



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

**DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA NO GÊNERO *MICRATHENA* SUNDEVALL, 1833  
(ARANEAE, ARANEIDAE)**

Caroline Correia da Costa

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  
Agosto, 2022



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



RESOLUÇÃO Nº 263-CPOS/BIA/INBIO/UFMS, DE 06 DE SETEMBRO DE 2022.

**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 CAROLINE CORREIA DA COSTA, intitulada "Diversidade cromossômica no gênero *Micrathena* Sundevall, 1833 (Araneae, Araneidae)", sob a orientação do docente DOUGLAS DE ARAÚJO, conforme segue:

DOUGLAS DE ARAÚJO (UFMS - Presidente)

MARIELLE CRISTINA SCHNEIDER (UFMT - Titular)

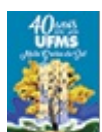
MATHEUS PIRES RINCÃO (UENP - Titular)

VIVIANE FAGUNDES DE MATTOS (Titular)

MARGARIDA MARIA DE ROSSI VIEIRA (UEMS - Suplente)

EDIHANNE GAMARRA ARGULEHO (UFMS - Suplente)

GUSTAVO GRACIOLLI,  
Presidente.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Graciolli, Coordenador(a) de Curso de Pós-graduação**, em 07/09/2022, às 10:11, 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 **3533777** e o código CRC **0290099E**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:





**Diversidade cromossômica no gênero *Micrathena* Sundevall, 1833  
(Araneae, Araneidae)**

Caroline Correia da Costa

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

Agosto, 2022

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente meus pais Roseli e Gilmar, por sempre me apoiarem e incentivarem meus estudos, proporcionando um suporte para que eu conseguisse prosseguir.

Ao meu namorado pelo apoio e auxílio nos momentos difíceis.

Aos meus amigos Débora, Bruno, Lucas e Jennifer, que sempre me apoiaram e auxiliaram em diversas etapas do mestrado, e em especial ao Bruno e o Lucas que me auxiliaram nos primeiros meses da iniciação científica.

Ao Dr. Antonio Domingos Brescovit, pela identificação taxonômica e tombamento das espécies analisadas neste trabalho e ao Pedro Henrique Martins, pela disponibilização de diversos exemplares analisados neste trabalho e identificação e tombamento de parte dos exemplares.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) por contribuírem com minha formação.

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

É um agradecimento em especial para meu orientador Douglas de Araujo, que abriu as portas do laboratório no meu primeiro ano de graduação, e todo seu incentivo e dedicação durante todos esses anos, sem ele nada disso seria possível.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da UFMS pela bolsa concedida durante os dois anos de curso.

## RESUMO

As aranhas constituem um grupo megadiverso, com mais de 50 mil espécies descritas taxonomicamente, com centenas de novas descrições são feitas a cada ano. Apesar da enorme diversidade, apenas 849 espécies foram estudadas do ponto de vista cromossômico. A citogenética fornece dados como número diplóide, morfologia cromossômica, tipo de SCS, comportamento dos cromossomos na meiose, padrão de distribuição de regiões de cromatina específicas, entre outras, que podem ser usadas na comparação entre espécies. O objetivo deste trabalho foi analisar espécies de *Micrathena*, preferencialmente pertencentes a grupos taxonômicos ainda não englobados na análise de Silva (2019). As análises cromossômicas foram realizadas com coloração convencional e impregnação por nitrato de prata (Ag-RON). Adicionalmente, mediu-se o comprimento diplóide total do cariótipo (TCL). *Micrathenanigrichelis*, *Micrathenaschreibersi* e *Micrathenaspinosa* apresentaram  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$ , *Micrathenaannulata* revelou  $2n_{\text{♂}}=46=42+X_1X_2X_3X_4$  e *Micrathena bandeirante* apresentou  $2n_{\text{♂}}=47=44+X_1X_2X_3$ , todos com cromossomos exclusivamente telocêntricos. Em *Micrathena plana* foi encontrada variação interpopulacional:  $2n_{\text{♂}}=13=12+X$ , com cromossomos metacêntricos exceto por um par submetacêntrico, na população de São Paulo e  $2n_{\text{♂}}=20=18+X_1X_2$  na população da Bahia, sem observação da morfologia. Ag-RONs foram encontradas na região terminal de dois e quatro cromossomos em *Micrathena bandeirante* e *Micrathena plana*, respectivamente. Baseando-se nos resultados deste trabalho, o cariótipo  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$  deve ser ancestral para os gêneros irmãos *Micrathena* e *Verrucosa*. Não é possível traçar com robustez uma hipótese para toda a evolução cromossômica no gênero, mas ao menos em grupos como *plana*, os dados já permitem propor possíveis esquemas de evolução cariotípica.

## ABSTRACT

Spiders constitute a megadiverse group, with over 50,000 taxonomically described species, with hundreds of new descriptions being made each year. Despite the enormous diversity, only 849 species were studied from the chromosomal point of view. Cytogenetics provides data such as diploid number, chromosome morphology, SCS type, behavior of chromosomes in meiosis, distribution pattern of specific chromatin regions, among others, which can be used in the comparison between species. The objective of this work was to analyze species of *Micrathena*, preferably belonging to taxonomic groups not yet included in the analysis by Silva (2019). Chromosomal analyzes were performed with conventional staining and silver nitrate impregnation (Ag-RON). Additionally, the total diploid karyotype length (TCL) was measured. *Micrathenanigrichelis*, *Micrathenaschreibersi* and *Micrathenaspinosa* showed  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$ , *Micrathenaannulata* revealed  $2n_{\text{♂}}=46=42+X_1X_2X_3X_4$  and *Micrathenabandeirante* showed  $2n_{\text{♂}}=47=44+X_1X_2X_3$ , all with exclusively telocentric chromosomes. Interpopulational variation was found in *Micrathena plana*:  $2n_{\text{♂}}=13=12+X$ , with metacentric chromosomes except for a submetacentric pair, in the population of São Paulo and  $2n_{\text{♂}}=20=18+X_1X_2$  in the population of Bahia, without observation of morphology. Ag-NORs were found in the terminal region of two and four chromosomes in *Micrathenabandeirante* and *Micrathena plana*, respectively. Based on the results of this work, the karyotype  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$  must be ancestral to the sister genera *Micrathena* and *Verrucosa*. It is not possible to robustly outline a hypothesis for all chromosomal evolution in the genus, but at least in groups such as flat, the data already allow us to propose possible schemes of karyotypic evolution.

## INTRODUÇÃO

As aranhas constituem um grupo megadiverso, atualmente com 50.224 espécies descritas taxonomicamente, divididas em 132 famílias (WORLD SPIDER CATALOG, 2022), sendo que centenas de novas descrições são feitas a cada ano. Filogeneticamente, a ordem Araneae está dividida em duas subordens, Mesothelae e Opisthothelae. Em Mesothelae estão agrupadas aranhas que apresentam características plesiomórficas como abdômen segmentado reunidas em uma única família vivente, Liphistiidae. Opisthothelae está dividida em duas infraordens: Mygalomorphae e Araneomorphae. Em Mygalomorphae estão agrupadas todas as Opisthothelae que apresentam quelíceras paraxiais. Em Araneomorphae estão reunidas aranhas com quelíceras diaxiais, que representam mais de 90% da ordem (CODDINGTON & LEVI 1991; BOND et al. 2014; GARRISON et al. 2016; WHEELER et al. 2017).

Apesar da enorme diversidade, apenas 849 espécies de aranhas foram estudadas do ponto de vista cromossômico, o que representa apenas 1,7% de todas as espécies conhecidas taxonomicamente (ARAUJO et al., 2022, WORLD SPIDER CATALOG, 2022). O número diplóide na ordem varia de  $2n♂ = 5$ , em *Afrilobus* sp. (Orsolobidae), a  $2n♂ = 152$  em *Caponianatalensis* (O. Pickard-Cambridge, 1874) (KRÁL et al., 2019). A morfologia cromossômica predominante é acro/telocêntrica e o sistema cromossômico sexual (SCS) mais comum é do tipo  $X_1X_2$  nos machos e  $X_1X_1X_2X_2$  nas fêmeas (ARAUJO et al., 2022).

A citogenética fornece dados como número diplóide, morfologia cromossômica, tipo de SCS, comportamento dos cromossomos na meiose, padrão de distribuição de regiões de cromatina específicas (bandeamento C e impregnação pelo nitrato de prata), entre outras, que podem ser usadas na comparação entre espécies, auxiliando na identificação ou na discussão acerca das relações evolutivas (ARAUJO et al., 2015). Entretanto, a existência de lacunas no conhecimento citogenético, com gêneros de aranhas altamente diversos cromossomicamente, mas com poucas espécies analisadas, como *Micrathena* Sundevall, 1833 (Araneidae) (SILVA, 2019), dificulta a discussão sobre a evolução cromossômica na maioria dos grupos dessa ordem.

As Regiões Organizadoras de Nucléolo (RONs) são regiões de sequência de DNA repetitivo in tandem, responsáveis pela formação e manutenção do nucléolo, onde o gene ribossômico da subunidade 45S (5.8S, 18S, 28S) é transcrito na interfase celular. As RONs são muito úteis no entendimento da evolução cromossômica, e podem revelar dados sobre diferenciação cariotípica entre espécies relacionadas (ZHANG & SANG, 1999; DATSON



&MURRAY, 2006; PISANO & GHIGLIOTTI, 2009; CABRAL-DE-MELLO et al., 2011). A técnica de impregnação pelo íon prata (Ag-RO) evidencia as proteínas de natureza ácida que se associam às RONS ativas durante a interfase mais recente, sendo bastante difundida por ser de baixo custo (GOODPASTURE & BLOOM, 1975; HOWELL & BLACK, 1980).

Araneidae compreende 183 gêneros e 3.091 espécies, dos quais 29 gêneros e 73 espécies foram cariotipadas, representando a terceira maior família de aranhas quanto ao número de espécies descritas taxonomicamente (WORLD SPIDER CATALOG, 2022), e citogeneticamente (ARAUJO et al., 2022). De acordo com diversas filogenias, há forte suporte para Araneoidea, que inclui Araneidae e outras 16 famílias, entretanto, a posição filogenética de Araneidae dentro da superfamília permanece em debate (SCHARFF & CODDINGTON, 1997; GRISWOLD et al., 1998; DIMITROV et al., 2017; WHEELER et al., 2017; FERNANDEZ et al., 2018, SCHARFF et al. 2020).

O número diplóide em Araneidae varia de  $2n^{\sigma} = 11 = 10 + X$  em *Micrathena plana* (C.L. Koch, 1836) a  $2n^{\sigma} = 51 = 46 + X_1X_2X_3X_4X_5$  em *Micrathenasanctispiritus* Brignoli, 1983, citada como *Micrathenacrassispina* (C.L. Koch, 1836) por SILVA (2019). A configuração cariotípica mais comum é  $2n^{\sigma} = 24 = 22$  autossomos +  $X_1X_2$ , encontrada em cerca de 80% das espécies. O SCS predominante é do tipo  $X_1X_2$  (aproximadamente 90%). A morfologia dos cromossomos é acro/telocêntrica na maioria das espécies (SILVA, 2019; ARAUJO et al., 2022).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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(4):1-8.

Araujo D, Schneider MC, Paula-Neto E, Cella DM. 2022. The spider cytogenetic database. Disponível em: <<https://arthropodacytogenetics.bio.br/douglas.html>>. Acesso em: 15 jul. 2022.

Bond JE, Garrison NI, Hamilton CA, Godwin RI, 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.

Cabral-De-Mello DC, Moura RC, Martins C. 2011. Cytogenetic mapping of rRNAs and histone H3 genes in 14 species of *Dichotomius* (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae) beetles. *Cytogenetic and Genome Research*, 134:127-135.

Coddington JA, Levi HW. 1991. Systematics and evolution of spiders (Araneae). *Annual Review of Ecology and Systematics*. 22:565-592.

Datson PM, Murray BG. 2006. Ribosomal DNA locus evolution in *Nemesia*: transposition rather than structural rearrangement as the key mechanism? *Chromosome Research*, 14:845-857.

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(3):221-250.

Fernandez 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. *Curr. Biol.* 28:1489–1497.

Garrison NI, Rodriguez J, Agnarsson I, Coddington Ja, Griswold Ce, Hamilton Ca. et al. 2016. Spider phylogenomics: untangling the Spider Tree of Life. *PeerJ*:e1719.

Griswold CE, Coddington JA, Hormiga G, Scharff N. 1998. Phylogeny of the orb-web building spiders (Araneae, Orbiculariae: Deinopoidea, Araneoidea). *Zool. J. Linn. Soc.* 123:1-99.

Goodpasture C, Bloom SE. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver stain. *Chromosoma*, 53:37-50.

Howell WM, Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36:1014-1015.

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.

Pisano E, Ghigliotti L. 2009. Ribosomal genes in notothenioid fishes: Focus on the chromosomal organisation. *Marine Genomics*, 2:75-80.

Silva BC. 2019. Análise cromossômica em aranhas do gênero *Micrathena* Sundevall 1833 (ARANEIDAE). Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Fundação Universidade

Federal De Mato Grosso Do Sul Instituto De Biociências Programa De Pós-graduação Em Biologia Animal.

Scharff N, Coddington JA. 1997. A Phylogenetic analysis of the orb-weaving spider family Araneidae (Arachnida, Araneae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 120:355- 434.

Scharff N, Coddington JA, Blackledge TA, Agnarsson I, Framenaue VW, Szuts T. et al. 2020. Phylogeny of the orb-weaving spider family Araneidae (Araneae: Araneoideda), *cladistics* 36:1-21.

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(6):576-616.

World Spider Catalog. 2022. World Spider Catalog. Natural History Museum Bern. Disponível em <<https://wsc.nmbe.ch/>>, version 23.5. Acesso em 15 jul. 2022.

Zhang D, Sang T. 1999. Physical mapping of ribosomal RNA genes in peonies (*Paeonia*, Paeoniaceae) by fluorescent in situ hybridization: implications for phylogeny and concerted evolution. *American Journal of Botany*, 86:735–740.

**Artigo 1 - Normas seguidas da Revista JournalofArachnology (Anexo 1)**

**DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA NO GÊNERO *MICRATHENA* SUNDEVALL, 1833  
(ARANEAE, ARANEIDAE)**

Caroline Correia da Costa<sup>1</sup>, Antonio Domingos Brescovit<sup>2</sup>, Pedro Henrique Martins<sup>3</sup>  
Douglas Araujo<sup>1</sup>

1Laboratório 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: caroline.correia.costa1998@gmail.com; d.araujo@ufms.com.

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

3Laboratório de Aracnologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

**RESUMO:** Araneidae possui 66 espécies cariotipadas até o momento, a maioria com cariótipo  $2n_{\text{♂}}=24=22+X_1X_2/2n_{\text{♀}}=26=22+X_1X_1X_2X_2$ . *Micrathena* é um gênero de Araneidae com aranhas com abdômen espinhoso e que apresentam dimorfismo sexual. O objetivo deste trabalho foi analisar espécies de *Micrathena*, preferencialmente pertencentes a grupos taxonômicos ainda não englobados na análise de Silva (2019). As análises cromossômicas foram realizadas com coloração convencional e impregnação por nitrato de prata (Ag-RON). Adicionalmente, mediu-se o comprimento diplóide total do cariótipo (TCL). *Micrathenanigrichelis*, *Micrathenaschreibersi* e *Micrathenaspinosa* apresentaram  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$ , *Micrathenaannulata* revelou  $2n_{\text{♂}}=46=42+X_1X_2X_3X_4$  e *Micrathena bandeirante* apresentou  $2n_{\text{♂}}=47=44+X_1X_2X_3$ , todos com cromossomos exclusivamente telocêntricos. Em *Micrathena plana* foi encontrada variação interpopulacional:  $2n_{\text{♂}}=13=12+X$ , com cromossomos metacêntricos exceto por um par submetacêntrico, na população de São Paulo e  $2n_{\text{♂}}=20=18+X_1X_2$  na população da Bahia, sem observação da morfologia. Ag-RONs foram encontradas na região terminal de dois e quatro cromossomos em *Micrathena bandeirante* e *Micrathena plana*, respectivamente. Baseando-se nos resultados deste trabalho e na literatura, o cariótipo  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$  deve ser ancestral para os gêneros irmãos *Micrathena* e *Verrucosa*. Não é possível traçar com robustez uma hipótese para toda a evolução cromossômica no gênero, mas ao menos em grupos como *plana*, os dados já permitem propor possíveis esquemas de evolução cariotípica. A variabilidade cromossômica e morfológica encontrada em *M. plana* indica um possível complexo de espécies.

Palavras-chave: Citogenética, mitose, meiose, número diplóide.

## INTRODUÇÃO

Araneidae compreende 183 gêneros e 3.091 espécies, dos quais 29 gêneros e 73 espécies foram cariotipados, representando a terceira maior família de aranhas quanto ao número de espécies descritas taxonomicamente, (World SpiderCatalog, 2022), e citogeneticamente, ficando atrás apenas de Salticidae e Lycosidae, com 171 e 86 espécies descritas respectivamente (Silva, 2019; Araujo et al., 2022). De acordo com diversas filogenias, há forte suporte para Araneoidea, que inclui Araneidae e outras 16 famílias, entretanto, a posição filogenética de Araneidae dentro da superfamília permanece em debate (Scharff&Coddington, 1997; Griswold et al., 1998; Dimitrov et al., 2017; Wheeler et al., 2017; Fernandez et al., 2018, Scharff et al. 2020).

*Micrathena* Sundevall, 1833 (Araneidae) é um gênero que ocorre exclusivamente nas Américas/Caribee possui 119 espécies (WORLD SPIDER CATALOG, 2022).

Segundo a hipótese filogenética baseada em caracteres morfológicos de Scharff&Coddington (1997), as “micrathenines” seriam compostas por (*Encyosaccus*(*Xylethrus*+*Micrathena*)). Já Scharff et al. (2020) recuperou *Micrathena* em um clado bem suportado também denominado “micrathenines, com a seguinte topologia: ((*Scoloderus*(*Acacesia*+*Ocrepeira*))(*Micrathena*+*Verrucosa*)).

Os únicos gêneros evolutivamente próximos a *Micrathena* que possuem algum dado citogenético são: *Acacesia* Simon, 1895 e *Verrucosa* McCook, 1888, desse modo, usaremos a filogenia de Sharff et al. (2020) para fins de discussões acerca da evolução cromossômica.

Em *Micrathena*, o dimorfismo sexual dificulta a identificação específica de machos e fêmeas, mas Levi (1985) subdividiu as espécies do gênero em grupos conforme a genitália das fêmeas e as associou aos machos. Segundo as propostas filogenéticas de Magalhães & Santos (2012) e Magalhães et al. (2017), a maioria dos grupos propostos por Levi (1985) são monofiléticos, e com algumas mudanças, o número atual de grupos de espécies de *Micrathena* propostos é de 12 (*cornuta*, *funebri*, *furcula*, *gracilis*, *guerini*, *kirbyi*, *lepidoptera*, *militaris*, *plana*, *schereibersi*, *swainsoni* e *triangularispinosa*), dos quais duas são monotípicas (*funebri* e *swainsoni*).

Silva (2019) analisou sete espécies de *Micrathena*, obtendo resultados completos em algumas espécies e parciais (apenas em fêmeas) em outras (Tabela 1).

Tabela 1.– Espécies de *Micrathena* analisadas citogeneticamente por Silva (2019) relacionadas a seu grupo taxonômico, cariótipo de machos (♂) e fêmeas (♀) e morfologia cromossômica.

Grupo taxonômico	Espécie	Cariótipo (♂)	Cariótipo (♀)	Morfologia
Sem grupo	<i>M. perfida</i>	-	2n♀ = 52	T
<i>guerini</i>	<i>M. sanctispiritus</i>	23II+ X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> e 23II + X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub>	2n♀ = 54	T
<i>militaris</i>	<i>M. spinosa</i>	-	2n♀ = 54	T
<i>swainsoni</i>	<i>M. swainsoni</i>	2n♂ = 46 = 42 + X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	2n♀ = 50	T
<i>kyrbyi</i>	<i>M. macfarlanei</i>	-	2n♀ = 32	M/T
<i>plana</i>	<i>M. excavata</i>	2n♂ = 24 = 22 + X <sub>1</sub> X	2n♀ = 26	M
<i>plana</i>	<i>M. plana</i> (MS)	2n♂ = 11 = 10 + X	2n♀ = 12	M

T=telocêntrica, M=metacêntrica

Percebe-se, então, uma diversidade cariotípica enorme nas poucas espécies analisadas dentro do gênero.

Entretanto, diversas espécies dos 12 grupos taxonômicos de *Micrathena* (ver Magalhães & Santos, 2012 e Magalhães et al., 2017) ainda não possuem qualquer estudo cromossômico, deixando lacunas que empobrecem a discussão sobre hipóteses de evolução cromossômica dentro do gênero.

Este trabalho pretende analisar citogeneticamente espécies de *Micrathena*, preferencialmente pertencentes a grupos taxonômicos ainda não englobados na análise de Silva (2019), como por exemplo, o grupo *cornuta* e o grupo *triangularispinosa* (ver Magalhães et al., 2017), bem como complementar resultados não encontrados por Silva (2019) em algumas espécies, a fim de tornar as hipóteses sobre a evolução cromossômica de *Micrathena* mais robustas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados 654 exemplares de *Micrathena*, por busca ativa diurna e noturna entre os anos de 2019 e 2022, nos estados de Bahia, Mato Grosso do Sul, Paraíba Santa Catarina e São Paulo. Os animais foram armazenados em potes plásticos com furos para que continuassem vivos durante o transporte e até o momento da dissecação. Licença permanente para coleta de material zoológico do ICMBio/IBAMA número 15382-1 e Autorizações para atividades com finalidade científica do ICMBio/IBAMA 68958-5 e 68958-7. Dentre estes, 54 exemplares de seis espécies pertencentes a seis grupos taxonômicos, apresentaram células em divisão que foram utilizadas neste trabalho: *Micrathenaannulata* Reimoser, 1917; *Micrathena bandeirante* (Magalhães & Santos, 2011); *Micrathenanigrichelis* Strand, 1908; *Micrathenaschreibersi* (Perty, 1833); *Micrathenaspinosa* e *Micrathena plana* (Tabela 2, Figura 1)



Tabela 2.– Número total de indivíduos de *Micrathena* analisados (machos e fêmeas), alocados em seus respectivos grupos taxonômicos, incluindo local de coleta, número de células analisadas para cada espécie e número de metáfases utilizadas para determinar a morfologia cromossômica.

Grupo taxonômico	Espécie	Exemplares com células em divisão	Local de coleta	Células analisadas	Metáfases usadas na definição da morfologia
<i>triangularispinosa</i>	<i>M. annulata</i>	2♂6♀	1, 2	15	1
<i>cornuta</i>	<i>M. bandeirante</i>	2♂19♀	3	49	4
<i>guerini</i>	<i>M. nigrichelis</i>	5♂4♀	4	15	5
<i>schreibersi</i>	<i>M. schreibersi</i>	6♂1♀	5	21	3
<i>militares</i>	<i>M. spinosa</i>	3♂	6	10	1
<i>plana</i>	<i>M. plana</i> (São Paulo)	2♂3♀	7	138	4
<i>plana</i>	<i>M. plana</i> (Bahia)	1♂	8	4	-

1 - CEPA: Centro de Estudos e Pesquisas Ambientais da Universidade da Região de Joinville, Vila da Glória, São Francisco do Sul, Santa Catarina, Brasil (26°13'35.60" S/48°41'01.14"W)

2 – UCAD: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Trilha principal, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil (27°31'40.91"S/48°30'41.43"W)

3 – Área de mata na Pousada Palmeiras 2, Coxim, Mato Grosso do Sul, Brasil (18°21'45"S/54°36'56"W)

4 - Gruta São José, São Bonifácio, Santa Catarina, Brasil (27°49'51.00"S/48°57'54.13"W)

5 – Monumento Natural Cânions de Subaé, Santo Amaro, Bahia, Brasil (12°31'5.69"S/38°46'41.99"W)

6 – Trilha do Cumbe, Parque Estadual da Mata do Pau Ferro, Areia, Paraíba, Brasil (6°58'11.57"S/ 35°44'58.09"W)

7 – CEVAP-UNESP: Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil (22°50'44.3"S/48°25'32.4"W)

8 – Cabruca abandonada, Reserva Biológica de Una, Bahia, Brasil (15°11'30.94"S/39°2'11.86"W)



Figura 1. – Espécies de *Micrathena* analisadas neste trabalho. A - B. *Micrathenanigrichelis*. C - D. *Micrathenaschreibersi*. E - F. *Micrathenaspinosa*. G - G. *Micrathenaannulata*. I - J. *Micrathena bandeirante*. K - L. *Micrathena plana*. Fotos F e K por Bruno Cansanção da Silva, demais fotos por Caroline Correia da Costa. Escala: 1 mm (exceto B, sem escala).

Após a retirada das gônadas para a análise citogenética, os animais foram preservados em álcool 70% ou 90% e enviados para identificação e tombo no Laboratório Especial de Coleções do Instituto Butantan, São Paulo, São Paulo, Brasil (curador: Antônio Domingos Brescovit) e no Laboratório de Aracnologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil (curador: Adalberto José dos Santos).

As preparações citológicas foram obtidas a partir das gônadas (testículos ou ovários) fixadas em lâminas e coradas com Giemsa 3%, de acordo com a técnica empregada por Araujo et al. (2008). Para a marcação das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-ROn) foi utilizada a metodologia de Howell & Black (1980), com as seguintes modificações: solução de nitrato de prata a 50% (50% AgNO<sub>3</sub> e 50% de água destilada); cobrir com lamínula ou com um tecido de nylon e incubar dentro de câmara úmida em estufa, durante aproximadamente 10 minutos à 60°C. As células mitóticas e meióticas com melhor grau de condensação/individualização dos cromossomos foram fotografadas em um fotomicroscópio Axiomager D2 (Zeiss), acoplado a uma câmera digital Axiocam503 (Zeiss), operado pelo software ZEN (Zeiss), no aumento de 1000x. A morfologia cromossômica foi determinada utilizando-se o plugin LEVAN (Sakamoto & Zacaro 2009) do software ImageJ (Rasband 1997-2015), o qual segue a nomenclatura de Levan et al. (1964) e Green & Sessions (1991), exceto em *M. plana* (Bahia), que só apresentou diplótenos (Tabela 2).

Para obtenção do comprimento diplóide total do cariótipo (TCL), em micrômetros (µm), cinco metáfases oogônias de três espécies (*M. bandeirante*, *M. nigrichelis* e *M. plana* de São Paulo) foram medidas utilizando o software ImageJ (Rasband 1997-2015). *Micrathena annulata*, *M. schreibersi* e *M. plana* (Bahia), não tiveram o TCL determinado devido à falta ou número insuficiente de metáfases oogoniais. No caso de *M. spinosa*, o TCL já foi determinado por Silva (2019). Foi aplicado o teste Kruskal-Wallis, utilizando o software Past 2.17, integrado ao Microsoft Excel 2016.

## RESULTADOS

### Determinação das características mitóticas e meióticas

**Grupo de espécies com números diplóides altos (2n=46 a 2n=50) e todos os cromossomos telocêntricos: *M. nigrichelis*, *M. schreibersi*, *M. spinosa*, *M. annulata* e *M. bandeirante*. –**

Em *M. nigrichelis*, *M. schreibersi* e *M. spinosa* os diplótenos revelaram 23 bivalentes autossômicos e quatro univalentes sexuais, X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub> (23II+X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>) (Figura 2 A, C e F). As metáfases oogoniais de *M. nigrichelis* apresentaram 2n♀=54 (Figura 2 B) e

não foi encontrada metáfase espermatogonial para essa espécie. Em *M. schreibersii* Sistema Cromossômico Sexual (SCS) foi confirmado pela presença de espermatócitos II com  $n=27=23+X_1X_2X_3X_4$  e  $n=23$  (Figura 2 D) e metáfases espermatogoniais com  $2n_{\text{♂}}=50$  (Figura 2 E). Não obtivemos metáfases oogoniais em *M. schreibersii*. Em *M. spinosa* encontramos apenas espermatócitos II com  $n=27=23+X_1X_2X_3X_4$  (Figura 2 G).

Em *M. annulata* diplótenos revelaram 21 bivalentes autossômicos com quatro univalentes sexuais ( $21\text{II}+X_1X_2X_3X_4$ ) (Figura 2 H), metáfases espermatogoniais mostraram  $2n_{\text{♂}}=46$  (Figura 2 I) e metáfases oogoniais apresentaram  $2n_{\text{♀}}=50$  (Figura 2 J).

Em *M. bandeirante* diplótenos apresentaram 22 bivalentes autossômicos e três univalentes sexuais ( $22\text{II}+X_1X_2X_3$ ) (Figura 2 K) e metáfases oogoniais revelaram  $2n_{\text{♀}}=50$  (Figura 2 L), não sendo encontradas metáfases espermatogoniais.



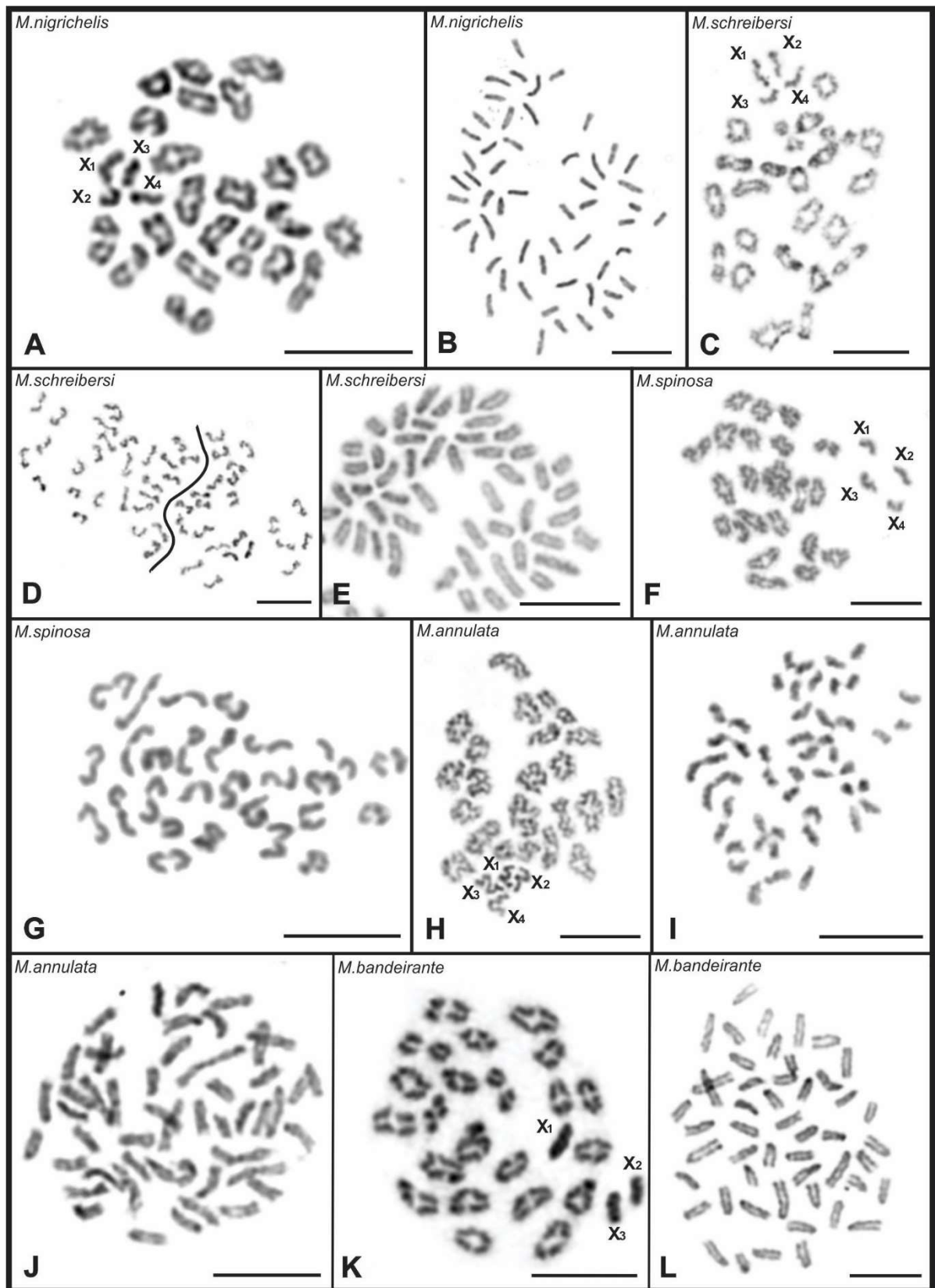


Figura 2. – Cromossomos das espécies de *Micrathena* com número diplóide alto: A-B. *M. nigrichelis*. C-D. *M. schreibersi*. F-G. *M. spinosa*. H-J. *M. annulata*. K-L. *M. bandeirante*. A, C, F. Diplóteno com 23 bivalentes autossômicos e quatro univalentes

sexuais. B. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}}=54$ . d. Metáfase II com  $n=27=23+X_1X_2X_3X_4$  e  $n=23$ . E. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}}=50$ . g. Metáfase II com  $n=27=23+X_1X_2X_3X_4$ . H. Diplóteno com 21 bivalentes autossômicos e quatro univalentes sexuais. I. Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}}=46$ . J, L. Ovogônia com  $2n_{\text{♀}}=50$ . k. Diplóteno com 22 bivalentes autossômicos e três univalentes sexuais. Escala:  $10\mu\text{m}$ .

**Espécie com número diplóide baixo ( $2n=13$  e  $2n=20$ ) e presença de cromossomos metacêntricos/submetacêntricos: *Micrathena plana*. –**

Nessa espécie obtivemos resultados distintos em duas populações: os espécimes do estado de São Paulo revelaram metáfases espermatogoniais com  $2n_{\text{♂}}=13$ , (Figura 3A), metáfases oogoniais com  $2n_{\text{♀}}=14$  (Figura 3B), sendo apenas um dos dois menores pares submetacêntrico e os demais cromossomos metacêntricos, diplóteno com seis bivalentes autossômicos e um univalente sexual ( $6\text{II}+X$ ) (Figura 3C) e espermatócitos II com  $n=7=6+X$  e  $n=6$  (Figura 3D). Já no espécime do estado da Bahia, nos quais foram encontrados apenas diplótenos, estes revelaram nove bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais ( $9\text{II}+X_1X_2$ ) (Figura 3E).

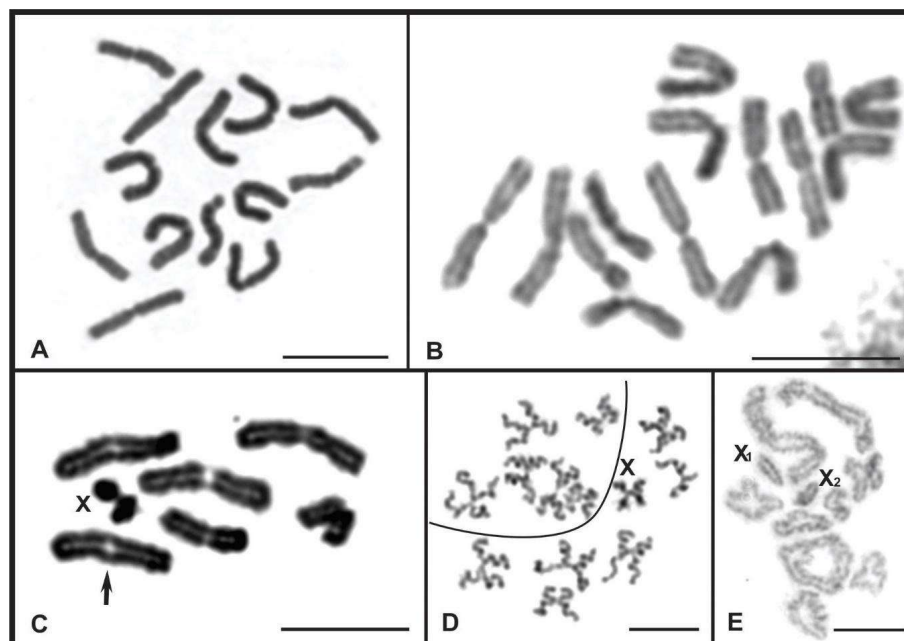


Figura 3. – Cromossomos de *Micrathena plana*. A-D Espécimes do estado de São Paulo. E. Espécime do estado da Bahia. A- Espermatogônia com  $2n_{\text{♂}}=13$ . B- Ovogônia com  $2n_{\text{♀}}=14$ . C- Diplóteno com 6 bivalentes autossômicos e um univalente sexual. D- Metáfase II com  $n=7 = 6 + X$  e  $n=6$ . E. Diplóteno com nove bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais. Escala:  $10\mu\text{m}$ .

**Impregnação pelo nitrato de prata.** –Apenas duas das seis espécies analisadas neste trabalho responderam satisfatoriamente a esta técnica, em alguns casos devido à baixa disponibilidade de células em divisão. Ag-RONs foram marcadas na região terminal de dois cromossomos de *M. bandeirante* (Figura 4A) e quatro cromossomos de *M. plana* (São Paulo), correspondendo aos quatro nucléolos encontrados em intérfase (Figura 4B).

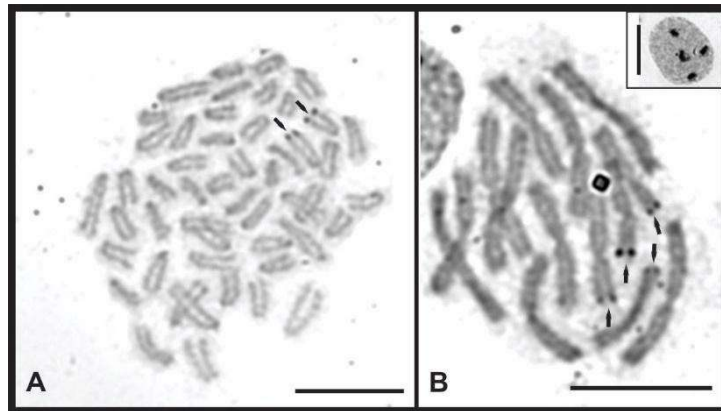


Figura 4. – Regiões Organizadoras de Nucléolo pelo Nitrato de Prata(Ag-RONs) em metáfases oogoniais de duas espécies de *Micrathena* submetidas à impregnação pelo nitrato de prata. A. *Micrathena bandeirante*,  $2n_{\text{♀}}=50$ . B. *Micrathena plana* (São Paulo)  $2n_{\text{♀}}=14$ . No detalhe em B, núcleo interfásico com quatro nucléolos. As setas indicam as Ag-RONs. Escala: 10 $\mu\text{m}$ .

**Comprimento diplóide total do cariótipo (TCL).** – O comprimento diplóide total do cariótipo (Total Chromosome Length – TCL) obtido foi 163,521 ( $\pm 26,23$ ) em *M. bandeirante*, 149,914 ( $\pm 37,27$ ) em *M. nigrichelis* e 134,379 ( $\pm 18,18$ ) em *M. plana* (São Paulo) (Figura 5). Os TCL não foram estatisticamente diferentes (Kruskal-Wallis,  $p = 0,3021$ ).

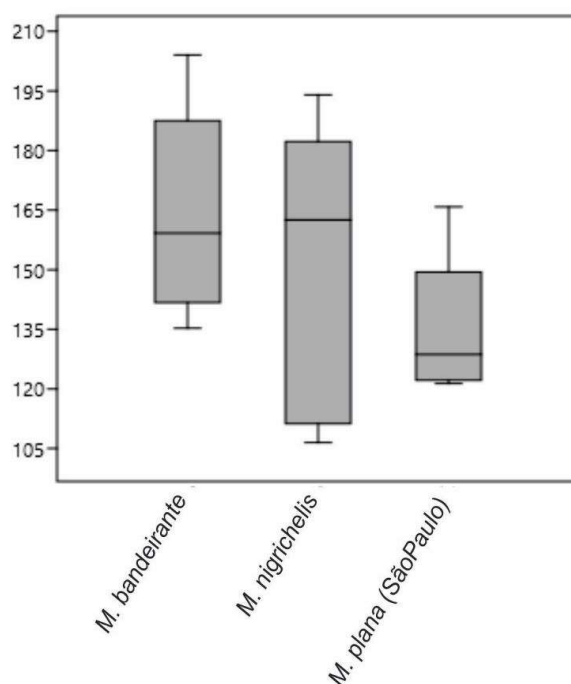


Figura 5. – Distribuição do comprimento diplóide total do cariótipo (TCL), em micrômetros, para três das seis espécies de *Micrathena* estudadas neste trabalho.

## DISCUSSÃO

Dentre as seis espécies de *Micrathena* analisadas neste trabalho, o número diplóide variou de  $2n♂=13$  a  $2n♂=50$ , cromossomos predominantemente metacêntricos em *Micrathena plana* (São Paulo) e exclusivamente telocêntricos nas demais espécies. Quanto ao SCS, foram encontrados os tipos  $X♂/XX♀$ ,  $X_1X_2♂/X_1X_1X_2X_2♀$ ,  $X_1X_2X_3♂/X_1X_1X_2X_2X_3X_3♀$  e  $X_1X_2X_3X_4♂/X_1X_1X_2X_2X_3X_3X_4X_4♀$ . Tal diversidade conjunta de número diplóide, morfologia cromossômica e SCS dentro de um mesmo gênero, é algo inédito dentro de Araneae (ver Araujo et al. 2022).

Dentre os gêneros de “Micrathenines” (sensu Scharff et al. 2020) que possuem dados cromossômicos estão *Acacesia*, com  $2n♂=24=22+X_1X_2$  e *Verrucosa*, que é grupo-irmão de *Micrathena*, com  $2n♂=50=46+X_1X_2X_3X_4$  e  $2n♂=47=44+X_1X_2X_3$  (Souza et al., 2022). Esse mesmo cariótipo  $2n♂=50=46+X_1X_2X_3X_4$  também é encontrado em três diferentes clados dentro de *Micrathena* (Figura 6), por esse motivo, propomos que este seja o cariótipo ancestral para estes dois gêneros-irmãos.

Reduções independentes teriam dado origem ao cariótipo com  $2n♂=47=44+X_1X_2X_3$  encontrado tanto em *Verrucosa meridionalis* (Keyserling, 1892) quanto em *M.*



*bandeirante*, hipoteticamente envolvendo uma fusão *in tandem* entre dois pares autossômicos e do cromossomo  $X_4$  com um dos sexuais, bem como o cariótipo  $2n_{\text{♂}}=46=42+X_1X_2X_3X_4$ , hipoteticamente envolvendo fusão *in tandem* entre quatro pares autossômicos, encontrado em *M. annulata* (grupo *triangularispinosa*) (presente trabalho) e *M. swainsoni* (grupo *swainsoni*) (Silva, 2019), pertencentes a diferentes clados dentro de *Micrathena* (Figura 6).

O tipo e a quantidade de rearranjos envolvidos na origem do cariótipo de *M. excavata* ( $2n_{\text{♂}}=24=22+X_1X_2$ ) já são mais complexos de se hipotetizar porque ainda existem várias lacunas em diversos clados de *Micrathena* entre aquelas com números cromossômicos mais altos e aquelas com números diploides mais baixos (ver Figura 6). Pode não ter sido o caso de uma fusão envolvendo todos os pares cromossômicos de uma vez, pois, em *M. macfarlanei* (grupo *kirbyi*) (Silva, 2019), filogeneticamente mais próxima do grupo *plana* (números cromossômicos mais baixos) do que de clados de *Micrathena* com números cromossômicos mais altos, há um número intermediário de cromossomos ( $2n_{\text{♀}}=32$ ), dos quais 18 são telocêntricos e 14 metacêntricos. O fato de não terem sido estudados machos, portanto sem a determinação do SCS nessa espécie, também prejudica hipóteses de evolução cromossômica

Adiciona-se a isso o fato do resultado de Silva (2019) para essa espécie ter se baseado em apenas três células de três exemplares, o que faz a caracterização da morfologia menos robusta. Mas independentemente das limitações para se inferir os eventos envolvidos na evolução cromossômica, baseando-se no fato de que o TCL não mostrou diferença significativa entre espécies de *Micrathena* com números diplóide altos e morfologia telocêntrica (*M. bandeirante* e *M. nigrichelis*) e número cromossômico baixo e cromossomos com dois braços (*M. plana* São Paulo), não há, de forma indireta, indício de perda ou ganho de material genético de forma significativa.

Agora, a evolução dos cariótipos encontrados nas três populações de *M. plana* a partir do  $2n_{\text{♂}}=24=22+X_1X_2$ , metacêntrico, encontrado na espécie-irmã *M. excavata* (Silva, 2019) (Figura 6), pode ser inferida de forma mais convincente. Inversão pericêntrica e fusão *in tandem* envolvendo quatro pares autossômicos formaram o  $2n_{\text{♂}}=20=18+X_1X_2$  encontrado em *M. plana* (Bahia), cuja morfologia cromossômica não foi determinada, mas nessa hipótese sugere-se que sejam também

cromossomos de dois braços. Para originar o cariótipo  $2n_{\text{♂}} = 13 = 12+X$ , metacêntrico/submetacêntrico, encontrado em *M. plana* (São Paulo), hipoteticamente ocorreu inversão pericêntrica e fusão in tandem envolvendo seis pares autossômicos e também entre  $X_1$  e  $X_2$ . Finalmente, em *M. plana* (Mato Grosso Sul) (Silva, 2019), houve inversão pericêntrica seguida de fusão in tandem entre dois pares autossômicos, formando o  $2n_{\text{♂}} = 11 = 10+X$  (Figura 7).

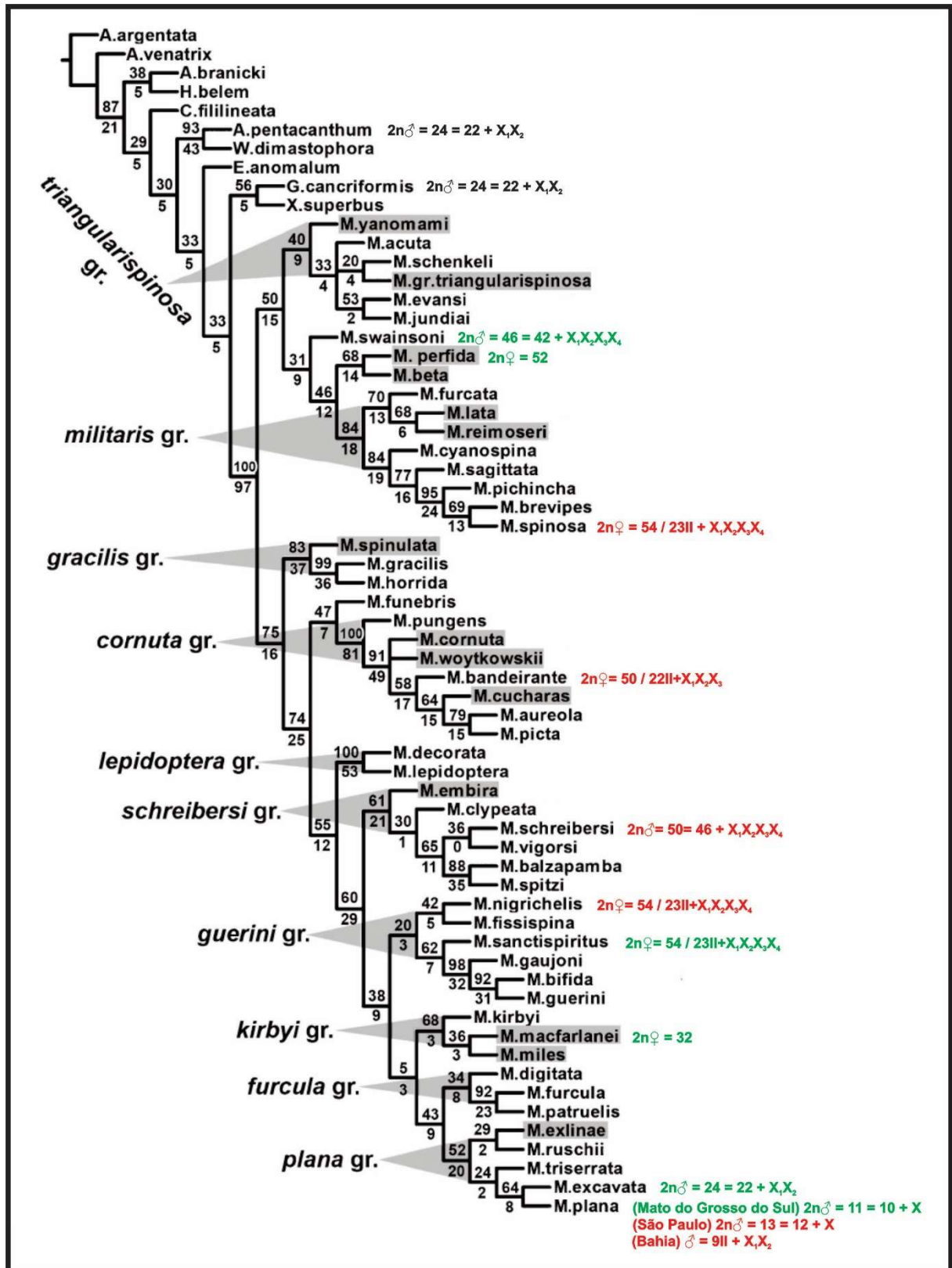


Figura 6.– Cladograma extraído de Magalhães et al. (2017), mostrando a configuração cariotípica nas espécies de *Micrathena* estudadas neste trabalho (em vermelho), por Silva (2019) (em verde) e em representantes do grupo externo (em preto). Espécies de *Verrucosa* não foram incluídas nesta filogenia

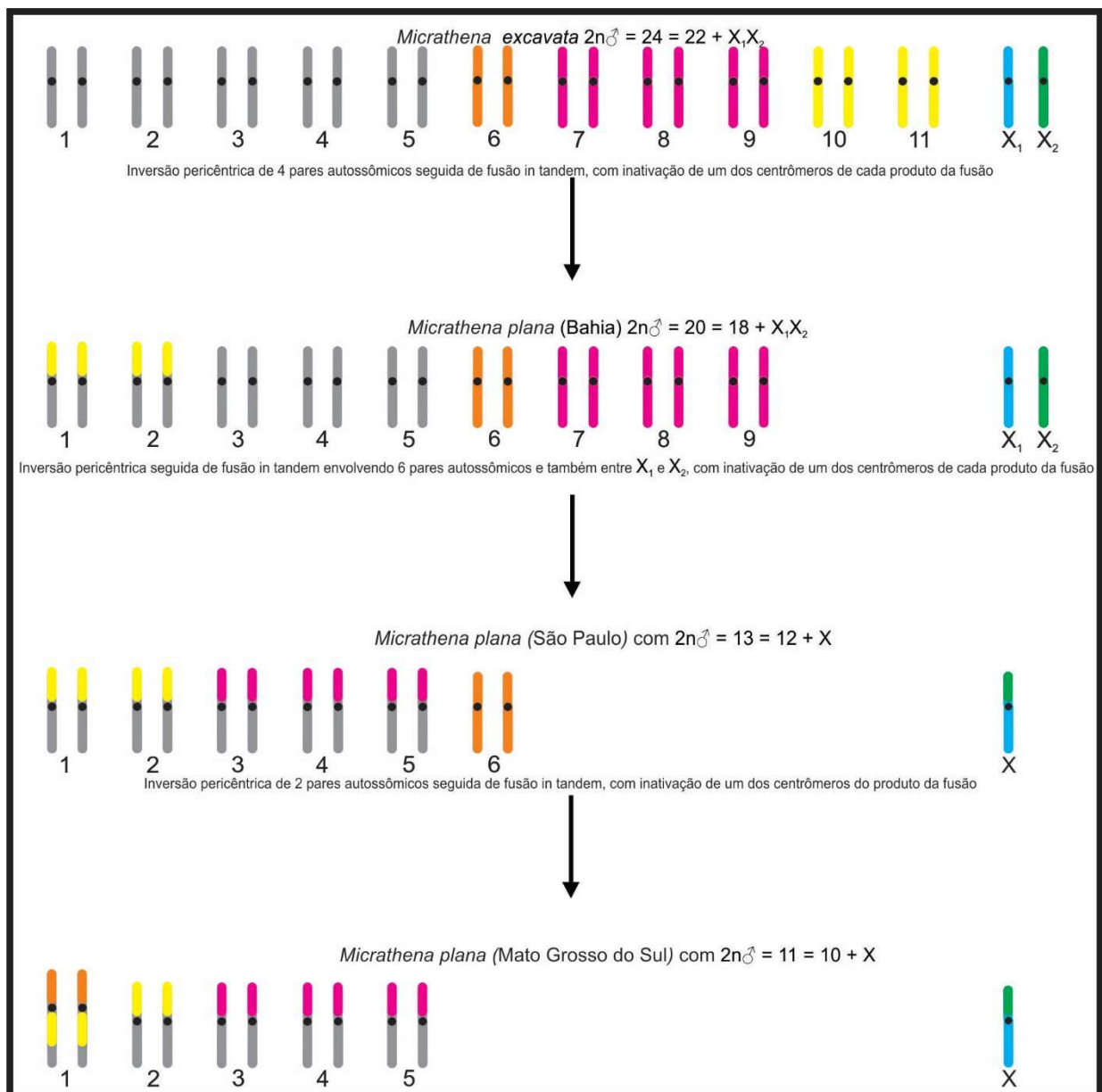


Figura 7. – Esquema hipotético mostrando, a partir do  $2n♂ = 24, X_1X_2$ , encontrado em *M. excavata*, a origem dos cariótipos das três populações de *M. plana*:  $2n♂ = 20, X_1X_2$  (Bahia),  $2n♂ = 13, X$  (São Paulo) e  $2n♂ = 11, X$  (Mato Grosso do Sul). O número dos pares envolvidos nas fusões foi atribuído aleatoriamente. O tamanho dos cromossomos é apenas ilustrativo.

A variabilidade cromossômica interpopulacional de *M. plana*:  $2n♂ = 11, X$ , metacêntricos (Mato Grosso do Sul), estudada por Silva (2019);  $2n♂ = 13, X$ , metacêntricos e um par submetacêntrico (São Paulo) e  $2n♂ = 20, X_1X_2$ , com morfologia cromossômica não observada, mas hipoteticamente com dois braços

(Bahia) (presente trabalho), sugere que pode tratar-se, na verdade, de um complexo de espécies. Levi (1985) já havia mencionado que algumas fêmeas de *M. plana* poderiam pertencer a outras espécies semelhantes e/ou relacionadas e sugerido que fêmeas de *M. plana* que possuem algumas características de *M. triangularis* (C.L. Koch, 1836) poderiam ser híbridos.

O gênero *Dysdera* Latreille, 1804, (Araneae, não-entelegina, Dysderidae), que também apresenta alta diversidade de número diplóide ( $2n=7$  a  $2n=40$ ), apesar de menor diversidade de SCS (apenas X ou  $X_1X_2$ ) e cromossomos exclusivamente holocêntricos (Araujo et al., 2022), bem como variabilidade na morfologia externa, é um caso em que, segundo Řezáč et al. (2018), há o complexo de espécies *Dysderaerythrina*, composto por diversas espécies que, de acordo com o artigo, tiveram rearranjos cromossômicos envolvidos na especiação. Assim, sugere-se a importância de um estudo populacional de maior escopo focado apenas em *M. plana*, levando em consideração características morfológicas, cromossômicas e moleculares, que poderiam levar a descrição de diversas novas espécies nesse possível complexo, como aconteceu no trabalho de Řezáč et al. (2018).

O padrão de RONS terminais em dois cromossomos, encontrado em *M. bandeirante*, coincide com a descrição de Silva (2019) para espécies de *Micrathena* também com número cromossômico alto (exceto *M. perfida* que mostrou três cromossomos marcados) e deve ser a condição plesiomórfica no gênero. Já em *M. plana*, há uma diferença entre a população de São Paulo e Mato Grosso do sul, pois, apesar de ambas possuírem quatro marcações, na população de São Paulo as RONS estão na porção terminal de quatro cromossomos e na população de Mato Grosso do sul, estudada por Silva (2019), estão na porção terminal de três cromossomos, já que um deles tem marcação nos dois braços. Um dos pares marcados na população de São Paulo é o único par submetacêntrico dessa população, não encontrado na população de Mato Grosso do Sul, o que pode indicar que este par esteve envolvido na fusão que originou o cariótipo  $2n♂=11$ , descrito nesta última população (ver figura 7) e que neste processo houve o rearranjo das RONS entre essas duas populações.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados apresentados neste trabalho e da literatura, é possível concluir que:

- O cariótipo  $2n_{\text{♂}}=50=46+X_1X_2X_3X_4$ , encontrado em diversos clados de *Micrathena* e no gênero *Verrucosa* (Souza et al., 2022) provavelmente é o ancestral para estes dois gêneros.
- Uma série de rearranjos deve ter reduzido de forma independente o número cromossômico e alterado o SCS e morfologia cromossômica de telocêntrica para metacêntrica/submetacêntrica em alguns dos clados de *Micrathena*, sendo difícil traçar toda a evolução cariotípica no gênero com as lacunas ainda existentes.
- A variabilidade cromossômica interpopulacional encontrada em *M. plana* e os questionamentos de Levi (1985) indicam um possível complexo de espécies.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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(2):89-95.

Araujo D, Schneider MC, Paula-Neto E, Cella DM. 2022. The spidercytogeneticdatabase. Disponível em: <<https://arthropodacytogenetics.bio.br/douglas.html>>. Acesso em: 15 jul. 2022.

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 cribellate orb-weaving spiders with a new Family-rank classification (Araneae, Araneoidea). *Cladistics* 33(3):221-250.

Fernandez 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. *Curr. Biol.* 28:1489–1497.

Green DM, Sessions SK. 1991. Appendix I, Nomenclature for chromosomes. In: *Amphibian cytogenetics and evolution*. Academic Press, Inc., USA, 431-432.

Griswold CE, Coddington JA, Hormiga G, Scharff N. 1998. Phylogeny of the orb-web building spiders (Araneae, Orbicularia: Deinopoidea, Araneoidea). Zool. J. Linn. Soc. v. 123:1-99.

Howell WM, Black DA. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia 36:1014-1015.

Levan A, Fredga K, Sandberg AA. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.

Levi HW. 1985. The spiny orb-weaver genera *Micrathena* and *Chaetacis* (Araneae: Araneidae). Bulletin of the Museum of Comparative Zoology 150:429-618.

Magalhães ILF, Santos AJ. 2012. Phylogenetic analysis of *Micrathena* and *Chaetacis* spiders (Araneae: Araneidae) reveals multiple origins of extreme sexual size dimorphism and long abdominal spines. Zoological Journal of the Linnean Society 166:14-53.

Magalhães ILF, Martins PH, Nogueira AA, Santos AJ. 2017 Finding hot singles: matching males to females in dimorphic spiders (Araneidae: *Micrathena*) using phylogenetic placement and DNA barcoding. Invertebrate Systematics 31(1):8-36.

Rasband WS. 1997-2015. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>.

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(1):10-54. doi.org/10.1071/IS16071

Sakamoto Y, Zacaro AA. 2009. LEVAN, an ImageJ plugin for morphological cytogenetic analysis of mitotic and meiotic chromosomes. Initial version. An open source Javaplugin distributed over the Internet from <http://rsbweb.nih.gov/ij/>

Scharff N, Coddington JA. 1997. A Phylogenetic analysis of the orb-weaving spider family Araneidae (Arachnida, Araneae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 120:355- 434.

Scharff N, Coddington JA, Blackledge TA, Agnarsson I, Framenau VW, Szuts T. et al. 2020. Phylogeny of the orb-weaving spider family Araneidae (Araneae: Araneoidae). *Cladistics* 36:1-21.

Silva BC. 2019. Análise cromossômica em aranhas do gênero *Micrathena* Sundevall 1833 (Araneidae). Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Fundação Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul Instituto De Biociências Programa De Pós-graduação em Biologia Animal.

Souza LHB, Costa CC, Silva BC, Dutra DD, Montanholi AS, Oliveira B. et al. 2022. Unveiled chromosomal diversity in the Araneidae (Araneomorphae): the highest diploid number among entelegynes and the first record of the X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub> Sex Chromosome System in the family. *The Journal of Arachnology* 50:13–22.

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(6):576-616.

World Spider Catalog. 2022. World Spider Catalog. Natural History Museum Bern. Disponível em <<https://wsc.nmbe.ch/>>, version 23.5. Acesso em 15 jul. 2022.



## ANEXO 1 – NORMAS DO PERIÓDICO JOURNAL OF ARACHNOLOGY

Instructions to authors  
Revised June 2021

**All manuscripts are now submitted online at**

<http://www.editorialmanager.com/arachno>

**General:** The *Journal of Arachnology* publishes scientific articles reporting novel and significant observations and data regarding any aspect of the biology of arachnid groups. Articles must be scientifically rigorous and report substantially new information. Submissions that are overly narrow in focus (e.g., local faunal lists, descriptions of a second sex or of a single species or first record without additional discussion of the significance of this information), that have poorly substantiated observational data, or that present no new information will not be considered. Book reviews will not be published.

Manuscripts must be in English and should use the active voice throughout. Authors should consult a recent issue of the *Journal of Arachnology* for additional points of style.

Manuscripts longer than three printed journal pages (10 or more US Letter-sized pages of 1.5 spaced, 12-point text) should be prepared as Feature Articles, shorter papers as Short Communications. Invited Reviews will be published from time to time and unsolicited reviews are also welcomed. All reviews will be subject to the same review process as other submissions.

**Checklist—Common Formatting Errors** is available as a PDF

[JoA-Common-Formatting-Errors](#)

**Submission:** Manuscripts should be saved as Microsoft Word files and submitted electronically via our online system, *PeerTrack* (

[www.editorialmanager.com/arachno](http://www.editorialmanager.com/arachno)

). *PeerTrack* will guide you through the step-by-step process including uploading the manuscript and all of its parts. **Text, tables, figures, and appendices should each be uploaded as separate files.** *PeerTrack* will assemble all parts of the paper into a PDF that you, as corresponding author, will need to approve before the submission process is complete. Supplemental Materials (see below) can also be uploaded, but they are not bundled into the PDF. If the manuscript is accepted for publication, authors are responsible for ensuring that all figures meet the required resolution and dimensions (see **Illustrations** below). These may be submitted to *PeerTrack* or directly to the Editor-in-Chief.

**Voucher Specimens:** Specimens of species used in your research should be deposited in a recognized scientific institution. All type material *must* be deposited in a recognized collection/institution and the identity of the collection must be given in the text of the manuscript.

### Featured Articles

**Title page.**—The title page includes the complete name, address, and e-mail address of the corresponding author; the title in bold text and sentence case; each author's name and address; and the running head.

**Running head.**—This should be in all capital letters, not exceeding 60 characters and spaces, and placed at the top of the title page. It should be composed of the authors'

surnames and a short title. Examples: SMITH—SALTICIDS OF PANAMA; SMITH & CRUZ—SALTICIDS... ; SMITH ET AL.—SALTICIDS...

**Abstract.**—Length: ≤ 250 words for Feature Articles.

**Keywords.**—Provide 3–5 appropriate keywords or phrases following the abstract. *Keywords should not duplicate words in the title and avoid words that appear in the abstract.*

**Text.**—Use 12-point font and 1.5 spacing between lines in text, tables, legends, etc. throughout. Except for titles and headers, all text should be left-justified only. Do not add line numbers—they are automatically added by *PeerTrack*. Threelevelsofheaders are used.

- The first level (METHODS, RESULTS, etc.) is typed in capitals and centered on a separate line.
- The second level head begins a paragraph with an indent, is in bold type, and is separated from the text by a period and a dash.
- The third level may or may not begin a paragraph but is italicized and separated from the text by a colon.

Use only the metric system unless quoting text or referencing collection data. If English measurements are used when referencing collection data, then metric equivalents must also be included parenthetically. All decimal fractions are indicated by a period (e.g., 3.141). Include geographic coordinates for collecting locales if possible, using one of the following formats: 0°12'32"S, 29°52'17"E or 0.2089°S, 29.8714°E or -0.2089, 29.8714. Use a degree symbol rather than a superscripted letter "o".

**Citation of references in the text:** Cite only papers already published or in press, in chronological order. Include within parentheses the surname of the author followed by the date of publication. A comma separates multiple citations by the same author(s) and a semicolon separates citations by different authors, e.g., (Smith 1970), (Jones 1988; Smith 1993), (Smith & Jones 1986, 1987; Jones et al. 1989). Include a letter of permission from any person who is cited as providing unpublished data in the form of a personal communication.

**Citation of taxa in the text:** Include the complete taxonomic citation (author, year) for each arachnid genus and/or species name when it first appears in the abstract and text proper, e.g., *Araneus diadematus* Clerck, 1757, *Stegodyphuslineatus* (Latreille, 1817). For Araneae, this information can be found online at [www.wsc.nmbe.ch](http://www.wsc.nmbe.ch). Citations for scorpions can be found in the *Catalog of the Scorpions of the World (1758–1998)* by V. Fet, W.D. Sissom, G. Lowe & M.E. Braunwalder. Citations for the smaller arachnid orders (pseudoscorpions, solifuges, whip scorpions, whip spiders, schizomids, ricinuleids and palpigrades) can be found at [museum.wa.gov.au/catalogues-beta/](http://museum.wa.gov.au/catalogues-beta/). Citations for some species of Opiliones can be found in the *Annotated Catalogue of the Laniatores of the New World (Arachnida, Opiliones)* by A.B. Kury. The publications in which species descriptions were published are usually not included in the literature cited; however, the papers containing original descriptions of focal arachnid taxa should be included (see "Taxonomic articles" below).

**Literature cited.**—Use the following style and formatting exactly as illustrated; include the full unabbreviated journal title. If a citation generator is used, authors still must check for formatting errors. Personal web pages should not be included in Literature Cited. These can be cited within the text as (John Doe, pers. website) without the URL. Institutional websites may be included in Literature Cited. If a citation includes more than six authors, list the first six and add "et al." to represent the others.

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

**Footnotes.**—Footnotes are permitted on the first page only to give current address or other author information, and at the bottom of tables (see below).

**Taxonomic articles.**—Consult a recent taxonomic article in the *Journal of Arachnology* for style or contact a Subject Editor for Systematics. Papers containing original descriptions of focal arachnid taxa should be listed in the Literature Cited section.

**Tables.**—Each table, with the legend above, should be placed on a separate manuscript page. Only horizontal lines (usually no more than three) should be included. When necessary, tables may have footnotes, for example, to specify the meanings of symbols pertaining to particular data. Tables should be submitted as text files, not as pdfs or image files (e.g., no jpeg or png files).

**Illustrations.**—Original illustrations include photographs, line drawings, maps, and other graphic representations. All should be considered figures and numbered consecutively with other figures. Each figure or plate should be submitted as a separate file, not embedded in the manuscript text. Figures should have a minimum resolution of 300 ppi (pixels per inch) or 118 pixels per cm. When preparing images, consider the final dimensions of the image on a printed page. Images may be printed at a width of one column (3.45 inches or 8.8 cm), one and a half columns (5.2 inches or 13.25 cm) or two columns (7.2 inches or 18.3 cm). Maximum height for all printed images is 8.3 inches or 21.08 cm. Thus, if a figure must be printed two columns wide to be legible, its corresponding height cannot be greater than 21.08 cm.

At the discretion of the Editor-in-Chief, a figure can be rendered in color in the online version but in monochrome in the journal's printed version, or in color in both versions if warranted by the figure's context and content. Address all questions concerning illustrations to the Editor-in-Chief of the *Journal of Arachnology*: **Deborah Smith, Editor-in-Chief** [*E-mail*: [debsmith@ku.edu](mailto:debsmith@ku.edu)].

**Legends for illustrations** should be placed together on the same page(s). Each plate must have only one legend, as indicated below:

Figures 1–4.—*Genus species*, male from Timbuktu: 1. Left leg. 2. Right chelicera. 3. Dorsal aspect of genitalia. 4. Ventral aspect of abdomen.

The following alternate Figure numbering is also acceptable:

Figure 1a–e.—*Genus species*, male from Timbuktu: a. Left leg. b. Right chelicera. c. Dorsal aspect of genitalia. d. Ventral aspect of abdomen.

**Assemble manuscript.**—The manuscript should be assembled in the following sequence: title page, abstract, text, acknowledgments, literature cited, and figure legends. As noted

above, text, tables, figures, appendices, and supplementary files should each be uploaded individually.

**Supplemental materials.**—Authors may submit materials for online publication that importantly augment the contents of a manuscript. These may be audio files (e.g., .mp3, .m4a, .aif, .wav), video files (e.g., .mov, .m4v, .flv, .avi), .pdf and text files (e.g., .txt, .nxs, .doc or .docx), or Excel files (e.g., .xls, .xlsx) for large data tables. Consult with the Editor-in-Chief if you are considering submitting other kinds of files. Audio and video files should be carefully edited before submission to eliminate leaders, trailers, and other extraneous content. Individual files may not exceed 10MB; no more than five files may be included as supplemental materials for a manuscript.

Supplemental materials will be considered by reviewers and therefore must be included at the time of manuscript submission. Supplemental materials are published online at the discretion of the editors.

### **Short Communications**

Short Communications are usually limited to 3–4 journal pages, including tables and figures (9 or fewer US Letter-sized pages of 1.5 spaced, 12-point text, including Literature Cited; no more than 2 figures or tables). Internal headings (METHODS, RESULTS, etc.) are omitted. Short communications must include an abstract of no more than 150 words, and keywords.

### **Page Charges**

#### **Upcoming changes to Journal of Arachnology publication fees**

Currently, members of the American Arachnological Society may publish in the Journal of Arachnology free of charge; authors who are not members of the American Arachnological Society are charged US\$75.00 per printed page. However, no paper is rejected solely because the authors cannot cover page charges, and members are encouraged to make partial payment if they are able to. If page charges are a financial hardship, authors are encouraged to contact the Editor-in-Chief ([debsmith@ku.edu](mailto:debsmith@ku.edu)) and AAS treasurer, Dr. Cara Shillington ([cshilling@emich.edu](mailto:cshilling@emich.edu)) to request a full or partial waiver.

**Beginning with manuscripts submitted in May of 2022**, members of the American Arachnological Society will be charged US\$10.00 per printed page; charges for non-members remain the same—US\$75.00 per printed page. As before, no paper will be rejected solely because the authors cannot cover page charges, and no paper first submitted before May 2022 will incur retroactive charges.

Why are we doing this? We need the money. The cost of publishing the Journal of Arachnology has been rising slowly but steadily, especially the cost of producing the print issues. In addition, with Volume 50 (2022), we have begun “continuous publishing.” Articles are now published online as soon as they are ready, rather than waiting until publication of the print issue. These articles appear on BioOne and on the AAS websites complete with final volume, issue, and pagination. This makes articles available sooner but adds an additional fee for publication of each article.

We feel that a \$10 per page charge will not be a burden for most authors, and it will put our Journal in a more secure financial position.

### **Proofs**

The Journal's expectation is that the final revision of a manuscript, the one that is ultimately accepted for publication, will not require substantive changes. Accordingly, the corresponding author will be charged for excessive numbers of changes made in the proofs.

## Reprints

PDFs of papers published in the Journal of Arachnology are available to AAS members at the society's web site. They are also available through BioOne ([www.bioone.org](http://www.bioone.org)) and JSTOR ([www.jstor.org](http://www.jstor.org)) if you or your institution is a member of BioOne or JSTOR. PDFs of articles older than one year are freely available from the AAS website.

## Cover Artwork

Authors are encouraged to send high quality color photographs to the Editor-in-Chief to be considered for use on the cover. Images should be at least 300 dpi.

## Immediate Web Access to Your Accepted JoA Articles

***Once your article is accepted***, you will have the opportunity to purchase immediate open access to it on the AAS website. This means that anyone will be able to download your article as a pdf from the AAS website as soon as it is published there (usually just before the paper issues are mailed). Normally, JoA articles are embargoed for a year. For a reasonable price, you can make your article more available and help the AAS defray costs the society pays for on-line publication.

For paying by personal check:

1. [Download a pdf](#) of the payment form and send it to the AAS treasurer: **Cara Shillington**, Biology Department, Eastern Michigan State University, Ypsilanti, MI 48197 USA.
2. Please send an email to the AAS website administrator, Daniel Gloor [webmaster@americanarachnology.org](mailto:webmaster@americanarachnology.org), alerting him that you have chosen this option. Include first author's name and the title of the article.

For paying on-line:

1. Use the on-line order option below to pay for immediate access.
2. Please send an email to the AAS website administrator, Daniel Gloor [webmaster@americanarachnology.org](mailto:webmaster@americanarachnology.org), alerting him that you have chosen this option. Include first author's name and the title of the article.