

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

**DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA REVELADA EM ARANEIDAE  
(ARANEOMORPHAE): O MAIOR NÚMERO DIPLOIDE ENTRE  
ENTELEGYNAE E O PRIMEIRO REGISTRO DO SISTEMA  
CROMOSSÔMICO  $X_1X_2X_3X_4$  NA FAMÍLIA**

Susan Roghanian

Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Bacharel em Ciências Biológicas**

**Orientador:** Prof. Dr. Douglas de Araujo

**Artigo publicado em:** *The Journal of Arachnology*, 2022, Volume 50, Páginas 13–  
22

Campo Grande – MS

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**DIVERSIDADE CROMOSSÔMICA REVELADA EM ARANEIDAE  
(ARANEOMORPHAE): O MAIOR NÚMERO DIPLOIDE ENTRE  
ENTELEGYNAE E O PRIMEIRO REGISTRO DO SISTEMA  
CROMOSSÔMICO  $X_1X_2X_3X_4$  NA FAMÍLIA**

Susan Roghanian

Monografia apresentada ao Curso de **Ciências Biológicas** da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como requisito para obtenção do título de **Bacharel em Ciências Biológicas**, sob a orientação do(a) **Prof. Dr. Douglas de Araujo**.

**Artigo publicado em:** *The Journal of Arachnology*, 2022, Volume 50, Páginas 13–22

**Citação completa do artigo:** Souza, L. H. B., Costa, C. C., Silva, B. C., Dutra, D. D., Montanholi, A. D. S., Oliveira, B., Roghanian, S., Lemos, L. C., Pontes, H. R. C., Pádua, A. A. de, Sobrinho dos Santos Dias, R. R., Brescovit, A. D., & Araujo, D. (2022). Unveiled chromosomal diversity in the Araneidae (Araneomorphae) – the highest diversity in the family. *The Journal of Arachnology*, 50(1), 13–22. <https://doi.org/10.1636/JoA-S-20-071>.

Campo Grande – MS

2024

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas e instituições que tornaram possível a realização deste trabalho.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Douglas de Araujo, pela orientação, apoio e confiança durante todo o desenvolvimento desta pesquisa. Agradeço também aos coautores, Lucas Henrique Bonfim Souza, Caroline Correia Costa, Bruno Cansanção Silva, Debora Duarte Dutra, Arthur dos Santos Montanholi, Beatriz Oliveira, Larissa Candido Lemos, Henrique Ranieri Covali Pontes, Aline Agatha de Pádua, Rebeca Rocha Sobrinho dos Santos Dias, Antonio Domingos Brescovit e Douglas de Araujo, pela colaboração e pelo excelente trabalho em equipe na realização deste estudo.

Agradeço às instituições que financiaram esta pesquisa, sem as quais este estudo não teria sido possível: à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida (Código Financeiro 001); ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq-PQ, ABD, bolsa #303903/2019-8); e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro por meio do processo 99/05446-8. Este trabalho também faz parte do Programa BIOTA/FAPESP – Instituto Virtual da Biodiversidade ([www.biota.org.br](http://www.biota.org.br)).

Agradeço, ainda, à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e ao Laboratório de Citotaxonomia e Evolução Cromossômica Animal pela infraestrutura e suporte durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Por fim, sou grato à minha família e amigos pelo apoio emocional e incentivo ao longo dessa jornada acadêmica.

**Agradecimento especial:** Quero dedicar um agradecimento muito especial à minha amiga Milena Nogueira da Silva, pelo suporte, confiança e amizade durante todo este processo. Sua presença e incentivo foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

## RESUMO

A família Araneidae é uma das mais numerosas, mas poucos estudos sobre cariótipo foram realizados (1,9%) e muitos dos seus clados ainda não possuem análise cromossômica, além de apresentar relações evolutivas incertas. Neste estudo, foi analisado o cariótipo de oito espécies de Araneidae (*Acacesia benigna* Glueck, 1994, *Actinosoma pentacanthum* (Walckenaer, 1841), *Alpaida bicornuta* (Taczanowski, 1878), *Dubiepeira* sp., *Gasteracantha cancriformis* (Linnaeus, 1758), *Parawixia bistrata* (Rengger, 1836), *Verrucosa meridionalis* (Keyserling, 1892) e *Verrucosa scapofracta* Lise, Kesster & Silva, 2015) com o objetivo de fornecer novos dados sobre a evolução cromossômica da família. As gônadas foram submetidas a tratamento com colchicina, hipotonização, preparação de lâminas e coloração com Giemsa. As espécies apresentaram  $2n\♂ = 24$  (11II +  $X_1X_2$ ), exceto *Dubiepeira* sp. ( $2n\♂ = 41$ , 19II +  $X_1X_2X_3$ ) e as espécies de *Verrucosa*, que apresentaram  $2n\♂ = 47$  (22II +  $X_1X_2X_3$ ) em *V. meridionalis* e  $2n\♂ = 50$  (23II +  $X_1X_2X_3X_4$ ) em *V. scapofracta*. A maioria das espécies analisadas possui cromossomos acrocêntricos/telocêntricos. O cariótipo  $2n\♂ = 24$ ,  $X_1X_2$  é o mais frequente em Araneidae. Este estudo apresenta o primeiro registro cromossômico para o clado “Micrathenines”, o maior número diploide entre os Entelegynes ( $2n\♂ = 50$ ), e o primeiro registro de  $X_1X_2X_3X_4$  em Araneidae. Os dados sugerem eventos de fissão na origem dos cariótipos de *Verrucosa* e uma relação próxima entre *Dubiepeira* e *Araneus ventricosus*. *Alpaida bicornuta* pode ser citotaxonomicamente distinta das demais espécies de *Alpaida*.

## ABSTRACT

Araneidae is one of the most specious spider families, but few karyotype studies exist (1.9%), and some clades lack chromosomal data, with many uncertain evolutionary relationships. This study presents the karyotype analysis of eight Araneidae species (*Acacesia benigna*, *Actinosoma pentacanthum*, *Alpaida bicornuta*, *Dubiepeira* sp., *Gasteracantha cancriformis*, *Parawixia bistrata*, *Verrucosa meridionalis*, and *Verrucosa scapofracta*), aiming to contribute to the discussion of evolutionary scenarios. Gonads were treated with colchicine, hypotonization, slide preparation, and Giemsa staining. Most species showed  $2n\♂ = 24$  (11II +  $X_1X_2$ ), except *Dubiepeira* sp. ( $2n\♂ = 41$ , 19II +  $X_1X_2X_3$ ) and *Verrucosa* species ( $2n\♂ = 47$ , 22II +  $X_1X_2X_3$  in *V. meridionalis* and  $2n\♂ = 50$ , 23II +  $X_1X_2X_3X_4$  in *V. scapofracta*). The species exhibit acro/telocentric chromosomes. The  $2n\♂ = 24$ ,  $X_1X_2$  is the most common karyotype in Araneidae. This work provides the first chromosomal data for the “Micrathenines” clade, the highest diploid number among Entelegynes ( $2n\♂ = 50$ ), and the first record of  $X_1X_2X_3X_4$  in Araneidae. Chromosome data suggest fission events in the origin of *Verrucosa* karyotypes and

a close relationship between *Dubiepeira* and *Araneus ventricosus*. *Alpaida bicornuta* is cytotaxonomically distinct from other *Alpaida* species.

### **PALAVRAS-CHAVE**

Cromossomos sexuais, alto número diploide, Araneae, aranhas, Araneoidea.

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	6
2. Objetivos .....	6
3. Material e Métodos .....	7
4. Resultados e Discussão .....	8
5. Conclusão .....	19
6. Referências Bibliográficas .....	19

## INTRODUÇÃO

Araneidae é a terceira família de aranhas mais numerosa, com 3059 espécies descritas até agora (World Spider Catalog 2021). Essa grande diversidade dificulta estudos detalhados do clado (Scharff et al. 2020) e, nesse cenário, o uso de diferentes ferramentas para analisar as espécies, como dados moleculares e citogenéticos, pode ser útil para desvendar as relações evolutivas (Araujo et al. 2011; Scharff et al. 2020).

Em Araneidae o número diploide varia de  $2n♂ = 13$  em *Neoscona* sp. a  $2n♂ = 49$  em *Araneus ventricosus* (L. Koch, 1878) (Parida & Sharma 1987, Sharma & Parida 1987; Youju et al. 1993), o Sistema Cromossômico Sexual (SCS) encontrado na família é do tipo  $♂X0/♀XX$ ,  $♂X_1X_2/♀X_1X_1X_2X_2$ ,  $♂X_1X_2X_3/♀X_1X_1X_2X_2X_3X_3$  e  $♂XY/♀XX$ . Em relação à morfologia cromossômica, todos os tipos foram descritos em Araneidae. Entretanto, a maioria das espécies analisadas possui  $2n♂ = 24$  (81%),  $♂X_1X_2/♀X_1X_1X_2X_2$  SCS (89%) e morfologia cromossômica acro/telocêntrica (59%) (Araujo et al. 2021). Infelizmente, apenas 1,9% das espécies de araneídeos foram cariotipadas e alguns clados que possuem gêneros com alta riqueza de espécies permanecem cromossomicamente desconhecidos, como o clado “Micrathenines” (Araujo et al. 2021; Scharff et al. 2020).

O objetivo deste estudo foi analisar citogeneticamente oito espécies de Araneidae pertencentes aos clados Eriophorines, Gasteracanthines, Micrathenines e duas espécies com posição filogenética não estabelecida, a fim de discutir a evolução cromossômica em aranhas de Araneidae e contribuir com novos dados de cariótipo em grupos taxonômicos conflitantes e menos estudados.

## OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi realizar a análise citogenética de oito espécies de Araneidae, representando diferentes clados, como Eriophorines, Gasteracanthines, Micrathenines, e duas espécies com posição filogenética ainda incerta. O estudo visou contribuir para a compreensão da evolução cromossômica dentro da família Araneidae, um grupo de aranhas com grande diversidade, mas com escassos dados de cariótipo, especialmente nos clados mais ricos e menos estudados. Além disso, o trabalho fornece novos dados sobre a estrutura cromossômica dessas espécies, abordando aspectos evolutivos como a variabilidade no número e na morfologia dos cromossomos, e oferecendo *insights* sobre as relações filogenéticas e os processos de diferenciação cromossômica entre as espécies analisadas. Dessa forma, o estudo propôs-se a preencher lacunas no conhecimento citogenético de aranhas de Araneidae, particularmente em grupos taxonômicos com evidências evolutivas incertas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de todas as espécies analisadas (Tabela 1) foram coletados por busca ativa noturna, com exceção de *Actinosoma pentacanthum* (Walckenaer, 1841), que foi coletado durante o dia na superfície de plantas aquáticas. As coletas foram realizadas nos estados de Mato Grosso do Sul (MS) e São Paulo (SP), Brasil, de maio de 2014 a abril de 2018 e as amostras dos espécimes estão depositados no Laboratório de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil (IBSP, curador: A.D. Brescovit).

**Tabela 1.** Espécies, locais de coleta e número de espécimes analisados nesta pesquisa.

Espécie	Localização	Espécimes analisados	Coordenada geográfica (IBSP)
<i>Acacesia benigna</i> Glueck, 1994	Campo Grande, MS <sup>1*</sup> (20°30'36"S/54°36'54"W)	1♂	222032
<i>Actinosoma pentacanthum</i> (Walckenaer, 1841)	Corumbá, MS (19°34'37"S/57°00'42"W) e Porto Murtinho, MS (21°49'26"S/57°48'48"W)	9♂/12♀ e 4 jovens	211335, 212177, 212186, 212193, 221987, 222376, 222379 - 222390, 222397, 222401 and 222403
<i>Alpaida bicornuta</i> (Taczanowski, 1878)	Campo Grande, MS (20°30'36"S/54°36'54"W)	2♂	222039 and 222040
<i>Dubiepeira</i> sp.	Campo Grande, MS (20°30'36"S/54°36'54"W)	2♂/3♀	222034 - 222038
<i>Gasteracantha cancriformis</i> (Linnaeus, 1758)	Campo Grande, MS (20°30'36"S/54°36'54"W)	9♀ e 6 jovens	166506, 166533, 166538, 166872, 166880, 166893, 166899, 166901, 166922
<i>Parawixia bistriata</i> (Rengger, 1836)	Dois Irmãos do Buriti, MS (20°31'33.83"S/55°25'11.67"W )	3♂/4♀	211341, 211343, 211346 - 211350
<i>Verrucosa meridionalis</i> (Keyserling, 1892)	Aquidauana, MS (20°27'03.93"S/55°37'17.02"W ) / Campo Grande, MS (20°30'36"S/54°36'54"W) / Botucatu, SP <sup>2*</sup> (22°50'44.3"S/48°25'32.4"W) and Campo Grande, MS (20°29'19.09"S/54°39'3	2♂/4♀	214414, 214415, 221999, 222412, 242323. 166879



---

	9.06"W)		
<i>Verrucosa</i>	Iguape, SP	1♂	222317
<i>scapofracta</i> Lise,	(24°42'13.03"S/47°32'49.98"W		
Kesster & Silva,	)		
2015			

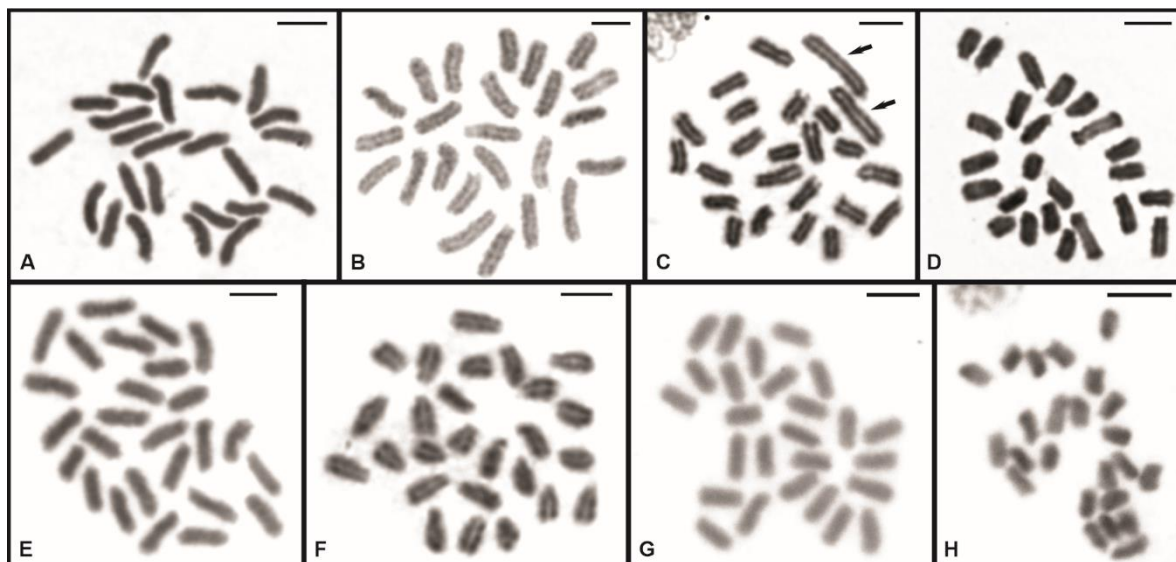
---

MS<sup>1\*</sup> = estado de Mato Grosso do Sul. SP<sup>2\*</sup> = estado de São Paulo.

As preparações cromossômicas de gônadas e embriões foram realizadas segundo Araujo et al. (2008). Todas as células analisadas foram fotografadas empregando um microscópio Zeiss Axioimager D2 com uma câmera monocromática AxioCam 503, usando o software ZEN Pro. A morfologia cromossômica foi determinada com o software IMAGEJ (Rasband 1997–2020) e o plugin LEVAN (Sakamoto & Zacaro 2009), de acordo com Levan et al. (1964) e Green & Sessions (1991).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

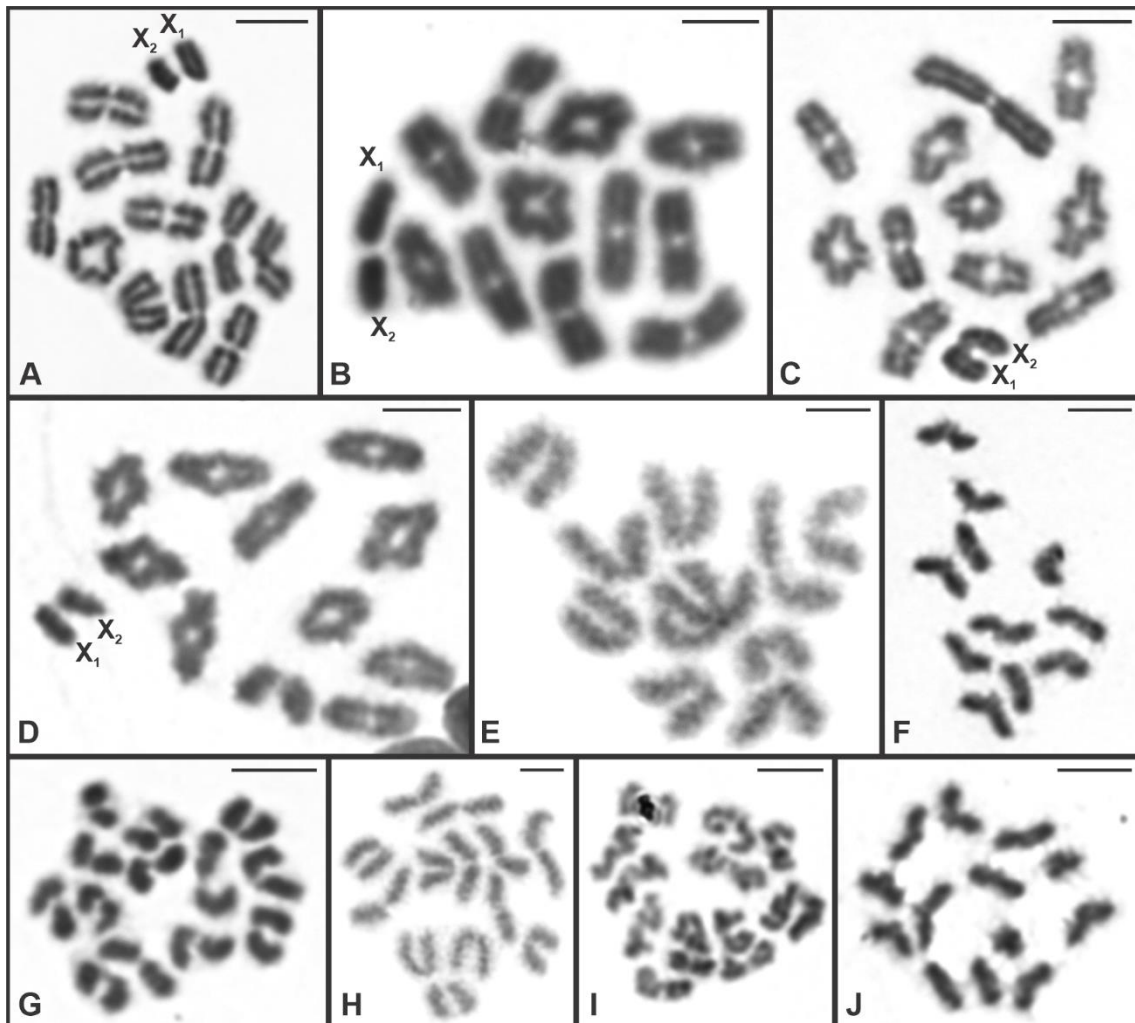
**Cariótipos com o número diploide comum de Araneidae.** — As espécies *Acacesia benigna*, *Actinosoma pentacanthum*, *Alpaida bicornuta* e *Parawixia bistrata* apresentaram em todos os machos analisados metáfases mitóticas com  $2n♂ = 24$  (Fig. 1A-D). As fêmeas de *A. pentacanthum*, *P. bistrata* e *Gasteracantha cancriformis* apresentaram  $2n♀ = 26$  (Fig. 1E-G). Embora nenhum macho adulto de *G. cancriformis* tenha sido coletado, dois indivíduos jovens apresentaram  $2n = 24$  (considerados machos) (Fig. 1H), enquanto outros quatro indivíduos jovens apresentaram o mesmo número cromossômico de fêmeas adultas. Os quatro indivíduos jovens (3♂ e 1♀) de *A. pentacanthum* analisados possuem o mesmo número diploide dos adultos.



**Figura 1.** Células mitóticas de Araneidae com  $2n♂ = 24$  (A-D, H) e  $2n♀ = 26$  (E-G): **A.** *Acacesia benigna*; **B, E.** *Actinosoma pentacanthum*; **C.** *Alpaida bicornuta*; **D, F.** *Parawixia bistriata*; **G, H.** *Gasteracantha cancriformis*. A seta indica o maior par de cromossomos de *A. bicornuta*. Barra de escala: 5  $\mu$ m.

A morfologia de todos os cromossomos é acro/telocêntrica e diminui gradualmente em comprimento (Fig. 1), com exceção do maior par de cromossomos de *A. bicornuta*, que possui quase o dobro do comprimento do segundo par (Fig. 1C).

Os espermatócitos I em diplóteno de *A. benigna*, *A. pentacanthum*, *A. bicornuta* e *P. bistriata* revelaram 11 bivalentes autossômicos e dois univalentes sexuais heteroplicnóticos positivos (Fig. 2A-D). O SCS foi confirmado como do tipo  $X_1X_2♂/X_1X_1X_2X_2♀$  através dos espermatócitos II em metáfase com  $n = 11$  em *A. pentacanthum* e *P. bistriata* (Fig. 2E, F) e com  $n = 13 = 11 + X_1X_2$  nessas quatro espécies (Fig. 2G-J).



**Figura 2.** Células meióticas de espécies com número diploide comum em Araneidae ( $2n_{\text{♂}} = 24$ ): **A-D.** Diplótenos com 11 bivalentes autossômicos +  $X_1X_2$ ; **E-J.** Metáfase II com  $n = 11$  (E, F) e  $n = 13 = 11 + X_1X_2$  (G-J); **A, G.** *Acacesia benigna*; **B, E, H.** *Actinosoma pentacanthum*; **C, I.** *Alpaida biconuta*; **D, F, J.** *Parawixia bistrinata*. Barra de escala: 5  $\mu\text{m}$ .

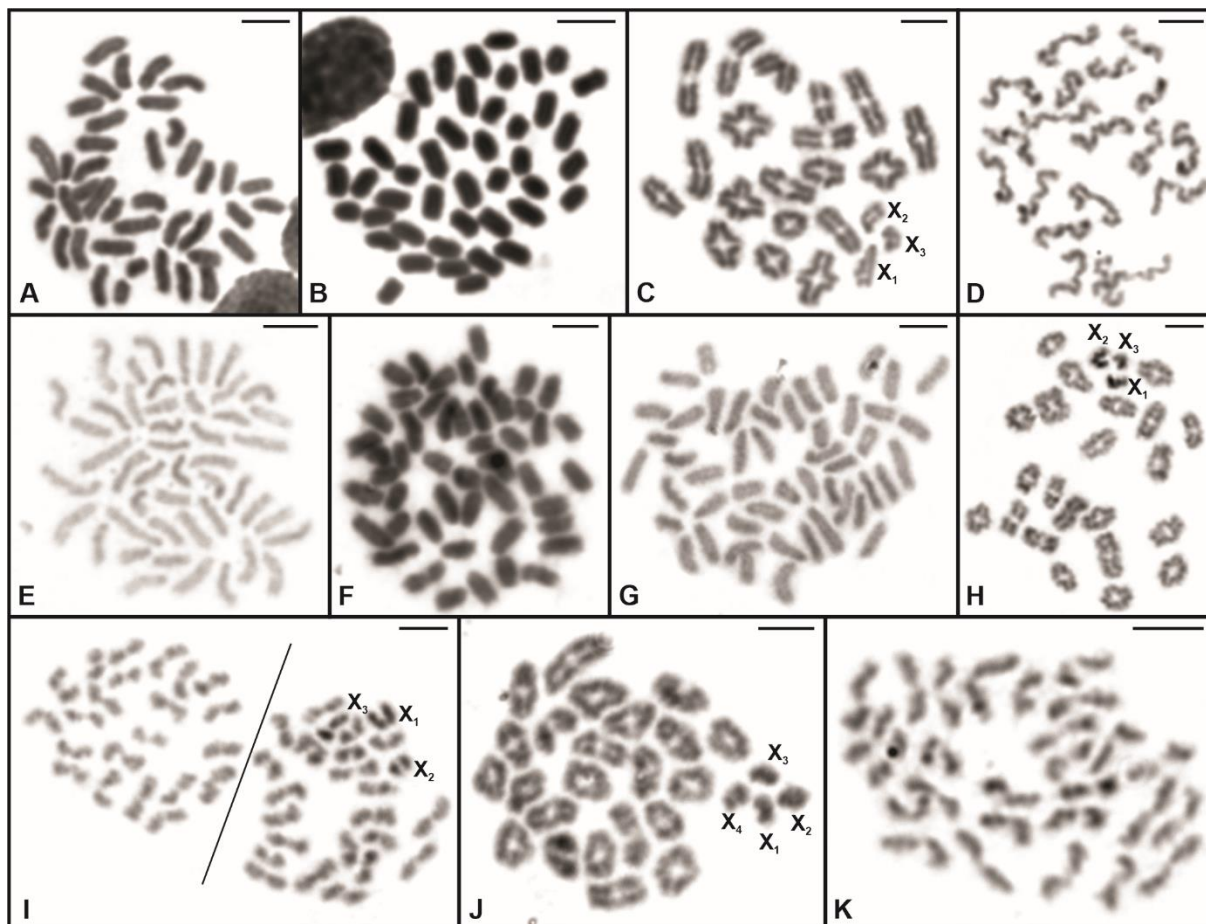
Assim, todas as células analisadas dessas cinco espécies (Tabela 2) apresentaram  $2n_{\text{♂}} = 24 = 22 + X_1X_2$  e  $2n_{\text{♀}} = 26 = 22 + X_1X_1X_2X_2$ , e cromossomos com morfologia acro/telocêntrica.

**Tabela 2.** Número de células analisadas, número diploide e sistema cromossômico sexual (SCS) das espécies analisadas neste estudo.

Espécies	Células analisadas	Número diploide ( $2n_{\text{♂}}$ )	SCS ( $\text{♂}$ )
----------	--------------------	-------------------------------------	--------------------

<i>Acacesia benigna</i> Glueck, 1994	50	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
<i>Actinosoma pentacanthum</i> (Walckenaer, 1841)	236	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
<i>Alpaida bicornuta</i> Taczanowski, 1878)	87	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
<i>Gasteracantha cancriformis</i> (Linnaeus, 1758)	35	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
<i>Parawixia bistrata</i> (Rengger, 1836) Acro/telocentric	74	24	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>
<i>Dubiepeira</i> sp.	104	41	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>
<i>Verrucosa meridionalis</i> (Keyserling, 1892)	64	47	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>
<i>Verrucosa scapofracta</i> Lise, Kesster & Silva, 2015	10	50	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>

**Cariótipos com números diploides altos.** — *Dubiepeira* sp. mostrou machos com  $2n_{\text{♂}} = 41$  e fêmeas com  $2n_{\text{♀}} = 44$ , com todos os cromossomos acro/telocêntricos diminuindo gradualmente em tamanho (Fig. 3A, B). Espermatócitos I em diplóteno de *Dubiepeira* sp. exibem 19 bivalentes autossômicos e três univalentes sexuais (Fig. 3C). Apenas espermatócitos II em metáfase com  $n = 19$  foram encontrados (Fig. 3D). No total, essas características confirmam o SCS do tipo  $X_1X_2X_3_{\text{♂}}/X_1X_1X_2X_2X_3X_3_{\text{♀}}$ .



**Figura 3.** Divisões celulares em *Dubiepeira* sp. (A-D), *Verrucosa meridionalis* (E-F, H-I) e *Verrucosa scapofracta* (G, J-K). **A.** Metáfase espermatogonial com  $2n\♂ = 41$ . **B.** Metáfase ovogônica com  $2n\♀ = 44$ . **C.** Diplóteno com 19 bivalentes autossômicos +  $X_1X_2X_3$ . **D.** Metáfase II com  $n = 19$ . **E.** Metáfase espermatogonial com  $2n\♂ = 47$ . **F.** Metáfase ovogônica com  $2n\♀ = 50$ . **G.** Metáfase espermatogonial com  $2n\♂ = 50$ . **H.** Diplóteno com 22 bivalentes autossômicos +  $X_1X_2X_3$ . **I.** Metáfase II com  $n = 22$  (esquerda) e  $n = 25 = 22 + X_1X_2X_3$  (direita). **J.** Diploteno com 23 bivalentes autossômicos +  $X_1X_2X_3X_4$ . **K.** Metáfase II com  $n = 27 = 23 + X_1X_2X_3X_4$ . Barra de escala: 5  $\mu$ m.

*Verrucosa meridionalis* e *V. scapofracta* apresentaram  $2n\♂ = 47 / 2n\♀ = 50$  e  $2n\♂ = 50$ , respectivamente, com todos os cromossomos de ambas as espécies com morfologia cromossômica acro/telocêntrica e diminuindo gradualmente em tamanho (Fig. 3E-G). Os espermatócitos I em diplóteno de *V. meridionalis* possuem 22 bivalentes autossômicos e três univalentes sexuais positivamente heteropicnóticos (Fig. 3H), enquanto os espermatócitos II em metáfase apresentaram  $n = 22$  e  $n = 25 = 22 + X_1X_2X_3$  (Fig. 3I). Os espermatócitos I em diplóteno do único macho analisado de *V. scapofracta* exibem 23 bivalentes autossômicos e quatro univalentes sexuais heteropicnóticos positivos (Fig. 3J), e apenas espermatócitos II em metáfase com  $n = 27 = 23 + X_1X_2X_3X_4$  foram encontrados (Fig. 3K).

Assim, com base em todas as células analisadas (Tabela 2), *Dubiepeira* sp. possui  $2n_{\text{♂}} = 41 = 38 + X_1X_2X_3$  e  $2n_{\text{♀}} = 44 = 38 + X_1X_1X_2X_2X_3X_3$ ; *V. meridionalis* possui  $2n_{\text{♂}} = 47 = 44 + X_1X_2X_3$  e  $2n_{\text{♀}} = 50 = 44 + X_1X_1X_2X_2X_3X_3$ ; e *V. scapofracta* possui  $2n_{\text{♂}} = 50 = 46 + X_1X_2X_3X_4$  e sugerimos que as fêmeas possuem o número diploide correspondente  $2n_{\text{♀}} = 54 = 46 + X_1X_1X_2X_2X_3X_3X_4X_4$ . Todas as espécies com cromossomos acro/telocêntricos.

**Cariótipos de Araneidae sob a luz de estudos filogenéticos e taxonômicos.** — A configuração cariotípica  $2n_{\text{♂}} = 24 = 22 + X_1X_2$  com cromossomos acro/telocêntricos encontrada na maioria das espécies aqui analisadas corresponde ao complemento mais frequente em Araneidae (Tabela 2) (Araujo et al. 2021). Embora apenas 1,9% de todas as espécies desta família tenham sido estudadas citogeneticamente, as características básicas do cariótipo parecem ser relativamente homogêneas neste grupo, com rearranjos pontuais em alguns clados internos (Araujo et al. 2021; World Spider Catalog 2021).

“*Micrathenines*”: segundo Scharff et al. (2020), este clado agrupa os gêneros *Acacesia* Simon, 1895, *Scoloderus* Simon, 1887, *Ocrepeira* Marx, 1883, *Verrucosa* McCook, 1888 e *Micrathena* Sundevall, 1833, todos eles ocorrendo no Novo Mundo (World Spider Catalog 2021). Dentro deste clado, dois grupos são formados, um agrupa *Acacesia*, *Ocrepeira* e *Scoloderus* e outro contém *Micrathena* e *Verrucosa* (ver Fig. 3 em Scharff et al. 2020).

Aqui, mostramos os primeiros dados cromossômicos para *Micrathenines* com membros de ambos os clados. *Acacesia benigna* apresenta o cariótipo padrão da família, enquanto *Verrucosa meridionalis* e *V. scapofracta* têm um número diploide muito maior e SCS incomum (Tabela 2) (Figura 4A). Assim, os eventos que geraram os padrões cromossômicos em *Verrucosa* sp. provavelmente estão restritos ao grupo que compreende *Micrathena* sp. e *Verrucosa* sp. ou ocorreram apenas em espécies de *Verrucosa* sp. Portanto, estudos cariológicos em *Micrathena* são necessários em uma próxima etapa da pesquisa. Independentemente, devido às diferenças de número diploide e SCS entre *V. meridionalis* e *V. scapofracta*, podemos afirmar que alguns rearranjos já ocorreram após a divergência de *Verrucosa* sp. (Tabela 2).

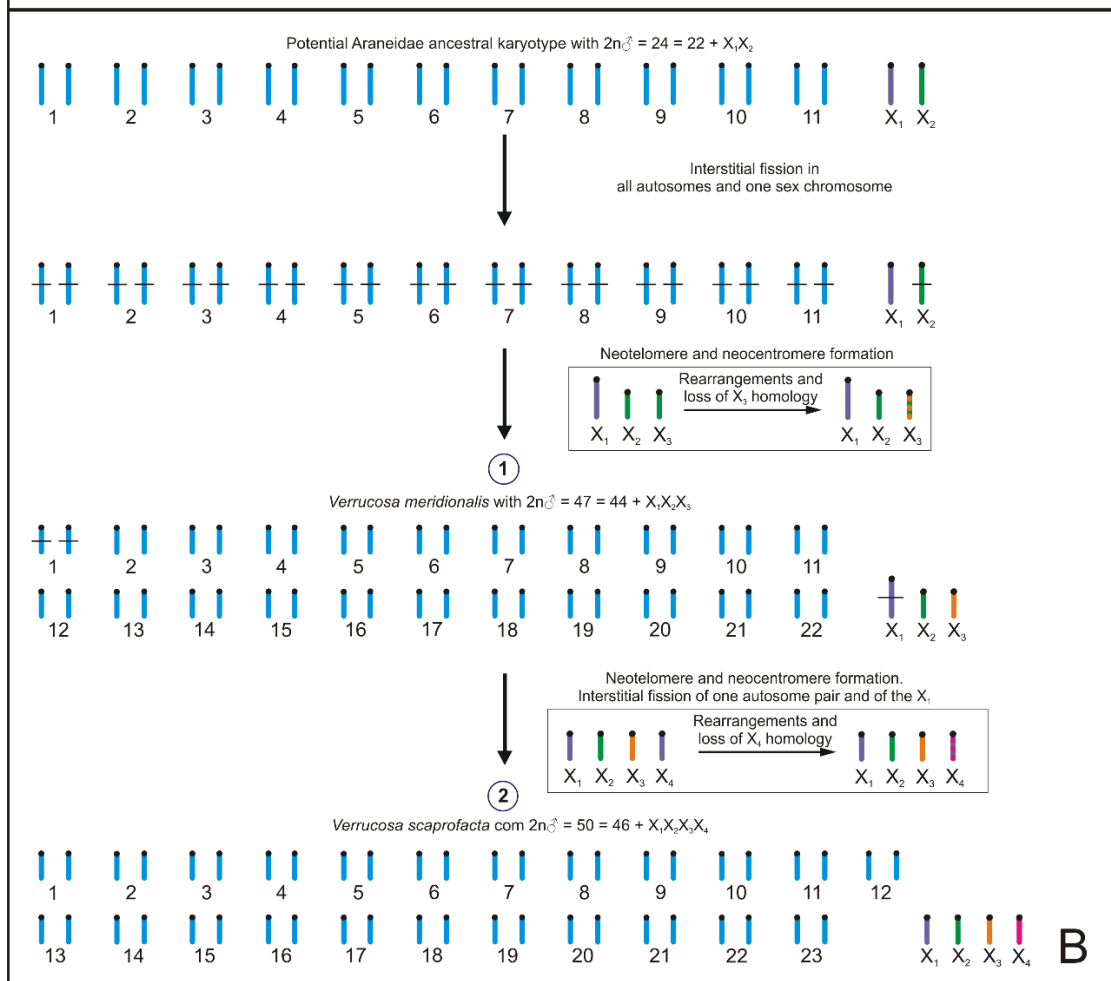
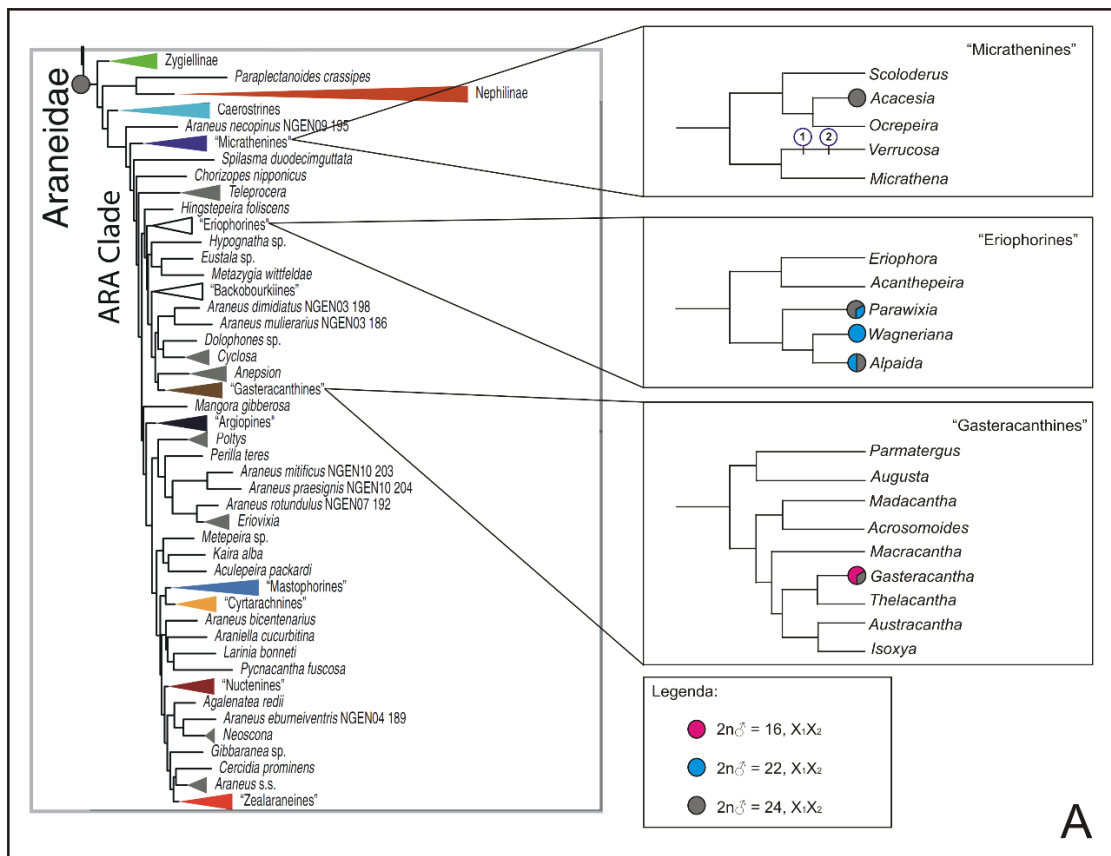


Figura 4. A. Árvore filogenética de Araneidae extraída de Scharff et al. (2020) mostrando os dados

citogenéticos disponíveis para "Micrathenines", "Eriophorines" e "Gasteracanthines" em detalhes. **B.** Esquema mostrando origens hipotéticas dos cariótipos  $2n♂ = 47 = 44 + X_1X_2X_3$  e  $2n♂ = 50 = 46 + X_1X_2X_3X_4$ , encontrados em *Verrucosa meridionalis* e *Verrucosa scapofracta*, respectivamente. Os eventos de rearranjo representados pelos números "1" e "2" na figura B teriam ocorrido dentro do gênero *Verrucosa*, conforme representado pelos mesmos números em detalhes de "Micrathenines" na figura A.

"*Eriophorines*": Clado que inclui espécies dos gêneros *Acanthepeira* Marx, 1883, *Alpaida* O. Pickard-Cambridge, 1889, *Eriophora* Simon, 1864, *Parawixia* F. O. Pickard-Cambridge, 1904 e *Wagneriana* F. O. Pickard-Cambridge, 1904 (Scharff et al. 2020). Apenas seis espécies deste clado foram analisadas citogeneticamente até agora, pertencentes aos gêneros *Alpaida*, *Parawixia* e *Wagneriana* (Figura 4A). *Alpaida leucogramma* (White, 1841) e *Parawixia velutina* (Taczanowski, 1878) mostraram o comum  $2n♂ = 24 = 22 + X_1X_2$  (Araujo et al. 2011), a mesma configuração cromossômica de *A. bicornuta* e *P. bistriata* (presente estudo), enquanto *Alpaida truncata* (Keyserling, 1865), *Alpaida veniliae* (Keyserling, 1865), *Parawixia kochi* (Taczanowski, 1873) e *Wagneriana* sp. apresentam redução de um par autossômico, com  $2n♂ = 22 = 20 + X_1X_2$  (Araujo et al. 2011).

As únicas espécies de *Alpaida* com metáfases mitóticas analisadas foram *A. leucogramma* (Araujo et al. 2011) e *A. bicornuta* (presente estudo). Apesar de ambas as espécies apresentarem  $2n♂ = 24 = 22 + X_1X_2$ , o tamanho do maior par autossômico de *A. bicornuta* corresponde a quase o dobro do tamanho do segundo par (Fig. 1C), característica cromossômica que não foi observada em *A. leucogramma*. Assim, *A. bicornuta* possui um complemento diferente do restante das espécies de *Alpaida* estudadas citogeneticamente até o momento.

*Parawixia bistriata* e *P. velutina* possuem o mesmo complemento (presente estudo; Araujo et al. 2011), sugerindo uma relação cromossômica mais próxima entre elas em vez de *P. kochi*. Infelizmente, não há filogenia do gênero até o momento que corrobore qualquer hipótese relacionada às espécies de *Parawixia*. No entanto, as poucas espécies de *Parawixia* incluídas na análise filogenética de Araneidae de Scharff et al. (2020) mostraram-se polifiléticas (parte pertencente a "Eriophorines" e parte a "Backobourkiines"). Dados moleculares têm sido uma abordagem para encontrar caracteres específicos de espécies, mas são relativamente escassos em Araneae (Agnarsson et al. 2013; Garrison et al. 2016; Scharff et al. 2020), e caracteres morfológicos têm limitações para determinar espécies em alguns grupos (Scharff et al. 2020). Uma melhor abordagem para esses casos é aquela que incluem características de diferentes naturezas, como dados de comportamento (Coddington 1986, 1990; Dimitrov et al. 2017) e dados citogenéticos (Araujo et al. 2008, 2011; Řezáč et al.



2018), por exemplo. O cariótipo de algumas espécies de *Parawixia* apresentou variabilidade e pode ser útil em estudos posteriores deste gênero polifilético, como sugerido por Araujo et al. (2011). Estudos citogenéticos em todos os gêneros “Eriophorines” são necessários para estabelecer uma melhor compreensão da evolução cromossômica no clado.

“*Gasteracanthines*”: apesar deste clado possuir nove gêneros, a grande maioria das espécies pertence a *Gasteracantha* Sundevall, 1833 (Scharff et al. 2020; World Spider Catalog 2020). Citogeneticamente, apenas *Gasteracantha hasselti* C. L. Koch, 1837 e *G. kuhli* C. L. Koch, 1837 foram analisadas e exibem  $2n♂ = 16 = 14 + X_1X_2$  (Datta & Chatterjee 1983, 1988), divergindo do número diploide  $2n♂ = 24 = 22 + X_1X_2$  de *G. cancriformis* estudado aqui (Figura 4A), sugerindo que os rearranjos que reduzem o número de cromossomos em *G. hasselti* e *G. kuhli* ocorreram após a divergência do gênero *Gasteracantha*. Em Araneidae, eventos de redução intragenérica no número diploide foram relatados em *Larinioides* Caporiacco, 1934 variando de  $2n♂ = 14$  em *Larinioides patagiatus* (Clerck, 1757) a  $2n♂ = 23$  e  $24$  em *L. cornutus* (Clerck, 1757) (Berry 1906; Painter 1914; Hackman 1948; Qingtao et al. 1998, 1999), em *Neoscona* Simon, 1864 com  $2n♂ = 13, 14, 21, 23$  e  $24$  (Suzuki 1951a, b; Mittal 1960a, 1966; Datta & Chatterjee 1983, 1988; Parida & Sharma 1987; Sharma & Parida 1987; Amalin 1988, 1993; Doan & Paliulis 2009; Prakash & Prakash 2014), em *Alpaida* e *Parawixia*, com estes dois últimos gêneros tendo apenas a redução de um par autossômico (Araujo et al. 2011).

Alternativamente, mas menos provável, *G. cancriformis* pode ter sofrido eventos de fissão cromossômica, originando um complemento homoplásico de  $2n♂ = 24$ . Corroborando essa hipótese, Tan et al. (2019) propuseram uma filogenia de tecelões orbiformes espinhosos pertencentes à Malásia, na qual adicionaram sequências de DNA de *G. cancriformis* disponíveis no GenBank, encontrando uma parafilia em *Gasteracantha*. *Gasteracantha hasselti* agrupou-se com *Actinacantha globulata* (Walckenaer, 1841) e *Macracantha arcuata* (Fabricius, 1793) e este clado era irmão do resto das outras três espécies de *Gasteracantha* usadas em seu estudo, incluindo *G. cancriformis* e *G. kuhli*. No entanto, este trabalho tem uma amostra muito limitada com 18 espécimes de sete espécies e algumas amostras não conseguiram amplificar. Assim, os dados do cariótipo sugerem uma proximidade maior entre *G. hasselti* e *G. kuhli* do que entre *G. cancriformis* e *G. kuhli*, o que é concordante com a distribuição geográfica dessas três espécies (Datta & Chatterjee 1983, 1988; World Spider Catalog 2020).

*Actinosoma pentacanthum* e *Dubiepeira* sp.: as duas maiores filogenias da família não incluem *Actinosoma* Holmberg, 1883 e *Dubiepeira* Levi, 1991 (Scharff & Coddington 1997; Scharff et al. 2020). No entanto, a inferência filogenética de *Wagneriana* por Cabra-García & Hormiga (2020) sugere uma proximidade de *Actinosoma* com *Alpaida*, *Rubrepeira* Levi, 1992 e algumas espécies de *Wagneriana*. Do ponto de vista citogenético, *A. pentacanthum* apresenta o mesmo número diploide ( $2n♂ = 24$ ) encontrado em duas das quatro espécies de

*Alpaida* analisadas cromossomicamente até agora (*A. leucogramma* e *A. benigna*), enquanto as outras duas espécies de *Alpaida* e *Wagneriana* sp. apresenta  $2n♂ = 22$  (presente estudo, Araujo et al. 2011), embora estudos adicionais nesses gêneros sejam necessários para uma determinação mais precisa da relação entre eles.

Apesar de *Dubiepeira* não ter sido amostrada em nenhuma filogenia, Levi (1991) observa que as fêmeas de *Dubiepeira* e *Araneus* Clerck, 1757 são muito semelhantes. Curiosamente, *A. ventricosus* apresentou um dos maiores números diploides em Araneidae ( $2n♂ = 32, 46$  e  $49$ ) (Suzuki 1951a, b; Zhang & Tong, 1990; Youju et al., 1993), uma característica também observada em *Dubiepeira* sp. ( $2n♂ = 41$ ) no presente estudo e o mesmo SCS ( $♂X_1X_2X_3/♀X_1X_1X_2X_2X_3X_3$ ) em uma população analisada (Youju et al. 1993). Além disso, *Araneus* é bem conhecido na literatura como um gênero polifilético no qual muitas espécies não resolvidas estão inseridas (Scharff & Coddington 1997; Scharff et al. 2020), portanto, o cariótipo encontrado em *Dubiepeira* sp. sugere uma proximidade com *A. ventricosus* e caracteres cromossômicos podem ser uma alternativa para ajudar a esclarecer as relações dentro do gênero polifilético *Araneus*.

**Evolução cromossômica dos cariótipos de Araneidae com altos números diploides.** — Com base nos altos números diploides encontrados em Mesothelae e vários clados de Mygalomorphae, a evolução cromossômica em Araneae foi sugerida como ocorrendo principalmente por meio de rearranjos que diminuem o número diploide, como fusões Robertsonianas (Suzuki 1954; Král et al. 2006; Araujo et al. 2020). No entanto, mesmo nos clados que possuem a maioria das espécies com números diploides relativamente baixos, como Araneidae, podem ocorrer fissões cromossômicas, originando cariótipos com altos números diploides, como encontrados em *Dubiepeira* sp., *V. meridionalis* e *V. scapofracta* analisados aqui. Curiosamente, o  $2n♂ = 50$  da última espécie é o maior número diploide entre todas as aranhas Entelegynae. Um estudo anterior sobre *Agelenopsis naevia* (Walckenaer, 1841) (Agelenidae) mencionou cerca de 50 cromossomos, mas enfatiza que a contagem de cromossomos não é precisa, o que é compreensível considerando que o estudo se baseia em cortes histológicos. O mesmo autor já havia descrito cerca de 40 cromossomos anteriormente para a mesma espécie (Wallace 1905, 1909).

O SCS do tipo  $♂X_1X_2X_3/♀X_1X_1X_2X_2X_3X_3$  é comumente encontrado em famílias de aranhas como Sparassidae (Hackman 1948; Suzuki & Okada 1950; Bole-Gowda 1952; Suzuki 1952; Mittal 1961, 1966b; Datta & Chatterjee 1983; Rowell 1985, 1988, 1990, 1991; Parida & Sharma 1986, 1987; Srivastava & Shukla 1986; Sharma & Parida 1987; Hancock & Rowell 1995), Agelenidae, no gênero *Tegenaria* Latreille, 1804 e Tetragnathidae, no gênero *Leucauge* White, 1841 (Sokólska 1925; Sharma et al. 1959; Datta & Chatterjee 1983, 1988; Xiuzhen et al. 1996; Kral 2007; Kořínková & Král 2013), porém, em Araneidae é muito raro,

restrito a *Araneus ventricosus* (Youju et al. 1993), *Dubiepeira* sp. e *V. meridionalis* (estudo atual).

O SCS do tipo ♂ $X_1X_2X_3X_4$ /♀ $X_1X_1X_2X_2X_3X_3X_4X_4$  encontrado em *V. scapofracta*, foi observado em nove espécies de aranhas até agora (Datta & Chatterjee 1983, 1988; Král et al. 2011, 2013; Kořínková & Král 2013; Souza et al. 2021). Souza et al. (2021) sugere o surgimento do seu sistema de forma independente em Araneae por causa da distância filogenética entre os clados que possuem este SCS.

Com base nas características cromossômicas acima descritas, é possível hipotetizar um cenário para as origens dos cariótipos de *Verrucosa*, que partirá de um cariótipo com  $2n♂ = 24$ ,  $X_1X_2$ , pois também é presente em outros Araneoidea e provavelmente o ancestral da família (Araujo et al. 2021), que sofreu eventos de fissão cromossômica em todos os pares autossômicos e no cromossomo  $X_2$ , originando um cariótipo com  $2n♂ = 47$ ,  $X_1X_2X_3$ , observado em *V. meridionalis*. Em um próximo passo, um par autossômico e o  $X_1$  seriam fissionados, originando o cariótipo com  $2n♂ = 50$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ , apresentado em *V. scapofracta* (Fig. 4B).

Eventos de rearranjo envolvendo todos os cromossomos do complemento são chamados de “tudo ou nada” e já foram descritos nas famílias de aranhas Oxyopidae, Pholcidae, Sparassidae e Theridiidae (Rowell 1990; Stávale et al. 2010, 2011; Lomazi et al. 2018). No entanto, pesquisas mais extensas dentro dos gêneros *Verrucosa* e *Micrathena* podem revelar cariótipos com números diploides intermediários, indicando uma ocorrência mais gradual dos rearranjos.

Alternativamente, a origem do SCS ♂ $X_1X_2X_3$ /♀ $X_1X_1X_2X_2X_3X_3$  e ♂ $X_1X_2X_3X_4$ /♀ $X_1X_1X_2X_2X_3X_3X_4X_4$  poderia ter ocorrido por meio de não disjunções seguidas de perda de homologia dos cromossomos neo X, como sugerido por alguns autores em outras espécies de aranhas (Postiglioni & Brum-Zorrilla 1981; Datta & Chatterjee 1988; Král et al. 2011; Araujo et al. 2012).

## CONCLUSÃO

Este estudo contribui significativamente para a compreensão da evolução cromossômica em Araneidae, revelando a diversidade de cariótipos dentro da família, incluindo o número diploide comum de  $2n♂ = 24$  e variações em espécies como *Dubiepeira* sp., *Verrucosa meridionalis* e *V. scapofracta*, que apresentam números diploides mais elevados e evidências de fissão cromossômica. Os dados sugerem que rearranjos cromossômicos, como fissões e sistemas sexuais distintos ( $X_1X_2X_3$ ,  $X_1X_2X_3X_4$ ), são importantes na diversificação dessas linhagens, com implicações filogenéticas que podem ajudar a resolver relações entre gêneros polifiléticos, como *Verrucosa* e *Micrathena*. Esses

resultados destacam a importância de estudos citogenéticos adicionais para entender melhor a evolução da família, especialmente em gêneros ainda pouco investigados.

## BIBLIOGRAFIA

Agnarsson, I., Coddington, J. A., & Kuntner, M. 2013. Systematics—progress in the study of spider diversity and evolution. Pp. 58–111. In D. Penney, ed. *Spider research in the 21st century: trends and perspectives*. Manchester: Siri Scientific Press.

Amalin, D. M. 1988. Morphology, life history and cytology of three orb-weaving spiders (Araneae: Araneidae) causing araneidism in the Philippines. *College, Laguna (Philippines)*, 79 pp.

Amalin, D. M., Barrion, A. A., & Jayoma, M. 1993. Comparative karyomorphology of two *Neoscona* species (Araneae: Araneidae). *Philippine Entomologist* 9:1–6.

Araujo, D., Rheims, C. A., Brescovit, A. D., & Cella, D. M. 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. doi: 10.1111/j.1439-0469.2007.00457.x

Araujo, D., Schneider, M. C., Paula-Neto, E., & Cella, D. M. 2012. Sex chromosomes and meiosis in spiders: a review. Pp. 87–108. In A. Swan, ed. *Meiosis - Molecular mechanisms and cytogenetic diversity*. Rijeka: Intech.

Araujo, D., Mattos, V. F., Giroti, A. M., Kraeski, M. G., Carvalho, L. S., & Brescovit, A. D. 2011. Cytogenetical characterization of six orb-weaver species and review of cytogenetical data for Araneidae. *The Journal of Arachnology* 39:337–344. doi: 10.1636/CB10-88.1

Araujo, D., Schneider, M. C., Paula-Neto, E., & Cella, D. M. 2021. The spider cytogenetic database. Version 9.5. Disponível em: <http://www.arthropodacytogenetics.bio.br/spiderdatabase>, Acessado em Janeiro de 2021.

Berry, E. H. 1906. The "Accessory chromosome" in *Epeira*. *The Biological Bulletin* 11:193–201.

Bole-Gowda, B. N. 1952. Studies on the chromosomes and the sex-determining mechanism in four hunting spiders (Sparassidae). *Proceedings of the Zoological Society of Bengal* 5:51–70.

- Cabra-García, J., & Hormiga, G. 2020. Exploring the impact of morphology, multiple sequence alignment, and choice of optimality criteria in phylogenetic inference: a case study with the Neotropical orb-weaving spider genus *Wagneriana* (Araneae: Araneidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 188:976–1151. doi: 10.1093/zoolinnean/zlz088
- Coddington, J. A. 1986. The monophyletic origin of the orb web. Pp. 319–363. In W. A. Shear, ed. *Spiders: Webs, Behavior and Evolution*. Stanford: Stanford University Press.
- Coddington, J. A. 1990. Cladistics and spider classification: araneomorph phylogeny and the monophyly of orbweavers (Araneae: Araneomorphae; Orbiculariae). *Acta Zoologica Fennica* 190:75–87.
- Datta, S. N., & 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.
- Datta, S. N., & Chatterjee, K. 1988. Chromosomes and sex determination in 13 araneid spiders of North-Eastern India. *Genetica* 76:91–99. doi: 10.1007/BF00058807
- Dimitrov, D., Benavides, L. R., Arnedo, M. A., Giribet, G., Griswold, C. E., 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. doi: 10.1111/cla.12165
- Doan, R. N., & Paliulis, L. V. 2009. Micromanipulation reveals an X0-XX sex determining system in the orb-weaving spider *Neoscona arabesca* (Walckenaer). *Hereditas* 146:180–182. doi: 10.1111/j.1601-5223.2009.02123.x
- Garrison, N. L., Rodriguez, J., Agnarsson, I., Coddington, J. A., Griswold, C. E., Hamilton, C. A., et al. 2016. Spider phylogenomics: untangling the Spider Tree of Life. *PeerJ* 4:e1719. doi: 10.7717/peerj.1719
- Green, D. M., & Sessions, S. K. 1991. Amphibian cytogenetics and evolution. Pp. 431–432. In *Appendix I, Nomenclature for chromosomes*. Academic Press.
- Hackman, W. 1948. Chromosomen studien an Araneen mit besonderer berücksichtigung der geschlechtschromosomen. *Acta Zoologica Fennica* 54:1–101.
- Hancock, A. J., & Rowell, D. M. 1995. A chromosomal hybrid zone in the Australian huntsman spider, *Delena cancerides* (Araneae: Sparassidae). Evidence for a hybrid zone near Canberra, Australia. *Australian Journal of Zoology* 43:173–180. doi: 10.1071/ZO9950173

- Kořínková, T., & Král, J. 2013. Karyotypes, sex chromosomes, and meiotic division. Pp. 159–171. In *Spider Ecophysiology*. W. Netwig, ed. Berlin: Springer-Verlag.
- Král, J., Musilová, J., Šťáhlavský, F., Řezáč, M., Akan, Z., Edwards, R. L., et al. 2006. Evolution of the karyotype and sex chromosome systems in basal clades of araneomorph spiders (Araneae: Araneomorphae). *Chromosome Research* 14:859–880. doi: 10.1007/s10577-006-1095-9
- Král, J. 2007. Evolution of multiple sex chromosomes in the spider genus *Malthonica* (Araneae: Agelenidae) indicates unique structure of the spider sex chromosome systems. *Chromosome Research* 15:863–879.
- 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. doi: 10.1159/000323497
- Král, J., Kořínková, T., Krkavcová, L., Musilová, J., Forman, M., Herrera, I. M. A., et al. 2013. Evolution of karyotype, sex chromosomes, and meiosis in mygalomorph spiders (Araneae: Mygalomorphae). *Biological Journal of the Linnean Society* 109:377–408. doi: 10.1111/bij.12056
- Levan, A. K., Fredga, K., & Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201–220. doi: 10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x
- Levi, H. W. 1991. The Neotropical and Mexican species of the orb-weaver genera *Araneus*, *Dubiepeira*, and *Aculepeira* (Araneae: Araneidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 152:167–315.
- Lomazi, R. C., Araujo, D., Carvalho, L. S., & Schneider, M. C. 2018. Small pholcids (Araneae: Synspermiata) with big surprises: the lowest diploid number in spiders with monocentric chromosomes. *The Journal of Arachnology* 46:45–49.
- Mittal, O. P. 1960. Chromosome number and sex mechanism in twenty species of the Indian spiders. *Research Bulletin (N.S.) of the Panjab University* 11:245–247.
- Mittal, O. P. 1961. Chromosome number and sex mechanism in twenty-one species of the Indian spiders. *Research Bulletin (N.S.) of the Panjab University* 12:271–273.
- Mittal, O. P. 1966a. Karyological studies on the Indian spiders VI. Chromosome number and sex-determining mechanism in the family Araneidae. *Research Bulletin (N.S.) of the Panjab University* 17:335–351.

- Mittal, O. P. 1966b. Karyological studies on Indian spiders IV. Chromosomes in relation to taxonomy in Eusparassidae, Selenopidae, and Thomosidae. *Genetica* 37:205–234.
- Painter, T. S. 1914. Spermatogenesis in spiders. *Zoologische Jahrbücher Abteilung für Anatomie und Ontogenie der Tiere* 38:509–576.
- Postiglioni, A., & Brum-Zorrilla, N. 1981. Karyological studies on Uruguayan spiders II. Sex chromosomes in spiders of the genus *Lycosa* (Araneae-Lycosidae). *Genetica* 56:47–53.
- Prakash, A., & Prakash, S. 2014. Cytogenetical investigations on spiders of semi-arid areas. *Indian Journal of Arachnology* 3:40–54.
- Qingtao, Z., Hong, H., Bing, Y., Fengxiang, L., & Jian, C. 1998. An observation of the spider chromosomes by single embryo-cell squash technique. *Acta Arachnologica Sinica* 7:39–41.
- Qingtao, Z., Bing, Y., Hong, H., Jian, C., & Feng-Xiang, L. 1999. On karyotype polymorphism in *Lariniodes cornuta*. *Acta Zoologica Sinica* 45:238–240.
- Rasband, W. S. 1997–2020. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij/>, acessado em Janeiro de 2021.
- Řezáč, M., Arnedo, M. A., 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. doi: 10.1071/IS16071.
- Rowell, D. M. 1985. Complex sex-linked fusion heterozygosity in the Australian huntsman spider *Delena cancerides* (Araneae: Sparassidae). *Chromosoma* 93:169–176. doi: 10.1007/BF00293165.
- Rowell, D. M. 1988. The chromosomal constitution of *Delena cancerides* Walck. (Araneae: Sparassidae) and its role in the maintenance of social behaviour. *The Australian Entomological Society Miscellaneous Publication* 5:107–111.
- Rowell, D. M. 1990. Fixed fusion heterozygosity in *Delena cancerides* Walck. (Araneae: Sparassidae): an alternative to speciation by monobrachial fusion. *Genetica* 80:139–157. doi: 10.1007/BF00127134.
- Rowell, D. M. 1991. Chromosomal fusion and meiotic behaviour in *Delena cancerides* (Araneae: Sparassidae). I. Chromosome pairing and X-chromosome segregation. *Genome* 34:561–566. doi: 10.1139/g91-086.

- Sakamoto, Y., & Zacaro, A. A. 2009. LEVAN, an ImageJ plugin for morphological cytogenetic analysis of mitotic and meiotic chromosomes. *Initial version*. Plugin JAVA de código aberto acessível em <http://rsbweb.nih.gov/ij/>.
- Scharff, N., Coddington, J. A., Blackledge, T. A., Agnarsson, I., Framenau, V. W., Szűts, T., et al. 2020. Phylogeny of the orb-weaving spider family Araneidae (Araneae: Araneoidea). *Cladistics* 36:1–21. doi: 10.1111/cla.12382.
- Sharma, G. P., Jande, S. S., & Tandon, K. K. 1959. Cytological studies on the Indian spiders IV. Chromosome complement and meiosis in *Selenops radiatus* Latreille (Selenopidae) and *Leucauge decorata* (Blackwall) (Tetragnathidae) with special reference to XXX0-type of male sex determining mechanism. *Research Bulletin (N.S.) of the Panjab University* 10:73–80.
- Sharma, N. N., & Parida, B. B. 1987. Study of chromosomes in spiders from Orissa. *Pranikee* 8:71–76.
- Sokólska, J. 1925. Les hétérochromosomes pendant la spermatogenèse de l'Araignée domestique (*Tegenaria domestica* Cl). *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences* 3B:477–491.
- Souza, L. H. B., Silva, B. C., Costa, C. C., Brescovit, A. D., Rincão, M. P., Dias, A. L., & Araujo, A. 2021. First chromosomal analysis in Deinopidae (Araneae) reveals Sex Chromosome System X1X2X3X4, B chromosomes and polymorphism for centric fusion. *Zoology* 146:125906. doi: 10.1016/j.zool.2021.125906.
- Srivastava, M. D. L., & Shukla, S. 1986. Chromosome number and sex-determining mechanism in forty-seven species of Indian spiders. *Chromosome Information Service* 41:23–26.
- Stávale, L. M., Schneider, M. C., Araujo, D., Brescovit, A. D., & Cella, D. M. 2010. Chromosomes of Theridiidae spiders (Entelegynae): interspecific karyotype diversity in *Argyrodes* and diploid number intraspecific variability in *Nesticodes rufipes*. *Genetics and Molecular Biology* 33:663–668.
- Stávale, L. M., Schneider, M. C., Brescovit, A. D., & Cella, D. M. 2011. Chromosomal characteristics and karyotype evolution of Oxyopidae spiders (Araneae, Entelegynae). *Genetics and Molecular Research* 10:752–763.
- Suzuki, S., & Okada, A. 1950. A study on the chromosomes of a spider, *Heteropoda venatoria*, with special reference to X1-, X2- and X3-chromosomes. *Journal of Science of the Hiroshima University. Series B. Division 1* 11:29–44.



- Suzuki, S. 1951a. Karyotypes in two families of spiders, Salticidae and Argiopidae. *Zoological Magazine* 60:3–4.
- Suzuki, S. 1951b. 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.
- Suzuki, S. 1954. Cytological studies in spiders. III. Studies on the chromosomes of fifty-seven species of spiders belonging to seventeen families, with general considerations on chromosomal evolution. *Journal of Science of the Hiroshima University. Series B. Division 1* 15:23–136.
- Tan, J., Chan, Z. Y., Ong, C. A., & Yong, H. S. 2019. Phylogenetic relationships of *Actinacantha* Simon, *Gasteracantha* Sundevall, *Macracantha* Hasselt and *Thelacantha* Simon spiny orbweavers (Araneae: Araneidae) in Peninsular Malaysia. *Raffles Bulletin of Zoology* 67:32–55. doi: 10.26107/RBZ-2019-0003.
- Xiuzhen, W., Youju, W., Zhenling, Y., Sujuan, C., & Ning, L. 1996. On chromosomes of the *Tegenaria domestica* (Araneida: Agelenidae). *Acta Arachnologica Sinica* 5:141–144.
- Wallace, L. B. 1905. The spermatogenesis of the spider. *Biological Bulletin* 8:169–184.
- Wallace, L. B. 1909. The spermatogenesis of *Agalena naevia*. *Biological Bulletin* 17:120–161.
- World Spider Catalog. 2021. World Spider Catalog. Version 22 Natural History Museum, Bern. Disponível em: <http://wsc.nmbe.ch>, acessado em Janeiro de 2021. doi: 10.24436/2.
- Youju, W., Daxiang, S., Xiuzhen, W., Zhenling, Y. 1993. Preliminary studies on the chromosome of four species of spiders. *Acta Arachnologica Sinica* 2:110–113.
- Zhang, Y. J., & Tong, S. J. 1990. The routine method for preparing the chromosomes in spiders. *Chinese Journal of Zoology* 25:30–31.

A formatação das citações e referências bibliográficas seguiu as regras de formatação da revista Behavioral Ecology ([https://academic.oup.com/beheco/pages/information\\_for\\_authors](https://academic.oup.com/beheco/pages/information_for_authors)).