



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**ESTUDO CROMOSSÔMICO EM ARANHAS DIMINUTAS, INCLUINDO OS PRIMEIROS  
REGISTROS PARA AS FAMÍLIAS PALPIMANIDAE E THERIDIOSOMATIDAE (ARANEAE,  
ARANEOMORPHAE)**

Débora Duarte Dutra

Dissertação apresentada à Fundação  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,  
como requisito à obtenção do título de Mestre  
em Biologia Animal.  
Área de concentração: Zoologia.

Orientador: Douglas de Araujo

Campo Grande, MS  
Março, 2022



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



RESOLUÇÃO Nº 201-CPOS/BIA/INBIO/UFMS, DE 01 DE FEVEREIRO DE 2022.

Aprova a composição da banca examinadora de dissertação da aluna DÉBORA DUARTE DUTRA.

**O PRESIDENTE DO COLEGIADO DE CURSO DO CURSO DE MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL**, do Instituto de Biociências, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, no uso de suas atribuições legais, resolve, **ad referendum**:

Aprovar a composição da banca examinadora de dissertação da aluna DÉBORA DUARTE DUTRA, intitulada "Estudo cromossômico em aranhas diminutas, incluindo os primeiros registros para as famílias Palpimanidae e Theridiosomatidae (Araneae, Araneomorphae)", sob a orientação do docente DOUGLAS DE ARAUJO, conforme segue:

DOUGLAS DE ARAUJO (UFMS - Presidente)

MARIELLE CRISTINA SCHNEIDER (UFMT)

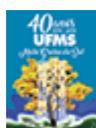
MATHEUS PIRES RINCÃO (UENP)

VIVIANE FAGUNDES DE MATTOS

MARGARIDA MARIA DE ROSSI VIEIRA (Suplente) (UFMS)

EDIHANNE GAMARRA ARGUELHO (Suplente) (UFMS)

DIOGO BORGES PROVETE,  
Presidente.



Documento assinado eletronicamente por **Diogo Borges Provete, Presidente de Colegiado**, em 01/02/2022, às 14:56, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufms.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3064442** e o código CRC **64946913**.

**COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

**Estudo cromossômico em aranhas diminutas, incluindo os primeiros registros para as famílias Palpimanidae e Theridosomatidae (Araneae, Araneomorphae)**

Débora Duarte Dutra

Dissertação apresentada à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Zoologia.

Orientador: Douglas de Araujo

Campo Grande, MS

Março, 2022

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente aos meus pais Elisângela e Carlos por todo amor e incentivo, por serem o meu alicerce e força para prosseguir e não desistir quando pensei que não era capaz. A minha irmã Anaelisa por sempre estar ao meu lado e por me suportar nos dias de estresse, por todo apoio e principalmente por sempre me ouvir quando precisava conversar.

Ao meu irmão Elizandro, minha cunhada Auriane e aos meus sobrinhos Ana Clara, Maria e Pedro pelo incentivo e suporte.

A minha tia Lurdes e ao meu tio Manuel que sempre me incentivaram a prosseguir nos estudos.

Ao meu namorado pelo companheirismo e a sua família por todo apoio e suporte, principalmente nas semanas de coletas.

A minha amiga Caroline por me auxiliar em diversas etapas desse mestrado e pela amizade construída desde a graduação.

A minha colega de laboratório Jennifer pela ajuda nas coletas dos exemplares, e ao Bruno e Lucas por toda ajuda oferecida especialmente durante os primeiros meses de iniciação científica, e por sempre estarem disponíveis quando eu tinha alguma dúvida.

Ao Dr. Antônio Domingos Brescovit, pela identificação taxonômica e tombamento das espécies analisadas neste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal e aos professores por contribuírem com minha formação.

Aos técnicos do Setor de Biologia Geral da UFMS pelo apoio.

Ao meu orientador Doutor Douglas de Araujo por me apresentar a pesquisa e por toda orientação, paciência, conselhos e incentivo desde o início da minha graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, a qual agradeço.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS/MEC – Brasil, a qual agradeço.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

## Resumo

As aranhas estão entre os grupos animais mais diversos do mundo, com 49.938 espécies distribuídas em 131 famílias. Apesar da grande diversidade apenas 835 espécies (1,6%) possuem dados cromossômicos disponíveis na literatura. Esta escassez de dados citogenéticos dificulta a discussão sobre a evolução cromossômica na maioria dos grupos dessa ordem, inclusive em famílias de aranhas diminutas como Oonopidae e Theridiosomatidae. O objetivo desse trabalho foi analisar cromossomicamente aranhas menores que um centímetro de comprimento, com a finalidade de contribuir para a discussão sobre a citotaxonomia e/ou evolução cromossômica dos grupos. As coletas foram realizadas em Mato Grosso do Sul e os indivíduos foram obtidos por busca ativa noturna, no caso de Theridiosomatidae, e pelo peneiramento de serapilheira com triagem manual do peneirado para os demais representantes. Na maioria dos casos, devido ao tamanho diminuto, o animal inteiro foi submetido ao tratamento com colchicina (0,16%, 2h), hipotônica (água de torneira, 15 min) e fixação em Carnoy I (metanol:ácido acético 3:1, mínimo 1h) com o conteúdo do abdômen parcialmente exposto para facilitar a ação dos reagentes. As lâminas foram preparadas com o conteúdo total do abdômen, exceto para os indivíduos de *Epicratinus* sp. e *Falconina* sp. em que a utilização apenas das gônadas foi possível, e posteriormente foram coradas com Giemsa (3%, 15 min). Ao todo, 12 espécies pertencentes a oito famílias foram analisadas. Os resultados encontrados foram  $2n_{\text{♀}}=36$  para *Otiotrops birabeni* (Palpimanidae),  $2n_{\text{♂}}=30$ ,  $X_1X_2$  para *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae),  $2n_{\text{♂}}=24$ ,  $X_1X_2$  em *Agyneta* sp. (Linyphiidae),  $2n_{\text{♂}}=22$ ,  $X_1X_2$  para *Coleosoma floridanum*, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2 (Theridiidae),  $2n_{\text{♂}}=28$ ,  $X_1X_2$  em *Falconina* sp. (Corinnidae),  $2n_{\text{♂}}=21$ , X para *Orthobula* sp. (Trachelidae),  $2n_{\text{♂}}=42$ ,  $X_1X_2$  para *Epicratinus* sp. (Zodariidae),  $2n_{\text{♂}}=9$ , X para *Cinetomorpha simplex* (Oonopidae), e  $2n_{\text{♂}}=7$ , X para *Neotrops* sp. e *Neoxyphinus termitophilus* (Oonopidae). A morfologia cromossômica na maioria das espécies foi telocêntrica, mas cromossomos com dois braços também foram encontrados. Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento sobre a evolução cariotípica em grupos pouco estudados de Araneomorphae, fornecendo os primeiros registros para famílias inteiras, como no caso de Palpimanidae e Theridiosomatidae. O número cromossômico relativamente alto encontrado em *O. birabeni* ( $2n_{\text{♀}}=36$ ) (Palpimanidae, não-entelegina) concorda com o cariótipo ancestral proposto para Entelegynae. Os resultados de *Naatlo* sp. ( $2n_{\text{♂}}=30$ ,  $X_1X_2$ ) revelaram um número diploide ainda não registrado para a superfamília Araneoidea, assim como a presença de cromossomos com dois braços, raramente registrada. Os dados obtidos em *Agyneta* sp., *C. floridanum*, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2 mostraram o mesmo padrão já descrito para a maioria das espécies cariotipadas nas famílias Linyphiidae ( $2n_{\text{♂}}=24$ ,  $X_1X_2$ ) e Theridiidae ( $2n_{\text{♂}}=22$ ,  $X_1X_2$ ). O número diploide encontrado em *Falconina* sp. ( $2n_{\text{♂}}=28$ )

distingue cromossomicamente até o momento a subfamília Castianeirinae da subfamília Corinninae. Os dados cromossômicos de *Orthobula* sp. ( $2n♂=21, X$ ) diferem daqueles encontrados para as outras espécies de Trachelidae já analisadas, concordando com filogenias propostas recentemente. O resultado encontrado em *Epicratinus* sp. ( $2n♂=42, X_1X_2$ ) foi semelhante em número diploide e sistema cromossômico sexual aos já relatados para *Pax islamita*, que pertence a subfamília e região geográfica distintas, o que sugere que este cariótipo seja ancestral para Zodariidae. O cariótipo encontrado em *Neotrops* sp. e *N. termitophilus* ( $2n♂=7, X$ ) é provavelmente o ancestral para Oonopidae, enquanto os dados cariotípicos de *C. simplex* ( $2n♂=9, X$ ) devem ser um caso particular em relação às outras espécies analisadas da família e pode ser considerado uma possível sinapomorfia para o gênero.

## Abstract

Spiders are amongst the most diverse animal groups in the world, with 49.938 species distributed in 131 families. Despite the great diversity, only 835 species (1,6%) have chromosomal data available in the literature. This scarcity of cytogenetic data makes it difficult to discuss chromosomal evolution in most groups of this order, including tiny spider families such as Oonopidae and Theridiosomatidae. The aim of this work was to chromosomally analyze spiders smaller than one centimeter in length, with the aim of contributing to the discussion on the cytotaxonomy and/or chromosomal evolution of the groups. The collections were carried out in Mato Grosso do Sul and by active nocturnal search, in the case of Theridiosomatidae, and by sieving litter, with manual screening of the sieved for the other representatives. In most cases, due to the small size, the entire animal was subjected to colchicine treatment (0,16%, 2h), hypotonic (tap water, 15 min) and fixation in Carnoy I (methanol:acetic acid 3:1, minimum 1h) with the contents of the abdomen partially exposed to facilitate the action of reagents. The slides were prepared with the total content of the abdomen, except for individuals of *Epicratinus* sp. and *Falconina* sp. in which the use only of the gonads was possible, and were later stained with Giemsa (3%, 15 min). Altogether 12 species belonging to eight families were analyzed. The results were  $2n_{\text{♀}}=36$  for *Otiiothops birabeni* (Palpimanidae),  $2n_{\text{♂}}=30$ ,  $X_1X_2$  for *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae),  $2n_{\text{♂}}=24$ ,  $X_1X_2$  in *Agyneta* sp. (Linyphiidae),  $2n_{\text{♂}}=22$ ,  $X_1X_2$  for *Coleosoma floridanum*, *Thymoites* sp.1 and *Thymoites* sp.2 (Theridiidae),  $2n_{\text{♂}}=28$ ,  $X_1X_2$  for *Falconina* sp. (Corinnidae),  $2n_{\text{♂}}=21$ , X for *Orthobula* sp. (Trachelidae),  $2n_{\text{♂}}=42$ ,  $X_1X_2$  for *Epicratinus* sp. (Zodariidae),  $2n_{\text{♂}}=9$ , X for *Cinetomorpha simplex* (Oonopidae), and  $2n_{\text{♂}}=7$ , X for *Neotrops* sp. and *Neoxyphinus termitophilus* (Oonopidae). The chromosome morphology in most species was telocentric, but chromosomes with two arms were also found. The obtained results contributed to the knowledge about the karyotypic evolution in poor studied groups of Araneomorphae, providing the first records for whole families, as in the case of Palpimanidae and Theridiosomatidae. The relatively high chromosome number found in *O. birabeni* ( $2n_{\text{♀}}=36$ ) (Palpimanidae, non-entelegyne) agrees with the ancestral karyotype proposed for Entelegynae. The results of *Naatlo* sp. ( $2n_{\text{♂}}=30$ ,  $X_1X_2$ ) revealed an unrecorded diploid number for the superfamily Araneoidea, as well as the rarely recorded presence of two-armed chromosomes. The data obtained in *Agyneta* sp., *C. floridanum*, *Thymoites* sp.1 and *Thymoites* sp.2 showed the same pattern already described for most of the karyotyped species in Linyphiidae ( $2n_{\text{♂}}=24$ ,  $X_1X_2$ ) and Theridiidae ( $2n_{\text{♂}}=22$ ,  $X_1X_2$ ). The diploid number found in *Falconina* sp. ( $2n_{\text{♂}}=28$ ) chromosomally distinguishes to date the subfamily Castianeirinae from the subfamily Corinninae. The chromosomal data of *Orthobula* sp. ( $2n_{\text{♂}}=21$ , X) differ from those found for the other species of Trachelidae already analyzed, agreeing with recently proposed

phylogenies. The result found in *Epicratinus* sp. ( $2n♂=42, X_1X_2$ ) was similar in diploid number and Sexual Chromosome System to those already reported for *Pax islamita*, which belongs to a distinct subfamily and geographic region, suggesting that this karyotype is ancestral to Zodariidae. The karyotype found in *Neotrops* sp. and *N. termitophilus* ( $2n♂=7, X$ ) is probably the ancestor for Oonopidae, while the karyotype data of *C. simplex* ( $2n♂=9, X$ ) was a particular case in relation to the other analyzed species of the family and can be considered a possible synapomorphy for the genus.

## INTRODUÇÃO

As aranhas estão entre os grupos animais mais diversos do mundo, com 49.938 espécies distribuídas em 131 famílias (World Spider Catalog 2022). Estão reunidas em duas subordens: Mesothelae e Opisthothelae. Em Mesothelae estão agrupadas aranhas que apresentam características plesiomórficas como abdômen segmentado, reunidas na família Liphistiidae. Opisthothelae está dividida em duas infra ordens: Mygalomorphae e Araneomorphae. Em Mygalomorphae estão agrupadas todas as aranhas que apresentam quelíceras paraxiais. Em Araneomorphae estão reunidas aranhas com quelíceras diaxiais, mais de 90% da ordem (Coddington & Levi 1991; Bond et al. 2014; Garrison et al. 2016; Wheeler et al. 2017).

Apesar da grande diversidade taxonômica, do ponto de vista citogenético muito pouco é conhecido, com dados cromossômicos disponíveis na literatura para apenas 835 espécies de aranhas, que representam somente 1,6% de toda a ordem, pertencentes a 80 famílias (61%) (Araujo et al. 2022). Com isso, permanecem diversas lacunas que dificultam a discussão sobre a evolução cromossômica do grupo. A citogenética fornece dados como número diploide, morfologia cromossômica, tipo de sistema cromossômico sexual (SCS) e comportamento dos cromossomos na meiose, sendo uma ferramenta importante para a comparação de espécies, auxiliando na identificação (Řezáč et al. 2018) ou na discussão acerca das relações evolutivas (Araujo et al. 2015; Maddison et al. 2020). Sendo assim, a realização de análises cariotípicas, principalmente em famílias de aranhas ainda desconhecidas sob esse aspecto, torna-se necessária.

A maioria das aranhas são relativamente pequenas, com comprimento corporal (exceto pernas) entre 2 mm e 10 mm, mas algumas podem atingir entre 80 mm e 90 mm, como algumas Mygalomorphae (Foelix 2011). Famílias como Oonopidae e Theridiosomatidae, caracterizadas exclusivamente por aranhas minúsculas, com no máximo 3 mm de comprimento (Coddington 1986; Baehr & Ubick 2010), não possuem informações citogenéticas ou estas são escassas (Král et al. 2019), provavelmente pela dificuldade em coletar exemplares vivos necessários para os estudos citogenéticos, na dissecação das gônadas utilizadas no estudo cariológico devido ao tamanho milimétrico dos exemplares e pelo fato das gônadas serem pequenas e fornecerem poucas células, diminuindo a probabilidade de encontrar divisões celulares.

Estudos citogenéticos em araneofauna de solo, de uma forma geral, também são escassos, principalmente em famílias que habitam a serapilheira. A coleta de exemplares para estudo da araneofauna desta camada necessita de metodologia específica, principalmente devido a presença de espécies que possuem cerca de um milímetro de comprimento e que dificilmente são vistas a olho nu em coletas manuais (Indicatti et al. 2005).

Considerando todo o exposto anteriormente, analisamos neste trabalho 12 espécies de aranhas que possuem menos de um centímetro de tamanho corporal. Foram estudadas quatro espécies de aranhas pertencentes a famílias com espécies exclusivamente diminutas (Oonopidae e Theridiosomatidae), e outras oito espécies, restritas a esse tamanho, das famílias Corinnidae, Linyphiidae, Palpimanidae, Theridiidae, Trachelidae e Zodariidae, que não se caracterizam por possuírem apenas aranhas milimétricas. Entre essas famílias, registramos os primeiros dados cromossômicos para Palpimanidae e Theridiosomatidae, e os primeiros registros para os gêneros das demais famílias analisadas, com o objetivo de disponibilizar dados cromossômicos inéditos e colaborar com a discussão da evolução cariotípica em grupos pouco estudados de aranhas.

Segundo o World Spider Catalog (2022), 162 espécies distribuídas em 20 gêneros pertencem atualmente a Palpimanidae, família facilmente reconhecida por apresentar o primeiro par de pernas muito aumentadas quando comparado aos demais (Platnick 1975). Filogeneticamente, Palpimanidae pertence ao clado CY Spigot (Cylindrical silk gland Spigot) e a superfamília Palpimanoidea (não-entelegina) (Fig. 1), tendo Huttoniidae como grupo irmão (Wheeler et al. 2017).

Analisou-se no presente trabalho a espécie *Otiotrops birabeni* Mello-Leitão, 1945. O gênero *Otiotrops* MacLeay, 1839 possui 47 espécies, distribuídas na Região Neotropical (World Spider Catalog 2022). Os indivíduos possuem tamanho corporal entre 3,0 mm e 8,4 mm e pertencem a subfamília Otiotropsinae (Platnick 1975).

Theridiosomatidae (Entelegynae) compreende 133 espécies agrupadas em 19 gêneros (World Spider Catalog 2022). A posição filogenética desta família vem sendo debatida nos últimos anos, com propostas que a colocam como grupo irmão de (Mysmenidae(Anapidae+Symphytognathidae)) (Griswold et al. 1998), de Mysmenidae (Wheeler et al. 2017), de Synotaxidae (Dimitrov et al. 2017), ou de Araneidae (Fernández et al. 2018), sendo que todas essas filogenias citadas agruparam-na em Araneoidea (Fig. 1). O comprimento corporal dos representantes varia de 0,5 mm a 3,0 mm, sendo geralmente menor que 2,5 mm (Coddington 1986).

O gênero *Naatlo* Coddington, 1986 (Theridiosomatidae), analisado neste trabalho, apresenta sete espécies que habitam América Central e América do Sul (World Spider Catalog 2022). Pertence a subfamília Epeirotypinae, e seus representantes possuem entre 1,7 mm e 3,0 mm de comprimento total. Constroem teias orbiculares em troncos ou arbustos de florestas úmidas, sendo facilmente reconhecidas por segurarem a teia em formato de cone com seus primeiros dois pares de pernas mais desenvolvidos (Coddington 1986).

Assim como Theridiosomatidae, Linyphiidae e Theridiidae também pertencem a superfamília Araneoidea (Entelegynae) (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1). Linyphiidae é a segunda maior família de aranhas com 4.718 espécies divididas em 622 gêneros (World Spider Catalog

2022). São geralmente pequenas, com tamanho corporal variando de 1 mm a 10 mm, distribuídas nas regiões temperadas e tropicais (Sharma et al. 2020), possuindo Pimoidae como grupo irmão (Wheeler et al. 2017). São conhecidas pela citogenética apenas 15 espécies (0,3%) agrupadas em 11 gêneros (1,7%), e o cariótipo mais encontrado é o  $2n\♂=24$ , com SCS do tipo  $X_1X_2$ , presente em 10 espécies. A morfologia cromossômica, quando descrita, foi exclusivamente acro/telocêntrica. Até o momento nenhuma espécie coletada na Região Neotropical foi estudada (Araujo et al. 2022).

Analisou-se no presente trabalho um representante do gênero *Agyneta* Hull, 1911 (Linyphiidae), que atualmente apresenta 200 espécies (World Spider Catalog 2022) distribuídas mundialmente, exceto na Antártida, com tamanho corporal nos machos variando de 1,1 mm a 2,6 mm e nas fêmeas de 1,6 mm a 2,5 mm (Dupérré 2013).

A família Theridiidae possui 2.539 espécies distribuídas em 125 gêneros (World Spider Catalog 2022). Estudos citogenéticos foram realizados em 32 espécies (1,2%) agrupadas em 15 gêneros (12%), e o cariótipo mais relatado é o  $2n\♂=22$ , com SCS do tipo  $X_1X_2$ , presente em 23 espécies. A morfologia cromossômica, quando descrita, é exclusivamente acro/telocêntrica, com apenas três exceções (Araujo et al. 2022). Os cromossomos de *Coleosoma floridanum* Banks, 1900 e de representantes do gênero *Thymoites* Keyserling, 1884 identificados como *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2, ambos gêneros pertencentes a subfamília Theridiinae (Agnarsson 2004), foram analisados no presente trabalho.

Dez espécies estão agrupadas no gênero *Coleosoma* O. Pickard-Cambridge, 1882 (World Spider Catalog 2022). São aranhas pequenas, com menos de 3 mm de comprimento e os machos mimetizam formigas (Paquin et al. 2008; Sirvid & Fitzgerald 2016). *Coleosoma floridanum* é encontrada no continente americano e foi introduzida em diversas partes do mundo (World Spider Catalog 2022). *Thymoites* possui 94 espécies distribuídas mundialmente e não passam de 2,5 mm de comprimento corporal total (Hu et al. 2008; World Spider Catalog 2022).

O Clado RTA (Entelegynae), caracterizado pela presença de uma apófise tibial retrolateral no palpo dos machos, obtido na filogenia de Wheeler et al. (2017) com baixo suporte, representa outra parte das aranhas descritas no presente trabalho, incluindo espécies das famílias Corinnidae, Trachelidae e Zodariidae.

Até o momento 821 espécies distribuídas em 73 gêneros estão incluídas em Corinnidae, que pertence ao clado Dionycha, especificamente "Dionycha parte B" (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1). O gênero *Falconina* Brignoli, 1985, estudado no presente trabalho, possui apenas quatro espécies distribuídas na América do Sul e Central, com relatos de espécies introduzidas nos Estados Unidos. O tamanho corporal dos representantes varia de 4,6 mm a 8,9 mm (Bonaldo 2000; World Spider Catalog 2022). Há apenas três registros cromossômicos na literatura para a família, exclusivos para exemplares do gênero *Castianeira* Keyserling,

1879 coletados na Índia, que revelaram  $2n\♂=26$ , SCS do tipo  $X_1X_2$  e a morfologia, quando registrada, foi acrocêntrica (Bole-Gowda 1958; Mittal 1966).

Trachelidae possui 255 espécies reunidas em 20 gêneros (World Spider Catalog 2022) e filogeneticamente é alocada no clado Dionycha, especificamente “Dionycha parte A” (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1). Estudos citogenéticos foram realizados em apenas duas espécies identificadas (0,7%), *Afroceto plana* Lyle & Haddad, 2010 e *Trachelas japonicus* Bösenberg & Strand, 1906, e ambas apresentaram o mesmo resultado,  $2n\♂=22$ , SCS do tipo  $X_1X_2$  e morfologia acrocêntrica (Suzuki 1952; Šťáhlavský et al. 2020), bem como uma espécie não identificada de *Trachelas* que mostrou  $2n\♂=24$  e SCS do tipo  $X_1X_2$  (Datta & Chatterjee 1983). No presente trabalho, analisou-se os cromossomos de um representante do gênero *Orthobula* Simon, 1897, que possui 19 espécies com tamanho corporal variando de 1,7 mm a 5,0 mm (Deeleman-Reinhold 2001; World Spider Catalog 2022).

A família Zodariidae possui 1.215 espécies agrupadas em 87 gêneros, sendo grupo-irmão de Penestomidae (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1). Citogeneticamente, apenas nove espécies de três gêneros são conhecidas, todas coletadas fora da Região Neotropical. O menor número diploide registrado foi o  $2n\♂=21$ , em *Zodarion hamatum* Wiehle, 1964 e *Zodarion italicum* (Canestrini, 1868) e o maior,  $2n\♂=42$ , em *Pax islamita* (Simon, 1873). O SCS é do tipo X ou  $X_1X_2$ , e a morfologia majoritariamente acro/telocêntrica, com apenas um registro de um cromossomo metacêntrico (Araújo et al. 2022). No presente estudo, analisamos um representante do gênero *Epicratinus* Jocqué & Baert, 2005, que possui tamanho corporal entre 4,7 e 7,8 mm e apresenta 16 espécies encontradas na Bolívia, Brasil e Guiana (Jocqué & Baert 2005; World Spider Catalog 2022).

Oonopidae é uma família de aranhas diminutas encontradas na serapilheira que possui 1.888 espécies distribuídas em 115 gêneros (World Spider Catalog 2022), com 1 mm a 3 mm de comprimento (Baehr & Ubick 2010). Filogeneticamente, Oonopidae pertence ao clado Synspermiata, superfamília Dysderoidea: (Segestriidae(Oonopidae(Orsolobidae+ Dysderidae))), dentro das aranhas não-enteleginas (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1). Possui exemplares com diferentes níveis de esclerotização do abdômen (Baehr & Harvey 2013). Atualmente, é dividida em três subfamílias, Orchestininae que possui apenas o gênero pouco esclerotizado *Orchestina* Simon, 1882, Sulsulinae que possui os gêneros *Sulsula* Simon, 1882, *Xiomberg* Brignoli, 1979, *Unicorn* Platnick & Brescovit, 1995, *Cortestina* Knoflach, 2009 e *Dalmasula* Platnick, Szűts & Ubick, 2012, todos gêneros pouco esclerotizados, e Oonopinae, que reúne a maior parte dos oonopídeos, incluindo os que possuem acentuada esclerotização do abdômen (Platnick et al. 2012; Busschere et al. 2014).

O primeiro e único estudo citogenético em Oonopidae foi realizado apenas recentemente, com a análise de quatro espécies coletadas nos Estados Unidos e Bélgica, que apresentaram o mesmo resultado,  $2n\♂=7$ , com SCS do tipo X e cromossomos holocêntricos

(Král et al. 2019). No presente trabalho analisamos os cromossomos de *Cinetomorpha simplex* Simon, 1892, *Neotrops* sp. e *Neoxyphinus termitophilus* (Bristowe, 1938). O gênero *Cinetomorpha* Simon, 1892 apresenta 41 espécies, *Neotrops* Grismado & Ramírez, 2013 reúne 28 espécies e *Neoxyphinus* Birabén, 1953 possui 48 espécies. Pertencem a subfamília Oonopinae e são gêneros exclusivos do continente americano (World Spider Catalog 2022).

Apesar de muitas serem distantes evolutivamente na filogenia da ordem Araneae, as famílias Palpimanidae (Não-entelegina, Palpimanoidea), Theridiosomatidae, Linyphiidae e Theridiidae (Entelegynae, Araneoidea), Corinnidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha Parte B), Trachelidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha Parte A), Zodariidae (Entelegynae, Clado RTA, Zodarioidea) e Oonopidae (Não-entelegina, Dysderoidea) (Wheeler et al. 2017) (Fig. 1), compartilham o fato de terem estudos citogenéticos escassos ou até mesmo inexistentes, como Theridiosomatidae e Palpimanidae. Além disso, este é o primeiro estudo cromossômico focado em aranhas diminutas e todos os gêneros analisados no presente trabalho estão sendo descritos citogeneticamente pela primeira vez o que contribui para aumentar a representatividade dos dados cromossômicos nestes grupos de aranhas e assim diminuir as lacunas que dificultam a elucidação de questionamentos evolutivos, justificando a importância desta pesquisa.

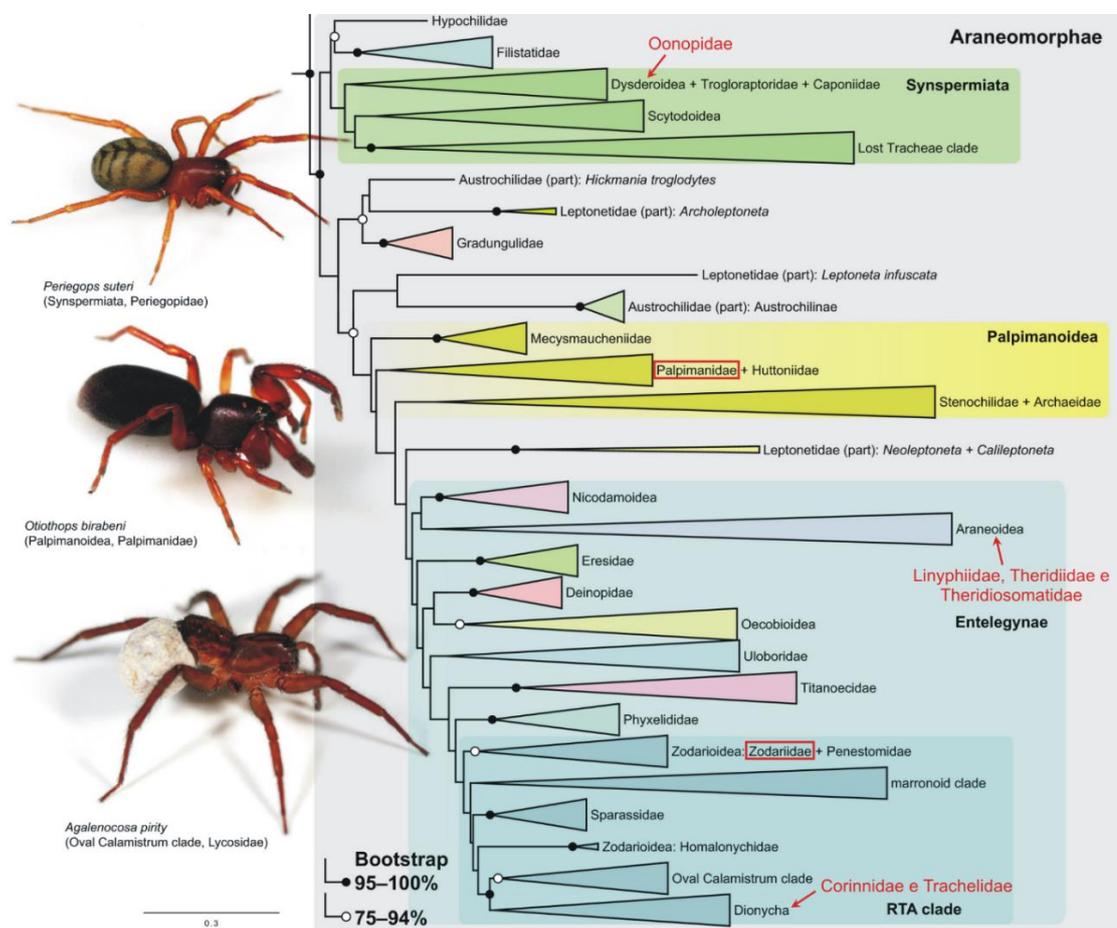


Figura 1—Cladograma extraído de Wheeler et al. (2017) com a indicação da posição filogenética das famílias estudadas no presente trabalho.

## Referências Bibliográficas

- Agnarsson I. 2004. Morphological phylogeny of cobweb spiders and their relatives (Araneae, Araneoidea, Theridiidae). *Zoological journal of the Linnean Society* 141:447-626.
- Araujo D, Paula-Neto E, Brescovit AD, Cella DM, Schneider MC. 2015. Chromosomal similarities between Nephilidae and Tetragnathidae indicate unique evolutionary traits among Araneoidea. *Italian Journal of Zoology* 82:1-8.
- Araujo D, Schneider MC, Paula-Neto E, Cella DM. 2022. The spider cytogenetic database. Online at <http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase>, accessed on {March of 2022}.
- Baehr BC, Ubick D. 2010. A review of the Asian goblin spider genus *Camptoscaphiella* (Araneae: Oonopidae). *American museum novitates* 3697:1-66.
- Baehr BC, Harvey MS. 2013. The first goblin spiders of the genus *Camptoscaphiella* (Araneae: Oonopidae) from New Caledonia. *Australian Journal of Entomology* 52:144-150.
- Bole-Gowda B.N. 1958. A study of the chromosomes during meiosis in twenty-two species of Indian spiders. *Proceedings of the Zoological Society of Bengal* 11:69-108.
- Bonaldo AB. 2000. Taxonomia da subfamília Corinninae (Araneae, Corinnidae) nas regiões Neotropical e Neártica. *Iheringia Série Zoologia* 89:3-148.
- Bond JE, Garrison NL, Hamilton CA, Godwin RL, Hedin M, Agnarsson I. 2014. Phylogenomics resolves a spider backbone phylogeny and rejects a prevailing paradigm for orb web evolution. *Current Biology* 24:1765-1771.
- Busschere C de, Fannes W, Henrard A, Gaublomme E, Jocqué R, Baert L. 2014. Unravelling the goblin spiders puzzle: rDNA phylogeny of the family Oonopidae (Araneae). *Arthropod Systematics & Phylogeny* 72:177-192.
- Coddington JA. 1986. The genera of the spider family Theridiosomatidae. *Smithsonian Contributions to Zoology* 422:1-96.
- Coddington JA, Levi HW. 1991. Systematics and evolution of spiders (Araneae). *Annual review of ecology and systematics* 22:565-592.
- Datta SN, Chatterjee K. 1983. Chromosome number and sex-determining system in fifty-two species of spiders from North-East India. *Chromosome Information Service* 35:6-8.
- Deeleman-Reinhold CL. 2001. Forest spiders of South East Asia: with a revision of the sac and ground spiders (Araneae: Clubionidae, Corinnidae, Liocranidae, Gnaphosidae, Prodidomidae and Trochanterriidae). Brill Leiden. Boston.
- Dimitrov D, Benavides LR, Arnedo MA, Giribet G, Griswold CE, Scharff N. et al. 2017. Rounding up the usual suspects: a standard target-gene approach for resolving the interfamilial phylogenetic relationships of ecribellate orb-weaving spiders with a new family-rank classification (Araneae, Araneoidea). *Cladistics* 33:221-250.
- Dupérré N. 2013. Taxonomic revision of the spider genera *Agyneta* and *Tennesseeelum* (Araneae, Linyphiidae) of North America north of Mexico with a study of the embolic division within Micronetinae sensu Saaristo & Tanasevitch 1996. *Zootaxa* 3674:1-189.

- Fernández R, Kallal RJ, Dimitrov D, Ballesteros JA, Arnedo MA, Giribet G. et al. 2018. Phylogenomics, diversification dynamics, and comparative transcriptomics across the spider tree of life. *Current Biology* 28:1489-1497.
- Foelix RF. 2011. Phylogeny and Systematics. In: *Biology of Spiders: Third Edition* Oxford University Press, London England.
- Garrison NL, Rodriguez J, Agnarsson I, Coddington JA, Griswold CE, Hamilton CA. et al. 2016. Spider phylogenomics: untangling the Spider Tree of Life. *PeerJ* 4:e1719.
- Griswold CE, Coddington JA, Hormiga G, Scharff N. 1998. Phylogeny of the orb-web building spiders (Araneae, Orbiculariae: Deinopoidea, Araneoidea). *Zoological Journal of the Linnean Society* 123:1-99.
- Hu P, Griswold C, Yin CM, Peng XJ. 2008. Two new spider species of the genus *Thymoites* from Yunnan Province, China (Araneae, Theridiidae). *Acta Zootaxonomica Sinica* 33:453-457.
- Indicatti RP, Candiani DF, Brescovit AD, Japyassú HF. 2005. Diversidade de aranhas de solo (Arachnida: Araneae) na bacia do Reservatório do Guarapiranga, São Paulo, São Paulo, Brasil. *Biota Neotrop* 5:1-12.
- Jocqué R, Baert L. 2005. Two new neotropical genera of the spider family Zodariidae (Araneae). *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique Entomologie* 75:119–133.
- Král J, Forman M, Kořínková T, Lerma ACR, Haddad CR, Musilová J. et al. 2019. Insights into the karyotype and genome evolution of haplogyne spiders indicate a polyploid origin of lineage with holokinetic chromosomes. *Scientific Reports* 9(3001):1-14.
- Maddison WP, Maddison DR, Derkarabetian S, Hedin M. 2020. Sitticine jumping spiders: phylogeny, classification, and chromosomes (Araneae, Salticidae, Sitticini). *ZooKeys* 925:1-54.
- Mittal OP. 1966. Karyological studies on the Indian spiders V. Chromosome cycle in three species of the family Clubionidae. *Caryologia* 19:385-394.
- Paquin P, Dupérré N, Labelle S. 2008. Introduced spiders (Arachnida: Araneae) in an artificial ecosystem in eastern Canada. *Entomological News* 119:217-226.
- Platnick NI. 1975. A revision of the palpimanid spiders of the new subfamily Otiotopinae (Araneae, Palpimanidae). *American Museum Novitates* 2562:1-32.
- Platnick NI, Abraham N, Álvarez-Padilla F, Andriamalala D, Baehr BC, Baert L. et al. 2012. Tarsal organ morphology and the phylogeny of goblin spiders (Araneae, Oonopidae), with notes on basal genera. *American Museum Novitates* 3736:1-52.
- Řezáč M, Arnedo MA, Opatova V, Musilová J, Řezáčová V, Král J. 2018. Taxonomic revision and insights into the speciation mode of the spider *Dysdera erythrina* species-complex (Araneae: Dysderidae): sibling species with sympatric distributions. *Invertebrate Systematics* 32:10-54.
- Sharma A, Singh G, Singh R. 2020. Faunal Diversity of Linyphiidae (Araneomorphae: Araneae: Arachnida) in India. *Asian Journal of Conservation Biology* 9:304-314.

- Sirvid PJ, Fitzgerald BM. 2016. *Coleosoma octomaculatum* (Bösenberg & Strand, 1906) (Araneae: Theridiidae): redescription, first records from New Zealand and notes on the genus *Coleosoma* O. Pickard-Cambridge, 1882. *New Zealand Journal of Zoology* 43:54-64.
- Št'áhlavský F, Forman M, Just P, Denič F, Haddad CR, Opatova V. 2020. Cytogenetics of entelegyne spiders (Arachnida, Araneae) from southern Africa. *Comparative Cytogenetics* 14:107-138.
- Suzuki S. 1952. Cytological studies in spiders II. Chromosomal investigation in twenty two species of spiders belonging to the four families, Clubionidae, Sparassidae, Thomisidae and Oxyopidae, which constitute Clubionoidea, with special reference to sex chromosomes. *Journal of science of the Hiroshima University. Series B. Division 1* 13:1-52.
- Wheeler WC, Coddington JA, Crowley LM, Dimitrov D, Goloboff PA, Griswold CE. et al. 2017. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics* 33:574-616.
- World Spider Catalog. 2022. World Spider Catalog. Version 23.0 Natural History Museum, Bern. Online at [wsc.nmbe.ch](http://wsc.nmbe.ch), accessed on {March of 2022}. doi: 10.24436/2

Artigo 1 – Normas seguidas da Revista Journal of Arachnology (Anexo 1)

**Running head: DUTRA ET AL. – ESTUDO CROMOSSÔMICO EM ARANHAS DIMINUTAS**

**ESTUDO CROMOSSÔMICO EM ARANHAS DIMINUTAS, INCLUINDO OS PRIMEIROS REGISTROS PARA AS FAMÍLIAS PALPIMANIDAE E THERIDIOSOMATIDAE (ARANEAE, ARANEOMORPHAE)**

Débora Duarte Dutra<sup>1</sup>, Antonio Domingos Brescovit<sup>2</sup>, Douglas Araujo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Citotaxonomia e Evolução Cromossômica Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Instituto de Biociências, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, CEP 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. E-mails: deborad.dutra98@gmail.com; d.araujo@ufms.com.

<sup>2</sup>Laboratório de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, Av. Vital Brasil, 1500, CEP 05503-900, São Paulo, São Paulo, Brazil.

**Resumo.** Dentre as 49.938 espécies descritas, apenas 835 possuem dados cromossômicos disponíveis na literatura. O objetivo deste trabalho foi analisar cromossomicamente aranhas menores que um centímetro de comprimento, com a finalidade de contribuir para a discussão sobre a citotaxonomia e/ou evolução cromossômica de grupos pouco estudados. O cariótipo de 12 espécies pertencentes as famílias Palpimanidae, Theridiosomatidae, Linyphiidae, Theridiidae, Corinnidae, Trachelidae, Zodariidae e Oonopidae, foram analisados, sendo descritos os primeiros registros cromossômicos para Palpimanidae e Theridiosomatidae. Os animais inteiros com o conteúdo do abdômen parcialmente exposto foram submetidos ao tratamento com colchicina (0,16%, 2h), hipotonização (água de torneira, 15 min) e fixação (metanol:ácido acético 3:1, mínimo 1h). Na maioria dos casos o conteúdo total do abdômen foi utilizado no preparo das lâminas por suspensão celular que foram coradas com Giemsa (3%, 15 min). Os resultados encontrados foram  $2n_{\text{f}}=36$  para *Otiotrops birabeni* Mello-Leitão, 1945 (Palpimanidae),  $2n_{\text{m}}=30$ ,  $X_1X_2$  para *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae),  $2n_{\text{m}}=24$ ,  $X_1X_2$  em *Agyneta* sp. (Linyphiidae),  $2n_{\text{m}}=22$ ,  $X_1X_2$  para *Coleosoma floridanum* Banks, 1900, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2 (Theridiidae),  $2n_{\text{m}}=28$ ,  $X_1X_2$  em *Falconina* sp. (Corinnidae),  $2n_{\text{m}}=21$ , X para *Orthobula* sp. (Trachelidae) e  $2n_{\text{m}}=42$ ,  $X_1X_2$  para *Epicratinus* sp. (Zodariidae),  $2n_{\text{m}}=9$ , X para *Cinetomorpha simplex* Simon, 1892 (Oonopidae),  $2n_{\text{m}}=7$ , X para *Neotrops* sp. e *Neoxyphinus termitophilus* (Bristowe, 1938) (Oonopidae). Quanto a morfologia cromossômica, quando possível a determinação, o tipo telocêntrico foi o mais relatado com alguns registros de cromossomos com dois braços em algumas espécies. Os resultados obtidos foram comparados com espécies relacionadas descritas na literatura, utilizando as filogenias disponíveis para o grupo.

**Palavras-chave:** Citogenética, araneofauna de serapilheira, mitose, meiose, número diploide.

## INTRODUÇÃO

Embora exista 49.938 espécies de aranhas descritas taxonomicamente até o momento, as quais estão distribuídas em 131 famílias, apenas 835 espécies distribuídas em 80 famílias possuem algum dado cromossômico disponível na literatura (World Spider Catalog 2022; Araujo et al. 2022). Essa escassez de dados citogenéticos dificulta a discussão sobre a evolução cromossômica na maioria dos grupos dessa ordem, inclusive em famílias de aranhas diminutas, muitas vezes negligenciadas devido à dificuldade de coleta e de dissecção para obtenção das células em divisão.

Da mesma forma, estudos cromossômicos em araneofauna de solo também são escassos, principalmente em famílias que habitam a serapilheira, pois a coleta de exemplares necessita de metodologia específica, devido a presença de espécies que possuem cerca de um milímetro de comprimento e que dificilmente são vistas a olho nu em coletas manuais (Indicatti et al. 2005).

Considerando isto, analisou-se neste trabalho espécies de aranhas que possuem menos de um centímetro de tamanho corporal. Foram estudadas 12 espécies, sendo quatro de aranhas pertencentes a famílias com espécies exclusivamente diminutas (Oonopidae e Theridiosomatidae), e outras oito espécies, restritas a esse tamanho, representantes de Corinnidae, Linyphiidae, Palpimanidae, Theridiidae, Trachelidae e Zodariidae, que não são famílias de aranhas exclusivamente diminutas. Apesar de muitas serem distantes evolutivamente na filogenia da ordem Araneae (Wheeler et al. 2017), essas famílias compartilham o fato de terem estudos citogenéticos escassos ou até mesmo inexistentes. Registramos os primeiros dados cariotípicos para Palpimanidae e Theridiosomatidae, e os primeiros estudos para os demais gêneros analisados, com o objetivo de disponibilizar dados cromossômicos inéditos e colaborar com a discussão da evolução cariotípica em grupos pouco estudados de aranhas.

## MÉTODOS

Os exemplares de *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae) foram os únicos coletados por busca ativa noturna. Os demais espécimes analisados foram obtidos tanto no período diurno quanto noturno, por meio do peneiramento da serapilheira conforme

Lemos et al. (2012) com algumas modificações: após a separação de folhas e partículas maiores com o auxílio de uma peneira metálica com malha de 1cm, foi realizada a triagem manual do peneirado, metodologia escolhida por se mostrar mais eficiente e adequada aos objetivos propostos, permitindo a obtenção de indivíduos vivos necessários para os estudos citogenéticos de forma rápida. As coletas foram realizadas exclusivamente em Mato Grosso do Sul, entre março de 2019 e setembro de 2021. Após a dissecação e retirada das gônadas, os exemplares foram enviados para o Laboratório de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan, em São Paulo, SP, Brasil, onde foram identificados e tombados pelo pesquisador Antonio Domingos Brescovit.

Foram dissecados 218 exemplares de aranhas diminutas, dos quais 38 apresentaram células em divisão e foram utilizados neste trabalho. Ao todo, 12 espécies foram analisadas: *Otiotrops birabeni* Mello-Leitão, 1945 (Palpimanidae), *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae), *Agyneta* sp. (Linyphiidae), *Coleosoma floridanum* Banks, 1900, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2 (Theridiidae), *Falconina* sp. (Corinnidae), *Orthobula* sp. (Trachelidae) e *Epicratinus* sp. (Zodariidae), e três espécies de Oonopidae: *Cinetomorpha simplex* Simon, 1892, *Neotrops* sp. e *Neoxyphinus termitophilus* (Bristowe, 1938) (Fig.1). A Tabela 1 descreve detalhes dos indivíduos analisados.

As preparações cromossômicas foram realizadas pela técnica de suspensão celular conforme Araujo et al. (2008), com algumas modificações: na maioria dos casos, devido ao tamanho diminuto da aranha, após a realização de uma perfuração no abdômen, para permitir a ação dos reagentes sobre as gônadas, o exemplar inteiro foi transferido para os tratamentos e o conteúdo total do abdômen foi utilizado no preparo das lâminas, com exceção dos exemplares de *Falconina* sp. e *Epicratinus* sp., que devido ao maior tamanho, permitiram a dissecação e retirada apenas das gônadas.

As lâminas foram submetidas a coloração com solução de Giemsa 3% e analisadas em microscópio de luz. As células com melhor grau de condensação/individualização dos cromossomos foram fotografadas em um fotomicroscópio Axiolmager D2 (Zeiss), em aumento de 1000x. A caracterização dos cromossomos quanto à morfologia foi feita, quando possível, utilizando-se o plugin

LEVAN (Sakamoto & Zacaro 2009) do Software ImageJ (Rasband 1997-2021), que considera os critérios propostos por Levan, Fredga & Sandberg (1964) e Green & Sessions (1991). Para a obtenção do comprimento diploide total do cariótipo (TCL) em micrômetros dos indivíduos de *Orthobula* sp. duas metáfases oogoniais e duas espermatogoniais foram medidas utilizando o software ImageJ (RASBAND, 1997-2021), e a porcentagem referente aos cromossomos X foi calculada. As melhores fotos de cada espécie foram selecionadas e as pranchas montadas no software de edição de imagem Corel Draw® 12.



Figura 1A-U.—Espécies de Araneomorphae analisadas neste trabalho: A. *Otiotrops birabeni* (Palpimanidae). B. *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae). C-D. *Agyneta* sp. (Linyphiidae). E-F. *Coleosoma floridanum* (Theridiidae). G-H. *Thymoites* sp.1 (Theridiidae). I-J. *Thymoites* sp.2 (Theridiidae). K. *Falconina* sp. (Corinnidae). L-M. *Orthobula* sp. (Trachelidae). N-O. *Epicratinus* sp. (Zodariidae). P-Q. *Cinetomorpha simplex* (Oonopidae). R-S. *Neotrops* sp. (Oonopidae). T-U. *Neoxyphinus termitophilus* (Oonopidae). Escala = 1 mm.

Tabela 1.—Número de indivíduos (machos e fêmeas) que apresentaram células em divisão em cada uma das 12 espécies de Araneomorphae analisadas neste trabalho, alocadas em suas respectivas famílias, com local de coleta, número de células analisadas, número diploide e sistema cromossômico sexual (SCS).

Famílias com dados citogenéticos descritos pela primeira vez						
Família	Espécie	Local de coleta	Espécimes	Células analisadas	Número diploide ♂	SCS ♂
Palpimanidae (Não-entelegina, Palpimanoidea)	<i>Otiothops birabeni</i>	1	1♀	3	36 (♀)	-
Theridiosomatidae (Entelegynae, Araneoidea)	<i>Naatlo</i> sp.	2	3♂	22	30	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
Famílias que já possuem estudos citogenéticos na literatura						
Família	Espécie	Local de coleta	Espécimes	Células analisadas	Número diploide ♂	SCS ♂
Linyphiidae (Entelegynae, Araneoidea)	<i>Agyneta</i> sp.	1	2♂/1♀	15	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
Theridiidae (Entelegynae, Araneoidea)	<i>Coleosoma floridanum</i>	3	3♂/3♀	17	22	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
	<i>Thymoites</i> sp.1	1	3♂/2♀	9	22	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
	<i>Thymoites</i> sp.2	3 1	1♂/1♀	6	22	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
Corinnidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha B)	<i>Falconina</i> sp.	3	2♂	74	28	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>

Trachelidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha A)	<i>Orthobula</i> sp.	1 2 3	3♂/2♀	8	21	X
Zodariidae (Entelegynae, Clado RTA, Zodarioidea)	<i>Epicratinus</i> sp.	3	2♂/1♀	36	42	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
Oonopidae (Não-entelegina, Dysderoidea)	<i>Cinetomorpha simplex</i>	1	2♂/1♀	9	9	X
	<i>Neotrops</i> sp.	3	2♂/1♀	9	7	X
	<i>Neoxyphinus termitophilus</i>	1	1♂/1♀	12	7	X

Locais de coleta: 1 - Fazenda Palmeiras II, Coxim, Mato Grosso do Sul, Brasil (18°21'45"S, 54°36'56"W) – Três eventos de coleta: 24/04/2020, 05/10/2020 e 09/03/2021.

2 - Morro do Paxixi, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil (20°27'00"S, 55°37'18.2"W) - Dois eventos de coleta: 19/03/2019 e 05/05/2020.

3 - Reserva Particular do Patrimônio Natural - RPPN/UFMS Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil (20°30'36"S, 54°36'54"W) - Seis eventos de coleta: 22/07/2020, 03/11/2020, 22/02/2021, 28/05/2021, 22/07/2021 e 13/09/2021.

Número de tomo dos espécimes no Laboratório Especial de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil: 258408, 242007, 242937, 242938, 275970, 275996, 276019, 271327, 271329, 271336, 281319, 281328, 281334, 271337, 276022, 276029, 276032, 281335, 276004, 276030, 281318, 281337, 258343, 258344, 275991, 276031, 276040, 281333, 281336, 281338, 258341, 275978, 275990, 271333, 281327, 281330, 275993, 276007.

## RESULTADOS

### Famílias com dados cromossômicos descritos pela primeira vez

**Palpimanidae (Não-entelegina, Palpimanoidea).**—Metáfases oogoniais de *Otiothops birabeni* revelaram  $2n_{\text{♀}} = 36$  (Fig. 2A), com cromossomos metacêntricos, submetacêntricos, subtlocêntricos e telocêntricos. Não foi possível descrever o sistema cromossômico sexual, pois não foram encontrados machos nas coletas realizadas.

**Theridiosomatidae (Entelegynae, Araneoidea).**—*Naatlo* sp. mostrou metáfases espermatogoniais com  $2n_{\text{♂}} = 30$  (Fig. 2B), espermatócitos I em diplóteno e metáfase com 14 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $X_1X_2$ ) (Fig. 2C), e espermatócitos II em metáfase com  $n = 14$  e  $n = 16 = 14 + X_1X_2$  (Fig. 2D-E). Em algumas células os cromossomos sexuais apresentaram-se heteropicnóticos positivos tanto no diplóteno quanto na metáfase II. Dessa forma, *Naatlo* sp. possui  $2n_{\text{♂}} = 30 = 28 + X_1X_2$ . Com relação à morfologia cromossômica, apesar do alto grau de sobreposição nas metáfases mitóticas, o que não permite uma análise pormenorizada, a observação destas e das metáfases II indica que todos ou quase todos os cromossomos possuem dois braços (meta/submeta/subtlocêntricos) (Fig. 2B, D-E).

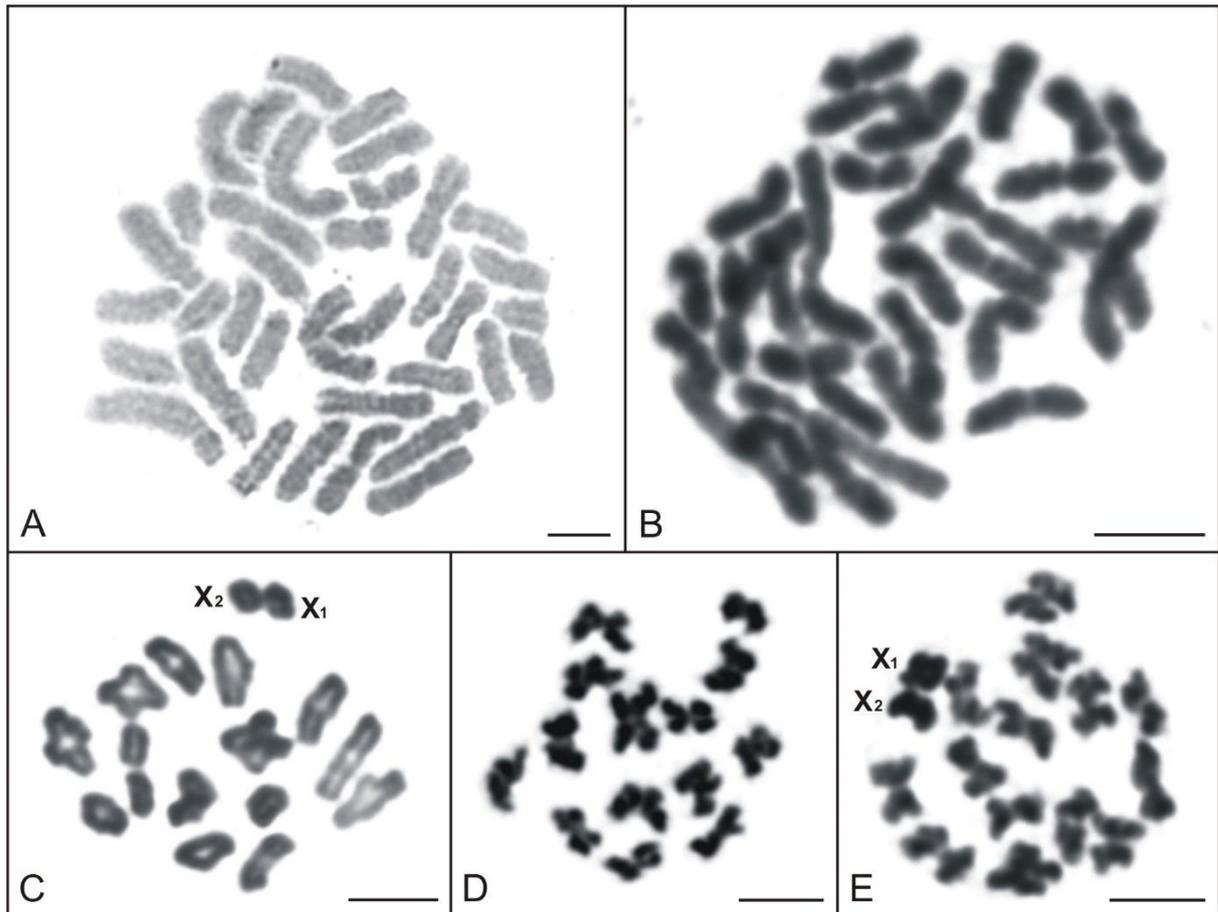


Figura 2A-E.—Cromossomos de *Otiothops birabeni* (Palpimanidae) (A) e *Naatlo* sp. (Theridiosomatidae) (B-E): A. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}} = 36$ . B. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}} = 30$ . C. Espermatócito I em metáfase com 14 bivalentes autossômicos e dois univalente sexuais ( $14\text{II} + X_1X_2$ ). D. Metáfase II com  $n = 14$ . E. Metáfase II com  $n = 16 = 14 + X_1X_2$ . Escala =  $5\mu\text{m}$ .

## Famílias que já possuem estudos citogenéticos

### Linyphiidae e Theridiidae (Entelegynae, Araneoidea)

**Linyphiidae.**—Metáfases espermatogoniais e oogoniais de *Agyneta* sp. revelaram respectivamente  $2n_{\text{♂}} = 24$  e  $2n_{\text{♀}} = 26$  (Fig. 3A-B), com morfologia exclusivamente telocêntrica. Espermatócitos I em diplóteno inicial apresentaram 11 bivalentes autossômicos e os univalentes sexuais ( $X_1X_2$ ) formando uma única massa heteropicnótica positiva (Fig. 3C). Contudo, em diplótenos tardios e metáfases I foi possível observar os 11 bivalentes autossômicos com apenas um quiasma e os dois univalentes sexuais individualizados (Fig. 3D), características que permitiram a descrição do cariótipo da espécie composto por  $2n_{\text{♂}} = 24 = 22 + X_1X_2$  e  $2n_{\text{♀}} = 26 = 22 + X_1X_1X_2X_2$ .

**Theridiidae.**—Metáfases mitóticas revelaram  $2n_{\text{♂}} = 22$  em *Coleosoma floridanum* e *Thymoites* sp.1 e  $2n_{\text{♀}} = 24$  em *C. floridanum*, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2, com todos os cromossomos telocêntricos (Fig. 3E-F, H-I, K). Nestas três espécies os espermatócitos I em diplóteno e metáfase apresentaram 10 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $X_1X_2$ ). Os bivalentes mostraram apenas um quiasma (Fig. 3G, J), exceto em diplótenos iniciais, que mostram alguns bivalentes com dois quiasmas (Fig. 3L). Os univalentes sexuais apresentaram-se dispostos próximos entre si (Fig. 3G) ou heteropicnóticos positivos lado a lado (Fig. 3J) ou agrupados (Fig. 3L), dependendo do estágio do diplóteno/metáfase I. Com base nessas características, concluímos que para essas espécies o cariótipo é composto por  $2n_{\text{♂}} = 22 = 20 + X_1X_2$  e  $2n_{\text{♀}} = 24 = 20 + X_1X_1X_2X_2$ .

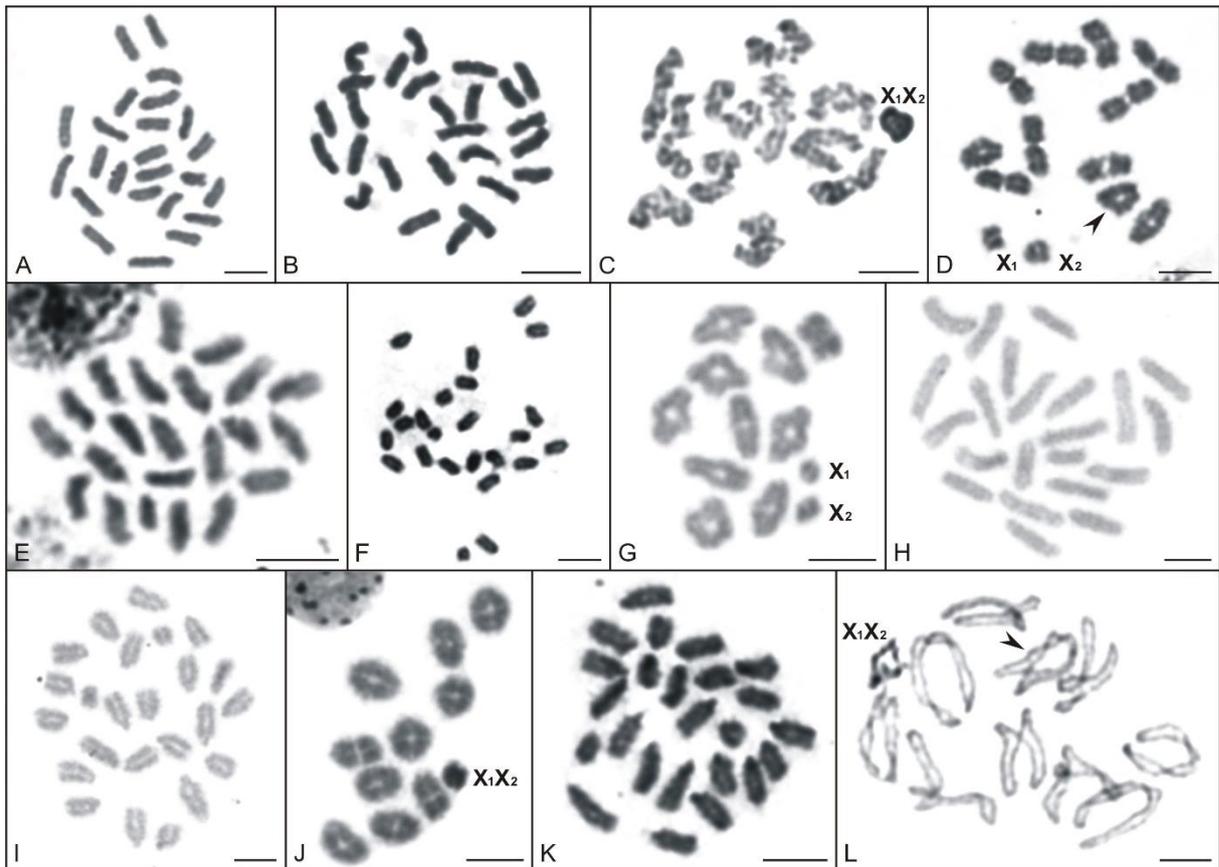


Figura 3A-L.— Cromossomos de representantes de Araneoidea, Linyphiidae (A-D) e Theridiidae (E-L). *Agyneta* sp. (A-D), *Coleosoma floridanum* (E-G), *Thymoites* sp.1 (H-J) e *Thymoites* sp.2 (K-L): A. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}} = 24$ . B. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}} = 26$ . C. Espermatócito I em diplóteno inicial com 11 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais agrupados ( $11\text{II} + X_1X_2$ ). D. Espermatócito I em metáfase com 11 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $11\text{II} + X_1X_2$ ). E, H. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}} = 22$ . F, I, K. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}} = 24$ . G, J, L. Espermatócito I em metáfase (G, J) e diplóteno inicial (L) com 10 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $10\text{II} + X_1X_2$ ). Cabeça de seta = bivalente com dois quiasmas. Escala =  $5\mu\text{m}$ .

### Corinnidae, Trachelidae e Zodariidae (Entelegynae, Clado RTA)

**Corinnidae (Dionycha parte B).**—Metáfases espermatogoniais de *Falconina* sp. mostraram  $2n_{\text{♂}} = 28$  (Fig. 4A), com todos os cromossomos telocêntricos. Espermatócitos I em paquíteno, diplóteno e metáfase apresentaram 13 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $X_1X_2$ ) (Fig. 4B-C), sendo possível distinguir um ou dois quiasmas na prófase mais tardia (Fig. 4C). Espermatócitos II em metáfase possuíam  $n = 13$  e  $n = 15 = 13 + X_1X_2$  (Fig. 4D-E). Os cromossomos

sexuais apresentaram-se heteropicnóticos positivos tanto nos paquítenos quanto nos diplótenos e metáfases II.

**Trachelidae (Dionycha parte A).**— *Orthobula* sp. revelou metáfases mitóticas com  $2n_{\text{♂}} = 21$  e  $2n_{\text{♀}} = 22$ , com todos os cromossomos telocêntricos. O comprimento diploide total do cariótipo (Total Chromosome Length – TCL) obtido foi em média 100.468  $\mu\text{m}$ , com os cromossomos X sendo os maiores do complemento (Fig. 4F-G), correspondendo a cerca de 7% do cariótipo nos machos. Espermatócitos I em diplóteno apresentaram 10 bivalentes autossômicos com um ou dois quiasmas, e um univalente sexual X, heteropicnótico positivo (Fig. 4H), sendo o cariótipo composto portanto por  $2n_{\text{♂}} = 21 = 20 + X$  e  $2n_{\text{♀}} = 22 = 20 + XX$ .

**Zodariidae (Zodarioidea).**—Metáfases oogoniais de *Epicratinus* sp. apresentaram  $2n_{\text{♀}} = 44$  (Fig. 4I). Com relação à morfologia cromossômica, apesar das sobreposições, foi possível definir que todos os cromossomos são telocêntricos, com exceção do segundo maior par do cariótipo, que é nitidamente subtelocêntrico e corresponde ao cromossomo  $X_1$ , pois esse mesmo cromossomo aparece como um dos univalentes sexuais na prófase I do macho (Fig. 4I-J). Espermatócitos I em diplóteno possuíam 20 bivalentes autossômicos, sendo a maioria com um quiasma, e dois univalentes sexuais ( $X_1X_2$ ), com o  $X_1$  subtelocêntrico e maior que o  $X_2$  (Fig. 4J). Espermatócitos II em metáfase apresentaram  $n = 20$  e  $n = 22 = 20 + X_1X_2$  (Fig. 4K-L), revelando, portanto, o cariótipo  $2n_{\text{♂}} = 42 = 40 + X_1X_2$  e  $2n_{\text{♀}} = 44 = 40 + X_1X_1X_2X_2$ .



sexual (Fig. 5G). Com esses dados, descrevemos o cariótipo para essas espécies formado por  $2n_{\text{♂}} = 7 = 6 + X$  e  $2n_{\text{♀}} = 8 = 6 + XX$ .

Optou-se por não descrever a morfologia cromossômica em Oonopidae, que na literatura é conhecida por cromossomos do tipo holocêntrico, pois: 1) as poucas metáfases mitóticas encontradas em Oonopidae não permitiram com clareza a descrição da morfologia, 2) células em metáfase II que poderiam ajudar nesta descrição não foram encontradas, 3) não houve análise sem o uso de colchicina que permitisse a observação do comportamento segregacional dos cromossomos na anáfase.

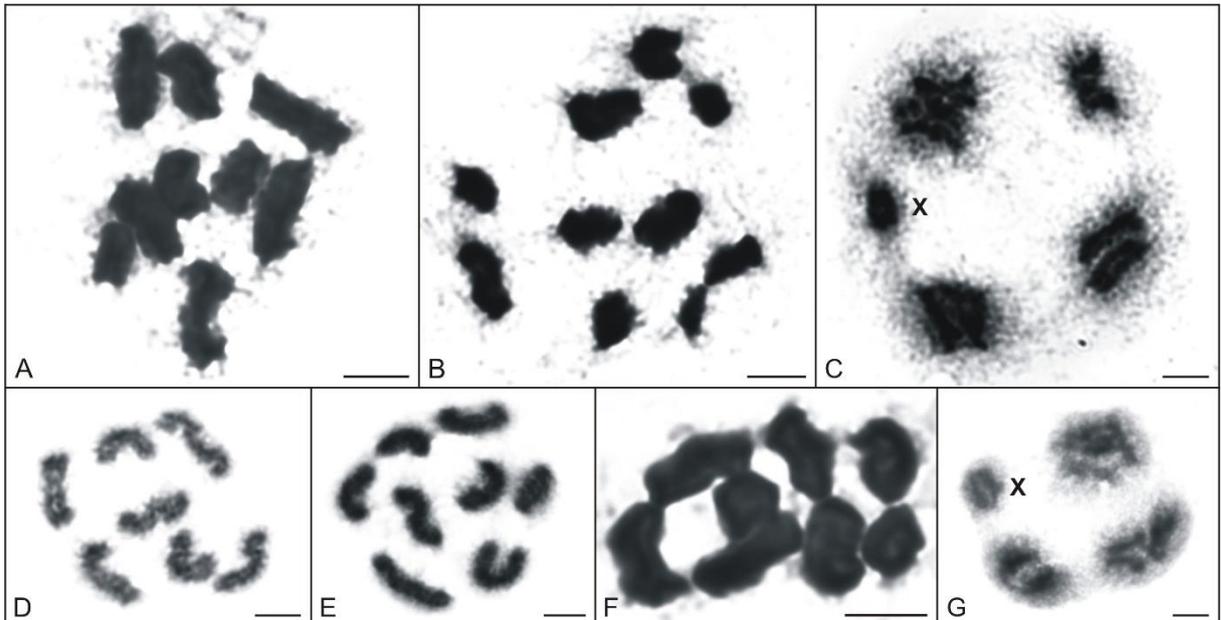


Figura 5A-G.—Cromossomos de Oonopidae (Dysderoidea). *Cinetomorpha simplex* (A-C), *Neotrops* sp. (D-E) e *Neoxyphinus termitophilus* (F-G). A. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}} = 9$ . B. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}} = 10$ . C. Espermatócito I em metáfase com quatro bivalentes autossômicos e um univalente sexual ( $4II + X$ ). D. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}} = 7$ . E-F. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}} = 8$ . G. Espermatócito I em diplóteno com três bivalentes autossômicos e um univalente sexual ( $3II + X$ ). Escala =  $5\mu\text{m}$ .

## DISCUSSÃO

As famílias Palpimanidae (Não-entelegina, Palpimanoidea), Theridiosomatidae, Linyphiidae e Theridiidae (Entelegynae, Araneoidea), Corinnidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha Parte B), Trachelidae (Entelegynae, Clado RTA, Dionycha Parte A), Zodariidae (Entelegynae, Clado RTA, Zodarioidea) e Oonopidae

(Não-entelegina, Dysderoidea), são distantes evolutivamente na filogenia da ordem Araneae (Fig. 6) (Wheeler et al. 2017).

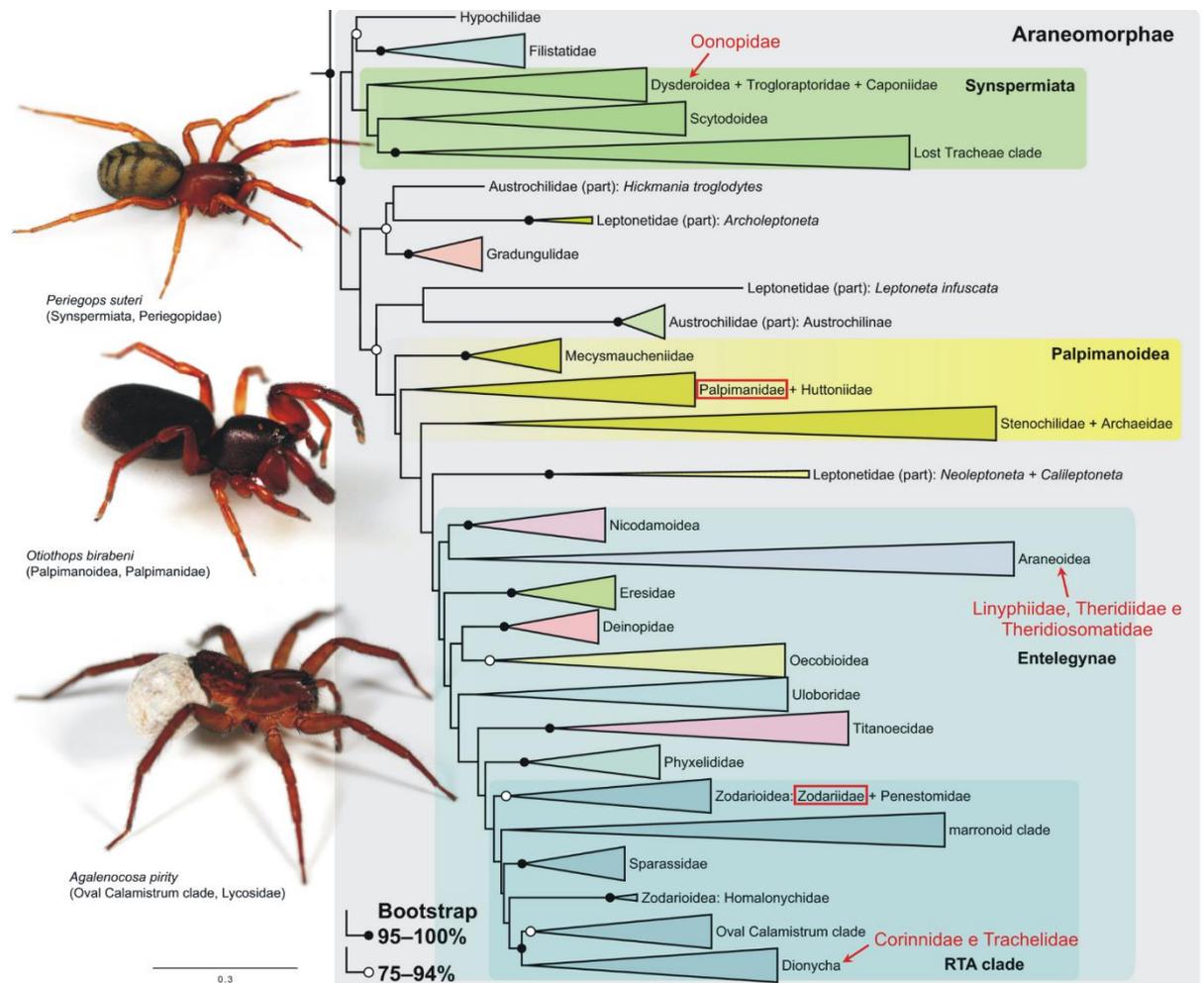


Figura 6.—Cladograma extraído de Wheeler et al. (2017) com a indicação da posição filogenética das famílias estudadas no presente trabalho.

**Famílias com dados cromossômicos descritos pela primeira vez.**— O clado Palpimanoidea ainda não possuía estudos cromossômicos até o momento (Araujo et al. 2022). Segundo Wheeler et al. (2017), apesar de divergências em suas análises moleculares, baseado em outros dados da literatura que consideram mais robustos (Wood et al. 2012, 2013), Palpimanoidea seria um grupo monofilético composto por Mecysmaucheniidae, Huttoniidae, Palpimanidae, Stenochilidae e Archaeidae. Como este trabalho é o primeiro registro cromossômico para toda a superfamília, não há como comparar os dados encontrados em *O. birabeni* dentro deste clado. Segundo Wood et al. (2012, 2013) e Dimitrov et al. (2017) Palpimanoidea é grupo-irmão de Entelegynae, o que se mostra concordante com o

número cromossômico relativamente alto encontrado em *O. birabeni* (Palpimanidae) presente trabalho ( $2n_{\text{♀}} = 36$ ) e com o cariótipo ancestral de Entelegynae proposto por Král et al. (2006), com número diploide também alto ( $2n_{\text{♂}} = 42$ ).

Outra família que ainda não era conhecida citogeneticamente é Theridiosomatidae, que pertence a Araneoidea (Entelegynae). Sua posição dentro da superfamília é controversa (Griswold et al. 1998; Dimitrov et al. 2017; Wheeler et al. 2017; Fernández et al. 2018), entretanto, dentre as famílias propostas como grupo-irmão, possuem dados cromossômicos descritos na literatura apenas Synotaxidae (1sp,  $2n_{\text{♂}} = 24$ , XY) e Araneidae, com menor número diploide igual a  $2n_{\text{♂}} = 13$  e maior igual a  $2n_{\text{♂}} = 49$ , sendo  $2n_{\text{♂}} = 24$  mais frequente (46 espécies de 59 cariotipadas). O número diplóide encontrado em *Naatlo* sp. ( $2n_{\text{♂}} = 30$ ,  $X_1X_2$ ) nunca foi descrito anteriormente, não apenas para essas duas famílias consideradas grupo-irmão, como para todas as Araneoidea já cariotipadas (Araujo et al. 2022). Outra particularidade de *Naatlo* sp. é a presença exclusiva ou quase que exclusiva de cromossomos com dois braços. Dentre as espécies de Synotaxidae e Araneidae cariotipadas, registros com a maioria ou todos os cromossomos de dois braços foram feitos apenas em sete espécies de Araneidae, sendo que em alguns casos houve redução no número diploide ( $2n_{\text{♂}} = 14$ ) e em outros o número diploide permaneceu  $2n_{\text{♂}} = 24$  ou foi descrito como  $2n_{\text{♂}} = 26$  (Hackman 1948; Suzuki 1951; Amalin et al. 1993; Carandang & Barrion 1994; Prakash & Prakash 2014). Sendo assim, tanto o número diploide quanto morfologia cromossômica tornam *Naatlo* sp. um registro peculiar em Araneoidea. Entretanto, deve-se ressaltar que, especificamente o gênero *Naatlo* Coddington, 1986, analisado no presente trabalho, não foi amostrado nas filogenias citadas. Assim, ainda não é possível avaliar se a configuração cariotípica encontrada em *Naatlo* sp. seria uma peculiaridade da espécie analisada, do gênero ou se seria uma característica com ampla presença na família.

### **Famílias que já possuem estudos citogenéticos**

**Linyphiidae e Theridiidae (Entelegynae, Araneoidea).**—Os resultados obtidos para *Agyneta* sp. ( $2n_{\text{♂}} = 24$ ,  $X_1X_2$ , telocêntricos) são os primeiros para uma Linyphiidae coletada na Região Neotropical, mas mostram o mesmo padrão já

descrito para a maioria das espécies da família cariotipadas (10 de 15 espécies cariotipadas) (Araujo et al. 2022), incluindo o gênero-irmão *Helophora* Menge, 1866. Espécies com configurações cariotípicas diferentes desta (Araujo et al. 2022) estão presentes em gêneros que ocupam posições filogenéticas distantes de *Agyneta* (Arnedo et al. 2009; Wang et al. 2015).

O cariótipo encontrado nas três espécies de Theridiidae analisadas neste trabalho (*C. floridanum*, *Thymoites* sp.1 e *Thymoites* sp.2, subfamília Theridiinae) ( $2n♂ = 22$ ,  $X_1X_2$ , com todos os cromossomos telocêntricos) é o mais comum para a família (23 de 32 espécies cariotipadas) (Araujo et al. 2022), sendo encontrado inclusive em *Theridion* Walckenaer, 1805, um gênero conhecidamente problemático e não monofilético, mas que inclui espécies filogeneticamente próximas das aqui estudadas (Agnarsson 2004; Liu et al. 2016).

**Corinnidae, Trachelidae e Zodariidae (Entelegynae, Clado RTA).** —Em Corinnidae (Clado RTA, Dionycha parte B), o número diploide encontrado em *Falconina* sp. ( $2n♂ = 28$ ), um gênero exclusivamente Neotropical, difere daquele já descrito em duas espécies de *Castianeira* Keyserling, 1879 ( $2n♂ = 26$ ) (Bole-Gowda 1958; Mittal 1966), um gênero mundialmente distribuído (World Spider Catalog, 2022), distinguindo cromossomicamente, apesar da baixa amostragem da família até o momento, a subfamília Castianeirinae (*Castianeira*) da subfamília Corinninae (*Falconina* Brignoli, 1985) (Wheeler et al. 2017).

Em Trachelidae (Clado RTA, Dionycha parte A), os dados cromossômicos de *Orthobula* sp. ( $2n♂ = 21$ , X) diferem daqueles encontrados para *Afroseto plana* Lyle & Haddad, 2010 e *Trachelas japonicus* Bösenberg & Strand, 1906 ( $2n♂ = 22$ ,  $X_1X_2$ ) (Suzuki 1952; Šťáhlavský et al. 2020), ou mesmo *Trachelas* sp. ( $2n♂ = 24$ ,  $X_1X_2$ ) (Datta & Chatterjee 1983). Essa diferença citogenética concorda com a filogenia de Haddad et al. (2021), que mostra *Orthobula* próximo de um grupo de *Trachelas* L. Koch, 1872 do Novo Mundo (Clado B), o qual não tem dados cariotípicos publicados, ao passo que *A. plana* aparece como mais próxima de *T. japonicus* (Clado H).

Em Zodariidae, o cariótipo  $2n♂ = 42$ ,  $X_1X_2$  encontrado em *Epicratinus* sp., um gênero Neotropical pertencente a subfamília Storeninae, é o mesmo descrito para *Pax islamita* (Simon, 1873) (Kral et al. 2011; Kumbiçak et al. 2014), pertencente a um gênero que ocorre no Oriente Médio e anteriormente era considerado também

uma Storeninae, mas foi realocado na subfamília Zodariinae (Jocqué 1991; Henrard 2019). O fato desse mesmo cariótipo, proposto também por Král et al. (2006) como ancestral para Entelegynae, estar presente em duas subfamílias e duas regiões geográficas distintas, sugere que seja um cariótipo ancestral também para a família, sofrendo reduções até atingir números diplóides entre  $2n_{\text{♂}} = 29$  e  $2n_{\text{♂}} = 21$ , nos gêneros *Mallinella* Strand, 1906 e *Zodarion* Walckenaer, 1826. Apesar da similaridade de número diploide e SCS entre *Epicratinus* sp. e *Pax islamita*, estas se diferenciam cromossomicamente pelo fato da primeira possuir o  $X_1$  subtelocêntrico, ao passo que na segunda o  $X_1$  é acrocêntrico, como em todas as demais espécies da família cariotipadas (Araujo et al. 2022).

**Oonopidae (Não-entelegina, Dysderoidea).**—Dentre os gêneros incluídos na filogenia de Busschere et al. (2014), *Neoxyphinus* Birabén, 1953 e *Neotrops* Grismado & Ramírez, 2013 (presente trabalho), bem como *Oonops* Templeton, 1835 e *Ischnothyreus* Simon, 1893 possuem  $2n_{\text{♂}} = 7$ , X, mesmo cariótipo encontrado em *Xestaspis* Simon, 1884 (Král et al. 2019), um gênero não incluído na filogenia mencionada. Esta configuração é considerada ancestral para Dysderoidea por Král et al. (2019) e provavelmente é também ancestral para Oonopidae, considerando que foi encontrada em dois dos três gêneros analisados no presente trabalho, ampliando a sua ocorrência tanto entre os taxa da família quanto na distribuição geográfica, já que os gêneros do presente trabalho são exclusivos das Américas ao passo que os gêneros cariotipados anteriormente ocorrem majoritariamente em outras regiões do globo. *Cinetomorpha simplex* foi um caso particular, com  $2n_{\text{♂}} = 9$ , X. Infelizmente este gênero não consta na filogenia de Busschere et al. (2014), mas, este cariótipo com um par autossômico a mais em relação às outras Oonopidae pode ser considerado uma possível sinapomorfia para o gênero, junto com outra característica do espiráculo traqueal, proposta por Ott et al. (2019).

## CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo cromossômico focado em aranhas diminutas forneceu os primeiros registros citogenéticos para Palpimanidae e Theridiosomatidae. Além disso, ampliou a amostragem de espécies cariotipadas para as demais famílias analisadas com a descrição de dados em gêneros até então

desconhecidos o que contribui para aumentar a representatividade das informações cromossômicas nestes grupos de aranhas pouco estudados e assim diminuir as lacunas que dificultam a elucidação de questionamentos evolutivos.

#### LITERATURA CITADA

- Agnarsson I. 2004. Morphological phylogeny of cobweb spiders and their relatives (Araneae, Araneoidea, Theridiidae). *Zoological journal of the Linnean Society* 141:447-626.
- Amalin DM, Barrion AA, Jayoma M. 1993. Comparative karyomorphology of two *Neoscona* species (Araneae:Araneidae). *Philippine Entomologist* 9:1-6.
- Araujo D, Rheims CA, Brescovit AD, Cella DM. 2008. Extreme degree of chromosome number variability in species of the spider genus *Scytodes* (Araneae, Haplogynae, Scytodidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 46:89-95.
- Araujo D, Schneider MC, Paula-Neto E, Cella DM. 2022. The spider cytogenetic database. Online at <http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase>, accessed on {March of 2022}.
- Arnedo MA, Hormiga G, Scharff N. 2009. Higher-level phylogenetics of linyphiid spiders (Araneae, Linyphiidae) based on morphological and molecular evidence. *Cladistics* 25:231-262.
- Bole-Gowda BN. 1958. A study of the chromosomes during meiosis in twenty-two species of Indian spiders. *Proceedings of the Zoological Society of Bengal* 11:69-108.
- Busschere C de, Fannes W, Henrard A, Gaublomme E, Jocqué R, Baert L. 2014. Unravelling the goblin spiders puzzle: rDNA phylogeny of the family Oonopidae (Araneae). *Arthropod Systematics & Phylogeny* 72:177-192.2
- Carandang RB, Barrion AA. 1994. Karyotype of the egg chromosomes of *Argiope luzona* (Walck.), and orb-weaving spider (Araneae, Araneidae). *Philippine Entomologist* 9:443-447.
- Datta SN, Chatterjee K. 1983. Chromosome number and sex-determining system in fifty-two species of spiders from North-East India. *Chromosome Information Service* 35:6-8.
- Dimitrov D; Benavides LR; Arnedo MA; Giribet G; Griswold CE; Scharff N. et al. 2017. Rounding up the usual suspects: a standard target-gene approach for resolving the interfamilial phylogenetic relationships of ecribellate orb-weaving

spiders with a new family-rank classification (Araneae, Araneoidea). *Cladistics* 33:221-250.

- Fernández R, Kallal RJ, Dimitrov D, Ballesteros JA, Arnedo MA, Giribet G. et al. 2018. Phylogenomics, diversification dynamics, and comparative transcriptomics across the spider tree of life. *Current Biology* 28:1489-1497.
- Green DM, Sessions SK. 1991. Amphibian cytogenetics and evolution. Pp. 431-432. In Appendix I, Nomenclature for chromosomes. Academic Press, USA.
- Griswold CE, Coddington JA, Hormiga G, Scharff N. 1998. Phylogeny of the orb-web building spiders (Araneae, Orbicularia: Deinopoidea, Araneoidea). *Zoological Journal of the Linnean Society* 123:1-99.
- Hackman W. 1948. Chromosomenstudien an Araneen mit besonderer berücksichtigung der geschlechtschromosomen. *Acta Zoologica Fennica* 54:1-101.
- Haddad CR, Jin C, Platnick NI, Booyesen R. 2021. *Capobula* gen. nov., a new Afrotropical dark sac spider genus related to *Orthobula* Simon, 1897 (Araneae: Trachelidae). *Zootaxa* 4942:41-71.
- Henrard A. 2019. Systematics and phylogeny of the ant eating spiders (Araneae; Zodariidae): a total evidence analysis. Tese de Doutorado. UCL-Université Catholique de Louvain.
- Indicatti RP, Candiani DF, Brescovit AD, Japyassú HF. 2005. Diversidade de aranhas de solo (Arachnida: Araneae) na bacia do Reservatório do Guarapiranga, São Paulo, São Paulo, Brasil. *Biota Neotrop* 5:1-12.
- Jocqué R. 1991. A generic revision of the spider family Zodariidae (Araneae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 201:1-160.
- Král J, Musilová J, Št`Áhlavský F, Řezáč M, Akan Z, Edwards RL. et al. 2006. Evolution of the karyotype and sex chromosome systems in basal clades of araneomorph spiders (Araneae: Araneomorphae). *Chromosome Research* 14:859-880.
- Král J, Kořínková T, Forman M, Krkavcová L. 2011. Insights into the meiotic behavior and evolution of multiple sex chromosome systems in spiders. *Cytogenetic and Genome Research* 133:43-66.
- Král J, Forman M, Kořínková T, Lerma ACR, Haddad CR, Musilová J. et al. 2019. Insights into the karyotype and genome evolution of haplogyne spiders indicate a polyploid origin of lineage with holokinetic chromosomes. *Scientific Reports* 9:1-14.
- Kumbıçak Z, Ekiz E, Çiçekli S. 2014. Karyotypes of six spider species belonging to the families Gnaphosidae, Salticidae, Thomisidae, and Zodariidae (Araneae) from Turkey. *Comparative Cytogenetics* 8:93-101.

- Lemos RY, Goldoni PAM, Brescovit AD. 2012. Aranhas de serrapilheira da Serra do Itapeti. Pp. 187-199. *In* Serra do Itapeti. Aspectos Históricos, Sociais e Naturalísticos. (MSC Morini, VFO Miranda eds.). Canal 6 Editora, Bauru.
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201–220.
- Liu J, May-Collado LJ, Pekár S, Agnarsson I. 2016. A revised and dated phylogeny of cobweb spiders (Araneae, Araneoidea, Theridiidae): a predatory Cretaceous lineage diversifying in the era of the ants (Hymenoptera, Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94:658-675.
- Mittal OP. 1966. Karyological studies on the Indian spiders V. Chromosome cycle in three species of the family Clubionidae. *Caryologia* 19:385-394.
- Ott R, Ubick D, Bonaldo AB, Brescovit AD, Harvey MS. 2019. A revision of the new world goblin spider genus *Cinetomorpha* Simon, 1892 revalidated from *Gamasomorpha* Karsch, 1881 (Araneae, Oonopidae, Oonopinae). *Zootaxa* 4641:01-152.
- Prakash A, Prakash S. 2014. Cytogenetical investigations on spiders of semi-arid areas. *Indian Journal of Arachnology* 3:40-54.
- Rasband WS. 1997-2021. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Online at <http://imagej.nih.gov/ij/>
- Sakamoto Y, Zacaro AA. 2009. Levan, an ImageJ plugin for morphological cytogenetic analysis of mitotic and meiotic chromosomes. Initial version. Plugin Java of opencode acessible in <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
- Št'áhlavský F, Forman M, Just P, Denič F, Haddad CR, Opatova V. 2020. Cytogenetics of entelegyne spiders (Arachnida, Araneae) from southern Africa. *Comparative Cytogenetics* 14:107-138.
- Suzuki S. 1951. Cytological studies in spiders. I. A comparative study of the chromosomes in the family Argiopidae. *Journal of science of the Hiroshima University. Series B. Division 1* 12:67-98.
- Suzuki S. 1952. Cytological studies in spiders II. Chromosomal investigation in twenty two species of spiders belonging to the four families, Clubionidae, Sparassidae, Thomisidae and Oxyopidae, which constitute Clubionoidea, with special reference to sex chromosomes. *Journal of science of the Hiroshima University. Series B. Division 1* 13:1-52.
- Wang F, Ballesteros JA, Hormiga G, Chesters D, Zhan Y, Sun N. et al. 2015. Resolving the phylogeny of a speciose spider group, the family Linyphiidae (Araneae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 91:135-149.

- Wheeler WC, Coddington JA, Crowley LM, Dimitrov D, Goloboff PA, Griswold CE. et al. 2017. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics* 33:574-616.
- Wood HM, Griswold CE, Gillespie, R. 2012. Phylogenetic placement of pelican spiders (Archaeidae, Araneae), with insight into evolution of the “neck” and predatory behaviors of the superfamily Palpimanoidea. *Cladistics* 28:598–626.
- Wood HM, Matzke N, Gillespie R, Griswold CE. 2013. Treating fossils as terminal taxa in divergence time estimation reveals ancient vicariance patterns in the palpimanoid spiders. *Syst. Biol* 62:264–284.
- World Spider Catalog. 2022. World Spider Catalog. Version 23.0 Natural History Museum, Bern. Online at [wsc.nmbe.ch](http://wsc.nmbe.ch), accessed on {March of 2022}. doi: 10.24436/2

## ANEXO 1

### Normas da Revista Journal of Arachnology

**Geral:** O Journal of Arachnology publica artigos científicos relatando observações e dados novos e significativos sobre qualquer aspecto da biologia de grupos de aracnídeos. Os artigos devem ser cientificamente rigorosos e relatar informações substancialmente novas. Submissões com foco excessivamente restrito (por exemplo, listas de fauna local, descrições de um segundo sexo ou de uma única espécie ou primeiro registro sem discussão adicional sobre o significado dessa informação), que tenham dados observacionais pouco fundamentados ou que não apresentem novas informações não serão consideradas. As resenhas de livros não serão publicadas.

Os manuscritos devem ser em inglês e devem usar a voz ativa durante todo o processo. Os autores devem consultar uma edição recente do Journal of Arachnology para pontos adicionais de estilo. Manuscritos com mais de três páginas impressas de periódicos (10 ou mais páginas tamanho US Letter com espaço 1,5, texto de 12 pontos) devem ser preparados como artigos de destaque, artigos mais curtos como comunicações curtas.

**Envio:** Os manuscritos devem ser salvos como arquivos do Microsoft Word e enviados eletronicamente por meio do sistema online, PeerTrack ([www.editorialmanager.com/arachno](http://www.editorialmanager.com/arachno)). O PeerTrack o guiará pelo processo passo a passo, incluindo o upload do manuscrito e de todas as suas partes. Texto, tabelas, figuras e apêndices devem ser enviados como arquivos separados. O PeerTrack reunirá todas as partes do artigo em um PDF que você, como autor correspondente, precisará aprovar antes que o processo de envio seja concluído. Os Materiais Suplementares também podem ser carregados, mas não são agrupados no PDF. Se o manuscrito for aceito para publicação, os autores são responsáveis por garantir que todas as figuras atendam à resolução e dimensões exigidas (veja as ilustrações abaixo). Estes podem ser submetidos ao PeerTrack ou diretamente ao Editor-Chefe.

**Comprovante de espécimes:** Espécimes de espécies utilizadas em sua pesquisa devem ser depositados em uma instituição científica reconhecida. Todo o material tipo deve ser depositado em uma coleção/instituição reconhecida e a identidade da coleção deve ser indicada no texto do manuscrito.

#### Artigos em destaque

**Página de título** — A página de título inclui o nome completo, endereço e endereço de e-mail do autor correspondente; o título em negrito e maiúsculas; nome e endereço de cada autor; e o cabeçalho corrido.

**Cabeçalho corrido** — Deve estar em letras maiúsculas, não excedendo 60 caracteres e espaços, e colocado no topo da página de rosto. Deve ser composto pelos sobrenomes dos autores e um título curto. Exemplos: SMITH—SALTICIDS DO PANAMÁ; SMITH & CRUZ—SALTICIDS... ; SMITH ET AL.—SALTICIDS...

**Resumo** — Comprimento: ≤ 250 palavras para artigos de destaque.

**Palavras-chave** — Forneça de 3 a 5 palavras-chave ou frases apropriadas após o resumo. As palavras-chave não devem duplicar palavras no título e evitar palavras que apareçam no resumo.

Texto — Use fonte de 12 pontos e espaçamento 1,5 entre linhas no texto, tabelas, legendas, etc. Exceto para títulos e cabeçalhos, todo o texto deve ser justificado apenas à esquerda. Não adicione números de linha — eles são adicionados automaticamente pelo PeerTrack.

Três níveis de cabeçalhos são usados:

O primeiro nível (MÉTODOS, RESULTADOS, etc.) é digitado em maiúsculas e centralizado em uma linha separada.

O cabeçalho de segundo nível inicia um parágrafo com um recuo, está em negrito e é separado do texto por um ponto e um traço.

O terceiro nível pode ou não iniciar um parágrafo, mas está em itálico e separado do texto por dois pontos.

Use apenas o sistema métrico, a menos que cite texto ou faça referência a dados de coleção. Se as medidas em inglês forem usadas ao fazer referência a dados de coleta, os equivalentes métricos também deverão ser incluídos entre parênteses. Todas as frações decimais são indicadas por um ponto (por exemplo 3.141). Inclua coordenadas geográficas dos locais de coleta, se possível, usando um dos seguintes formatos: 0°12'32"S, 29°52'17"E ou 0,2089°S, 29,8714°E ou -0,2089, 29,8714. Use um símbolo de grau em vez de uma letra "o" sobrescrita.

Citação de referências no texto: Citar apenas trabalhos já publicados ou no prelo, em ordem cronológica. Incluir entre parênteses o sobrenome do autor seguido da data de publicação. Uma vírgula separa várias citações do(s) mesmo(s) autor(es) e um ponto e vírgula separa citações de diferentes autores, por exemplo, (Smith 1970), (Jones 1988; Smith 1993), (Smith & Jones 1986, 1987; Jones et al. 1989). Inclua uma carta de permissão de qualquer pessoa citada como fornecedora de dados não publicados na forma de comunicação pessoal.

Citação de táxons no texto: Inclua a citação taxonômica completa (autor, ano) para cada nome de gênero e/ou espécie de aracnídeo quando ele aparecer pela primeira vez no resumo e no texto propriamente dito, por exemplo, *Araneus diadematus* Clerck, 1757, *Stegodyphus lineatus* (Latreille, 1817).

Literatura citada — Use o seguinte estilo e formatação exatamente como ilustrado; incluir o título completo não abreviado do periódico. Se um gerador de citações for usado, os autores ainda devem verificar se há erros de formatação. Páginas pessoais da web não devem ser incluídas na Literatura Citada. Estes podem ser citados no texto como (John Doe, site pessoal) sem o URL. Sites institucionais podem ser incluídos na Literatura Citada. Se uma citação incluir mais de seis autores, liste os seis primeiros e adicione "et al." para representar os outros.

Hsiung B-K, Shawkey MD, Blackledge TA. 2019. Color production mechanisms in spiders. *Journal of Arachnology* 42:165–180.

Krehenwinkel H, Meese S, Mayer C, Ruch J, Schneider J, Bilde T. et al. 2019. Cost effective microsatellite isolation and genotyping by high throughput sequencing. *Journal of Arachnology* 47:190–201.

Binford, G. 2013. The evolution of a toxic enzyme in sicariid spiders. Pp. 229–240. *In* Spider Ecophysiology. (W. Nentwig, ed.). Springer-Verlag, Heidelberg.

Roewer CF. 1954. Katalog der Araneae, Volume 2a. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Bruxelles.

World Spider Catalog. 2020. World Spider Catalog. Version 21.0 Natural History Museum, Bern. Online at [wsc.nmbe.ch](http://wsc.nmbe.ch), accessed on {date of access}. doi: 10.24436/2.

Notas de rodapé — As notas de rodapé são permitidas na primeira página apenas para fornecer o endereço atual ou outras informações do autor, e na parte inferior das tabelas.

Artigos taxonômicos — Consulte um artigo taxonômico recente no *Journal of Arachnology* para saber o estilo ou entre em contato com um Editor de Assuntos para Sistemática. Artigos contendo descrições originais de táxons de aracnídeos focais devem ser listados na seção Literatura Citada.

Tabelas — Cada tabela, com a legenda acima, deve ser colocada em uma página separada do manuscrito. Apenas linhas horizontais (geralmente não mais que três) devem ser incluídas. Quando necessário, as tabelas podem ter notas de rodapé, por exemplo, para especificar os significados dos símbolos pertencentes a dados específicos. As tabelas devem ser enviadas como arquivos de texto, não como pdfs ou arquivos de imagem (por exemplo, sem arquivos jpeg ou png).

Ilustrações — As ilustrações originais incluem fotografias, desenhos de linhas, mapas e outras representações gráficas. Todas devem ser consideradas figuras e numeradas consecutivamente com outras figuras. Cada figura ou placa deve ser submetida como um arquivo separado, não embutido no texto do manuscrito. As figuras devem ter resolução mínima de 300 ppi (pixels por polegada) ou 118 pixels por cm. Ao preparar imagens, considere as dimensões finais da imagem em uma página impressa. As imagens podem ser impressas na largura de uma coluna (3.45 polegadas ou 8.8 cm), uma coluna e meia (5.2 polegadas ou 13.25 cm) ou duas colunas (7.2 polegadas ou 18.3 cm). A altura máxima para todas as imagens impressas é de 8.3 polegadas ou 21.08 cm. Assim, se uma figura deve ser impressa com duas colunas de largura para ser legível, sua altura correspondente não pode ser maior que 21.08 cm.

As legendas das ilustrações devem ser colocadas juntas na(s) mesma(s) página(s). Cada placa deve ter apenas uma legenda, conforme indicado abaixo:

Figuras 1–4.—Espécie do gênero, macho de Timbaktu: 1. Perna esquerda. 2. Quelícera direita. 3. Aspecto dorsal da genitália. 4. Face ventral do abdome.

A seguinte numeração de Figura alternativa também é aceitável:

Figura 1a–e.—Espécies do gênero, macho de Timbaktu: a. Perna esquerda. b. Quelícera direita. c. Aspecto dorsal da genitália. d. Face ventral do abdome.

Montagem do manuscrito — O manuscrito deve ser montado na seguinte sequência: página de rosto, resumo, texto, agradecimentos, literatura citada e legendas das figuras. Conforme observado acima, texto, tabelas, figuras, apêndices e arquivos suplementares devem ser enviados individualmente.

Materiais suplementares — Os autores podem enviar materiais para publicação online que aumentem significativamente o conteúdo de um manuscrito. Podem ser arquivos de áudio (por exemplo, .mp3, .m4a, .aif, .wav), arquivos de vídeo (por exemplo, .mov, .m4v, .flv, .avi), .pdf e arquivos de texto (por exemplo, .txt, .nxs, .doc ou .docx) ou arquivos Excel (por exemplo, .xls, .xlsx) para tabelas de dados grandes.

Materiais suplementares serão considerados pelos revisores e, portanto, devem ser incluídos no momento da submissão do manuscrito. Materiais suplementares são publicados online a critério dos editores.

#### Arte da capa

Os autores são encorajados a enviar fotografias coloridas de alta qualidade ao Editor-Chefe para serem consideradas para uso na capa. As imagens devem ter pelo menos 300 dpi.

## Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 15382-3	Data da Emissão: 30/01/2022 20:14:46	Data da Revalidação*: 01/06/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

### Dados do titular

Nome: Douglas de Araujo	CPF: 264.084.718-03
Nome da Instituição: Fund. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul	CNPJ: 86.891.363/0001-80

### Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
3	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
4	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro; c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica às categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas.
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais ou esportivos ou para realização de atividades integrantes do processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
6	Esta licença permanente NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal.
7	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
8	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
9	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
10	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
11	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
12	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
13	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
14	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 0153820320220130

Página 1/3

**Licença permanente para coleta de material zoológico**

Número: 15382-3	Data da Emissão: 30/01/2022 20:14:46	Data da Revalidação*: 01/06/2022
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

**Dados do titular**

Nome: Douglas de Araujo	CPF: 264.084.718-03
Nome da Instituição: Fund. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul	CNPJ: 86.891.363/0001-80

**Atividades**

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
4	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

**Táxons autorizados**

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	Classe	Animalia > Arthropoda > Arachnida

**Destino do material biológico coletado**

#	Nome local destino	Tipo destino
1	INSTITUTO BUTANTAN	Coleção

