. amica* coincide con lo descrito en *A. senex* y *A. marindia* (Aisenberg et al., 2007 & Aisenberg & Costa, 2008). En comparación con lo reportado para otras arañas lobo, el patrón copulatorio coincide con el de especies de la subfamilia Sosippinae, pero no con el reportado para algunas especies de la subfamilia Lycosinae (Costa & Sotelo, 1994; Stratton et al., 1996; Bolatti et al., en prensa).

Las breves duraciones de cortejo y cópula en esta especie y la ausencia de evidencia de inversión en el dimorfismo sexual de tamaño podrían vincularse con características del ambiente donde se encuentra esta especie. Los pastizales ofrecen disponibilidad de recursos y refugios (White et al., 2000), características que podrían estar moldeando los rasgos encontrados en esta especie.

## CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

En esta tesis se integraron datos morfológicos, moleculares y comportamentales para responder a preguntas taxonómicas sobre la identidad, la sistemática y comportamiento de la especie. Este es el primer trabajo sobre aspectos de la biología de *P. amica*, una especie de Allocosinae, Lycosidae de los pastizales de Uruguay. Se confirmó que los tres morfotipos encontrados corresponden a una única especie llamada *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941), ubicada dentro de la subfamilia Allocosinae. En esta especie no se encontró dimorfismo sexual de tamaño y tampoco inversión en sus roles sexuales. Se compararon los resultados con los obtenidos de dos especies de Allocosinae, con inversión de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño, aportando a entender el origen de estos comportamientos atípicos en estas especies.

En el capítulo 1 de este trabajo, mediante la integración de datos morfológicos y moleculares, se confirmó que los tres morfotipos de la Allocosinae pertenecen a la misma especie, identificada como *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941). Se realizó la redescipción del macho y la descripción de la hembra de esta especie y mediante un análisis filogenético se confirmó que la especie se ubica dentro de la subfamilia Allocosinae.

A nivel morfológico, sería deseable aumentar el número de individuos analizados, incluyendo más localidades que abarquen su distribución y poder comparar si en otros sitios también se identifican más de un morfotipo y si a nivel molecular y taxonómico se trata de la misma especie. En los estudios moleculares, sería interesante incluir otros marcadores como los SNPs (*Single Nucleotid Polymorphism*), para obtener un número mayor de sitios variables a nivel de todo el genoma, y obtener más información que permita corroborar si continúa tratándose de una misma especie y realizar comparaciones filogenéticas con otras especies de Allocosinae.

Evaluar la estructuración genética de *P. amica* en el territorio permitiría conocer la influencia del ambiente en la conectividad de la especie a través del flujo génico, y también por ejemplo la capacidad de dispersión de la especie, información necesaria para generar recomendaciones de conservación. Sería interesante realizar un abordaje multidisciplinario, en este sentido integrando datos comportamentales y genéticos para aportar a la temática. Otro aspecto importante también sería estudiar la dispersión a través de la realización de experimentos de “ballooning” a campo siguiendo a Postiglioni et al. (2017) y en el laboratorio siguiendo a Carozzi et al. (2018), contribuyendo a comprender las posibilidades de dispersión de la especie y su relación con la estructura genética de las poblaciones.

La coloración que presenta *P. amica*, castaña con bandas oscuras en las patas (Gonnet et al., 2021), se asemeja al ambiente de pastizales donde se la puede encontrar. Esta especie presenta cymbium menos elongado y con macrosetas apicales más pequeñas que las de *A. senex* y *A. marindia* (Gonnet et al., 2021). En las especies costeras se encontró que este rasgo está vinculado al cavado de las cuevas (Aisenberg et al., 2010b). Sería interesante investigar la función de las macrosetas en esta especie de pastizal y evaluar las potenciales adaptaciones al entorno que presenta.

En el capítulo 2 se abordaron tópicos de movilidad, dimorfismo sexual y comportamiento de cortejo y cópula de la especie. La densidad de individuos sería baja y la movilidad nocturna de superficie sería similar en machos y hembras. Los muestreos en diferentes estaciones indicaron el pico máximo de abundancia de la especie en el período estival (febrero), pero se necesita realizar muestreos más exhaustivos que confirmen dichos patrones.

Machos y hembras presentaron tamaños corporales similares, coincidiendo con los patrones esperados en arañas lobo de dimorfismo sexual de tamaño moderado y

sesgado hacia las hembras o ausente (Walker & Rypstra, 2002; Framenau, 2005; Logunov, 2011). Los ambientes donde se encuentra esta especie disponen de recursos y ofrecen refugio de los depredadores. Esto podría vincularse con los tamaños corporales similares encontrados para esta especie. Para poner a prueba dicha hipótesis sería interesante estudiar el dimorfismo sexual de tamaño en otras especies de Allocosinae y de arañas lobo de otras subfamilias que habiten ambientes similares a los de esta especie.

Se encontró que los machos de *P. amica* son los que se acercan a las hembras e inician el cortejo y tanto el cortejo como la cópula tienen duraciones muy cortas. Las hembras por su parte, además de realizar comportamientos de cortejo llamando al macho, son quienes inician y terminan la cópula. Esto podría tener implicancias en la cantidad de esperma que el macho transfiere, determinado por el tiempo de la monta, y la selección que hacen las hembras con respecto a los machos. Estudios a futuro sería interesante que investiguen la relación entre la cantidad de esperma que transfiere el macho y el tiempo de la monta. Por otra parte, en este trabajo no se tomó en cuenta el estado reproductivo de hembras y machos en las experiencias de comportamiento sexual. Sería interesante a futuro investigar y comparar si existen diferencias en frecuencia, duraciones de cortejo y cópula, y unidades comportamentales vinculado al estado reproductivo de los individuos. Para esto se podrían realizar experimentos con parejas de individuos donde ambos sexos posean pasado reproductivo desconocido.

El cortejo es multimodal e incluye el intercambio de señales visuales, táctiles, y posiblemente químicas y vibratorias entre macho y hembra. La cópula incluye un promedio de 4 montas que ocurren a campo abierto y los patrones de inserción corresponden con los considerados primitivos en este grupo y por otra parte coinciden con los reportados en Allocosinae (Costa & Sotelo, 1994; Stratton et al., 1996). Se reportó por primera vez para arañas lobo, una unidad de comportamiento denominada “salto” en

el cortejo del macho. Dado que los machos presentaron diversos comportamientos de cortejo copulatorio y las hembras mostraron comportamientos copulatorios que reflejan una gran actividad, resulta interesante estudiar la posibilidad de existencia de diálogo copulatorio entre machos y hembras de esta especie.

La araña *P. amica* se encuentra en pastizales, pero también en sustratos semi-arenosos y en jardines en zonas urbanas. Por lo tanto, sería interesante comparar rasgos morfológicos y comportamentales entre individuos de diferentes localidades y en diferentes sustratos, para explorar la plasticidad de la especie y conocer si presentan adaptaciones comportamentales relacionadas con los ambientes.

Teniendo en cuenta la reducción y modificación que presentan los pastizales en el Uruguay (Brazeiro et al., 2020; Pompozzi et al., 2022), resulta interesante ver si esta especie presenta diferencia en su comportamiento sexual de acuerdo al grado de intervención de su hábitat. En este sentido se podría estudiar el comportamiento comparando individuos de campos naturales versus campos con inoculación de agroquímicos. También se podría comparar otros rasgos como por ejemplo rasgos morfológicos de patrones de coloración entre hábitats, como parte de las adaptaciones ecológicas de la especie.

El abordaje multidisciplinario realizado en esta tesis aportó a conocer aspectos de la biología de la especie *P. amica*. La importancia de la integración de datos que se realizó implica la posibilidad de la generación e integración de información provenientes desde diversas disciplinas para generar conocimiento más amplio, que contribuya a comprender aspectos relevantes de la especie y de la subfamilia Allocosinae. Por tratarse de una especie vinculada a los pastizales, que presentan reducción, modificación y fragmentación, es importante generar conocimiento sobre la biodiversidad en estos

ambientes, para mitigar los efectos negativos de la antropización, y contribuir en la elaboración de sus planes de manejo y conservación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aisenberg, A., 2014. Adventurous Females and Demanding Males: Sex Role Reversal in a Neotropical spider, in: Macedo, R.H., Machado, G. (Eds.), *Sexual Selection: Perspectives and Models from the Neotropics*. Elsevier, USA, pp. 163–182.
- 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., González, M., 2011. Male mate choice in *Allocosa alticeps* (Araneae, Lycosidae): a sand-dwelling spider with sex role reversal. *Journal of Arachnology*, 39, 444–448.
- Aisenberg, A., Peretti, A.V., 2011a. Male burrow digging in a sex-role reversed spider inhabiting water-margin environments. *Bulletin of the British Arachnological Society*, 15, 201–204.
- Aisenberg, A., Peretti, A.V., 2011b. Sexual dimorphism in immune response, fat reserves and muscle mass in a sex role reversed spider. *Zoology*, 114, 272–275.
- 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 and Sociobiology*, 62, 29–35.
- Aisenberg, A., González, M., Laborda, Á., Postiglioni, R., Simó, M., 2009. Reversed Cannibalism, Foraging, and Surface Activities of *Allocosa alticeps* and *Allocosa brasiliensis*: Two Wolf Spiders from Coastal Sand Dunes. *Journal of Arachnology*, 37, 135–138.
- Aisenberg, A., Baruffaldi, L., González, M., 2010a. Behavioural evidence of male volatile pheromones in the sex role reversed wolf spiders *Allocosa brasiliensis* and *Allocosa alticeps*. *Naturwissenschaften*, 97, 63–70.

- Aisenberg, A., Costa, F.G., González, M., Postiglioni, R., Pérez-Miles, F., 2010b. Sexual dimorphism in chelicerae, forelegs and palpal traits in two burrowing wolf spider (Araneae: Lycosidae) with sex-role reversal. *Journal of Natural History*, 44, 1189–1202.
- Aisenberg, A., Costa, F.G., González, M., 2011a. Male sexual cannibalism in a sand-dwelling wolf spider with sex role reversal. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103, 68–75.
- Aisenberg, A., González, M., Laborda, A., Postiglioni, R., Simó, M., 2011b. Spatial distribution, burrow depth and temperature: implications for the sexual strategies in two *Allocosa* wolf spiders. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 46, 147–152.
- Aisenberg, A., Simó, M., Jorge, C., 2011c. Spider as a model towards the conservation of coastal sand dunes in Uruguay, in: Murphy, J.A. (Eds.), *Sand dunes: Conservation, Shapes/Types and Desertification*. Nova Science Publishers, New York, pp. 75–93.
- Albín, A., Carballo, M., Stanley, E., Aisenberg, A., Simó, M., 2017. Nocturnal surface activity and behavioural responses to floods in *Allocosa senex* (Araneae: Lycosidae). *Arachnology*, 17 (5), 238–244.
- Álvarez-Padilla, F., Galán-Sánchez, M.A., Salgueiro-Sepúlveda, F.J., 2020. A protocol for documenting spider biodiversity inventories with websites applied to a Mexican Tropical Wet Forest (Araneae: Araneomorphae). *Zootaxa*, 4722 (3), 241–269.
- Andersson, M., 1994. *Sexual Selection*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey. 601 pp.
- Barth, F.G., 2002. *A spider's world. Senses and behavior*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 394 pp.
- Berglund, A., Widemo, M.S., Rosenqvist, G., 2005. Sex-role reversal revisited: choosy females and ornamented, competitive males in a pipefish. *Behavioral Ecology*, 16 (3), 649–655.

- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I., 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22 (3), 148–155.
- Bidegaray-Batista, L., Arnedo, M.A., 2011. Gone with the plate: the opening of the Western Mediterranean basin drove the diversification of ground-dweller spiders. *BMC Evolutionary Biology*, 11, 317.
- Bidegaray-Batista L., Ferrández, M.Á, Arnedo, M.A., 2014. Winter is coming: Miocene and Quaternary climatic shifts shaped the diversification of Western-Mediterranean *Harpactocrates* (Araneae, Dysderidae) spiders. *Cladistics*, 30, 428–446.
- 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 Bio-Indicators of Ecosystem Health of Coastal Dune Habitats of South America, in: Viera, C., Gonzaga, M. (Eds.), *Behaviour and Ecology of Spiders*. Springer, Cham, pp. 109–135.
- Blanckenhorn, W.U., 2005. Behavioral causes and consequences of sexual size dimorphism. *Ethology*, 111, 977–1016.
- Bollatti, F., Aisenberg, A., Toscano-Gadea, C.A., Peretti, A.V., González, M., en prensa. Updates and perspectives on reproductive behavior of South American wolf spiders. *Journal of Arachnology*.
- Bonduriansky, R., 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*, 76 (3), 305–339.
- Bonduriansky, R., Rowe, L., 2005. Sexual selection, genetic architecture, and the condition dependence of body shape in the sexually dimorphic fly *Prochyliza xanthostoma* (Piophilidae). *Evolution*, 59 (1), 138–151.

- Bowden, J.J., Høyve, T.T., Buddle, C.M., 2013. Fecundity and sexual size dimorphism of wolf spiders (Araneae: Lycosidae) along an elevational gradient in the Arctic. *Polar Biology*, 36 (6), 831–836.
- Brazeiro, A., Achkar, M., Toranza, C., Bartesaghi, L., 2020. Agricultural expansion in Uruguayan grasslands and priority areas for vertebrate and woody plant conservation. *Ecology and Society*, 25 (1), 15.
- Brescovit, A., Tacuare-Ríos, A., 2013. Description of the female of *Allocosa yurae* (Strand, 1908) (Araneae: Lycosidae, Allocosinae). *Zootaxa*, 3647 (3), 495–498.
- Capocasale, R.M., 1990. Las especies de la subfamilia Hippasinae de America del Sur (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 131–141.
- 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.
- Cavassa, D., Gonnet, V., Kacevas, N., 2019. Entre la tierra y el pasto: preferencia de micro-hábitat en *Allocosa* sp. (Lycosidae), una araña lobo de los pastizales uruguayos. *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay (2ª época)*, 28 (2), 95–99.
- Cavassa, D., Postiglioni, R., Aisenberg, A., Defeo, O., 2022. Relationship between beach morphodynamics and body traits in a sand-dwelling wolf spider. *Acta Oecologica*, 114, 103808.
- Chapman, 2006. Evolutionary conflicts of interest between males and females. *Current Biology*, 16 (17), R744–R754.
- Chroni, A., Djan, M., Vidaković, D. O., Petanidou, T., Vujić, A., 2017. Molecular species delimitation in the genus *Eumerus* (Diptera: Syrphidae). *Bulletin of Entomological Research*, 107 (1), 126–138.

- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D. and Crandall, K., 2002. TCS: Estimating gene genealogies. Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings, 2, 184.
- Costa, F.G., 1975. El comportamiento precopulatorio de *Lycosa malitiosa* Tullgren (Araneae, Lycosidae). Revista Brasileira de Biología, 35, 359–368.
- Costa, F.G., 1979. Análisis de la cópula y de la actividad postcopulatoria de *Lycosa malitiosa* Tullgren (Araneae, Lycosidae). Revista Brasileira de Biología, 39, 361–376.
- Costa, F.G., 1995. Ecología y actividad diaria de las arañas de la arena *Allocosa* spp. (Araneae, Lycosidae) en Marindia, localidad costera del sur de Uruguay. Revista Brasileira de Biología, 55, 457–466.
- Costa, F.G., 1998. Copulatory pattern and fertilization success in male wolf spiders without pre-or post-copulatory sperm induction. Journal of Arachnology, 106–112.
- Costa, F.G., Capocasale, R. M., 1984. *Lycosa carbonelli*, sp. nov.; una etoespecie simpátrida, sibilina de *Lycosa thorelli* (Keyserling) (Araneae, Lycosidae). Journal of Arachnology, 11, 423–431.
- Costa, F.G., Simó, M., 2014. Fenología de las arañas epigeas de una zona costera del sur de Uruguay: un estudio bianual con trampas de caída. Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay, 23 (1), 1–15.
- Costa, F.G., Simó, M., Aisenberg, A., 2006. Composición y ecología de la fauna epigea de Marindia (Canelones, Uruguay) con especial énfasis en las arañas: un estudio de dos años con trampas de intercepción, in: Menafra, R., Rodríguez- Gallego, L., Scarabino, F., Conde, D. (Eds.), Bases para la conservación y manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre, Montevideo, pp. 427–436.

- Costa, F.G., Sotelo, J.R., 1994. Stereotypy and versatility of the copulatory pattern of *Lycosa malitiosa* (Araneae, Lycosidae) at cool versus warm temperatures. *Journal of Arachnology*, 200–204.
- Costa, F.G., Toscano-Gadea, C.A., 2003. Experimental interruption and re-initiation of mating in a wolf spider: an analysis of behavioural patterns and resultant progeny. *Ethology Ecology & Evolution*, 15 (2), 173–181.
- 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 hawaiiensis* (Araneae: Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 19 (3), 210–214.
- Davies, N.B., Krebs, J.R., West, S.A., (Eds.), 2012. *An Introduction to Behavioural Ecology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. UK. 506 pp.
- Darwin, C., 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex*. Murray, London.
- Defeo, O., Martínez, G., 2003. The habitat harshness hypothesis revisited: life history of the isopod *Excirrolana braziliensis* in sandy beaches with contrasting morphodynamics. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 83, 331–340.
- Delignette-Muller, M.L., Dutang, C., 2015. “fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions.” *Journal of Statistical Software*, 64 (4), 1–34.
- DeSalle, R., Egan, M.G., Siddall, M., 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philos. Philosophical Transaction of The Royal Society B*, 360, 1905–1916.
- Domènech, M., Crespo, L.C., Enguídanos, A., Arnedo, M.A., 2020. Mitochondrial discordance in closely related *Theridion* spiders (Araneae, Theridiidae), with description of a new species of the *T. melanurum* group. *Zoosystematics and Evolution*, 96, 159–173.

- Dondale, C.D., 1986. The subfamilies of wolf spiders (Araneae: Lycosidae). Actas X Congreso Internacional de Aracnología, Jaca, España, 1, 327–332.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evolutionary Biology, 7, 214.
- Eberhard, W.G., 2004. Why study spider sex: special traits of spiders facilitate studies of sperm competition and cryptic female choice. The Journal of Arachnology, 32 (3), 545–556.
- Eberhard, W.G., Huber, B.A., S, R.L.R., Briceno, R.D., Salas, I., Rodriguez, V., 1998. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. Evolution, 52, 415–431.
- Eberhard, W.G., Rodríguez, R.L., Huber, B.A., Speck, B., Miller, H., Buzatto, B.A., Machado, G., 2018. Sexual selection and static allometry: the importance of function. The Quarterly Review of Biology, 93 (3), 207–250.
- Edwards, S.V., 2009. Is a new and general theory of molecular systematics emerging?. Evolution, 63, 1–19.
- Eens, M., Pinxten, R., 2000. Sex-role reversal in vertebrates: behavioural and endocrinological accounts. Behavioural Processes, 51 (1-3), 135–147.
- Estramil, N., Costa, F.G., 2006. Female sexual receptivity after partial copulations in the wolf spider (*Schizocosa malitiosa*). Journal of Zoology, 271 (2), 148–153.
- Fairbairn, 2007. Introduction: The enigma of sexual size dimorphism, in: Fairbairn, D.J., Blanckenhorn, W.U., Székely, T. (Eds.), Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary studies of sexual size dimorphism. New York, United States: Oxford University, pp. 1–10.
- Fairbairn, D.J., Blanckenhorn, W.U., Székely, T., (Eds.). 2007. Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism. Oxford University Press. UK. 259 pp.

- FigTree v1.4.4. Molecular Evolution, Phylogenetics and Epidemiology. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acceso: marzo, 2021.
- Foelix, 2011. Biology of Spiders. Oxford University Press. UK. 419 pp.
- Foellmer, M.W., Fairbairn, D.J., 2005a. Competing dwarf males: sexual selection in an orb-weaving spider. *Journal of Evolutionary Biology*, 18, 629–641.
- Foellmer, M.W., Fairbairn, D.J., 2005b. Selection on male size, leg length and condition during mate search in a sexually highly dimorphic orb-weaving spider. *Oecologia*, 142, 653–662.
- Foellmer, M.W., Moya-Laraño, J., 2007. Sexual size dimorphism in spiders: patterns and processes, in: Fairbairn, D.J., Blanckenhorn, W.U., Székely, T. (Eds), *Sex, Size and Gender Roles: Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Oxford: Oxford University Press, pp. 71–81.
- 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.
- Framenau, V.W., 2005. Gender specific differences in activity and home range reflect morphological dimorphism in wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 33, 334–346.
- Framenau, V.W., Hebets, E.A., 2007. A review of leg ornamentation in male wolf spiders, with the description of a new species from Australia, *Artoria schizocoides* (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 35, 89–101.

- Gaskett, A.C., 2007. Spider sex pheromones: emission, reception, structures, and functions. *Biological Reviews*, 82, 27–48.
- Ghione, S., Simó, M., Aisenberg, A., Costa, F.G., 2013. *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Lycosidae) as a Bioindicator of Coastal Sand Dunes in Uruguay. *Arachnology*, 16 (3), 94–98.
- GMYC web server. <https://species.h-its.org/gmyc/>. Acceso: junio, 2020.
- Google Earth. [www.google.com/earth/index.html](http://www.google.com/earth/index.html). Acceso: 24 marzo, 2021.
- Gonnet, V., Bidegaray-Batista, L., Aisenberg, A., Laborda, Á., Hagopían, 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., 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.
- Grube, A.E., 1861. Beschreibung neuer, von den Herren L. v. Schrenck, Maack, C. v. Ditmar u. a. im Amurlande und in Ostsibirien gesammelter Araneiden. *Bulletin de l'Académie impériale des sciences de St.-Pétersbourg*, 4, 161–180.
- Guerra, C.B., Ferreti, N., Aisenberg, A., 2022. Testing sexual size dimorphism and nocturnal surface activity in the coastal wolf spider *Allocosa alticeps*. *Arachnology*, 19 (2), 537–542.
- Gwynne, D.T., 1991. Sexual competition among females: What causes courtship-role reversal?. *Trends in Ecology & Evolution*, 6 (4), 118–121.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1), 9 pp.

- Hare, R.M., Simmons, L.W., 2018. Sexual selection and its evolutionary consequences in female animals. *Biological Reviews*, 1–28.
- Hedin, M. C., Maddison, W. P., 2001. A combined molecular approach to phylogeny of the jumping spider subfamily Dendryphantinae (Araneae: Salticidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18 (3), 386–403.
- Hormiga, G., Scharff, N., Coddington, J.A., 2000. The phylogenetic basis of sexual size dimorphism in orb-weaving spiders (Araneae, Orbiculariae). *Systematic biology*, 49 (3), 435–462.
- Huber, B. A., 2005. Sexual selection research on spiders: progress and biases. *Biological Reviews*, 80 (3), 363–385.
- Huber, B.A., Eberle, J., Dimitrov, D., 2018. The phylogeny of pholcid spiders: a critical evaluation of relationships suggested by molecular data (Araneae, Pholcidae). *ZooKeys*, (789), 51–101.
- Hudson, M.E., 2007. Sequencing breakthroughs for genomic ecology and evolutionary biology. *Molecular Ecology Resources*, 8, 3–17.
- Jorge, C., Laborda, Á., Días, M.A., Aisenberg, A., Simó, M., 2015. Habitat Preference and Effects of Coastal Fragmentation in the Sand-Dwelling Spider *Allocosa brasiliensis* (Lycosidae, Allocosinae). *Open Journal of Animal Sciences*, 5, 309–324.
- Karlsson, B., Leimar, O., Wiklund, C., 1997. Unpredictable environments, nuptial gifts and the evolution of sexual size dimorphism in insects: an experiment. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 264 (1381), 475–479.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., Miyata, T., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30 (14), 3059–3066.

- Kiss, B., Samu, F., 2000. Evaluation of population densities of the common wolf spider *Pardosa agrestis* (Araneae: Lycosidae) in Hungarian alfalfa fields using mark recapture. *European Journal of Entomology*, 97, 191–195.
- Koch, L., 1879. Übersicht der von Dr Finsch in Westsibirien gesammelten Arachniden. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 28, 481–490.
- Laborda, Á., Bidegaray-Batista, L., Simó, 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.
- Laborda, Á, Montes de Oca, L, Pérez-Miles, F, Useta, G, Simó, M., 2018. The spider fauna from Uruguay River islands: understanding its role in a biological corridor. *Biodiversity Data Journal*, 6, e27319.
- Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T., Calcott, B., 2017. PartitionFinder2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 34 (3), 772–773.
- Leigh, J.W., Bryant, D., 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (9), 1110–1116.
- Lemey, P., Salemi, M., Vandamme, A. M. (Eds.), 2009. *The phylogenetic handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing*. Cambridge University Press, New York. 723 pp.
- Logunov., 2011. Sexual size dimorphism in burrowing wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Proceedings of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences*, 315, 274–288.
- Lorch, P. D. (2002). Understanding reversals in the relative strength of sexual selection on males and females: a role for sperm competition?. *The American Naturalist*, 159 (6), 645–657.

- Luo, A., Ling, C., Ho, S.Y.W, Zhu, C.D., 2018. Comparison of methods for molecular species delimitation across a range of speciation scenarios. *Systematic Biology*, 67 (5), 830–846.
- Maan, M.E., Cummings, M.E., 2009. Sexual dimorphism and directional sexual selection on aposematic signals in a poison frog. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (45), 19072–19077.
- 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 and Biodiversity*, 8 (4), 531–553.
- Marshall, S. D., Gittleman, J. L., 1994. Clutch size in spiders: is more better?. *Functional Ecology*, 8, 118–124.
- McLean, CJ, Garwood, RJ, Brassey, C.A., 2018. Sexual dimorphism in the Arachnid orders. *PeerJ*, 6, e5751.
- Mello-Leitão, C. F., 1941. Las arañas de Córdoba, La Rioja, Catamarca, Tucumán, Salta y Jujuy colectadas por los Profesores Birabén. *Revista Museo de La Plata (Nueva Serie, Zoología)*, 2 (12), 99–198.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W., Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees, in: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA, pp. 1–8.
- Moya-Laraño, J, Cabeza, M., 2003. Bimodality in the body size distribution of Mediterranean tarantula juveniles: Humphreys' Russian roulette revisited. *Revista Ibérica de Aracnología*, 7, 211–219.
- Moya-Laraño, J., Halaj, J., Wise, D.H., 2002. Climbing to reach females: Romeo should be small. *Evolution*, 56, 420–425.

- Moya-Laraño, J., Vinković, D., Allard, C.M., Foellmer, M.W., 2009. Optimal climbing speed explains the evolution of extreme sexual size dimorphism in spiders. *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 954–963.
- Nei, M., Kumar, S., 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, Oxford. 333 pp.
- Newman, J.A., Elgar, M.A., 1991. Sexual cannibalism in orb-weaving spiders: an economic model. *The American Naturalist*, 138 (6), 1372–1395.
- 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. 245 pp.
- Owens, I. P., Hartley, I. R., 1998. Sexual dimorphism in birds: why are there so many different forms of dimorphism?. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265 (1394), 397–407.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences M., 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7 (16), 1–14.
- Page, R.D.M, Holmes, E.C., 1998. *Molecular evolution: a phylogenetic approach*, Blackwell Science, Oxford. UK. 346 pp.
- Piacentini, L.N., Laborda, Á., 2013. The South American wolf spider genus *Birabenia* Mello-Leitão, 1941 (Araneae: Lycosidae: Lycosinae). *Zootaxa*, 3716, 039–052.
- Piacentini, L. N., Ramírez, M. J., 2019. Hunting the wolf: A molecular phylogeny of the wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 136, 227–240.
- Planas, E., Fernández-Montraveta, C., Ribera, C., 2013. Molecular systematics of the wolf spider genus *Lycosa* (Araneae: Lycosidae) in the Western Mediterranean Basin. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67 (2), 414–428.

- Pompozzi, G., de Santiago, F., Blumetto, O., Simó, M., 2022. Livestock systems preserving natural grasslands are biodiversity reservoirs that promote spiders' conservation. *Journal of Insect Conservation*, 26 (3), 453–462.
- Pons, J., Barraclough, T., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W., Vogler, A., 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 (6), 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 and Biodiversity*, 17 (7), 635–649.
- Prenter, J., Elwood, R.W., Montgomery, W.I., 1999. Sexual size dimorphism and reproductive investment by female spiders: a comparative analysis. *Evolution*, 53 (6), 1987–1994.
- 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.
- Roewer, C.F., 1951. Neue Namen einiger Araneen-Arten. *Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins zu Bremen* 32, 437–456.
- Roewer, C. F., 1955. Katalog der Araneae von 1758 bis 1940, bzw. 1954. 2. Band, Abt. a (Lycosaeformia, Dionycha [excl. Salticiformia]). 2. Band, Abt. b (Salticiformia, Cribellata) (Synonyma-Verzeichnis, Gesamtindex). Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, Bruxelles, pp.1751.
- Roewer, C. F., 1960. Araneae Lycosaeformia II (Lycosidae) (Fortsetzung und Schluss). *Exploration du Parc National de l'Upemba, Mission G. F. de Witte*, 55, 519–1040.

- Rovner, J.S., 1971. Mechanisms controlling copulatory behavior in wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Psyche*, 78 (3), 150–165.
- Rovner, J.S., 1972. Copulation in the lycosid spider (*Lycosa rabida* Walckenaer): a quantitative study. *Animal Behaviour*, 20 (1), 133–138.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-Del Barrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-García, A., 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34 (12), 3299–3302.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA  
URL <http://www.rstudio.com/>.
- San Mauro, D., Agorreta, A., 2010. Molecular systematics: a synthesis of the common methods and the state of knowledge. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 15, 311–341.
- Schärer, L., Rowe, L., Arnqvist, G., 2012. Anisogamy, chance and the evolution of sex roles. *Trends in Ecology & Evolution*, 27 (5), 260–264.
- Schütz, D., Taborsky, M., 2000. Giant males or dwarf females: what determines the extreme sexual size dimorphism in *Lamprologus callipterus*?. *Journal of Fish Biology*, 57, 1254–1265.
- Scott, C.E., Anderson, A.G., Andrade, M.C., 2018. A review of the mechanisms and functional roles of male silk use in spider courtship and mating. *The Journal of Arachnology*, 46 (2), 173–206.
- Shorthouse, David P., 2010. SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. <https://www.simplemappr.net>. Acceso: 24 de marzo, 2021.
- Simó, M., Núñez, M., Ojeda, L., Laborda, A., Queirolo, D., 2015. Knowing the biological linkage: spider composition and guilds in a hill range of northern Uruguay. *Boletín de La Sociedad Zoológica Del Uruguay*, 24, 117–129.

- Simó, M., Lise, A.A., Pompozzi, G., Laborda, A., 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.K., 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.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics*, 30 (9), 1312–1313.
- Stillwell, R.C., Blanckenhorn, W.U., Teder, T., Davidowitz, G., Fox, C.W., 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annual review of entomology*, 55, 227–245.
- Stratton, G.E., Hebets, E.A, Miller, P.R., Miller, G.L., 1996. Pattern and duration of copulation in wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 24, 186–200.
- Suter, R.B., Renkes, G., 1982. Linyphid spider courtship: Releaser and attractant functions of a contact sex pheromone. *Animal Behaviour*, 30, 714–718.
- Trivers, R.L., 1972. Parental investment and sexual selection, in: Campbell, B. (Eds.), *Sexual Selection and the descent of man*. Aldine Publishing, Chicago, United States. pp. 136–179.
- Toscano-Gadea, C.A., Costa, F.G., 2016. Description of the sexual behavior of the Neotropical wolf spider *Pavocosa gallopavo* (Araneae: Lycosidae), with comments on sexual cannibalism. *The Journal of Arachnology*, 44 (3), 412–416.
- Toscano-Gadea, C.A., González, M., 2019. The sexual behaviour of the Neotropical wolf spider *Lycosa inornata* (Araneae: Lycosidae), with comments on maternal behaviour. *Arachnology*, 18 (3), 270–275.

- Uetz, G.W., Roberts, J. A., 2002. Multisensory cues and multimodal communication in spiders: insights from video/audio playback studies. *Brain, Behavior and Evolution*, 59 (4), 222–230.
- Vaccaro, R., Uetz, G.W., Roberts, JA., 2010. Courtship and mating behavior of the wolf spider *Schizocosa bilineata* (Araneae: Lycosidae). *Journal of Arachnology*, 38 (3), 452–459.
- Vollrath, F., Parker, G.A., 1992. Sexual dimorphism and distorted sex ratios in spiders. *Nature*, 360 (6400), 156–159.
- Walker, S.E., Rypstra, A.L., 2001. Sexual dimorphism in functional response and trophic morphology in *Rabidosa rabida* (Araneae: Lycosidae). *The American Midland Naturalist*, 146 (1), 161–170.
- Walker, S.E., Rypstra, A.L., 2002: Sexual dimorphism in trophic morphology and feeding behavior in wolf spiders (Araneae: Lycosidae) as a result of differences in reproductive roles. *Canadian Journal of Zoology*, 80, 679–688.
- Wheeler, W.C., Coddington, J.A., Crowley, L.M., Dimitrov, D., Goloboff, P.A., Griswold, C.E., Hormiga, G., Prendini, L., Ramírez, M.J., Sierwald, P., Almeida-Silva, L., Alvarez-Padilla, F., Arnedo, M.A., Benavides Silva, L.R., Benjamin, S.P., Bond, J.E., Grismado, C.J., Hasan, E., Hedin, M., Izquierdo, M.A., Labarque, F.M., Ledford, J., Lopardo, L., Maddison, W.P., Miller, J.A., Piacentini, L.N., Platnick, N.I., Polotow, D., Silva-Dávila, D., Scharff, N., Szűts, T., Ubick, D., Vink, C.J., Wood, H.M., Zhang, J., 2016. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics*, 33 (6), 574–616.
- White, R., Murray, S., Rohweder, M., 2000. Pilot analysis of global ecosystems: grassland ecosystems. World Resources Institute, Washington, DC. Disponible en: <https://www.wri.org/research/pilot-analysis-global-ecosystems-grassland-ecosystems>

- Wilder, S.M., Rypstra, A.L., 2008. Sexual size dimorphism mediates the occurrence of state-dependent sexual cannibalism in a wolf spider. *Animal Behaviour*, 76 (2), 447–454.
- World Spider Catalog, 2022. World Spider Catalog. Version 22.0. Natural History Museum Bern, online at: <https://wsc.nmbe.ch/>, acceso {12 de junio, 2022}.
- Zhang, F., Chen, X., Zeng, C., Wen, L., Zhao, Y., Peng, Y., 2021. Modest sexual size dimorphism and allometric growth: a study based on growth and gonad development in the wolf spider *Pardosa pseudoannulata* (Araneae: Lycosidae). *Biology Open*, 10 (12), bio058771.

## ANEXO

### RESUMENES PRESENTADOS EN CONGRESOS

#### Testing the occurrence of sexual size dimorphism in Allocosinae species from Uruguayan grasslands

Verónica Gonnet-Cendán<sup>1,2</sup>; Nadia Kacevas<sup>1,2</sup>; Diego Cavassa<sup>1</sup>; Damián Hagopíán<sup>1,3</sup>; Miguel Simó<sup>3</sup>; Anita Aisenberg<sup>1</sup>; Leticia Bidegaray-Batista<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Sección Entomología, Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo, Uruguay

E-mail: [veronica.gonnetc@gmail.com](mailto:veronica.gonnetc@gmail.com)

Knowledge about the systematics of the subfamily Allocosinae (Lycosidae) in South America is scarce. However, several studies in taxonomy, behaviour and ecology have been performed on two members of this subfamily, *Allocosa senex* and *A. marindia*. Both species inhabit the coasts of southern South America and show reversal in traditional sex roles and sexual size dimorphism expected in spiders. The occurrence of these non-traditional traits may be related to their strict dependence with the harsh coastal habitat. Our aim was to investigate the occurrence of sexual size dimorphism in *Allocosa* sp. from Uruguayan grasslands. We performed nocturnal samplings in two localities in Montevideo, Uruguay, and classified the individuals as morphospecies. We sequenced the mitochondrial gene *COI* of adults of each morph and recorded body measurements of the most abundant morph (*Allocosa* sp.). We measured carapace and abdomen width of 20 adult individuals of each sex and calculated body condition through the index abdominal width/carapace width. We found three morphs of Allocosinae based in morphological characteristics, but we did not find genetic differentiation among them. We did not find significant differences in body size between males and females ( $p=0.61$ ), but females showed higher body condition compared to males ( $p=0.00003$ ). According to these results *Allocosa* sp. does not show the reversal in sexual size dimorphism described for the coastal species. In future studies we will increase sample size, test other molecular markers and perform mixological sexual trials to test reproductive isolation among the three Allocosinae morphs.

PRESENTADO EN: 21st International Congress of Arachnology

MODALIDAD: Poster

## Fields of love: sexual behaviour in wolf spiders from Uruguayan grasslands

Verónica Gonnet<sup>1,2,3</sup>, Leticia Bidegaray-Batista<sup>2</sup>, Miguel Simó<sup>3</sup>, Álvaro Laborda<sup>3</sup>,

Damián Hagopián<sup>1,3</sup>, Anita Aisenberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente

Estable, Montevideo, Uruguay; <sup>2</sup>Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones

Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay; <sup>3</sup>Sección Entomología, Facultad de Ciencias,

Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

E-mail: [veronica.gonnetc@gmail.com](mailto:veronica.gonnetc@gmail.com)

Knowledge about spiders from Allocosinae subfamily is scarce. However, several taxonomical, behavioral and ecological studies have been performed in two species: *Allocosa senex* and *A. marindia*. These species inhabit South American coasts and show reversal in sex roles expected in spiders. The occurrence of these non-traditional traits could be related with the environment where they inhabit. Our aim was to study courtship and mating in *Allocosa* sp., an Allocosinae species from Uruguayan grasslands and compare with the two coastal *Allocosa* species. We performed nocturnal samplings in two localities from Montevideo, Uruguay, and captured adult individuals of *Allocosa* sp. found walking. We exposed 32 pairs of females and males under laboratory conditions and obtained 12 mating trials. In all the cases the males initiated courtship and approached females. Courtship duration averaged  $174 \pm 187,25$  sec, while copulation was  $6,58 \pm 7,67$  sec. According to our results, the grassland species does not show reversal in sex roles as described in *A. senex* and *A. marindia*. This agrees with the possibility that environment shapes the non-traditional sexual behaviours in coastal *Allocosa*.

PRESENTADO EN: ABS (Animal Behavior Society) Virtual Meeting 2020

MODALIDAD: Oral

---

### **Estrategias y dimorfismo sexual en una especie de Allocosinae de los pastizales uruguayos.**

Verónica Gonnet, Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Departamento de Biodiversidad y Genética, IIBCE, Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay, [veronica.gonnetc@gmail.com](mailto:veronica.gonnetc@gmail.com)

Leticia Bidegaray-Batista, Departamento de Biodiversidad y Genética, IIBCE, Uruguay, [letigaray@yahoo.com](mailto:letigaray@yahoo.com)

Miguel Simó, Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República,

Uruguay, simo@fcien.edu.uy

Anita Aisenberg, Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, IIBCE, Uruguay,

anita.aisenberg@gmail.com

El conocimiento de la subfamilia Allocosinae en Sudamérica es escaso. Sin embargo, se ha avanzado considerablemente en estudios en dos especies nativas de esta subfamilia: *Allocosa senex* y *Allocosa marindia*. Ambas especies habitan los arenales costeros, *A. senex* se distribuye en Argentina, Brasil y Uruguay, mientras que *A. marindia* se encuentra en el sur de Brasil y Uruguay. Presentan inversión de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño típico en arañas. En estas especies los machos son más grandes que las hembras y las hembras son el sexo móvil, se aproximan a las cuevas de los machos e inician el cortejo. Una de las causas que podría asociarse con la presencia de estos rasgos no tradicionales podría ser el ambiente costero en el que habitan. Hasta el momento, no hay estudios en Allocosinae Sudamericanas que habiten otros ambientes como los pastizales. Recientemente hemos comenzado estudios taxonómicos, genéticos, ecológicos y comportamentales en una especie poco conocida de estos ambientes en Uruguay. El objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento sexual y el dimorfismo sexual de tamaño en esta especie de Allocosinae de pastizales de Uruguay y comparar con lo ya reportado para las especies costeras. Para esto, se realizaron muestreos nocturnos en dos localidades de Montevideo, Uruguay, Melilla (34°43'53''S 56°19'23,4''W) e IIBCE (34°53'15,6''S 56°08'34,8''W), donde se capturaron individuos subadultos y adultos. Bajo condiciones de laboratorio se expusieron 31 parejas y se obtuvieron 12 experiencias de cortejo-cópula exitosas. Se midió ancho del cefalotórax y largo basal del quelícero de 84 individuos (39 machos y 45 hembras). En todos los casos, los machos iniciaron el cortejo y se aproximaron a las hembras. Las hembras finalizaron todas las cópulas. La duración del cortejo fue de  $174,00 \pm 187,25$  s mientras que la de cópula fue  $6,58 \pm 7,67$  s. El número promedio de eyaculaciones estimado a partir de las erecciones de las espinas de las patas fue  $6,63 \pm 5,08$ . No se encontraron diferencias significativas en el tamaño corporal entre los sexos ANOVA test ( $F= 3,243$ ,  $p=0,08$ ) pero los machos mostraron mayor tamaño en sus quelíceros que las hembras ANOVA test ( $F=15,09$ ,  $p=0,0002$ ). De acuerdo con los resultados, esta especie de los pastizales no presentaría inversión de roles sexuales ni de dimorfismo sexual de tamaño. Esto sería congruente con la posibilidad de que sea el ambiente el que moldea la aparición de los comportamientos sexuales no tradicionales en las especies de *Allocosa* de la costa. El mayor tamaño encontrado en los quelíceros de los machos resulta interesante ya que este carácter en las especies costeras está asociado al cavado, pero en esta especie de pastizal no se ha visto que realicen cuevas. Futuros estudios investigarán otros caracteres morfológicos que ayuden a entender e integrar la información acerca del dimorfismo sexual en esta especie.

**Palabras clave:** Allocosinae, cortejo, cópula, rasgos morfológicos.

PRESENTADO EN: V Congreso Latinoamericano de Aracnología

MODALIDAD: Poster

---

**Romance everywhere: testing sexual behavior according to substrate in  
*Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941)**

Verónica Gonnet\*, Leticia Bidegaray-Batista, Miguel Simó, Anita Aisenberg  
IIBCE-FCien (UdelaR), Montevideo, Uruguay

veronica.gonnetc@gmail.com

Knowledge about South American spiders from Allocosinae subfamily is scarce. However, several studies have been performed in *Allocosa senex* and *Allocosa marindia*. These two species show reversal in sex roles expected in spiders, what could be related with the fluctuating coastal environment where they inhabit. *Paratrochosina amica* is an Allocosinae species that inhabits grasslands and more rarely meadows close to coasts of streams. The aim was to describe sexual behaviour in *P. amica* and compare the results under different substrates. We exposed pairs of females and males with soil and sand as substrate (N=13 and N=18, respectively), and recorded their behaviors. Thirteen females mated on soil and thirteen on sand (Fisher test; mating frequencies soil versus sand,  $p=0,06$ ). In all the cases males initiated courtship and approached females. Courtship duration averaged  $283,39 \pm 285,44$  sec on soil and  $194,00 \pm 193,24$  sec on sand ( $U=69$ ;  $p=0,44$ ), while copulation duration was  $291,54 \pm 701,59$  sec and  $6,23 \pm 7,45$  sec ( $U=53$ ;  $p=0,11$ ), respectively. According to our results, *P. amica* would not show reversal in sex roles and males would be the mobile and courting sex. Sexual behavior in this species seems to be stereotyped what could indicate this spider is adapted to both types of habitat.

PRESENTADO EN: AAS (American Arachnological Society) Meeting 2021

MODALIDAD: Poster

---

COMPORTAMIENTO SEXUAL Y DIMORFISMO EN *Paratrochosina amica*  
(MELLO-LEITÃO, 1941), UNA ARAÑA LOBO DE LOS PASTIZALES

Gonnet, V. (1,2,3); Bidegaray-Batista, Leticia. (2); Simó, M. (3); Aisenberg, A. (1).

(1) Depto. Ecología y Biología Evolutiva, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) [veronica.gonnetc@gmail.com](mailto:veronica.gonnetc@gmail.com); (2) Depto. Biodiversidad y Genética, IIBCE; (3) Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.

El conocimiento de la subfamilia Allocosinae en Sudamérica es escaso; sin embargo, se ha avanzado en estudios en dos especies de esta subfamilia que habitan los arenales costeros: *Allocosa senex* y *Allocosa marindia*. *A. senex* se distribuye en Argentina, Brasil y Uruguay y *A. marindia* se encuentra en el sur de Brasil y Uruguay. Presentan inversión de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño típico en arañas, lo cual podría relacionarse con el ambiente en que habitan. Hasta el momento, no hay estudios en

Allocosinae Sudamericanas que habiten otros ambientes como los pastizales. *Paratrochosina amica* es una especie de Allocosinae poco conocida que habita en pastizales de Uruguay. El objetivo de este trabajo fue estudiar el dimorfismo sexual de tamaño y el comportamiento sexual de *P. amica* en diferentes sustratos. Se realizaron muestreos nocturnos en dos localidades de Montevideo, Melilla e IIBCE, de tres noches consecutivas, durante dos horas y tres recolectores. Se midió ancho del prosoma, medida representativa del tamaño corporal en arañas. Se expusieron parejas de hembras y machos con tierra y arena como sustrato (N=13 y N=18, respectivamente) y se registraron sus comportamientos. En todos los casos, los machos iniciaron el cortejo y se aproximaron a las hembras. La duración del cortejo fue  $283,39 \pm 285,44$  s en tierra y  $194 \pm 193,24$  s en arena. La duración de la cópula fue  $291,54 \pm 701,59$  s en tierra y  $6,23 \pm 7,45$  s en arena. No se encontraron diferencias significativas en el tamaño corporal entre sexos (ANOVA,  $F=2,46$ ,  $p=0,12$ ). De acuerdo con los resultados, *P. amica* no presentaría inversión en sus roles sexuales ni dimorfismo sexual de tamaño. Esto sería congruente con la posibilidad de que sea el ambiente el que moldea la aparición de los comportamientos sexuales no tradicionales en las especies de *Allocosa* costeras.

PRESENTADO EN: VI Congreso Uruguayo de Zoología

MODALIDAD: Oral

---

## ENTREVISTA

Trabajo estudia el comportamiento de una araña lobo de los pastizales uruguayos. Entrevista en Montevideo portal. <https://www.montevideo.com.uy/Ciencia-y-Tecnologia/Trabajo-estudia-el-comportamiento-de-una-arana-lobo-de-los-pastizales-uruguayos-uc820153>

---

Inicio | Ciencia y Tecnología | Ciencia

## SENTIDO ARACNIDO

# Trabajo estudia el comportamiento de una araña lobo de los pastizales uruguayos

La investigadora del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) Verónica Gonnet analiza el comportamiento de una araña lobo emparentada con arañas con comportamientos atípicos.

29.04.2022 09:10 Lectura: 4' ⌚



Foto: Javier Noceti/Montevideo Portal



Por Santiago Magni

Santimag93

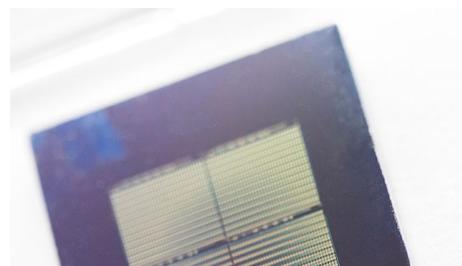
En pastizales uruguayos habitan arañas lobo del género *Paratrochosina*. Son arañas pequeñas de aproximadamente seis milímetros de tamaño corporal que no construyen telas y que son errantes durante la mayor parte de su vida. Se alimentan de insectos y otras arañas más pequeñas.

En su proyecto de Maestría del Programa de Desarrollo de las Ciencias

## LAS MAS LEIDAS

- 1 Graciela Bianchi difundió una foto falsa de Petro y en las redes le pasaron factura
- 2 Hombre que murió en "postura infamante" en Pompeya, objeto de estudio para la ciencia
- 3 Peñarol: "Si hay que poner plata por Lozano, pongo", dijo Ruglio, y habló de altas
- 4 Se coló una camiseta de Nacional en el cumpleaños del hijo mayor de Cristiano Ronaldo
- 5 Da Rosa: en el PN hay "una fuerte disputa" por espacio de Pacheco Areco y Lacalle Herrera

## MAS DE CIENCIA Y TECNOLOGIA



Del transistor al "memristor", el microchip del futuro



Básicas (Pedeciba) y becada por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), la investigadora del Departamento de Biodiversidad y Genética (IIBCE), orientada por Leticia Bidegaray y Anita Aisenberg (IIBCE), y Miguel Simó (Facultad de Ciencias) trabajó con esta araña que se encuentra en pastizales y jardines a lo largo de Sudamérica.

En diálogo con *Montevideo Portal*, Gonnet contó por qué es importante investigar estas arañas de pastizales. Ella forma parte de un proyecto internacional del cual son responsables las científicas Anita Aisenberg y Leticia Bidegaray, del IIBCE, que estudia el origen y evolución de rasgos no tradicionales en arañas de la costa. “En estas especies los machos son más grandes que las hembras, algo que por lo general no es así en las arañas. Las hembras son las que salen y buscan a los machos para iniciar el cortejo en las cuevas”, aseguró.

“Como parte de este proyecto, financiado por ANII y National Geographic surgió la pregunta de a qué se debe la aparición de estos rasgos no tradicionales, porque en otros grupos animales se ha visto que su aparición puede estar vinculada a ambientes duros, impredecibles y/o por su historia evolutiva”, agregó.



Foto: Javier Noceti/Montevideo Portal

“En mi proyecto de Maestría quisimos saber qué pasaba con especies emparentadas pero que habitaban otros ambientes, como los pastizales, que hoy en día ocupan alrededor del 60% del territorio”, dijo Gonnet. Lo que hicieron primero fue identificar a la especie. “Llevamos un abordaje multidisciplinario, por un lado, la descripción de la especie luego de un análisis morfológico y molecular”, relató la investigadora.

“Ocurría que íbamos al campo y encontrábamos distintas formas, en base a patrones de coloración. Entonces, queríamos saber si todas las formas

**Diseñan con inteligencia artificial herramienta para "extraer" las emociones del lector**



**Twitich se une al código de conducta de UE contra el discurso de odio en línea**



**Investigadores hallan dos planetas más grandes que la Tierra que orbitan a 33 años luz**

eran lo mismo o no, y a qué especie pertenecían. Luego de la identificación de la especie que resultó ser *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão, 1941), nos preguntábamos si las tres formas que encontrábamos eran iguales. Integramos datos morfológicos y moleculares y vimos que se trataba de una misma especie”, añadió.

Por otro lado, en la maestría Gonnet está “analizando cómo es el comportamiento de la especie”. “En esta especie de pastizal no hay diferencias en el tamaño de machos y hembras, a diferencia de las especies de la costa. Además, en mi maestría trabajé en describir el comportamiento reproductivo de la especie”, comentó.



Foto: Paulina Pintos

### Trabajo de campo e investigación

En una reciente publicación surgida a partir de su Maestría en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004452312100108X> figura un mapa de registro de distribución de la especie. Para su elaboración, se recurrió a datos de colecciones científicas, registros a campo de los científicos de Uruguay y de colegas argentinos (Luis Piacentini, MACN y Matías Izquierdo, UNCOR). También, se evaluó el tamaño corporal de los machos y las hembras “Lo que hacemos es realizar muestreos durante la noche, con linternas de minero y encontrar a los individuos por el brillo de sus ojos”, contó Gonnet sobre el trabajo de campo.

“Para registrar el tamaño corporal, medimos el ancho de la región dorsal anterior o cefalotórax, que es representativo del tamaño en arañas, y lo medimos para saber si un sexo es más grande que el otro”, acotó.



Foto: Marcelo Casacuberta

La investigadora comentó que “como todas las arañas tiene veneno, que utiliza para capturar a sus presas, pero no es peligroso para el ser humano”.

“Dado que esta especie está asociada a los pastizales, que presentan una crítica reducción, modificación y fragmentación, es importante conocer su biodiversidad para mitigar los efectos de la antropización, y poder elaborar planes de manejo y conservación adecuados a estos ambientes y sus realidades actuales”, concluyó.





# A wolf spider from South American grasslands: phylogenetic placement and redescription of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941)



Verónica Gonnet <sup>a, b, c, \*</sup>, Leticia Bidegaray-Batista <sup>a</sup>, Anita Aisenberg <sup>b</sup>, Álvaro Laborda <sup>c</sup>,  
Damián Hagopían <sup>c</sup>, Matías A. Izquierdo <sup>d, e</sup>, Luis N. Piacentini <sup>f</sup>, Miguel Simó <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, PC 11600, Montevideo, Uruguay

<sup>b</sup> Departamento de Ecología y Biología Evolutiva, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, PC 11600, Montevideo, Uruguay

<sup>c</sup> Sección Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad de La República, Iguá 4225, PC 11400, Montevideo, Uruguay

<sup>d</sup> Departamento de Diversidad Biológica y Ecología, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Vélez Sarsfield 299, PC 5000, Córdoba, Argentina

<sup>e</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA), Laboratorio de Biología Reproductiva y Evolución, Av. Vélez Sarsfield 299, PC 5000, Córdoba, Argentina

<sup>f</sup> División Aracnología, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Av. Ángel Gallardo 470, C1405DJR, Buenos Aires, Argentina

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 23 April 2021

Received in revised form

16 August 2021

Accepted 27 August 2021

Available online 30 August 2021

### Keywords:

Allocosinae

Taxonomy

Molecular markers

Neotropics

## ABSTRACT

The male of the wolf spider *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) is redescribed, and the female of this species is described for the first time. Additionally, we evaluate the phylogenetic position of *P. amica* using the mitochondrial genes cytochrome *c* oxidase subunit I (*cox1*), the 12S rRNA (12S) and 16S rRNA (16S), NADH dehydrogenase subunit I (*nad1*) and the complete tRNA leu (*L1*). In live specimens we recognized three different morphotypes based on colour patterns. There were no differences in genitalic features of males and females among the three morphotypes. Molecular results through GMYC analyses did not identify independent evolutionary lineages. Genetic and taxonomic results support that the three morphotypes are conspecific. Phylogenetic analysis confirms the position of *P. amica* in the subfamily Allocosinae.

© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

## 1. Introduction

Lycosidae Sundevall, 1833 is the fifth richest family of the order Araneae with more than 2430 species described (World Spider Catalog 2021). Within this group of wolf spiders, the subfamily Allocosinae Dondale, 1986 is characterized by males with a beak-like terminal apophysis, bifid median apophysis, and female epigynum without median septum and atrium (Dondale 1986). Brescovit & Taucare-Ríos (2013), Simó et al. (2017), and more recently Piacentini & Ramirez (2019), studied the taxonomy and phylogenetic relationships of Lycosidae at subfamily level and Allocosinae was recovered as monophyletic. Previous studies on South American Allocosinae reported reversal in typical sex roles

expected for spiders in the two sand-dwelling coastal species, *Allocosa senex* (Mello-Leitão 1945) and *Allocosa marindia* Simó, Lise, Pompozzi & Laborda, 2017 (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa 2008; Aisenberg 2014). Both *Allocosa* Banks, 1900 species are considered as potential bioindicators for coastal ecosystems in Uruguay (Aisenberg et al., 2011; Ghione et al., 2013).

Recent field surveys and examination of specimens deposited in South American arachnological collections allowed us to recognize representatives of Allocosinae from other types of habitats. These findings are relevant since the information about taxonomy, ecology or behaviour in this subfamily is extremely scarce. We identified the collected exemplars as belonging to *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) and recognized three morphotypes based on the coloration of live specimens. The original description of this species was based on a single male from Anisacate, Córdoba, Argentina. The genus *Paratrochosina* Roewer, 1960 was proposed with the Neartic *Paratrochosina insolita* (Koch 1879) as its type species. Roewer (1955) also transferred the Palearctic *Tarentula*

\* Corresponding author. Departamento de Biodiversidad y Genética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, PC 11600, Montevideo, Uruguay.

E-mail address: [veronica.gonnet@gmail.com](mailto:veronica.gonnet@gmail.com) (V. Gonnet).

*sagittigera* Roewer, 1951 and the Neotropical *Alopecosa amica* Mello-Leitão, 1941 to *Paratrochosina*. These modifications were made without any justification and the validity of such were not disputed.

Currently, the genus is represented by the following three species: *P. amica*, *P. insolita* and *Paratrochosina sagittigera* (Roewer 1951) (World Spider Catalog 2021).

Allocosinae subfamily shows a high homogeneity in genital features, making species recognition particularly difficult in this group (Simó et al., 2017). Nowadays, advances in molecular techniques have increased the use of DNA sequences in studies of taxonomy (Lemey et al., 2009; Padial et al., 2010). These studies have contributed to the discovery of cryptic species, species delimitation, and the identification of species by analysing juvenile spiders (Bickford et al., 2007; DeSalle et al., 2005; Hudson 2007; Macías-Hernández et al., 2010). Considering the arguments described above, the aims of this study are to confirm the status and phylogenetical placement of *P. amica* using morphological and molecular data, corroborate if the three collected morphotypes belong to the same species, and describe the female and redescribe the male of this species.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Field samplings and study specimens

Exemplars of *P. amica* were collected during the night using head-lamps and by hand capture, in two localities of Montevideo, Uruguay: Melilla (34°43'53"S 56°19'23.4"W), and Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (34°53'15.6"S 56°08'34.8"W). Adults were used for taxonomic and molecular studies, and the sub-adults were kept in captivity under laboratory conditions (temperature mean  $\pm$  SD: 22.5  $\pm$  2.5 °C, range (16.5–27.5 °C); humidity mean  $\pm$  SD: 80.4  $\pm$  7.8%, range (57.0–94.0%)), until sexual maturity. Voucher specimens were deposited at the arachnological collection of Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (FCE Ar, M. Simó). Additionally, we examined specimens deposited in the following institutions: Museo de La Plata, La Plata, Argentina (MLP, L. Pereira); Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (MCTP, R. Texeira); Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (FCE Ar, M. Simó); Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Buenos Aires, Argentina (MACN, M. Ramírez); Laboratorio de Biología Reproductiva y Evolución, Instituto de Diversidad y Ecología Animal, Córdoba, Argentina (LABRE-Ar, M. Izquierdo).

Live specimens collected at Melilla and IIBCE were classified into three different morphotypes based on colour patterns for a more precise taxonomic revision. The map with the distribution record of the species was constructed with SimpleMappr (Shorthouse 2010). Coordinates provided on the labels were noted between parenthesis and those estimated using Google Earth were indicated between square brackets.

### 2.2. Taxonomy

Details of the genitalia of males and females of each morphotype were examined under a stereomicroscope (Nikon SMZ-10). The male's left pedipalps of each morphotype were examined and the bulbs were expanded with 10% KOH and distilled water. We dissected the epigyna for the study of the internal genitalia, which were cleaned in a solution of trypsin for the digestion of soft tissues, and then clarified with clove oil to visualize ducts and spermathecae.

The photography protocol follows Álvarez-Padilla et al. (2020), using a digital camera (Nikon D3000) attached to a microscope (Nikon YS100). The stacking was made with Helicon Focus version 7.6.4 Lite. Drawings were made digitally based on a microscope photograph. Before examination on the Scanning Electron Microscope (SEM), body parts were subjected to ultrasonic cleaning, critical point drying and coated with gold using a sputter coater. Images were obtained with a Jeol JSM-5900 (SEM) from Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. Photographs of individuals at their natural habitats were taken with a Canon 7D digital camera.

The format of species description, nomenclature of the copulatory organs and measurements follow Piacentini & Laborda (2013). The following abbreviations are used in the text and figures: AC, aciniform gland spigot; AER, anterior eyes row; ALE, anterior lateral eyes; ALS, anterior lateral spinneret; AME, anterior median eyes; CO, copulatory opening; CW, carapace width, taken in the fovea zone; E, embolus; FD, fertilization duct; HS, head of the spermatheca; MA, median apophysis; mAP, minor ampullate gland spigot; PI, piriform spigot; PLE, posterior lateral eyes; PLS, posterior lateral spinneret; PME, posterior median eyes; PMS, posterior median spinneret; T, tegulum; TA, terminal apophysis; TL, total length; PR, palea region; SS, stalk of the spermatheca; ST, subtegulum; VC, vulval chamber. All measurements are in millimetres.

### 2.3. Molecular data collection

Genomic DNA of each morphotype was extracted from 31 individuals (16 males, 14 females, 1 subadult male) fixed in alcohol 95% and stored at -20°. We included specimens from the two localities mentioned above and two specimens (1 male and 1 female) from the locality Los Gigantes (31°23'43.9"S 64°47'16.9"W), Córdoba, Argentina. This location is about 50 km away from Anisacate, Córdoba, Argentina, the type locality of *P. amica*. These two individuals were classified as morphotype 2 since their colour in alcohol resembled those of living specimens. The DNA extraction codes of all individuals with their respective sex, morphotype and location are shown in Table 1.

Laboratory procedures were performed at Departamento de Biodiversidad y Genética of the Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay, following the protocols described in Planas et al. (2013) and Wheeler et al. (2016). Genomic DNA was extracted from left legs III and IV of the specimens using the DNeasy Tissue Kit (Qiagen) and following the manufacturer guidelines. Partial fragments of the mitochondrial genes cytochrome *c* oxidase subunit I (*cox1*), the 12S rRNA (12S), 16S rRNA (16S), NADH dehydrogenase subunit I (*nad1*) and the complete tRNA leu (*L1*) were amplified using the following primer pairs (*cox1*) C1-J-1490 and C1-N-2198 (Folmer et al., 1994) (12S) SR-J-14233 (Simon et al., 1994) and SR-N-14503 (Croom et al., 1991) (16S + *L1*+*nad1*) LR-N-13398 (Simon et al., 1994), and N1-J-12581 (Hedin & Maddison 2001).

Polymerase chain reaction (PCR) was carried out following the protocol for Taq DNA Polymerase with Standard Taq Buffer (M0273, New England Biolabs Inc.). PCR conditions were as follows: initial denaturing step at 95 °C for 3 min; followed by 35 cycles of 95 °C for 30 s, from 42 to 48 °C for 45 s (depending on the primers, see below), and extension at 68 °C for 45 s; with a final extension step at 68 °C for 5 min. For the *cox1* gene fragment a successful amplification was achieved with an annealing temperature at 45 °C, for the 12S was at 42 °C, while for the 16S+*L1*+*nad1* was from 45 to 48 °C. The PCR products were visualized by electrophoresis in 1% agarose gel and purified with FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase and Exonuclease I enzymes (Thermo Fisher Scientific). PCR products were sequenced in both directions using the

**Table 1**

Specimens and sequences accession numbers included in the study with details of morphotype, DNA Code, Voucher number, sex (m: male, f: female, msuba: male subadult), collection locality and haplotypes number for concatenated genes (*cox1*, *12S* and *16S*, *L1*, *nad1*) and only *cox1* gene.

Morphotype	DNA Code	Voucher number	Sex	Locality	<i>cox1</i>	<i>12S</i>	<i>16S + L1 + nad1</i>	Haplotypes ( <i>cox1</i> , <i>12S</i> and <i>16S</i> , <i>L1</i> , <i>nad1</i> )	Haplotypes <i>cox1</i>
1	VGA56	FCE-Ar 11438	m	IIBCE	MZ644090	MZ661102	MZ748484	Haplotype 5	Haplotype 2
1	VGA42	FCE-Ar 11442	f	IIBCE	MZ644104	MZ661112	MZ748494	Haplotype 10	Haplotype 8
1	VGA38	FCE-Ar 11444	f	IIBCE	MZ644107	MZ661114	MZ748496	Haplotype 11	Haplotype 2
1	VGA37	FCE-Ar 9214	m	IIBCE	MZ644108	MZ661115	MZ748478	Haplotype 3	Haplotype 2
1	VGA55	FCE-Ar 9348	f	IIBCE	MZ644091	MZ661103	MZ748485	Haplotype 3	Haplotype 2
1	VGA57	FCE-Ar 11448	m	IIBCE	MZ644089				Haplotype 5
1	VGA41	FCE-Ar 11454	msuba	Melilla	MZ644105				Haplotype 2
1	VGA54	FCE-Ar 11455	m	Melilla	MZ644092	MZ661104	MZ748486	Haplotype 6	Haplotype 5
1	VGA65	FCE-Ar 11458	m	Melilla	MZ644109	MZ661098	MZ748481	Haplotype 12	Haplotype 4
1	VGA64	FCE-Ar 11459	f	Melilla	MZ644084	MZ661099			Haplotype 2
1	VGA66	FCE-Ar 10930	m	Melilla	MZ644083				Haplotype 2
2	VGA58	FCE-Ar 11437	m	IIBCE	MZ644088				Haplotype 2
2	VGA39	FCE-Ar 11439	m	IIBCE	MZ644106	MZ661113	MZ748495	Haplotype 5	Haplotype 2
2	VGA40	FCE-Ar 11440	f	IIBCE					
2	VGA59	FCE-Ar 11445	f	IIBCE					
2	VGA52	FCE-Ar 11446	f	IIBCE	MZ644094	MZ661106	MZ748488	Haplotype 7	Haplotype 2
2	VGA53	FCE-Ar 11447	m	IIBCE	MZ644093	MZ661105	MZ748487	Haplotype 5	Haplotype 2
2	VGA43	FCE-Ar 11451	m	Melilla	MZ644103	MZ661111	MZ748493	Haplotype 8	Haplotype 6
2	VGA44	FCE-Ar 11452	m	Melilla	MZ644102	MZ661110	MZ748492	Haplotype 9	Haplotype 3
2	VGA51	FCE-Ar 11453	m	Melilla	MZ644095				Haplotype 3
2	VGA50	FCE-Ar 11450	f	Melilla	MZ644096	MZ661107	MZ748489	Haplotype 8	Haplotype 6
2	VGA61	FCE-Ar 10227	f	Melilla	MZ644086	MZ661101	MZ748483	Haplotype 4	Haplotype 3
2	VGA60	FCE-Ar 10228	m	Melilla	MZ644087				Haplotype 4
2	VGA47	FCE-Ar 11457	f	Melilla	MZ644099				Haplotype 3
2	VGA48	FCE-Ar 11456	m	Melilla	MZ644098				Haplotype 7
2	VGA67	FCE-Ar 10927	m	Los Gigantes	MZ644082	MZ661097	MZ748480	Haplotype 2	Haplotype 1
2	VGA68	FCE-Ar 10928	f	Los Gigantes	MZ644081	MZ661096	MZ748479	Haplotype 1	Haplotype 1
3	VGA46	FCE-Ar 11441	f	IIBCE	MZ644100	MZ661108	MZ748490	Haplotype 3	Haplotype 2
3	VGA49	FCE-Ar 11443	f	IIBCE	MZ644097				Haplotype 2
3	VGA45	FCE-Ar 11449	f	IIBCE	MZ644101	MZ661109	MZ748491	Haplotype 3	Haplotype 2
3	VGA63	FCE-Ar 10931	m	Melilla	MZ644085	MZ661100	MZ748482	Haplotype 3	Haplotype 2

sequencing service of Humanizing Genomics Macrogen, Seoul, Korea. DNA sequences were edited using the free trial version of the Geneious software and deposited in GenBank (*cox1*: MZ644081 - MZ644109; *12S*: MZ661096 - MZ661115; *16S+L1+nad1*: MZ748478 - MZ748496).

#### 2.4. Phylogenetic analyses

The alignment of the *cox1* sequences was trivial since no insertions/deletions were observed. The sequences of *12S* and *16S+L1+nad1* were aligned using the online version v. 7 of the automatic alignment program MAFFT (Katoh et al., 2002) using the G-INS-I algorithm. The aligned mitochondrial gene fragments were concatenated resulting in a matrix of 19 taxa (i.e. all the individuals that had the sequences for all genes). Additionally, a *cox1* matrix was constructed including 29 individuals. Nucleotide ( $\pi_n$ ) and haplotype (*h*) diversity, and the number of haplotypes were calculated using DnaSP version 6.11.01 (Rozas et al., 2017). Haplotype networks were estimated using statistical parsimony in TCS (Clement et al., 2002) and implemented in PopART program version v 1.7 (Leigh et al., 2015). The statistical indices and the haplotype networks were calculated and constructed, respectively, using both the concatenated mitochondrial and *cox1* matrices.

The Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) (Pons et al., 2006; Fontaneto et al. 2007) analysis was performed using the concatenated mitochondrial matrix to assess if the morphotypes corresponded to independent evolving entities. The GMYC analysis was conducted at the GMYC web server using the single-threshold option. The ultrametric tree required for the analyses was estimated in BEAST v1.8.4 (Drummond & Rambaut 2007), under a strict clock and mean rate fixed at 1. The coalescent constant size model was specified as tree prior. Two independent runs of  $10^7$  generations were performed and sampling every  $10^3$  generations.

Convergence and mixing of MCMC (Markov Chain Monte Carlo) chains were assessed with TRACER v1.7.1 (Rambaut et al., 2018). Independent runs were combined with LogCombiner (10% burn-in), and we used Tree Annotator to summarize the information from the sampled trees.

Finally, maximum likelihood (ML) analyses were conducted with the aim of assessing the phylogenetic position of the studied species within Lycosidae. In these analyses we included the *cox1* and *12S* sequences generated in this study (Table 1) and sequences of *cox1*, *12S*, *nad1*, *h3* and *28S* deposited in GenBank and BOLD System from representatives of subfamilies of Lycosidae (see the list in Table 1 Supplemental file). For the selection of the terminals, we followed Piacentini & Ramirez (2019). The best partition scheme was selected with PartitionFinder2 (Lanfear et al., 2017) and ML analysis was performed with RAxML v8 (Stamatakis 2014). Both analyses were run remotely at the CIPRES portal (Miller et al., 2010). ML analyses were conducted selecting the rapid bootstrapping algorithm and the search for the best-scoring ML tree in one single run. The majority-rule criterion was used to automatically halt bootstrapping. The tree was visualized with the program FigTree v1.4.4..

### 3. Results

#### 3.1. Taxonomy

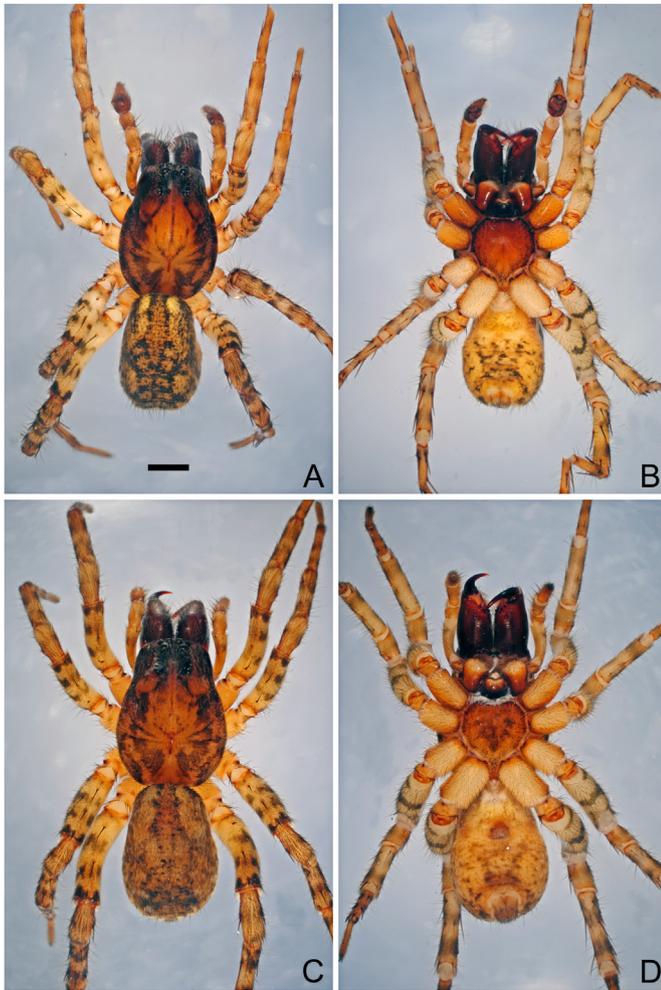
Lycosidae Sundevall

*Paratrochosina* Roewer.

*P. amica* (Mello-Leitão) (Figs. 1–9).

*A. amica* Mello-Leitão, 1941: 121, pl. 4, f. 14 (Dm).

*P. amica* Roewer, 1955: 282.



**Fig. 1.** *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941), habitus (A–B) male (FCE-Ar 10925) (A) dorsal (B) ventral (C–D) female (FCE-Ar 10926) (C) dorsal (D) ventral. Scale bar: 1 mm.

**Type material.** Male holotype from Anisacate [31°43'20"S, 64°24'14"W], Córdoba, Argentina, M. Birabén deposited at MLP with number 14670. Examined.

**Diagnosis.** *Paratrochosina amica* can be distinguished from *A. senex* and *A. marindia* by the lateral anterior spinnerets, shorter in *P. amica* (Fig. 1) and by body length, which is similar in males and females of *P. amica* (see in variation). Differs from males of *Allocosa yuray* (Strand 1908), *Allocosa alticeps* (Mello-Leitão 1944) and *Allocosa brasiliensis* (Petrunkevitch 1910) by the smaller and less conspicuous apical macrosetae of the cymbium (Fig. 2A–C; 3D). Differs from Neartic and Central American species of *Allocosa* by the setaceous carapace and higher cephalic area (Fig. 1A and C).

**Taxonomic note.** The illustration and description of *P. insolita* provided by Koch (1879) show the female epigyne with an inverted T shape septum and two lateral broad atria, characters that exclude this species and genus from Allocosinae. It is not possible to include *P. amica* in other described taxon of the subfamily considering the current knowledge on the taxonomy of South American Allocosinae species.

**Description. Female** (FCE-Ar 10926). Colour in ethanol (Fig. 1C and D): carapace light brown with several bristles. Median band light. Irregular marginal yellowish bands. Sternum light brown with darker spots in the centre and with more abundant bristles on the margins. Labium dark brown and yellowish in the apex. Chelicerae

reddish-brown covered with brown bristles; three promarginal (the median larger), and three retromarginal teeth (the basal smaller). Abdomen yellowish, with cardiac band brown with two longitudinal parallel lines of dark spots. Venter yellowish with several dark spots; spinnerets yellowish; ALS and PMS with two segments and similar in size; PMS with one segment; spigots shown in Fig. 4D. Coxae yellowish. Femora, patellae, tibiae, tarsi and metatarsi yellowish with dark bands. Scopulae on legs I and II from ventral tarsi and metatarsi, on legs III and IV only on tarsi. Epigyne constituted by a setaceous plate with lateral and posterior projections (Figs. 1D, 2H and 3A); copulatory openings located at the posterior margin of the epigynal plate (Figs. 2I, 3A–B). Vulva: head of the spermathecae rounded with an apical projection, conspicuous stalk and vulval chambers ventrally situated (Figs. 2I and 3B). Spination pattern: femur I p 1ap d 1-1-1ap, II p 1ap d 1-1-1ap, III p 1ap d 1-1-1ap, IV d 1-1-1ap; patella II p 1, III p 1, r 1, IV p 1 r 1; tibia I p 0-1-0 v 1bristle-1-0, II p 1-0-1 v 1-1-0, III p 0-1-1 d 1bristle-1-0 r 1-1-0 v 1(1bristle)-1(1bristle)-2ap, IV p 1-0-1 d 0-0-1 r 1-0-1 v 1(1bristle)-1(1bristle)-2ap; metatarsus I p 0-1-2ap v 2-0-1ap, II p 0-1-2ap v 2-0-1ap, III p 1-1-1 d 0-0-2ap r 1-1-1ap v 2-2-1ap, IV p 1-1-2ap r 1-1-2ap v 1-1-0.

**Male** (FCE-Ar 10925). Colour in ethanol (Fig. 1A and B): as in female but with more contrasted colours, except by the sternum without dark spots. Palp with tibia longer than wide (Fig. 2B). Spinneret's spigots shown in Fig. 4A–C. Cymbium brownish with two macrosetae at the tip (Fig. 2A–C, 3D); tegulum large, occupying most of the ventral side of the bulb (Fig. 2B–E, 3C); median apophysis bifid and curved ventrally, with a larger apical branch; embolus slender (Fig. 2B–G, 3C); palea with terminal apophysis with pointed end (Fig. 2B–E, 3C). Spination pattern: femur I p 1ap d 1-1-1ap, II p 1ap d 1-1-1ap, III d 1-1-1 r 1ap, IV d 1-1-1; patella I p 1bristle II p 1, III p 1, r 1, IV p 1 r 1; tibia I p 0-1-(1bristle)-1 v 2-0-2, II p 1-0-1 v 1-1-2ap, III p 1-1-0 d 0-1-0 r 1-1-0 v 2-2-2, IV p 1-1-0 d 1bristle-1-0 r 1-1-0 v 2-2-2; metatarsus I p 0-2-1ap r 2ap v 2-2-1ap, II p 0-1-1ap r 2ap v 2-2-1ap, III p 1-1-1 r 1-1-1 v 2-2-1ap, IV p 1-1-2 r 1-1-2 v 1-1-1.

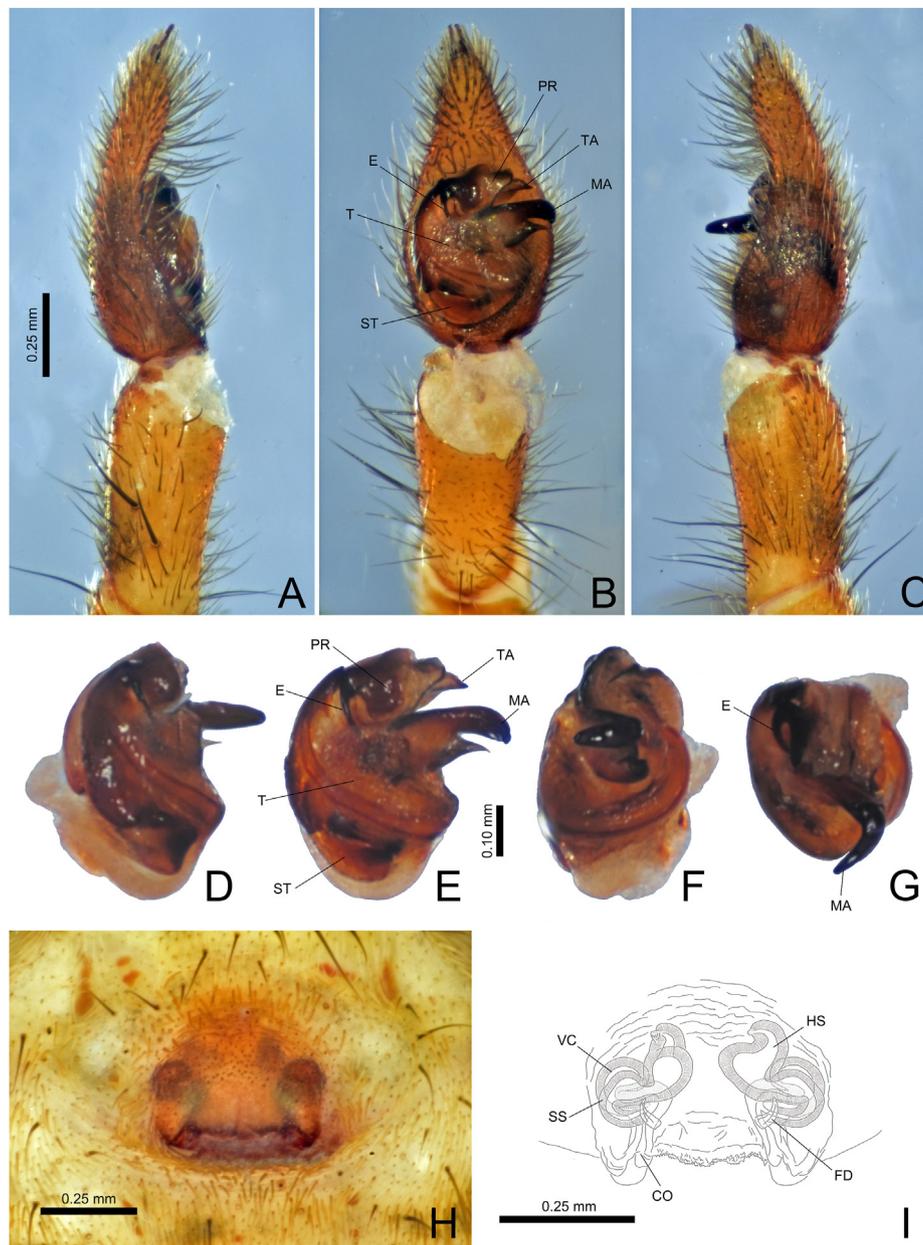
**Measurements.** Female, FCE-Ar 10926 (Male, FCE-Ar 10925). Leg formula: 4123 (4123). TL 6.70 (5.80), CW 2.65 (2.35). Eyes: AME 0.15 (0.15), ALE 0.12 (0.12), PME 0.20 (0.22), PLE 0.22 (0.22). Row of eyes: AER 0.75 (0.75), PME 0.70 (0.70), PLE 0.95 (0.90). Legs: segment lengths (femur + patella/tibia + metatarsus + tarsus = total length): I 2.10 + 2.65 + 1.45 + 0.95 = 7.15, II 1.90 + 2.60 + 1.40 + 0.90 = 6.80, III 1.95 + 2.15 + 1.65 + 0.90 = 6.65, IV 2.50 + 3.10 + 2.60 + 1.25 = 9.45 (I 1.95 + 2.50 + 1.60 + 0.95 = 7.00, II 1.75 + 2.20 + 1.40 + 0.90 = 6.25, III 1.70 + 1.95 + 1.60 + 0.90 = 6.15, IV 2.15 + 2.75 + 2.35 + 1.10 = 8.35).

**Variation.** Female (male) (range, mean ± SD): TL 6.10–8.00, 7.30 ± 0.85; CW 2.40–2.75, 2.60 ± 0.15; n = 5 (TL 5.30–6.10, 6.00 ± 0.54; CW 2.35–2.60, 2.43 ± 0.10; n = 5).

**Colour patterns:** based on the colour patterns of live specimens from Melilla and IIBCE we recognized three morphotypes. Morphotype 1, individuals present a general brown colour and without dark bands on legs (Fig. 5A). Morphotype 2, darker than morphotype 1 and with dark bands on legs (Fig. 5C–D). Morphotype 3, habitus light brown without dark bands on legs (Fig. 5B).

**Distribution.** The species presents a wide distribution in Southern South America: Argentina (Buenos Aires, Catamarca, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Jujuy, La Rioja, Misiones, Mendoza, Tucumán, Río Negro, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe), Brazil (Río Grande do Sul) and Uruguay (Canelones, Maldonado, Montevideo, Paysandú, Rocha, San José, Treinta y Tres) (Fig. 6).

**Natural history.** The specimens from Uruguay belonging to the three morphotypes were found walking at night in suburban low

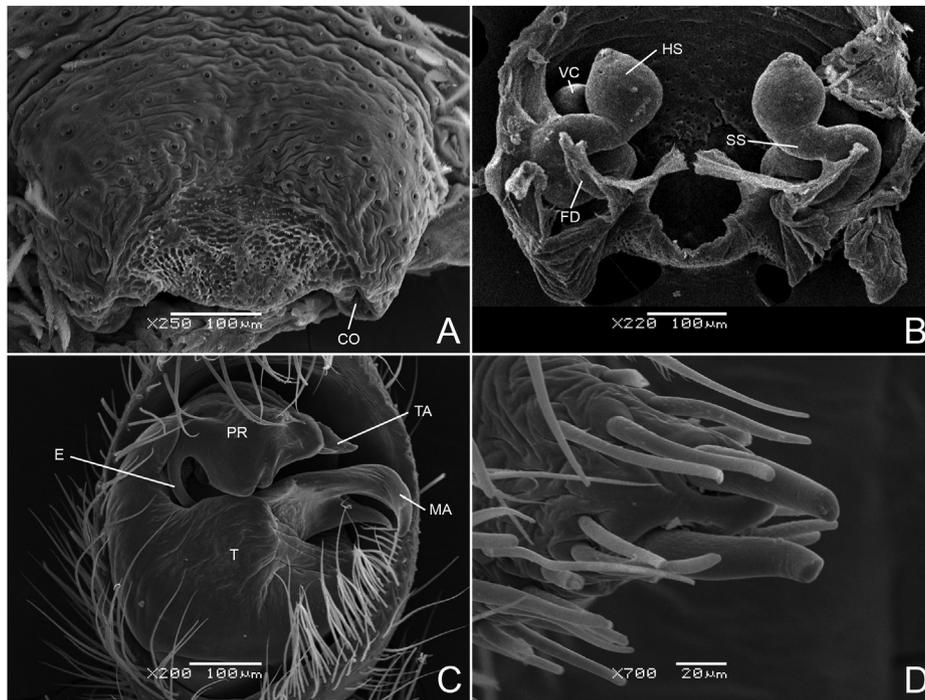


**Fig. 2.** *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941), male (FCE-Ar 10925) and female (FCE-Ar 10926) genitalia (A–C) pedipalp general view (A) prolateral (B) ventral (C) retrolateral (D–G) bulb (D) prolateral (E) ventral (F) retrolateral (G) apical (H) epigyne ventral view (I) vulva dorsal view. Abbreviations: CO, copulatory opening; E, embolus; HS, head of the spermatheca; MA, median apophysis; PR, palea region; SS, stalk of the spermatheca; ST, sub tegulum; T, tegulum; TA, terminal apophysis; VC, vulval chamber.

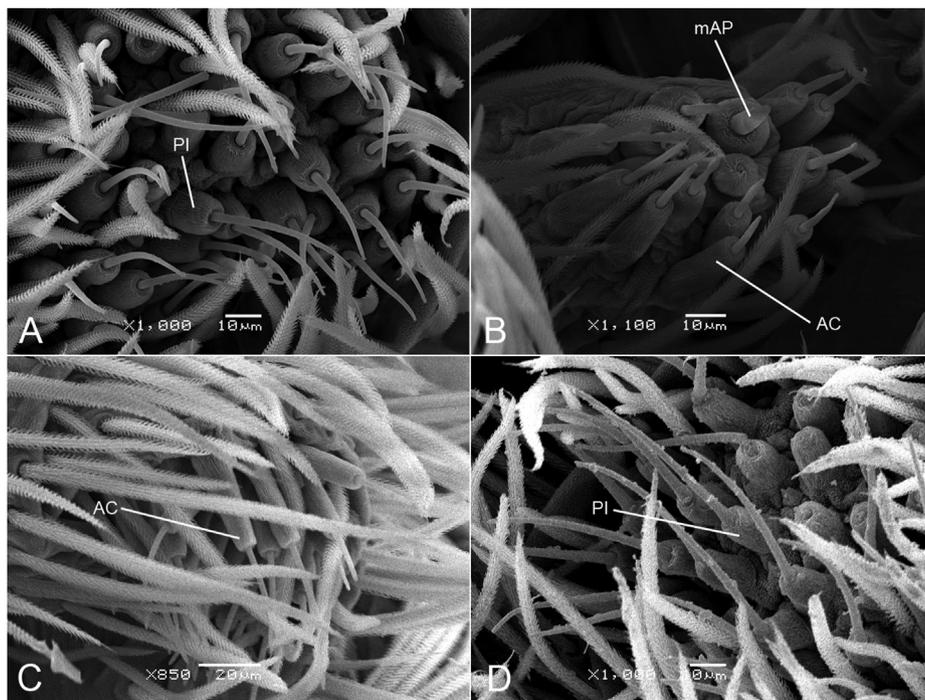
grass gardens and open grasslands in natural areas (Fig. 7C–D); something similar occurred in Brazil where the species was found walking on short grass close to buildings (Fig. 7B). The specimens from Córdoba were captured in pitfall traps placed in grasslands at 1854 m height (Fig. 7A).

**Other material examined.** ARGENTINA: *Jujuy*: Parque Nacional Calilegua, Seccional Aguas Negras (23°42'41.8"S 64°54'41.7"W), 06–11.XII. 2008, C.J. Grismado, M. Izquierdo, F.M. Labarque, G.D. Rubio, M. Burger, P. Michalik, P. Carrera, A.A. Ojanguren Affilastro and C. Mattoni, 1 ♂ (MACN-Ar 32893). *Salta*: Camino entre El Rey y Lumbrera [25°5'17.4"S 64°40'14.5"W], 17.XI. 1966, Galiano, 1 ♂ (MACN-Ar 42005). Parque Nacional El Rey [24°42'59.9"S 64°38'19.2"W], 14.XI. 1966, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 42003). *Misiones*: Puerto Bemberg [25°54'55.4"S 54°37'11.2"W], X.1987, R. Crifila, 1 ♀ (MACN 42024). San Pedro [26°37'17.7"S 54°6'33.5"W],

XI. 1940, Exp. Z. Seravaglieri – Armanini, 1 ♂ (MACN-Ar 1058). *Tucumán*: Horco Molle [26°47'33.8"S 65°19'6.3"W], 23.X.1963, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 41992). San Javier [32°1'55.0"S 65°2'58.7"W], II. 1943, Exc. Maniglia, Cravio, 1 ♀ (MACN-Ar 41994). *Catamarca*: Los Talas [27°58'0.0"S 65°52'0.0"W], 15.II. 1953, Partridge, 1 ♀, 1 immature (MACN-Ar- 42023). *La Rioja*: Base del Famatina, altitude 2115m [28°50'02"S 67°38'35"W], 30.I.2006, L. N. Piacentini, L. Compagnucci and A. Ojanguren, 3 ♀, 11 immatures (MACN-Ar 41995). *Córdoba*: Uchacha, Laguna La Felipa [33°8'0.9"S 63°32'50.1"W], 13–14.II. 2006, M. Izquierdo, 1 ♀ (MACN-Ar 28956); same data, 1 ♂, 1 immature (MACN-Ar 35219); same locality and collector, 12.IV. 2006, 1 ♂ (MACN-Ar 28957); same locality and collector, 21–23.III. 2006, 1 ♀ (MACN-Ar 28959). Camino a Pampa de Achala [31°41'9.2"S 64°50'30.8"W], 16.XI. 1984, Galiano, 1 ♀ (MACN-Ar 41999). El Sauce, Calamuchita [32°31'45.8"S



**Fig. 3.** SEM images of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) (A–B) female genitalia (A) epigyne ventral view (FCE-Ar 10947) (B) vulva dorsal view (FCE-Ar 11460) (C) bulb, ventral view (FCE-Ar 11653) (D) apical macrosetae of cymbium (FCE-Ar 11653). Abbreviations: CO, copulatory opening, E, embolus; FD, fertilization ducts; HS, head of spermatheca; MA, median apophysis; PR, palea region; SS, stalk of the spermatheca; T, tegulum; TA, terminal apophysis; VC, vulval chamber.



**Fig. 4.** SEM images of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941), spinnerets (A–C) male (FCE-Ar 11653) and (D) female (FCE-Ar 11461) (A) left ALS (B) right PMS (C) left PLS (D) right ALS. Abbreviations: AC, aciniform gland spigot; mAP, minor ampullate gland spigot; PI, piriform spigot.

64°34'59.8"W], XII. 1939, J. M. Viana, 1 ♀ (MACN-Ar 876). Los Gigantes [31°23'43.9"S 64°47'16.9"W], 21.VII-4.IX. 2019, M. Izquierdo, pitfall traps in grasslands, 1 ♀ (FCE-Ar 10928); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 10927); same data, 3 ♂, 2 ♀, 2 immatures (LABRE-Ar 535). *San Juan*: Parque Provincial Valle Fértil, playa del dique San

Agustín [30°38'23.0"S 67°28'58.3"W, 06–07.XII. 2014), L.N. Piacentini and E.M. Soto, 1 ♀ (MACN-Ar 33423); same locality and collector, 12.VI. 2014, 1 ♀ (MACN-Ar 33457). *San Luis*: Cortaderas [32°30'23.8"S 64°59'2.1"W], 10.XI. 1982, A. Roig, 1 ♀ (MACN-Ar 42006); same date and collector [32°30'19.3"S 64°59'4.7"W], 1 ♀



Fig. 5. *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) living specimens (A) morphotype 1 female from Melilla (B) morphotype 2 female from Melilla (C) morphotype 3 female from IIBCE.



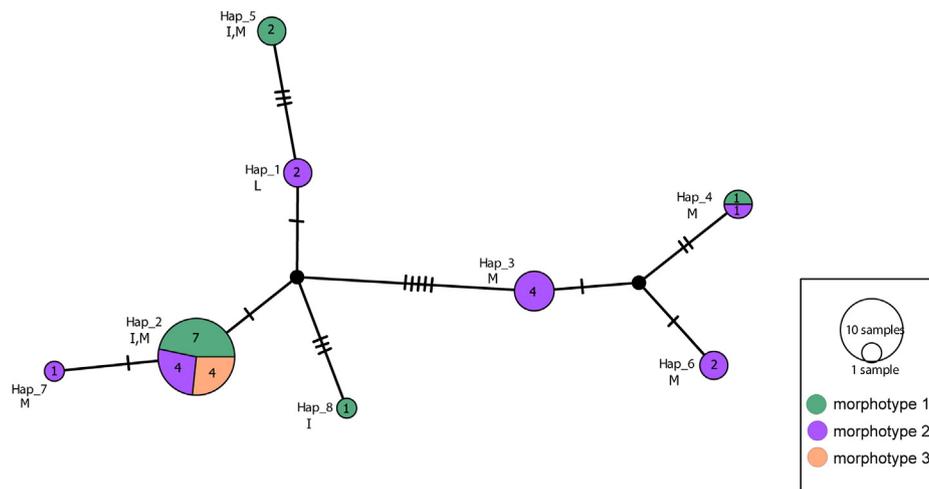
Fig. 6. Distribution records of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941).

(MACN-Ar 42001). *Mendoza*: San Rafael [34°37'13.1"S 68°20'10.3"W], 24–25.XII. 2012, G.D. Rubio, 1 ♂ (MACN-Ar 29995). Laguna Coipo Lauquen [36°34'32.9"S 69°49'35.2"W], 1.1975, Maury, 1 ♀ (MACN-Ar 42013). *Santa Fe*: Calchaquí, Laguna El Cristal [30°1'59.6"S 60°4'39.9"W], 07.XII. 2010, I. Ortega Insaurralde, 1 ♀ (MACN-Ar 27475). Tambo, 15 Km al N de Esperanza, lindero al Río Salado (31°18'49.3"S 60°55'49.3"W), 04.VIII. 2011, J.A. Sarquis, 1 ♂ (MACN-Ar 35264); same locality and collector, 11.IV. 2011, 1 ♂ (MACN-Ar 35263); same data, 1 ♀ (MACN-Ar 35214), same locality and collector, 20.VII. 2011, 1 ♀ (MACN-Ar 35280). *Entre Ríos*: Villa Paranacito [33°41'16.2"S 59°01'26.9"W], 1.2010, E. N. López Carrión, and N. E. Olejnik, 1 ♀ (MACN-Ar 39009). *Buenos Aires*: Mar del Plata [37°59'50.0"S 57°34'35.7"W], 16–21.I.2008, N. Olejnik and, I. Cru-dele, 1 ♂ (MACN-Ar 39008). San Fernando [34°26'21.4"S 58°32'59.9"W], 2.XII. 2002, L. N. Piacentini, 1 ♀ (MACN-Ar 42008). San Isidro [34°29'0.0"S 58°31'56.1"W], II. 2007, M.J. Ramírez, 1 ♂ (MACN-Ar 24014). Ingeniero Adolfo Sourdeaux [34°30'3.0"S 58°39'40.35"W], 19.X.2009, L. N. Piacentini, 1 ♂ (MACN-Ar 27539); same locality and collector X-2002, 2 ♂, 1 ♀ (MACN-Ar 42018). Ingeniero Otamendi [34°13'49.5"S 58°54'20.9"W], 18.X.1997, B. Fuentes, 1 ♂ (MACN-Ar 28495); same locality and collector, 25.X.1997, 2 ♂, 1 ♀, 2 immatures (MACN-Ar 28496). Delta del Paraná, 3ra sección, Río Barca Grande and Arroyo Barquita (34°26'8.4"S 58°32'15.9"W), 24.I–26.I.2012, L. Zapata and C. J. Grismado, 1 ♂ (MACN-Ar 31196). Ringuet (34°53'4.8"S 57°59'9.9"W), 25.XI. 2017, A. Pérez González, 1 ♂ (MACN-Ar 35999). Carlos Casares

[35°37'18.5"S 61°21'39.3"W], 1978–1979, Goloboff, 1 ♂ (MACN-Ar 42032); same data, 1 ♂ (MACN-Ar 42033). Bella Vista [34°33'49.1"S 58°41'27.6"W], 23.XII. 2002, C. Pautazzo, 1 ♀ (MACN-Ar 41998). Partido de Campana, Estación Río Luján del F.C. Nac. Mitre [34°16'51.8"S 58°53'28.9"W], 12.I.1980, Zanetic and P. Goloboff, 1 ♀ (MACN-Ar 42013). *Ciudad Autónoma de Buenos Aires*: Flores [34°38'7.2"S 58°27'27.5"W], II. 1962, Massoia, 1 ♂ (MACN-Ar 28974). Reserva Ecológica Costanera Sur, grasslands medium trail (34°36'30.1"S 58°21'15.9"W), 20.XII. 2008, P. Turienzo, 1 ♂ (MACN-Ar 39017); same locality, 16.II. 2009, A. Mamani and P. Turienzo, 1 ♀ (MACN-Ar 39026); Reserva Ecológica Costanera Sur, Laguna de los Macaés (34°36'22.6"S 58°20'55.7"W), 08.XI. 2008, P. Turienzo, 1 ♂ (MACN-Ar 39018); same locality, 16.2.2009, A. Mamani and P. Turienzo, 1 ♂ (MACN-Ar 39020); same locality and collector, 29.IX. 2008, 1 ♂ (MACN-Ar 39022); same locality and collector, 02.II. 2009, 1 ♀ (MACN-Ar 39023); same locality, 27.X.2008, A. Mamani, 1 ♂ (MACN-Ar 39013). *Río Negro*: Balneario Fortín Lagunita 4.3 km (por aire) SE Ingeniero Luis A. Huergo (39°6'18.7"S 67°13'7.6"W), 20–22.I.2015, L.N. Piacentini, 1 ♂ (MACN-Ar 34448); same data, 1 ♀ (MACN-Ar 34449). Viedma [40°49'8.2"S 63°0'9.2"W], 1.2013, H.A. Iuri, 1 ♀ (MACN-Ar 30118); same data, 1 ♀ (MACN-Ar 30119); same data, 1 ♂ (MACN-Ar 30120). *BRAZIL: Río Grande do Sul*: Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata, PUCRS [29°28'50.4"S 50°10'27.2"W], 17.X.2018, F. Bollati, Á. Laborda, M. Izquierdo, R. Teixeira 13 ♂, 14 ♀, 2 immatures (MCTP 43598); same locality and collectors, 18.X.2018, 7 ♂, 2 ♀ (MCTP 43599); same



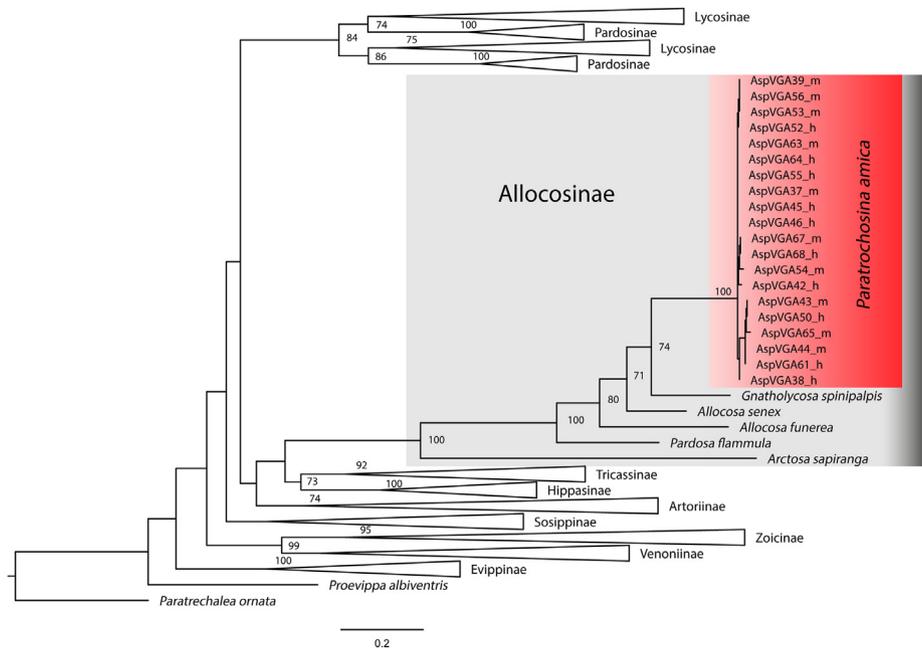
**Fig. 7.** Habitat of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) (A) Los Gigantes, Córdoba, Argentina (B) Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza PRÓ-MATA PUCRS, São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brazil (C) Melilla, Montevideo, Uruguay (D) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay.



**Fig. 8.** Haplotype network obtained from the *cox1* using TCS algorithm at the Popart program. Circles represent the haplotypes found and each colour and number represent the individuals identified as morphotype 1 (green), morphotype 2 (violet) and morphotype 3 (orange). Short lines on branches represent the number of mutations between haplotypes. Localities abbreviations: I (IIBCE, Montevideo, Uruguay), M (Melilla, Montevideo, Uruguay) and L (Los Gigantes, Córdoba, Argentina). (For interpretation of the references to color/colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

locality and collectors, 17.X.2018, 1 ♀ (MCTP 43600); same data, 1 ♀ (MCTP 43601); same data, 1 ♂ (MCTP 43602); same data, 1 ♂ (MCTP 43604); same data, 1 ♀ (MCTP 43605); same locality and collectors, 16.X.2018, 1 ♀ (MCTP 43603). URUGUAY: *Paysandú*: Ciudad de Paysandú [32°19'16.7"S 58°04'31.8"W], 24.VIII. 2009, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 2829). *Treinta y Tres*: Charqueada [33°12'17"S 53°48'18"W], 26.XII. 2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♀ (FCE-Ar 8271); same data, 26.XII. 2013, 1 ♂, 2 ♀ (FCE-Ar 8298); same locality and collectors, 14.XI. 2013, 1 ♂, 1 ♀ (FCE-Ar 8280); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 8291); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 8296); same locality and collectors, 21.XI. 2015, 1 ♀ (FCE-Ar 8307); same locality and collectors, 21.X.2015, 1 ♂ (FCE-Ar 8345); same data, 2 ♂, 1 ♀ (FCE-Ar 8356);

same locality, 21.X.2015, L. Bao, M. Carballo, 1 ♀ (FCE-Ar 8304); same locality, 12.XII. 2014, L. Bao, L. Casales, M. Carballo, 2 ♂ (FCE-Ar 8279); same locality, 12.II. 2015, L. Bao, M. Carballo, 2 ♀ (FCE-Ar 8308). Julio María Sanz [33°09'50"S 54°07'21"W], 19.XI. 2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♂ (FCE-Ar 8297). Ruta 17 Km 328 [33°13'11"S 53°59'08"W], 14.XI. 2013, L. Bao, L. Casales, 1 ♂ (FCE-Ar 8277); same locality and collectors, 28.XI. 2013, 1 ♂ (FCE-Ar 8269); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 8278); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 8281); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 8340); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 8283); same locality and collectors, 26.XII. 2013, 1 ♀ (FCE-Ar 8263); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 8282); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 8300). *San José*: San José de Mayo [34°20'54"S 56°42'27"W], XI. 2013, M. Lacava and L.F. García



**Fig. 9.** Maximum-likelihood tree of representatives of subfamilies of Lycosidae obtained from the preferred partition scheme. Subfamilies of Lycosidae are collapsed. Colour boxes represent individuals of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941) in red and Allicosinae subfamily in grey. Only bootstrap with support >70% is indicated. (For interpretation of the references to color/colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

Hernández, 1 ♂ (MACN-Ar 31093). *Canelones*: Balneario Lagomar [34°50'31.9"S 55°58'59.9"W], 28.X.2004, M. Simó, 2 ♀, 2 ♂ (FCE-Ar 2713). Estación Pedrera, Establecimiento "Las Luciérnagas" [34°36'59.8"S 55°48'59.8"W], 12.XII. 2002, F.G. Costa and G. Useta, 1 ♀ (FCE-Ar 2719). Las Piedras [34°43'59.9"S 56°12'59.8"W], 19.XII. 2003, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 2795); same locality and collector, 28.IX. 2005, 1 ♀ (FCE-Ar 2796). Villa Argentina [34°46'0.6"S 55°46'43.4"W], IV. 2009, M. Simó, 1 ♂ (FCE-Ar 4561). Ruta 5, Río Sta. Lucía, Paso Pache [34°23'01"S 56°16'57"W], 1.III. 2015, M. Simó, 2 ♂, 2 ♀ (FCE-Ar 7892). San Jacinto [34°30'48.2"S 55°57'38.8"W], 12.II. 2021, N. Kacevas, 1 ♀ (FCE-Ar 12255). *Maldonado*: Sierra de Carapé [34°31'18"S 54°58'37"W], 13.IV. 2019, D. Hagopían, 1 ♂, 3 ♀, 1 immature (FCE-Ar 11652). *Montevideo*: Arroyo Miguelete B [34°51'36.8"S 56°12'35.7"W], 12.IV. 2009, F.G. Costa, 1 ♂ (FCE-Ar 4560). Barrio Malvín Norte [34°52'56.9"S 56°07'05.8"W], 22.II. 2005, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 6800). Barrio Portones [34°53'26.5"S 56°5'4.1"W], 19.VIII. 2013, Á. Laborda, 1 ♂ (FCE-Ar 4687). Barrio Prado [34°51'47.1"S 56°12'07.0"W], 20.IX. 2003, F.G. Costa, 1 ♂ (FCE-Ar 1037); same locality and collector, 24.II. 2009, 1 ♀ (FCE-Ar 4558); same locality and collector, 6.XII. 2008, 1 ♀ (FCE-Ar 4559). *Euskalerría* [34°52'31.9"S 56°07'07.8"W], 22.X.2005, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 2794). Facultad de Ciencias [34°46'49.9"S 55°49'34.1"W], 16.X.2014, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 6220). Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) [34°53'15.6"S 56°08'34.8"W], X.2010, F.G. Costa, 1 ♀ (FCE-Ar 4562); same locality, 31.I.2018, N. Kacevas, M. Simó and V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 9214); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11437); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11438); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11439); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11440); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11441); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11442); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11443); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11444); 01.II. 2018, A. Albín, Á. Laborda and V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 9348); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11445); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11446); 02.II. 2018, D. Cavassa, R. Postiglioni and V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 11447); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11448); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11449); same locality, 20.III. 2020, Á. Laborda, and V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 10935); same locality and collectors, 16.IV. 2020, 1 ♂ (FCE-Ar 10936); same locality, 20.XI.

2019, P. Pintos and C. Perafán, 1 ♀ (FCE-Ar 10948); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 10937). Melilla [34°43'53"S 56°19'23.4"W], 20.III. 2018, L. Bidegaray, Á. Laborda and V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 10227); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11450); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11451); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11452); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11453); same locality, 21.III. 2018, A. Aisenberg, M. Simó and V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 10228); same data, 1 immature (FCE-Ar 11454); same locality, 22.III. 2018, A. Albín, R. Postiglioni and V. Gonnet, 1 ♂ (FCE-Ar 11455); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 11456); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 11457); same locality, 18.IX. 2018, V. Gonnet, D. Cavassa and D. Hagopían, 1 ♂ (FCE-Ar 11458); same locality, 5.II. 2019, N. Kacevas, D. Hagopían and V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 11459); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 10930); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 10947); same locality and collectors, 8.IV. 2019, 1 ♂ (FCE-Ar 10931); same locality, 20.II. 2020, D. Hagopían, R. Postiglioni and V. Gonnet, 1 ♀ (FCE-Ar 11461). Melilla airport [34°46'59.9"S 56°15'00.0"W], 23.X.2002, F.G. Costa, M. Simó, 1 ♀ (FCE-Ar 2722); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 2727); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 2728); same data, 1 ♂ (FCE-Ar 2729). *Rocha*: Cabo Polonio [34°24'00.0"S 53°46'59.9"W], 21.XII-31.XII. 2004, F. Achával, 3 ♂, 5 ♀ (FCE-Ar 2808). Laguna de Castillos [34°16'1.5"S 53°58'1.5"W], 19.V.1993, M. Ramírez, F. Pérez-Miles, 1 ♀ (MACN-Ar 42012). La Paloma, Playa La Serena [34°39'25"S 54°12'09"W], 2.XII. 2019, C. Toscano-Gadea, 1 ♀ (FCE-Ar 10932); same locality, 3.XII. 2019, N. Kacevas, 1 ♀ (FCE-Ar 10933). Paraje Alférez [33°51'53"S 54°20'22.5"W], 20.III. 2019, M. González, N. Kacevas, D. Cavassa, L. Bidegaray and V. Gonnet, 1 ♀, 3 ♂ (FCE-Ar 10934). Potrero Grande [33°53'59.8"S 53°43'43.3"W], 3.III. 2001, C. Toscano-Gadea, 3 ♀ (FCE-Ar 2753); same data, 1 ♀ (FCE-Ar 2763); same locality and collector, 4.IV. 2001, 1 ♂ (FCE-Ar 2759); same locality and collector, 23.XII. 2000, 1 ♂ (FCE-Ar 2781). Santa Teresa [34°0'1.4"S 53°32'18.2"W], 24.XI. 2013, Á. Laborda, 1 ♀ (FCE-Ar 6555).

### 3.2. Molecular

We obtained sequences of *cox1* for 29 individuals (16 males, 12 females, 1 subadult male), 20 sequences of *12S* gene (10 males and

10 females) and 19 sequences of *16S*, *L1*, *nad1* gene (10 males and 9 females) (see Table 1 for more information). The alignment of *cox1* sequences yielded 657 characters. The MAFFT alignment of the *12S* and *16S+L1+nad1* genes yielded 266 and 708 characters, respectively. The mitochondrial genes were concatenated resulting in a combined matrix of 1631 characters.

The mitochondrial data set of the concatenated matrix included 12 haplotypes (excluding site with gaps/missing data) (Fig. 1 Supplemental file) while for the matrix of 29 individuals only for the *cox1* gene included 8 haplotypes (excluding sites with gaps/missing data) (Fig. 8). The nucleotide diversity ( $\pi_n$ ) in the concatenated matrix was 0,00652 (0,65%) while for the *cox1* matrix was 0,00658 (0,66%). The haplotype diversity ( $h$ ) was 0,918 and 0,717, respectively.

Results of the maximum likelihood (ML) analyses are summarized in Fig. 9. The analysis showed a close relation between the individuals from Melilla and IIBCE from Uruguay and Los Gigantes from Argentina (locality near type locality of *P. amica*). All the sequenced individuals constitute a monophyletic group and are placed in the Allocosinae subfamily (see *P. amica* clade coloured in red in Fig. 9). Both, mitochondrial concatenated and *cox1* haplotypes networks did not show a relationship pattern between haplotypes and morphotypes (Figs. 8 and 1 Supplemental file). As an example, in the *cox1* haplotype network, the haplotype 2 is the most dominant and include individuals of the three morphotypes from the localities of Melilla and IIBCE (see Fig. 8). Furthermore, the GMYC model did not identify independent evolutionary lineages between morphotypes. Consequently, all haplotypes belong to the same single coalescent group, conforming a unique lineage without genetic differentiation between the three morphotypes.

#### 4. Discussion

In this paper we carried out an integrative study using a morphological and molecular approach. The female of this species is described for the first time and we also redescribed the male. We corroborated the phylogenetic position of *P. amica* in Lycosidae. Finally, we performed a genetic characterization of the species, which corroborates that the three morphotypes recognized by design and colour patterns (from two localities of Uruguay and one of Argentina) belong to the same species.

Our phylogeny, based on molecular data place *P. amica* in Allocosinae, as sister group of *Gnatholycosa spinipalpis* Mello-Leitão, 1940 (Fig. 9). This position is also supported by morphological data, since males of *P. amica* have beak-like terminal apophysis, bifid median apophysis, and females have the epigynum without median septum and atrium, characters indicated by Dondale (1986) as diagnostic for the subfamily. The original description of the type species of the genus *Paratrochosina*, *P. insolita*, revealed that the genital morphology of this species does not present the diagnostic characters of Allocosinae. This led us to indicate that this species is not congeneric with *P. amica* and to exclude *P. insolita* and the genus *Paratrochosina* from this subfamily. Despite the results obtained, we avoid transferring *P. amica* to *Gnatholycosa* Mello-Leitão, 1940 or *Allocosa* since the limits of those two genera are not resolved yet. Additionally, based on haplotype networks (Figs. 8 and 1 Supplemental file), we confirm the co-specificity of males and females of each morphotype. Also, our molecular results throughout the GMYC model showed that these three morphotypes did not differ genetically and support the results found regarding their distribution in the haplotype network. This evidence is congruent with the morphological analysis, which indicated that the three morphotypes showed a similar genital morphology. Furthermore, for the species identity we included exemplars from Los Gigantes, Córdoba, Argentina, collected near to the type locality, in the

molecular analyses. In Uruguay the three morphotypes were found in similar microhabitats, in grasslands or gardens in urban and suburban areas.

Future studies will focus on the phylogenetic relationships of the species including other representatives of the subfamily. With the aim to determine if sex role reversal is present in *P. amica*, as in other members of Allocosinae (Aisenberg et al., 2007; Aisenberg & Costa 2008), field sampling to study mobility according to sex, morphometric studies of sexual size dimorphism and descriptions of sexual behaviour of this species from grasslands will be performed.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgments

We thank A. Albín, N. Bou, M. Casacuberta, T. Casacuberta, D. Cavassa, L. Coelho, M. Hilario, H. Juan, N. Kacevas, N. Oliveri, C. Perafán, P. Pintos, R. Postiglioni, L. Rivoir and N. Ríos, for their collaboration during fieldwork. We are grateful to M. Casacuberta for pictures of the spiders in their natural habitat. We also thank M. Ramírez for providing access to specimens and information from MACN collection. We also extend our gratitude to A. L. Reyes for her assistance with the SEM images. We are grateful to two anonymous referees and the Editor for their suggestions that improved the final version of the manuscript. This study was funded by Fondo Clemente Estable (FCE) - Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) project FCE\_1\_2017\_1\_136269, National Geographic WW204R\_17 project, American Arachnological Society, Animal Behavior Society, Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) project ID: 111, Universidad de la República and Dr. Carlos Carbajal Campi, FAICE GENBIO. A.A., L.B., M.S. and V.G. acknowledge support by PEDECIBA (Universidad de la República, Uruguay) and A.A., L.B. and M.S. also thank Sistema Nacional de Investigadores (ANII, Uruguay). This research was also funded by ANII grant code POS\_NAC\_M\_2020\_1\_164074 awarded to V. G.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2021.08.009>.

#### References

- Aisenberg, A., 2014. Adventurous females and demanding males: sex role reversal in a neotropical spider. In: Macedo, R.H., Machado, G. (Eds.), *Sexual Selection: Perspectives and Models from the Neotropics*. Elsevier, USA, pp. 163–182. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416028-6.00006-2>.
- Aisenberg, A., Costa, F.G., 2008. Reproductive isolation and sex-role reversal in two sympatric sand-dwelling wolf spiders of the genus *Allocosa*. *Can. J. Zool.* 86 (7), 648–658. <https://doi.org/10.1139/Z08-040>.
- 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). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62, 29–35. <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0435-x>.
- Aisenberg, A., Simó, M., Jorge, C., 2011. Spider as a model towards the conservation of coastal sand dunes in Uruguay. In: Murphy, J.A. (Ed.), *Sand Dunes: Conservation, Shapes/Types and Desertification*. Nova Science Publishers, New York, pp. 75–93.
- Álvarez-Padilla, F., Galán-Sánchez, M.A., Salgueiro-Sepúlveda, F.J., 2020. A protocol for documenting spider biodiversity inventories with websites applied to a Mexican Tropical Wet Forest (Araneae: araneomorphae). *Zootaxa* 4722 (3), 241–269. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4722.3.3>.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I., 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22 (3), 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>.

- Brescovit, A., Tacuare-Ríos, A., 2013. Description of the female of *Allocosa yurae* (Strand, 1908) (Araneae: Lycosidae, Allocosinae). *Zootaxa* 3647 (3), 495–498. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3647.3.7>.
- Clement, M., Snell, Q., Walker, P., Posada, D., Crandall, K., 2002. TCS: estimating gene genealogies. Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings 2, 184.
- 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 hawaiiensis* (Araneae: Lycosidae). *J. Arachnol.* 19 (3), 210–214.
- DeSalle, R., Egan, M.G., Siddall, M., 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1905–1916. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1722>.
- Dondale, C.D., 1986. The subfamilies of wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Actas X Congreso Internacional de Aracnología, Jaca, España 1*, 327–332.
- Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007. BEAST: bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol.* 7, 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>.
- FigTree v1.4.4. Molecular evolution, phylogenetics and epidemiology. March, 2021. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- 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. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3 (5), 294–299.
- Fontaneto, D., Hernioui, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C., Barraclough, T.G., 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biol.* 5 (4), e87. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050087>.
- Ghione, S., Simó, M., Aisenberg, A., Costa, F.G., 2013. *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Lycosidae) as a bioindicator of coastal sand dunes in Uruguay. *Arachnology* 16 (3), 94–98. <https://doi.org/10.13156/100.016.0304>.
- Google Earth. <http://www.google.com/earth/index.html>. (Accessed 24 March 2021). Accessed.
- GMYC web server. <https://species.h-its.org/gmyc/>. (Accessed June 2020). Accessed.
- Hedin, M.C., Maddison, W.P., 2001. A combined molecular approach to phylogeny of the jumping spider subfamily Dendryphantinae (Araneae: salticidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 18 (3), 386–403. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0883>.
- Hudson, M.E., 2007. Sequencing breakthroughs for genomic ecology and evolutionary biology. *Mol. Ecol. Resour.* 8, 3–17. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.02019.x>.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., Miyata, T., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30 (14), 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>.
- Koch, L., 1879. Übersicht der von Dr Finsch in Westsibirien gesammelten Arachniden. *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.* 28, 481–490.
- Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T., Calcott, B., 2017. Partition-Finder2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 34 (3), 772–773. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>.
- Leigh, J.W., Bryant, D., 2015. PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.* 6 (9), 1110–1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>.
- Lemey, P., Salemi, M., Vandamme, A.M. (Eds.), 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. *Syst. Biodivers.* 8 (4), 531–553. <https://doi.org/10.1080/14772000.2010.535865>.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W., Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, pp. 1–8. New Orleans, LA.
- Mello-Leitão, C.F., 1941. Las arañas de Córdoba, La Rioja, Catamarca, Tucumán, Salta y Jujuy colectadas por los Profesores Birabén. *Rev. Mus. La Plata* 2 (12), 99–198.
- Padiál, J.M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences, M., 2010. The integrative future of taxonomy. *Front. Zool.* 7 (16), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-16>.
- Piacentini, L.N., Laborda, A., 2013. The South American wolf spider genus *birabenia* mello-leitão, 1941 (Araneae: Lycosidae: lycosinae). *Zootaxa* 3716. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3716.1.3>, 039–052.
- Piacentini, L.N., Ramírez, M.J., 2019. Hunting the wolf: a molecular phylogeny of the wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 136, 227–240. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.04.004>.
- Planas, E., Fernández-Montraveta, C., Ribera, C., 2013. Molecular systematics of the wolf spider genus *Lycosa* (Araneae: Lycosidae) in the western mediterranean basin. *Mol. Phylogenet. Evol.* 67 (2), 414–428. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.02.006>.
- Pons, J., Barraclough, T., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W., Vogler, A., 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Syst. Biol.* 55 (4), 595–609. <https://doi.org/10.1080/10635150600852011>.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G., Suchard, M.A., 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 67 (5), 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>.
- Roewer, C.F., 1951. Neue namen einiger araneen-arten. *Abh. Naturw. Ver. Bremen* 32, 437–456.
- Roewer, C.F., 1955. *Katalog der Araneae von 1758 bis 1940, bzw. 1954*. 2. Band, Abt. a (*Lycosaeformia*, *Dionycha* [excl. *Salticiformia*]). 2. Band, Abt. b (*Salticiformia*, *Cribellata*) (Synonyma-Verzeichnis, Gesamtindex). *Bull. Inst. R. Sc.Nat. Belg., Bruxelles*, p. 1751.
- Roewer, C.F., 1960. *Araneae Lycosaeformia II (Lycosidae) (Fortsetzung und Schluss)*. *Explor. Parc Nation. Upemba, Miss. G. F. de Witte* 55, 519–1040.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E., Sánchez-García, A., 2017. DnaSP v6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Mol. Biol. Evol.* 34 (12), 3299–3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>.
- Shorthouse, David P., 2010. SimpleMapp, an online tool to produce publication-quality point maps. <https://www.simplemapp.net>. (Accessed 24 March 2021).
- Simó, M., Lise, A.A., Pomposi, G., Laborda, A., 2017. On the taxonomy of southern South American species of the wolf spider genus *Allocosa* (Araneae: Lycosidae: Allocosinae). *Zootaxa* 4216 (3), 261–278. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4216.3.4>.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P.K., 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87 (6), 651–701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30 (9), 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>.
- Wheeler, W.C., Coddington, J.A., Crowley, L.M., Dimitrov, D., Goloboff, P.A., Griswold, C.E., Hormiga, G., Prendini, L., Ramírez, M.J., Sierwald, P., Almeida-Silva, L., Alvarez-Padilla, F., Arnedo, M.A., Benavides Silva, L.R., Benjamin, S.P., Bond, J.E., Grismado, C.J., Hasan, E., Hedin, M., Izquierdo, M.A., Labarque, F.M., Ledford, J., Lopardo, L., Maddison, W.P., Miller, J.A., Piacentini, L.N., Platnick, N.I., Polotow, D., Silva-Dávila, D., Scharff, N., Szűts, T., Ubick, D., Vink, C.J., Wood, H.M., Zhang, J., 2016. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics* 33 (6), 574–616. <https://doi.org/10.1111/cla.12182>.
- World Spider Catalog, 2021. World spider catalog. Version 22.0. Natural history museum bern. online at. <http://wsc.nmbe.ch>. March 2021.