

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



Taxonomía integrativa para explorar relaciones intraespecíficas en poblaciones de una araña migalomorfa (Araneae: Mygalomorphae) del centro de Argentina



Foto de portada: Nelson Ferretti

ALUMNO/A: SIGNOROTTO FIORELLA VALENTINA DIRECTOR/A: FERRETTI, NELSON

Fecha de defensa oral: 16 de diciembre 2024

Bahía Blanca



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



Taxonomía integrativa para explorar relaciones intraespecíficas en poblaciones de una araña migalomorfa (Araneae: Mygalomorphae) del centro de Argentina

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Fiorella Signorotto

Tesista

Dr. Nelson Ferretti

Director

Título abreviado: Taxonomía integrativa de una araña migalomorfa del centro de Argentina.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



Integrative taxonomy to explore intraspecific relationships in populations of a mygalomorph spider (Araneae: Mygalomorphae) from central Argentina

BACHELOR'S THESIS IN BIOLOGICAL SCIENCES

Short title: Integrative taxonomy of a mygalomorph spider from central Argentina.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, Nelson Ferretti por haberme dado la oportunidad de crecer en la investigación y haberme formado tanto profesional como personalmente, agradezco tu forma de comunicar, enseñar y tu profunda pasión por las arañas, que me transmitís todos los días.

Gracias al Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET, UNS) por permitirme desarrollar mis tareas de investigación en la institución. Gracias al Consejo Interuniversitario Nacional (CIN) por el otorgamiento de una Beca de Estímulo a las Vocaciones Científicas (EVC-CIN) que impulsó el desarrollo de la presente tesis. Agradezco a las fuentes de financiamiento, sin las cuáles este trabajo no hubiera prosperado, a la Agencia de Investigación I+D+i por el financiamiento a través de sus proyectos PICT otorgados a mi director, PICT 2018-1751 y PICT 2021-0407 y a la Secretaría General de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional del Sur por proyecto PGI 24/ZB87

A mi Grupo de Investigaciones Aracnológicas del Sur, o mejor dicho las chicas de las arañas, Leonela Schwerdt, Justina Panchuk, Carolina Guerra, Micaela Nicoletta, Maite Allegue y Micaela Millenpeier. Gracias por las pasadas y futuras salidas de campo, mates, risas e intercambio de ideas que vamos a tener juntas.

A mis amigos de la uni y específicamente al grupito de "inartropodos" que desde el primer día me acompaño en esta odisea que se llama estudiar en la universidad. También agradezco a mis amigos de la vida, que me vieron crecer y escuchar mis locuras de bichos y biología. A mis amigos del Intercambio Académico, que gracias a la universidad lo pude realizar, siempre van a tener un lugarcito en mi corazón. Y un agradecimiento especial a mis mejores amigas Guada y Delfí, que a pesar de ser de mundos y grupos distintos las dos siempre están para mí, ya sea en lo académico o lo personal, no sé qué haría sin ustedes.

Por supuesto, a mi familia, que sin su locura y amor incondicional no podría haber hecho nada de esto. Especialmente a mis papas, que están ahí pase lo que pase, aunque no entiendan nada de lo que les estoy diciendo, siempre con una sonrisa y disfrutando conmigo mi pasión. Ojalá algún día pueda llegar a devolverle una mínima parte de lo que ustedes me dieron y me dan día a día.

Y, por último, a la Universidad Nacional del Sur, de la cual me enorgullece formar parte y a cada profesor que intervino en mi formación profesional. Sigamos luchando por la educación y la ciencia, no perdamos lo que hace excepcional a este país. Gracias.

RESUMEN

Este trabajo aborda la delimitación de una especie del género Acanthogonatus, que

incluye 30 especies distribuidas en Argentina, Brasil, Chile y Perú. La especie Acanthogonatus

centralis es la de mayor distribución en Argentina, encontrándose en los sistemas serranos del

centro de la Argentina, que abarcan el sur de Buenos Aires, el oeste de Córdoba, San Luis y San

Juan. Utilizando un enfoque integrativo, se combinaron análisis morfológicos detallados, estudios

moleculares y modelado de nicho ecológico para evaluar la hipótesis de linajes evolutivos

independientes en las poblaciones del centro-norte y centro-sur. Se extrajo ADN y se secuenció

un fragmento del gen mitocondrial COI, lo que permitió identificar dos linajes genéticos: uno

asociado a las poblaciones de Ventania (sur) y otro a las de Córdoba (norte). Además, se

observaron diferencias en los caracteres genitálicos entre machos y hembras. El modelado de

nicho ecológico reveló que las áreas de distribución potencial para ambos linajes están separadas

y corresponden a condiciones climáticas fragmentadas desde el Plioceno. Estos hallazgos

sugieren que la divergencia entre los linajes podría haber sido influenciada por barreras físicas y

ecológicas. Como resultado, se propuso un nuevo taxón para las poblaciones de las sierras de

Córdoba, denominado *Acanthogonatus* sp. nov., para los fines prácticos de esta tesis.

PALABRAS CLAVES: Acanthogonatus, linajes, filogenia.

5

ABSTRACT

This study addresses the species delimitation of the genus Acanthogonatus, which

includes 30 species distributed across Argentina, Brazil, Chile, and Peru. The species

Acanthogonatus centralis has the widest distribution in Argentina, being found in the mountain

systems of central Argentina, spanning southern Buenos Aires, western Córdoba, San Luis, and

San Juan. Using an integrative approach, detailed morphological analyses, molecular studies, and

ecological niche modeling were combined to evaluate the hypothesis of independent evolutionary

lineages in the northern-central and southern-central populations. DNA was extracted and a

fragment of the mitochondrial COI gene was sequenced, allowing the identification of two genetic

lineages: one associated with the Ventania (southern) populations and another with those from

Córdoba (northern). Additionally, differences in genital characters between males and females

were observed. Ecological niche modeling revealed that the potential distribution areas for both

lineages are separated and correspond to fragmented climatic conditions since the Pliocene. These

findings suggest that the divergence between the lineages could have been influenced by physical

and ecological barriers. As a result, a new taxon was proposed for the Córdoba mountain

populations, named Acanthogonatus sp. nov., for the practical purposes of this thesis.

KEYWORDS: *Acanthogonatus*, lineages, phylogeny.

6

<u>ÍNDICE</u>

- RESUMEN5
-ABSTRACT6
- INTRODUCCIÓN
- OBJETIVOS
- MATERIALES Y MÉTODOS 16
- Material examinado y área de estudio
- Lista de abreviaturas
- Caracteres morfológicos
- Caracteres moleculares
- Análisis filogenéticos
- Delimitación de especies
- Modelado de nicho
- RESULTADOS
- Morfología comparada
- Taxonomía
- Análisis moleculares
- Delimitación de especies
- Modelado de nicho ecológico
- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES
- REFERENCIAS RIBI IOGRÁFICAS

INTRODUCCIÓN

La taxonomía es la disciplina científica que se encarga de la identificación, clasificación y nomenclatura de las especies de nuestro planeta y de las relaciones entre ellas (Winston & Disney, 2000). Como tal, pretende dilucidar patrones de diversidad y la evolución en un grupo de organismos, lo cual resulta indispensable en numerosos estudios multidisciplinarios (Bisby & Coddington, 1995). Los estudios taxonómicos sirven de fundamento para diversos tipos de investigaciones, incluyendo estudios ecológicos, biogeográficos y moleculares (Santos & Amorim, 2007).

Además, es esencial para medir y alcanzar objetivos de conservación, permitiendo la identificación y evaluación precisa de especies, así como el seguimiento de su estado de amenaza y las intervenciones necesarias. A su vez, es crucial para el estudio de enfermedades zoonóticas, ya que permiten integrar datos genéticos, espaciales y clínicos que ayudan en la mitigación de brotes y en la comunicación de riesgos. Asimismo, facilita la detección temprana y el manejo de especies invasoras mediante la integración de clasificaciones, mejorando así las estrategias de conservación y control. Finalmente, la taxonomía permite un mejor entendimiento de las relaciones entre especies y sus hábitats, facilitando estudios sobre la distribución de especies y la dinámica de poblaciones, que son vitales para la investigación ecológica (Sandall et al., 2023).

Las arañas (Orden Araneae) son un grupo animal megadiverso dentro de los artrópodos, ya que actualmente se conocen unas 52 314 especies distribuidas en 4396 géneros y 134 familias (World Spider Catalog, 2024). Es sabido que las arañas habitan en una gran diversidad de ambientes, desde zonas tropicales hasta desérticas, e incluso en altitudes que alcanzan los 6700 metros sobre el nivel del mar (Foelix, 2011). Mayoritariamente, las arañas son carnívoras, depredadoras y con una dieta generalista, lo cual es fundamental para su rol como controladoras biológicas de insectos u otros invertebrados que actúan como plagas (Nyffeler et al., 2000). Unas de las características más notables de las arañas son la producción de seda y de veneno, lo que se reconoce que ha favorecido la colonización de nuevos y diversos nichos ecológicos. Además, son consideradas excelentes organismos modelos para estudios de comportamiento y mecanismos evolutivos de artrópodos terrestres (Agnarsson et al., 2013).

Los primeros estudios filogenéticos robustos sobre la clasificación de las arañas se publicaron en la década del 70 (Platnick & Gertsch, 1976), cuando se propuso la

creación de dos subórdenes: Mesothelae y Opisthothelae (Coddington, 2005; Garrison et al., 2015). Mesothelae está compuesto únicamente por la familia, Liphistiidae, de origen asiático y con características consideradas plesiomórficas, siendo el grupo hermano de las restantes arañas; mientras que Opisthothelae reúne a los infraórdenes Mygalomorphae y Araneomorphae (Coddington, 2005). Este último infraorden incluye el 90% de las especies actuales, entre las que se encuentran las arañas más conocidas (Foelix, 2011).

Por otra parte, el infraorden Mygalomorphae representa apenas el 7% de la diversidad de arañas en relación a las araneomorfas (Platnick, 2020). Se caracteriza por la presencia de dos pares de pulmones en libro y quelíceros paraxiales, es decir con posición y movimiento paralelo considerados caracteres plesiomórficos dentro del grupo Opisthothelae (Raven, 1985; Starret et al., 2013). Además, estos arácnidos se caracterizan por presentar una genitalia considerada simple en ambos sexos, pérdida de las hileras anteriores medias y reducción de las hileras anteriores laterales (Starret et al., 2013).

Respecto a su biología, presentan altos niveles de endemismo local, lo que generalmente se atribuye a su baja capacidad de dispersión (Bond et al., 2001; Bond & Stockman, 2008). A diferencia de las araneomorfas, la mayoría de sus especies no suelen utilizar la seda para capturar presas (Coddington, 2005). Además, exhiben un marcado dimorfismo sexual fenológico y comportamental: las hembras suelen ser longevas y sedentarias, mientras que los machos adultos, de vida más corta, buscan activamente pareja después de la muda de maduración. Dada su morfología uniforme y las características biológicas mencionadas, sus poblaciones suelen presentar una profunda estructuración genética, incluso entre poblaciones geográficamente cercanas (Opatova et al., 2014; Starret et al., 2023).

Tradicionalmente, la delimitación de especies en arañas se ha basado en la observación de caracteres morfológicos, tales como la genitalia de machos y hembras (Schiapelli & Gerschman, 1962). Sin embargo, muchos representantes de este grupo se caracterizan por una morfología mayormente homogénea y altamente conservada (Goloboff, 1995; Hedin & Bond, 2006), lo que pone en evidencia que estos caracteres suelen resultar insuficientes para distinguir entre especies cercanas.

Además, se encuentran conflictos relacionados con este proceso y los mecanismos involucrados debido tanto a diferencias en la aplicación de los conceptos de especie como en la elección de los métodos y modelos (de Queiroz, 2007;

Freudestein et al., 2017). Existen también diferentes puntos de vista en relación a la importancia y reconocimiento de especies crípticas, lo que plantea desafíos para el estudio de taxones que poseen una diferenciación genética pero no morfológica (Laevitt et al., 2015). Las especies crípticas no pueden diferenciarse sólo por la morfología, por lo que la incorporación de datos adicionales como moleculares y/o ecológicos es vital para una delimitación robusta de especies. Las migalomorfas son organismos que muestran una limitada dispersión y una endemicidad alta, en los que es característico observar una gran homogeneidad morfológica y una marcada estructuración genética poblacional (Derkarabetian et al., 2019). La homogeneidad morfológica por tanto puede ser el resultado de divergencia reciente (no ha pasado suficiente tiempo para que sea posible reconocer las diferencias morfológicas no atribuibles a la variabilidad intraespecífica) o de conservación de nicho (especies aisladas geográficamente presentan morfologías similares debido a la similitud de sus nichos ecológicos) (Newton et al., 2020). Por lo tanto, resolver estos conflictos es crucial para el avance de la taxonomía integral.

En este sentido, la taxonomía integrativa es esencial para abordar esta problemática, ya que estudia los límites de las especies desde perspectivas múltiples y complementarias. La integración del estudio de la morfología con otros enfoques, como la genética, la filogeografía, y la ecología, permite una delimitación más rigurosa y precisa de las especies (Dayrat, 2005). La morfología sigue siendo un componente valioso y necesario para entender la diversidad de la vida, pero no debe ser el único enfoque (Will & Rubinoff, 2004). Es así, que Wake (2003) postuló que la integración implica un enfoque interdisciplinario y debe convertirse en una práctica estándar para mejorar la taxonomía y abordar de manera efectiva los problemas asociados con la identificación y clasificación de las especies.

La delimitación de especies basada en ADN (código de barras de la vida) ha cobrado fuerza en las tarántulas (familia Theraphosidae) en los últimos años (Candia-Ramirez & Francke, 2020), y se ha utilizado para evaluar los patrones evolutivos de las poblaciones. Además, la inclusión de datos moleculares ha evidenciado que las revisiones basadas únicamente en datos morfológicos tienden a ser simplificadoras y subestiman la diversidad real (Ortiz & Francke, 2017).

Una adecuada delimitación de especies es crucial para definir las características del área de distribución de un taxón, lo que implica determinar su presencia en una región geográfica específica (Maciel-Mata et al., 2015). A su vez, la evaluación de los requerimientos de nicho ecológico de las especies brinda información relevante acerca

de posibles escenarios alternativos en relación a la adecuación de las áreas potenciales de acuerdo a las poblaciones existentes (Ortiz & Francke, 2017). La distribución de un organismo está influenciada por una serie de eventos históricos y ecológicos que están estrechamente relacionados con su historia natural (Holzmann et al., 2014). Para analizar estos factores, se emplea el modelado de nicho ecológico, una técnica que utiliza variables bióticas y abióticas para identificar áreas potencialmente adecuadas para la presencia de una especie, basándose en datos de las localidades donde está presente y en variables bioclimáticas (Phillips et al., 2006).

La familia Nemesiidae Simon, 1889 está representada por arañas de tamaño pequeño a mediano (4 a 40 mm de longitud corporal) con hábitos principalmente nocturnos (Goloboff, 1995). Usualmente viven en tubos de seda debajo de piedras o troncos, en cuevas abiertas a nivel del sustrato, o con puertas trampa (Montes de Oca et al., 2022).

Esta familia fue originalmente clasificada dentro de la tribu Nemesiae, perteneciente a la subfamilia Ctenizinae de la familia Aviculariidae. Posteriormente, Raven (1985) restableció y delimitó esta familia, considerándola un sinónimo mayor de Pycnothelidae, proponiendo las siguientes sinapomorfías morfológicas: uña superior de los tarsos con dos filas de dientes, uña del palpo de la hembra ancha y con dientes. Sin embargo, Goloboff (1995) reanalizó las relaciones filogenéticas de las especies de nemésidas sudamericanas (exceptuando las de Brasil) y concluyó que la familia es parafilética en relación con Theraphosoidina y Microstigmatidae. Además, sugirió que las sinapomorfías propuestas por Raven son en realidad variaciones de un mismo carácter (Goloboff, 1993; Goloboff 1995).

Estudios recientes de sistemática molecular, tales como el de Opatova et al. (2019) y Montes de Oca et al. (2022) realizaron modificaciones sistemáticas sustanciales de la familia Nemesiidae. El estudio de la fauna sudamericana proporcionó datos significativos que han justificado diversas decisiones taxonómicas en esta familia, entre ellas, la elevación de la subfamilia Pycnothelinae a estado de familia (Fig. 1), redistribuyendo miembros de Nemesiidae entre varias familias y reduciendo esta misma a sólo cinco géneros: *Mexentypesa*, *Calisoga*, *Amblyocarenum*, *Iberesia*, y *Nemesia*. A su vez, otros géneros sudamericanos fueron transferidos a la familia Pycnothelidae, que ahora incluye un grupo parafilético de géneros de América del Sur y Australia (Montes de Oca et al., 2022).

En la actualidad, la familia Pycnothelidae está compuesta por 15 géneros y 139

especies (World Spider Catalog, 2024). Su distribución geográfica abarca África y Sudamérica (Opatova, 2019).

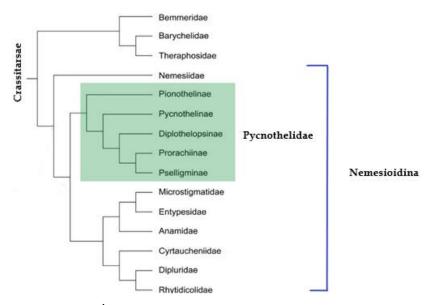


Figura 1. Árbol filogenético extraído de Montes de Oca et al. (2022) con las relaciones entre las familias del clado Crassitarsae y las subfamilias de Pycnothelidae

Los representantes de esta familia poseen hábitos de vida nocturnos construyendo cuevas abiertas o con proyecciones al exterior (Opatova, 2019). Se reconocen por las siguientes características morfológicas: *i*) presencia de una tumescencia interqueliceral en machos, desde pequeña a grande y de color amarillo pálido a suave, cubierta con pocas o muchas setas, *ii*) *cymbium* del palpo de los machos sin espinas dorsales, *iii*) patela de la pata III con una disposición de espinas 1–1–1 en cara prolateral, *iv*) tarsos de los machos flexibles (en una o más patas), *v*) órgano tarsal ubicado en la región central apical, y *vi*) ausencia de fascículo subungueal (Goloboff, 1995; Montes de Oca et al., 2022).

El género Neotropical más diverso de la familia Pycnothelidae es *Acanthogonatus* Karsch, 1880, que incluye 30 especies (World Spider Catalog, 2024). La especie tipo es *Acanthogonatus franckii* Karsch, 1880, originaria de Chile. Los representantes de este género presentan las siguientes características morfológicas distintivas: los machos poseen dos espinas pro-ventrales apicales cortas en la tibia del primer par de patas y dos (en algunos casos tres) setas sinuosas y atenuadas, muy largas, en la superficie dorsal de la tibia del palpo. Las hembras, por su parte, se caracterizan

por tener una sérrula bien desarrollada (Goloboff, 1995; Montes de Oca et al., 2022).

En Argentina, se han registrado en la bibliografía las siguientes especies: Acanthogonatus birabeni Goloboff, 1995, A. centralis Goloboff, 1995, A. confusus Goloboff, 1995, A. fuegianus Simon, 1902, A. messii Signorotto & Ferretti 2023, A. notatus Mello-Leitão, 1940, A. parana Goloboff, 1995 y A. patagonicus Simon, 1905 (World Spider Catalog, 2024). La primera especie descrita en Argentina para el género fue Acanthogonatus fuegianus (Simon, 1902), proveniente del sur del país en la provincia de Santa Cruz. Esta especie había sido descrita inicialmente bajo el género Tryssothele (Simon, 1902).

Las especies argentinas de *Acanthogonatus* viven en tubos de seda densos de formas irregulares, situados debajo de rocas o troncos, así como en cuevas abiertas que no cuentan con tapa trampa; en su lugar, utilizan acumulaciones de seda y materiales del entorno para sellarlas (Goloboff, 1995; Ferretti et al., 2011).

El género *Acanthogonatus* originalmente formaba parte de la familia Barychelidae, pero fue transferido a Nemesiidae por Raven (1985). Actualmente, se ubica en la familia Pycnothelidae (Opatova et al., 2019). Además, *Tryssothele* Simon, 1902 (Raven, 1985) y *Chubutia* Mello-Leitão, 1940 (Gerschman & Schiapelli, 1971) son considerados sinónimos más modernos (*junior synonyms*) de este género.

Goloboff (1995) estudió las relaciones filogenéticas de *Acanthogonatus*, utilizando representantes de Argentina, Chile, Perú y Uruguay. Como resultado de este trabajo, propuso cuatro grupos de especies: nahuelbuta, mulchen, francki y patagonicus. Sin embargo, tres especies argentinas no pudieron ser ubicadas en estos grupos: *A. centralis*, *A. parana y A. confusus*, todas descritas por Goloboff en 1995.

Acanthogonatus centralis es una especie común en los sistemas serranos del centro de la Argentina, incluyendo el sur de Buenos Aires, el oeste de Córdoba, San Luis y San Juan (Goloboff, 1995). Son arañas de tamaño mediano, con machos y hembras que miden aproximadamente 12 mm de longitud (Ferretti et al., 2011). Estas arañas construyen tubos de seda densos, sin túneles ramificados y con una única entrada abierta (Ferretti et al., 2011). Los machos son más activos en primavera y finales del otoño, mostrando dos picos de actividad bien definidos (Ferretti et al., 2012). Su estrategia de captura es pasiva, aguardando en la entrada del túnel de seda a que pasen las presas, comportamiento similar al de otras especies migalomorfas (Coyle, 1990) y su dieta es generalista, alimentándose de una variedad de presas (Pompozzi & Copperi, 2018).

Las hembras de *Acanthogonatus centralis* presentan similitudes con las de *A. parana*, pero se distinguen notablemente por el ensanchamiento del fondo de las espermatecas (Goloboff, 1995). En cuanto a los machos, su morfología es distintiva por la presencia de bulbos copuladores lisos, sin quillas, y una apófisis tibial bien desarrollada que lleva dos espinas cortas y robustas (Goloboff, 1995).

El uso de datos moleculares ha evidenciado que las revisiones basadas únicamente en morfología suelen simplificar y subestimar la diversidad real (Candia-Ramírez & Francke, 2020). Este enfoque permite identificar especies crípticas, un conjunto heterogéneo de organismos sin diferenciación morfológica evidente, resultado de diversos mecanismos evolutivos, como la divergencia reciente, la conservación del nicho a lo largo del tiempo y la convergencia morfológica. Estos procesos son tan importantes como aquellos que generan diversificación fenotípica (Fišer et al., 2018).

Para la delimitación de especies de arañas, el gen de la subunidad I de la citocromo c oxidasa (COI) es una herramienta fundamental, ampliamente utilizado como código de barras del ADN (Hebert et al., 2003). Este gen permite detectar especies crípticas, taxones redundantes y casos de parafilia intraespecífica o interespecífica (Hamilton et al., 2016). Además, los genes mitocondriales, como el COI, presentan alta variabilidad dentro de las poblaciones debido a sus altas tasas de mutación, pero están fuertemente conservados entre los grupos animales. Su fácil amplificación y bajo costo los convierten en herramientas valiosas para estudios de delimitación de especies (Galtier et al., 2009; Candia-Ramírez & Francke, 2020).

Calatayud-Mascarell et al. (2022) realizaron un estudio sobre los patrones filogeográficos de *Acanthogonatus centralis* en las sierras del arco peripampásico de Argentina, el cual se extiende desde el sur de Brasil, Uruguay y el centro y norte de Argentina. Este trabajo reveló una marcada estructuración entre las poblaciones del sistema serrano de Ventania (provincia de Buenos Aires) y las de las sierras pampeanas (provincia de Córdoba), con divergencias estimadas hace unos 3-5 Ma (Plioceno). Sin embargo, el estudio utilizó únicamente un fragmento del gen mitocondrial 16S, que no es la herramienta más adecuada para una delimitación robusta de especies.

En este contexto, este trabajo busca profundizar en los límites de la especie *Acanthogonatus centralis* mediante la incorporación de múltiples líneas de evidencia (morfológica, molecular y ecológica). Esto incluye el uso del gen COI, que aporta una resolución más precisa para elucidar relaciones intraespecíficas y explorar posibles linajes evolutivos independientes en los sistemas serranos del centro de la Argentina.

A partir de los resultados del presente estudio, proponemos la designación de un nuevo taxón correspondiente a los individuos presentes en las sierras de Córdoba, nominando como *Acanthogonatus* sp. nov. a los fines prácticos de esta tesis.

OBJETIVOS

Objetivo general: Evaluar si las poblaciones de *A. centralis* del centro de Argentina (Buenos Aires y Córdoba) constituyen linajes evolutivos independientes, mediante un enfoque de taxonomía integrativa.

Objetivos particulares:

- 1. Estudiar la morfología somática y genital de individuos adultos de distintas poblaciones.
- 2. Analizar las relaciones filogenéticas de las diferentes poblaciones de *A. centralis* en el área del estudio seleccionada.
 - 3. Realizar una delimitación de poblaciones y linajes de A. centralis.
 - 4. Modelar el nicho ecológico de los linajes que habitan el área de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material examinado y área de estudio: Se trabajó con material previamente depositado en la colección aracnológica del CERZOS-CONICET, Universidad Nacional del Sur, el cual fue utilizado tanto para estudios moleculares (conservado en alcohol absoluto) como morfológicos (conservado en alcohol 80%). El estudio se realizó a partir de poblaciones de *A. centralis* de dos regiones serranas del centro de Argentina: las Sierras de Ventania en la provincia de Buenos Aires y las Sierras Pampeanas en la provincia de Córdoba (Fig. 2).

Ejemplares utilizados para estudios moleculares: *A. centralis*. Argentina: Córdoba, Villa Berna, 1 ♂ (N15), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Villa Berna, 1 ♂ (N16), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Dean Funes, 1 ♂ (N13), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Dean Funes, 1 ♂ (N14), N. Ferretti col. en febrero 2017; Buenos Aires, Funke, 1 ♂

(N11), N. Ferretti col. en febrero 2017; Buenos Aires, Funke, 1 ♂ (N12), N. Ferretti col. en febrero 2017.

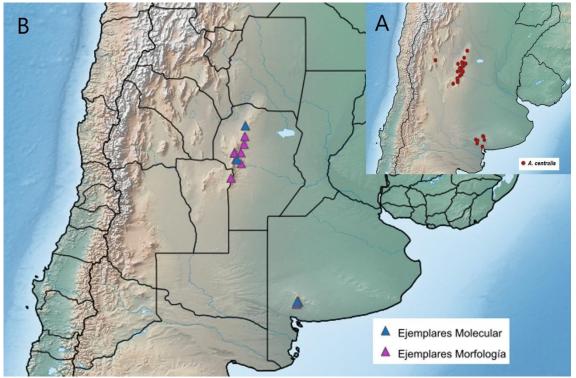


Figura 2. Distribución de *Acanthogonatus centralis*. A. Mapa con los puntos de las localidades conocidas de *A. centralis*. B. Mapa con las localidades donde se recolectó material para análisis morfológicos y moleculares.

Lista de abreviaturas: d: dorsal; HPL: hileras posteriores laterales; HPM: hileras posteriores medias; MACN: Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"; OLA: ojos laterales anteriores; OLP: ojos laterales posteriores; OMA: ojos medios anteriores; OMP: ojos medios posteriores; p: prolateral; r: retrolateral; v: ventral.

Caracteres morfológicos: Inicialmente, se consideraron los caracteres morfológicos propuestos por Goloboff (1995), con la incorporación de nuevos caracteres a partir del presente estudio. Todas las medidas se expresan en milímetros (a menos que se exprese específicamente otra unidad) y se obtuvieron utilizando un calibre digital Prec. Measuring©, con un margen de error de 0,01 mm. La longitud total de los especímenes incluyó tanto el cefalotórax como el abdomen, excluyendo las hileras y los quelíceros. Las medidas que no pudieron ser registradas con el calibre digital fueron obtenidas a partir de fotografías tomadas con una cámara digital MShot, acoplada a una lupa estereoscópica Leica S APO. Tanto en machos como en hembras, la nomenclatura de las espinas se basó en la propuesta por Petrunkevitch (1925), y las descripciones taxonómicas siguieron el formato de Goloboff (1995) e Indicatti et al. (2015). Las patas se describieron en sentido anterior-posterior, de proximal a distal. El bulbo copulador del macho fue

removido utilizando pinzas entomológicas y registrado en cuatro vistas multifocales (dorsal, prolateral, retrolateral y ventral) con diferentes niveles de enfoque, cada una a partir de un stack de 10 imágenes que fueron integradas con el programa Helicon Focus. La genitalia de las hembras se diseccionó con tijera entomológica y las partes blandas se removieron mediante el uso de enzimas Naclens© durante 24 horas para facilitar su observación y fotografiado.

Caracteres moleculares: Las secuencias se obtuvieron a partir de tejido de la pata III de un total de 6 individuos de ambas poblaciones, las extracciones se realizaron en el laboratorio del Dr. Miquel Arnedo de la Universidad de Barcelona utilizando el kit REDExtract-N-Amp Tissue. El ADN se amplificó mediante PCR siguiendo el protocolo presentado en Calatayud-Mascarell et al. (2022). Se utilizaron primers universales (LCO y HCO) para un fragmento del gen mitocondrial COI y se secuenciaron en Macrogen (Korea). La edición de secuencias se realizó usando el programa Geneious R11 y los alineamientos con el plugin MAFTT v.7308 de Geneious. Además, se descargaron secuencias de Genbank de taxones relacionados para usar como grupos externos (Tabla 1).

Tabla 1. Muestras utilizadas para análisis moleculares, código de colección, localidades y números de acceso a GenBank.

Especie	Código	Localidad	Numero de acceso Genbank		
Acanthogonatus sp.	N15	Villa Berna Cba.	-		
Acanthogonatus sp.	N16	Villa Berna Cba.	-		
Acanthogonatus sp.	N13	Dean Funes Cba.	-		
Acanthogonatus sp.	N14	Dean Funes Cba.	-		
A. centralis	N11	Funke B.A.	-		
A. centralis	N12	Funke B.A.	-		
Grammostola vachoni	N2	Tandil B.A.	-		
Plesiopelma absconditus	N4	El singüil C.	-		
A. campanae	-	-	KY017803.1		
Nemesia pannonica	-	-	KX039280.1		
Nemesia sp.	-	-	MT607825.1		

Análisis filogenéticos: La matriz de datos moleculares se analizó bajo Inferencia Bayesiana (BI) y Máxima Verosimilitud (ML). Se empleó el programa PartitionFinder v.2.1.1 (Lanfear et al., 2016) para determinar la partición óptima y el modelo evolutivo a partir de una configuración inicial por gen y posición de codón (genes codificantes). El análisis de BI se llevó a cabo en MrBayes v.3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) y el de ML se realizó utilizando IQ-TREE v.1.6.12 (Nguyen et al., 2015). A su vez, se aplicaron medidas de remuestreo para estimar el grado de soporte (Bootstrap para ML y probabilidad posterior para BI). Finalmente, los árboles resultantes se visualizaron y editaron con FigTree v.1.4.2 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

Delimitación de poblaciones: La delimitación sigue el concepto unificado de especies, que define a las especies como "linajes de metapoblaciones que evolucionan por separado" (de Queiroz, 2007). Se consideran diversos tipos de evidencia como criterios secundarios para reconocer linajes que evolucionan de forma independiente (de Queiroz, 2007). Para incorporar información de distintas fuentes en un enfoque integrador, se emplearon métodos moleculares adicionales al análisis morfológico, incluyendo uno basado en distancias Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) y otro basado en árboles filogenéticos Bayesian Poisson Tree Processes (bPTP).

El descubrimiento automático del intervalo de código de barras (ABGD) es un procedimiento autodirigido propuesto por Puillandre et al. (2012). El objetivo de este método es encontrar una brecha en la divergencia genética basándose en que la divergencia intraespecífica es menor que la divergencia interespecífica como resultado del aislamiento reproductivo en esta última (Candia-Ramirez & Francke, 2020). Primero, ABGD genera una partición previa de los datos en especies probables y luego, estas particiones primarias se dividen recursivamente hasta que no haya más particionamiento de los datos, recuperando solo una especie. Para aplicar este método, calculamos las distancias genéticas por pares en el conjunto de datos de *A. centralis*, en el programa MEGA 7.0.28 (Kumar et al., 2016). El método ABGD se implementó en la plataforma web: https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html.

Por otro lado, el bPTP es una versión actualizada del enfoque propuesto por Zhang et al. (2013). Este método modela la tasa de especiación directamente utilizando el número de sustituciones calculadas a partir de las longitudes de las ramas. Este enfoque intenta observar diferencias estadísticamente significativas entre las relaciones construidas dentro y entre especies, asumiendo que el número de sustituciones entre especies es significativamente mayor que el número de sustituciones dentro de las especies (Candia-Ramirez & Francke, 2020). El bPTP se implementó en la plataforma web: https://species.h-its.org/ptp/eliminandogrupo externos, lo que,

según Zhang et al. (2013), mejora sustancialmente los resultados de la delimitación. Las especies candidatas se consideraron con buen soporte si se recuperaban consistentemente entre todos los resultados obtenidos, en caso de discrepancia se minimizó la sobreestimación.

Modelado de nicho ecológico: Se evaluó la superposición de los modelos de nicho ecológico de los linajes cercanos identificados en los puntos anteriores. Para esto, se realizó un modelado utilizando el programa MAXENT en su versión 3.3.3 (Phillips et al., 2009), uno de los programas más confiables en casos donde las especies presentan un número reducido de localidades. Este programa emplea el principio de máxima entropía, que postula que la solución menos sesgada en la estimación de una distribución de probabilidad desconocida es aquella que maximiza su entropía, bajo ciertas limitaciones (como la relación entre las localidades de presencia y las variables ambientales). Estas técnicas que emplean algoritmos específicos han ganado popularidad, debido a su rápida y sencilla aplicación, obteniendo resultados consistentes y sólidos (Pliscoff & Fuentes-Castillo, 2011). Luego, se realizaron nuevas réplicas del modelo para cada especie, en base a las variables que mayormente contribuyeron al modelo. Los registros de ocurrencia se basaron en especímenes de la colección aracnológica del CERZOS-CONICET, UNS y de publicaciones anteriores (Goloboff, 1995; Ferretti et al., 2014)

Se seleccionaron los modelos con los valores más altos del "Área Bajo la Curva" (AUC) de la "Curva de Característica Operativa del Receptor" (ROC) (Pearson et al., 2007). Los valores de AUC oscilan entre 0 y 1, donde 0,5 indica que el modelo no es mejor que el azar y un valor de 1 indica que el modelo puede discriminar perfectamente entre las presencias y ausencias de registros (Graham & Hijmans, 2006). Por lo tanto, de acuerdo con Luoto et al. (2005), los modelos pueden clasificarse como "buenos" si tienen un AUC superior a 0,8 y de "alta exactitud" si superan a 0,9.

El conjunto de variables climáticas actuales (1950-1999) y pasadas (Plioceno) se compilaron de Worldclim (worldclim.org) y ecoClimate (Lima-Ribeiro et al. 2015). En total, se utilizaron 19 variables bioclimáticas (Tabla 2) para construir los modelos y las capas se descargaron con una resolución desde los 0,5° y 2°. Se calcularon posibles correlaciones fuertes entre las variables bajo las diferentes condiciones climáticas utilizando ENMTools ver. 1.4.4 (Warren 2010), eliminando aquellas que presentaron coeficientes de correlación mayores a 0,8 según Jezkova et al. (2011). En base a las correlaciones obtenidas, se eliminaron 13 variables y se utilizaron las siguientes seis variables efectivas no correlacionadas para generar los modelos de nicho ecológico: BIO2, BIO 3, BIO4, BIO15, BIO18 y BIO19.

Tabla 2. Variables bioclimáticas disponibles para los modelos y su descripción.

Variable	Descripción
BIO1	Temperatura media anual
BIO2	Rango de temperaturas diurnas
BIO3	Isotermalidad (BIO2/BIO7)*100
BIO4	Estacionalidad de la temperatura (desvío estándar * 100)
BIO5	Temperatura máxima del mes más cálido
BIO6	Temperatura mínima del mes más frío
BIO7	Rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)
BIO8	Temperatura media del trimestre más lluvioso
BIO9	Temperatura media del trimestre más seco
BIO10	Temperatura media del trimestre más cálido
BIO11	Temperatura media del trimestre más frío
BIO12	Precipitación anual
BIO13	Precipitación del mes más lluvioso
BIO14	Precipitación del mes más seco
BIO15	Estacionalidad en la precipitación (coeficiente de variación)
BIO16	Precipitación del trimestre más lluvioso
BIO17	Precipitación del trimestre más seco
BIO18	Precipitación del trimestre más cálido
BIO19	Precipitación del trimestre más frío

RESULTADOS

Morfología comparada: En general, la identificación de especies en migalomorfas se basa en la morfología de los órganos copuladores de machos y espermatecas de hembras adultas (Fig. 3). En este estudio, se logró distinguir que en comparación con los provenientes de las poblaciones de las sierras de Ventania (Fig. 4), los machos de las poblaciones de las sierras de Córdoba presentan un órgano copulador con un émbolo más delgado, largo y recto, y con un mayor número de dientes apicales (Fig. 5). En cuanto a las hembras, en las poblaciones de Ventana, el receptáculo es en su mayoría de forma oval y romo en su parte apical, con una proyección interna más corta (Fig. 6), mientras que, en las poblaciones de Córdoba, se observó un ducto de la espermateca más elongado llevando un receptáculo subesférico, y con la proyección interna superando el largo del propio receptáculo (Fig. 7). En relación con otras estructuras comúnmente utilizadas en la morfología comparada, como las apófisis tibiales o las espinas en los palpos de los machos, o espinas de las patas de las hembras, no se encontraron diferencias significativas entre individuos de ambas poblaciones.

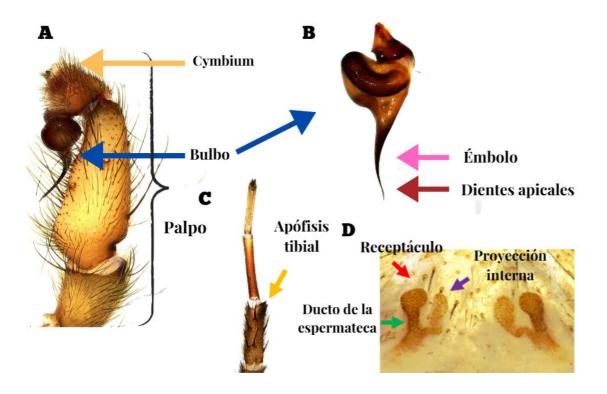


Figura 3. Genitalia de *A. centralis*: Macho: A palpo; B bulbo; C apófisis tibial; Hembra: D espermatecas. Escalas = 1 mm.

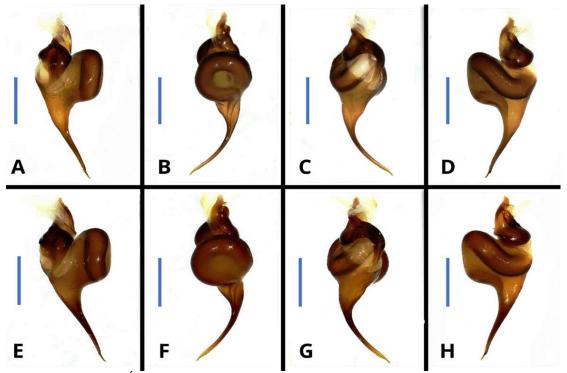


Figura 4. Órganos copuladores de machos de *A. centralis* (Sistema de Ventania, Bs. As.): A-D localidad Funke; E-H bulbo, localidad Tornquist. A, E vista ventral; B, F vista retrolateral; C, G vista prolateral; D, H vista dorsal. Escalas = 1 mm.

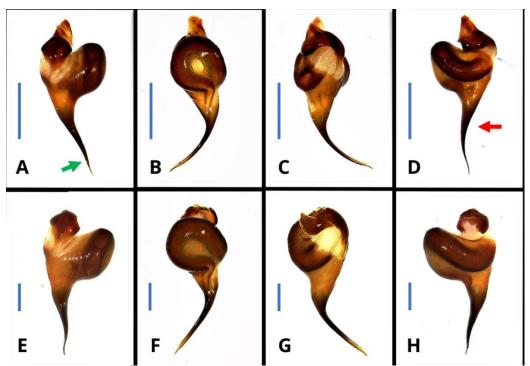


Figura 5. Órganos copuladores de machos de *Acanthogonatus sp. nov.* (Córdoba): A-D bulbo, localidad Alpa Corral; E-H bulbo, localidad El Cóndor. A, E vista ventral; B, F vista retrolateral; C, G vista prolateral; D, H vista dorsal. Escalas = 1 mm. Flechas: verde: dientes apicales del palpo; roja: émbolo del órgano copulador.

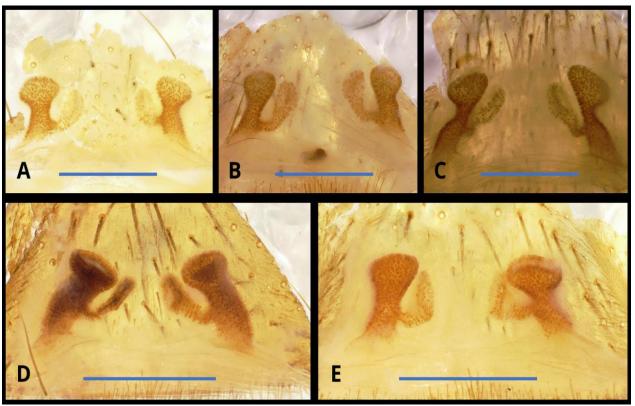


Figura 6. Espermatecas de hembras de *A. centralis* (Sistema de Ventania, Bs. As.). A-E espermatecas, vista dorsal. Escala = 1 mm. Localidades: A-C Tornquist; D-E Funke.

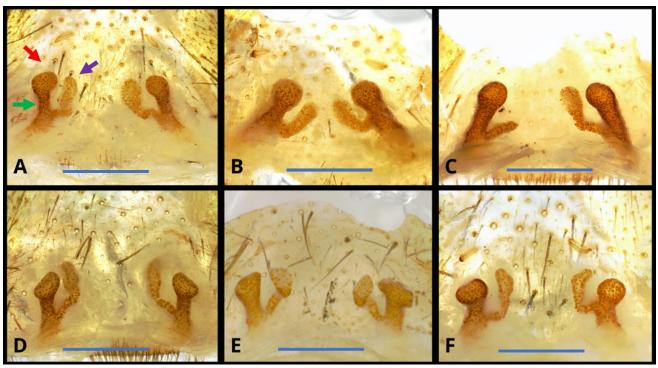


Figura 7. Espermatecas de hembras de *Acanthogonatus* sp. nov. (sierras de Córdoba). A-F espermatecas, vista dorsal. Escalas = 1 mm. Localidades: A Ascochinga; B Camino cuadrado; C Condor; D La cumbrecita; E Observatorio; F Santa Rosa de Calamuchita. Flechas: verde, ducto de espermateca; roja, receptáculo; violeta, proyección interna del receptáculo.

Taxonomía

Orden Araneae Clerck, 1757

Familia Pycnothelidae Chamberlin, 1917

Género Acanthogonatus Karsch, 1880

Tryssothele Simon, 1902. Sinónimo junior por Raven (1985).

Chubutia Mello-Leitão, 1940. Sinónimo junior por Schiapelli y Gerschman (1985).

Especie tipo: Acanthogonatus francki Karsch (1880), por designación original.

Especies incluidas en el género

Acanthogonatus alegre Goloboff, 1995; A. birabeni Goloboff, 1995; A. brunneus Nicolet, 1849; A. campanae Legendre & Calderón, 1984; A. centralis Goloboff, 1995; A. chilechico Goloboff, 1995; A. confusus Goloboff, 1995; A. ericae Indicatti, Lucas, Ott & Brescovit, 2008; A. francki Karsch, 1880; A. fuegianus Simón, 1902; A. hualpen Goloboff, 1995; A. huaquen Goloboff, 1995; A. incursus Chamberlin, 1916; A. juncal Goloboff, 1995; A. messii Signorotto & Ferretti, 2023; A. minimus Indicatti, Folly-Ramos, Vargas, Lucas & Brescovit, 2015; A. mulchen Goloboff, 1995; A. nahuelbuta Goloboff, 1995; A. notatus Mello-Leitão, 1940; A. parana Goloboff, 1995; A. patagallina Goloboff, 1995; A. patagonicus Simón, 1905; A. peniasco Goloboff, 1995; A. pissiii Simón, 1889; A. quilocura Goloboff, 1995; A. recinto Goloboff, 1995; A. subcalpeianus Nicolet, 1849; A. tacuariensis Pérez-Miles & Capocasale, 1982; A. tolhuaca Goloboff, 1995; A. vilches Goloboff, 1995.

Acanthogonatus centralis Goloboff, 1995

(Figs. 4 y 6)

Material tipo: Holotipo macho y hembra paratipo de la Sierra de la Ventana, entre Pringles y Saavedra, Buenos Aires, Argentina, 26-29 de agosto de 1987, P. Goloboff col., depositados en MACN, no examinados.

Descripción: ver Goloboff (1995).

Distribución: Previamente reportada para los sistemas serranos del centro de la Argentina (suroeste de Buenos Aires, oeste de Córdoba, San Luis y San Juan) (Goloboff, 1995). Actualmente, restringida a las sierras del sudoeste bonaerense.

25

Acanthogonatus sp. nov.

Material tipo: Holotipo macho. Argentina: Córdoba, Alpa Corral, N. Ferretti col. en febrero 2017 (C7); hembra paratipo. Argentina: Córdoba, Ascochinga, N. Ferretti col. en febrero 2017 (H3).

Material adicional examinado: Argentina: Córdoba, Santa Rosa de Calamuchita, 1 ♀ (C2), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Camino del Cuadrado, 1 ♀ (H2), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Cóndor, 1 ♀ (H5), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, La Cumbrecita, 1 ♀ (H6), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Observatorio, 1 ♀ (A8), N. Ferretti col. en febrero 2017; Córdoba, Cóndor, 1 ♂ (M0427), N. Ferretti y M.S. Copperi col. en octubre 2013; Córdoba, Cóndor, 1 ♂ (C9), N. Ferretti col. en febrero 2017.

Descripción: Macho holotipo (C7):

Prosoma: largo: 5,17, ancho: 3,91. **Abdomen:** largo: 5,02, ancho: 1,73. **Clípeo:** ancho: 0,1. **Fovea:** ancho: 0,62. **Grupo ocular:** largo: 0,64, ancho: 0,85 (Fig.8 H). **Tamaños de ojos y distancias interoculares:** OMA: 0,19, OLA: 0,28, OMP: 0,17, OLP: 0,17, OMA-OMA: 0,14, OMA-OLA: 0,06, OMP-OMP: 0,34, OMP-OLP: 0,05, OLA-OLP: 0,10, OMA-OMP: 0,07.

Sigilas: tres pares marginales de forma oval: Par 1: diámetro: 0,05; distancia al borde del esternón: 0,05; Par 2: diámetro: 0,05; distancia al borde del esternón: 0,02; Par 3: diámetro: 0,10; distancia al borde del esternón: 0,04. Esternón: largo: 2,89, ancho: 1,93. Labio: largo: 0,78, ancho: 0,79; sin cúspulas. Maxila: largo: 1,49, ancho: 0,83; 18 cúspulas a la izquierda y 23 a la derecha. Quelícero: con 8 dentículos en el margen prolateral. Tumescencia queliceral con 7 setas largas y delgadas. Rastrillo: débil formado por setas anchas en la base que se afinan hacia apical.

Escópula: Pata I Tarso: completa y entera; Metatarso: 1/2; Pata II Tarso: completa y entera; Pata IV Tarso: completa y entera. **Tarsos flexibles:** sí. **Dientes de las uñas de los tarsos:** doble fila (9-10). **Espinulación: Palpo:** fémur= r 1-0-0; patela= 0; tibia= r 1-1-0. **Pata II:** fémur= r 1-0-0; d 2-0-0; patela= r 1-0-0; tibia= r 3-1-1; v 1-2-2; metatarso= v 0-1-0. **Pata II:** fémur= 0; patela= 0; tibia= r 2-4-3; v 0-1-0; metatarso= r 2-0-0; v 1-0-0. **Pata IV:** fémur= d1-0-1; patela= r 0-1-1; p 0-1-0; tibia= r 0-2-0; p 2-2-0; v 2-1-2; d 1-0-1; metatarso= r 2-0-1; p 2-2-1; v 3-3-2; d 2-3-2.

Órgano copulador: bulbo piriforme, con tegulum globoso y un émbolo largo, muy delgado que se observa recto en vista dorsal (Fig. 5 A-H y 8 A-D). Además, presenta de 8-10 dientes sub-apicales (Fig. 8 B).

Hileras: longitud de HPM: 0,41; longitud de HPL: segmento basal: 0,8, medio: 0,43, apical: 0,7. Longitud de patas y pedipalpos: se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Medidas de las patas y segmentos del palpo del macho holotipo de *Acanthogonatus*. sp. nov. Nota: el ejemplar no poseía pata III. Las unidades se expresan en mm.

	I	II	III	IV	Palp	
Fémur	4,05	3,02	-	4,49	2,95	
Patela	2,25	1,6	-	1,75	1,18	
Tibia	2,88	2,36	-	2,91	2,30	
Metatarso	3,02	2,48	-	4,35	-	
Tarso	2,15	2,15	-	2,20	1,10	
Total	14,35	11,61	-	15,7	7,53	

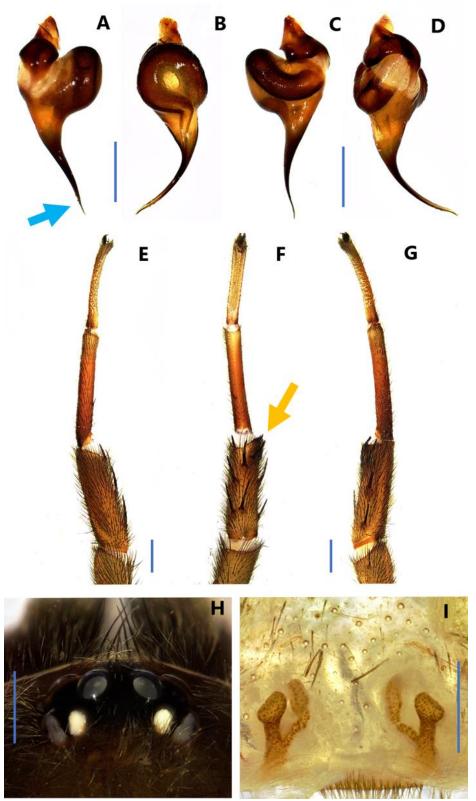


Figura 8. Características morfológicas de *Acanthogonatus* sp. nov. (Córdoba). A-H Macho holotipo: A-D: bulbo, localidad Alpa Corral (A vista ventral; B vista retrolateral; C vista dorsal; D vista prolateral); E-G: pata I con apófisis tibial (E vista prolateral, F vista ventral, G vista retrolateral); H: grupo ocular. I: Hembra paratipo: espermatecas vista dorsal. Flechas: celeste, dientes apicales del bulbo; amarilla, apófisis tibial de pata I. Escalas = 1 mm.

Hembra paratipo (H3):

Prosoma: largo: 4,9; ancho: 3,6. Abdomen: largo: 7,8; ancho: 4,9. Clípeo: ancho: 0,1. Fovea: ancho: 0,4. Grupo ocular: largo: 1,3; ancho: 1,8. Tamaños de ojos y distancias interoculares: OMA: 0,4, OLA: 0,5, OMP: 0,3, OLP: 0,4, OMA-OMA: 0,3, OMA-OLA: 0,2, OMP-OMP: 0,1, OMP-OLP: 0,8, OLA-OLP: 0,1, OMA-OMP: 0,1.

Sigilas: tres pares marginales de forma oval. Par 1: diámetro: 0,1; distancia al borde del esternón: 24,7 μm. Par 2: diámetro: 0,2; distancia al borde del esternón: 76,6 μm. Par 3: diámetro: 0,2; distancia al borde del esternón: 137,5 μm. Esternón: largo: 3,9; ancho: 4,0. Labio: largo: 0,53; ancho: 0,36; sin cúspulas. Maxila: largo: 1,9; ancho:1,14; 22 cúspulas a la izquierda y 24 a la derecha. Quelícero: con 7 dentículos en el margen prolateral. No posee tumescencia queliceral. Rastrillo: débil, formado por setas anchas en la base que se afinan hacia apical.

Escópula: Pata I Tarso: completo y entero; Metatarso: completo y entero; Pata III Tarso: completo y entero; Pata IV Tarso: completo y entero. Tarsos flexibles: no. Dientes de las uñas de los tarsos: doble hilera (7). Espinulación: Palpo: fémur= 0; patela= 0; tibia= r 1-0-0; v 2-0-0. Pata II: fémur= d 2-0-0; patela= 0; tibia= r 2-0-0; metatarso= v 0-0-1. Pata III: fémur= d 2-0-1; patela= r 0-1-0; p 1-1-1; d 0-1-0; tibia= r 1-1-0; p 2-1-2; v 2-1-1; d 0-2-1; metatarso= r 2-2-2; p 2-4-3; v 2-2-2; d 2-4-3. Pata IV: fémur= d 1-0-2; patela= r 0-1-0; p 0-2-0; tibia= r 2-2-1; p 2-1-2; v 3-2-2; d 2-1-0; metatarso= r 2-2-4; p 3-4-3; v 3-2-3; d 2-2-4.

Órgano copulador: Espermatecas con receptáculo elongado, de forma subesférica y con proyección interna más larga que el mismo receptáculo (Fig.7 A-F).

Hileras: HPM largo: 0,9; HPL largo: segmento basal: 1,5; medio: 0,8; apical: 0,9.

Longitud de patas y pedipalpos: se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Medidas de las patas y segmentos del palpo de la hembra paratipo de *Acanthogonatus* sp. nov. Nota: el ejemplar no poseía pata II.

	I	II	III	IV	Palpo	
Fémur	6,2	-	5,3	7,0	4,5	
Patela	2,9	-	2,6	3,5	2,4	
Tibia	3,7	-	3,0	4,7	2,4	
Metatarso	3,1	-	4,1	6,3	-	
Tarso	2,2	-	2,6	2,6	2,5	
Total	18,1	-	17,6	24,1	11,8	

Distribución: Restringida a las sierras pampeanas de Argentina en el centro-norte de la provincia de Córdoba.

Análisis moleculares

A partir de la elección de modelo evolutivo y partición por PartitionFinder, se obtuvo el modelo TIM+F para las tres diferentes posiciones de codón. Los árboles filogenéticos se enraizaron con las secuencias de representantes de la familia Theraphosidae. Las topologías obtenidas con BI y ML resultaron similares, pero con diferente grado de soporte (Fig. 9).

Se recuperaron a representantes de la familia Nemesiidae (*Nemesia* sp. y *Nemesia* pannonica) como grupo hermano de Pycnothelidae, clado que incluyó a todas las secuencias de *Acanthogonatus*. Dentro de este grupo, la especie chilena *Acanthogonaus campanae* resultó hermana de un clado conformado por todos los representantes de *Acanthogonatus centralis* de Córdoba y Buenos Aires. A su vez, es posible evidenciar dos linajes independientes en *A. centralis*, uno correspondiente las sierras de Ventana (Funke) y otro donde se incluyeron dos poblaciones de Córdoba (Dean Funes y Villa Berna).

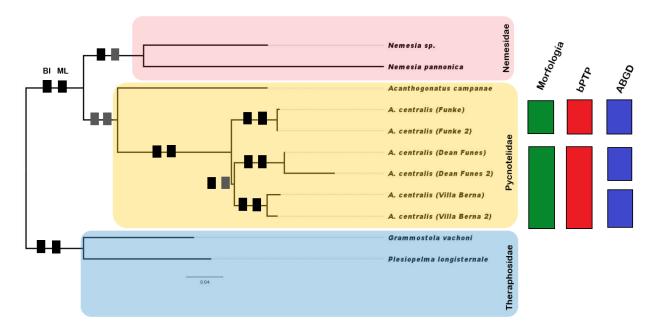


Figura 9. Árbol filogenético unificado obtenido mediante los métodos de inferencia bayesiana (BI) y máxima verosimilitud (ML). El soporte de cada nodo se indica con recuadros negros (> 70) y grises (< 70) para ambos modelos. Además, se señalan los linajes identificados a través de los modelos de delimitación de especies (Morfología, bPTP, ABGD) con recuadros de colores.

Delimitación de especies

Se obtuvieron dos delimitaciones distintas según el modelo utilizado. En el método bPTP, la especie se separó en dos linajes: uno correspondiente a la población de las sierras de Ventana y otro correspondiente a los representantes de las sierras del centro-norte de Córdoba, sin diferenciación entre estas poblaciones (Fig. 9). Por otra parte, el método ABGD separó la especie en tres linajes, uno correspondiente en las sierras de Ventana en Buenos Aires, y los otros dos correspondientes a las sierras del centro-norte de Córdoba, diferenciando entre un linaje en el centro de la provincia (Villa Berna) y otro en las poblaciones del norte (Dean Funes) (Fig. 9).

Modelado de nicho ecológico

A partir de las condiciones climáticas actuales para los diferentes linajes delimitados, el programa Maxent produjo modelos de alta exactitud para las especies estudiadas, con valor de AUC = 0,937 para *A. centralis* de las sierras de Ventana en Buenos Aires, y un valor de AUC = 0,980 para *Acanthogonatus* sp. nov. de las sierras del centro-norte en Córdoba.

Para ambos modelos predictivos, la variable estacionalidad de la temperatura (BIO4) resultó una de las de mayor contribución (Tabla 5). Sin embargo, las variables restantes mostraron

diferentes contribuciones a los modelos (Tabla 5). En el modelo predictivo de *A. centralis* de sierras de Ventana, junto con BIO4, la isotermalidad (BIO3) contribuyó sustancialmente aportando estas dos variables al 91,3% del modelo. Por otro lado, en el modelo predictivo para los representantes de las sierras de Córdoba, las variables de mayor contribución junto con BIO4, resultaron la precipitación del trimestre más frío (BIO19) y la estacionalidad de la precipitación (BIO15), explicando un 83,3% del modelo (Tabla 5).

El modelo predictivo actual para *A. centralis* del centro-sur abarcó principalmente el oeste de la provincia de Buenos Aires, extendiéndose hacia el este de La Pampa y alcanzando el sur de Córdoba (Fig. 10 A-B). Por otro lado, el modelo para las poblaciones del centro-norte arrojó áreas adecuadas de distribución hacia el noreste de Córdoba, noroeste de San Luis, centro de Santiago del Estero y oeste de Chaco, patrón de distribución principalmente asociado al Chaco seco (Fig. 10 C-D).

Tabla 5. Porcentaje de contribución de las variables bioclimáticas más importantes para los modelos de distribución de *A. centralis* (centro-sur) y *Acanthogonatus* sp. nov. (centro-norte). Los valores expresados corresponden a porcentajes. * representa las variables de mayor contribución.

	Variables Climáticas					
Modelo	BIO2	BIO3	BIO4	BIO15	BIO18	BIO19
Centro-Sur (Bs. As.)	-	36,8*	54,5*	0,8	4,5	3,4
Centro-Norte (Córdoba)	1.8	-	29,4*	26,7*	14,7	27,3*

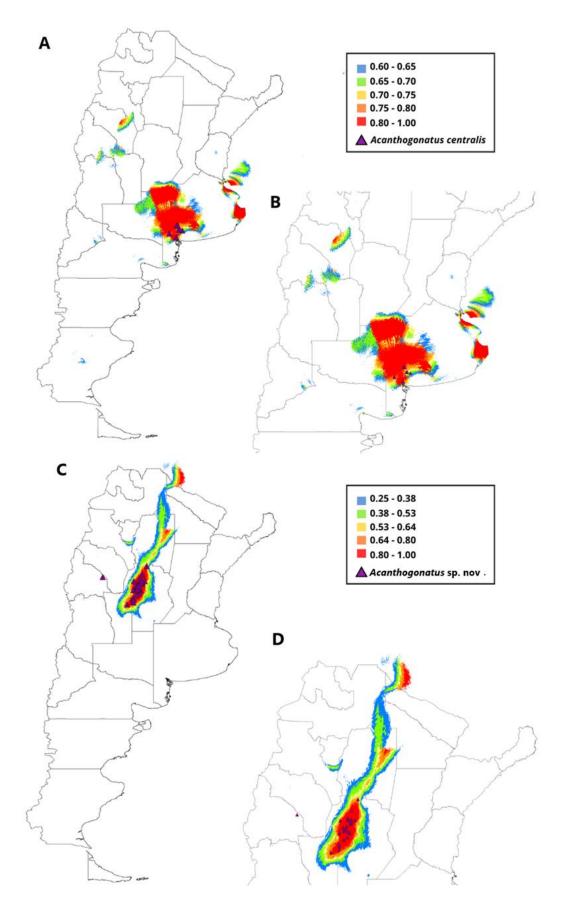


Figura 10. Modelo de nicho ecológico bajo un escenario climático actual para *A. centralis* y *Acanthogonatus* sp. nov. (A-B) *A. centralis*. (C-D) *Acanthogonatus* sp. nov.

El modelo predictivo para todas las poblaciones de *Acanthogonatus centralis* correspondiente al Plioceno presentó un valor de AUC = 0,988, con la variable BIO4 (Estacionalidad de la temperatura) como la de mayor contribución, representando el 78,3%. El modelo específico para las poblaciones de *A. centralis* en las sierras de Ventana, Buenos Aires, obtuvo un AUC de 0,938, donde nuevamente la variable BIO4 fue la más relevante, con un 96,3% de contribución. Por último, el modelo para *Acanthogonatus* sp. nov. de las sierras del centronorte de Córdoba obtuvo un AUC = 0,989, con BIO4 contribuyendo en un 67,1% y BIO19 (Precipitación del trimestre más frío) en un 19%.

Como resultado del modelo general para todos los registros de la especie, se evidenció que las áreas más adecuadas para el establecimiento correspondieron al sur de Buenos Aires y en el centro-norte de la provincia de Córdoba con un desplazamiento del área hacia el oeste en las provincias de La Rioja, San Juan, San Luis (Fig. 11). Nótese que no hay solapamiento de las áreas de alta probabilidad de ocurrencia entre las poblaciones del norte y del sur.

Cuando se realizaron los modelos predictivos para cada uno de los linajes (Córdoba y Ventana) por separado, las áreas más adecuadas correspondientes a las poblaciones de las sierras de Córdoba se hallaban desplazadas hacia el norte en comparación con su distribución actual, abarcando principalmente las provincias de Córdoba, con una extensión parcial hacia San Luis, Santiago del Estero y La Rioja (Fig. 11 B). Por otra parte, el modelo predictivo para la población de Ventana revela que la mayor parte del área probable de distribución se encontraba en el centrosur de la provincia de Buenos Aires, con extensión hacia el noroeste de La Pampa y una franja menor en el norte de Río Negro (Fig.11 C).

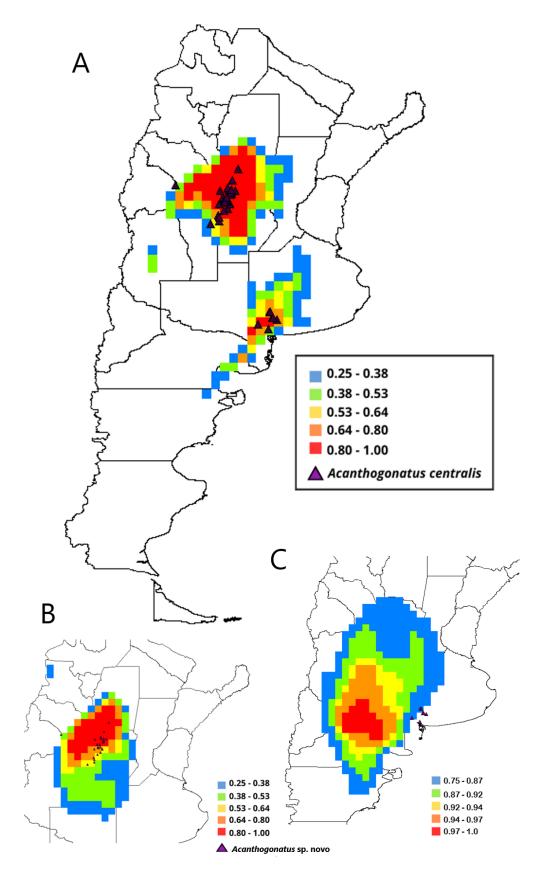


Figura 11. Modelado de nicho de *A. centralis* con variables climáticas del Plioceno. A: modelado general para las dos poblaciones; B: población del centro-norte; C: población del centro-sur.

DISCUSIÓN

La delimitación de especies en arañas migalomorfas es tradicionalmente una tarea complicada debido a la baja variabilidad morfológica y el alto nivel de conservación morfológica que presentan especies cercanas (Goloboff, 1995; Hedin & Bond, 2006). Esto, junto con mecanismos limitados de dispersión que conducen a una alta endemicidad (Derkarabetian et al., 2019), dificulta la identificación precisa basada solo en morfología, ya que, como aclaran Ortiz & Francke (2017), estos estudios tienden a ser simplificadores y subestiman la diversidad real debido a casos de convergencia morfológica en adaptación a la especificidad del hábitat que ocupan. Este es el caso de A. centralis, una araña migalomorfa común en las sierras centrales de Argentina, limitada a los sistemas montañosos, pudiendo sus poblaciones ser consideradas como endémicas de cada región sin posibilidad de flujo génico entre ellas. Considerando también que esta especie presenta en "algunos sitios" patrones de dispersión agregados, como ha sido estudiado por Pompozzi et al. (2018), entonces probablemente la especie comprenda un complejo de varias especies crípticas, por el momento al momento indistinguibles morfológicamente. Si bien los límites poblacionales no eran claros ni suficientes si solo se consideraban los caracteres morfológicos propuestos por Goloboff (1995); como resultado de este trabajo, el estudio detallado y comparativo de la morfología somática y genital, permitió dilucidar un patrón común con variación entre las poblaciones.

Hoy en día, prevalece una taxonomía integrativa, es decir, el estudio de la diversificación de las especies de manera multidisciplinaria, ayudando a resolver estas problemáticas y permitiendo una delimitación más precisa de las especies (Dayrat, 2005). En este estudio, se realizó esta integración incorporando tanto análisis morfológicos como moleculares y modelado de nicho ecológico para complementar lo anterior. En este sentido, el análisis morfológico comparativo evidenció diferencias en los caracteres genitálicos de machos y hembras, lo que respalda la delimitación de las poblaciones de *A. centralis*. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en características tradicionalmente utilizadas para distinguir entre especies de arañas migalomorfas, como los caracteres del palpo y apófisis tibiales, o el color y las espinas de las patas (Cooper et al., 2011; Hendrixson et al., 2014; Harvey et al., 2015; Laevitt et al., 2015; Candia-Ramírez & Francke, 2020). Algunos de estos estudios experimentan situaciones similares con los géneros *Bertmainius* (Migidae) y *Calisoga* (Nemesiidae), en los que las morfologías de machos y hembras se muestran muy homogéneas, y al incorporar evidencia molecular detectan estructuración genética profunda de sus poblaciones como consecuencia de la existencia de numerosas especies crípticas (Harvey et al., 2015; Laevitt et al., 2015).

En cuanto a la delimitación de especies, el método bPTP respalda la hipótesis previa de la existencia de dos linajes distintos entre las poblaciones de Ventania y Córdoba. Estos resultados son congruentes con nuestras demás evidencias, lo que refuerza la robustez de esta conclusión. Además, apoyamos el uso del método bPTP, ya que es ampliamente empleado en estudios aracnológicos, lo que lo convierte en una herramienta confiable y reconocida para este tipo de análisis. Por otro lado, el método ABGD identifica tres linajes: uno correspondiente al sistema de Ventania en Buenos Aires y dos en las sierras del centro-norte de Córdoba, uno en el centro (Villa Berna) y otro en el norte (Dean Funes). Este último método, que no utiliza un umbral fijo para la delimitación de especies, ha demostrado producir estimaciones excesivas del número de especies en estudios previos de migalomorfas (Hamilton et al., 2014). Al igual que en el estudio de Leavitt et al. (2015) sobre nemésidos de California, esta sobreestimación podría ser resultado de los patrones genéticos estructurados que surgen de la naturaleza sedentaria de las poblaciones de *A. centralis*. En estas poblaciones, las hembras habitan cuevas durante toda su vida y, por lo general, los juveniles no suelen dispersarse mucho, mientras que los machos se dispersan de manera limitada y solo después de alcanzar la madurez reproductiva, buscando hembras para reproducirse (Ferretti et al., 2011; 2012).

En un estudio filogeográfico previo, se observó una notable estructuración entre las poblaciones de *A. centralis* de las sierras de Ventania (Buenos Aires) y las Sierras Pampeanas (Córdoba), basada en el marcador molecular del gen mitocondrial 16S (Calatayud-Mascarell et al., 2022). A partir de esta hipótesis, y con la incorporación del gen mitocondrial COI en una filogenia molecular, pudimos corroborar la hipótesis de que existen al menos dos linajes evolutivos diferentes dentro de la especie *A. centralis*.

Además, considerando que la distribución de un organismo está influenciada por una serie de eventos históricos y ecológicos estrechamente relacionados con su historia natural (Holzmann et al., 2014), en este trabajo proponemos la delimitación de dos áreas disyuntas y sin superposición, una para cada uno de los linajes de *A. centralis*. La incorporación de modelado de nicho en la delimitación de especies es importante en grupos con sistemáticas complejas, como son las arañas migalomorfas, y esto ha sido puesto a prueba con éxito en estudios de especies de tarántulas (Ortiz & Francke, 2017). Desde un enfoque ecológico, este resultado sugiere que las condiciones climáticas están relacionadas con la separación entre los dos linajes. Según el modelado de nicho, estas condiciones no son continuas, sino que están fragmentadas entre los dos sistemas serranos. Las áreas intermedias no son adecuadas para la supervivencia de la especie, lo que evitaría el flujo génico entre las poblaciones.

Si bien ambas predicciones coinciden en que la variable climática de mayor influencia para cada linaje es la estacionalidad de la temperatura, la población de las sierras de Ventana mostró una mayor correlación con variables relacionadas con la temperatura. Por otro lado, las poblaciones de las Sierras de Córdoba parecen estar influenciadas en igual proporción por

variables asociadas a la precipitación, como la precipitación del trimestre más frío y la estacionalidad de la precipitación.

Un estudio previo postuló divergencias entre estos dos linajes estimadas en aproximadamente 3 a 5 millones de años (Ma) durante el Plioceno (Calatayud-Mascarell et al., 2022). Nuestros resultados del modelado de nicho en condiciones climáticas del Plioceno permitieron corroborar que ya en ese período las condiciones climáticas no conformaban un continuo en la distribución potencial sino más bien dos áreas adecuadas separadas para ambos linajes. Estos datos proveen más evidencia y soporte a la idea de la influencia de las condiciones ambientales en la divergencia de estos clados.

En base a los datos obtenidos en este estudio a través de un programa de investigación en taxonomía integrativa, proponemos la designación de un nuevo taxón para los individuos representantes de las poblaciones de las sierras de Córdoba, denominándolo *Acanthogonatus* sp. nov. para los fines prácticos de esta tesis. Este estudio representa un avance significativo en el conocimiento de la sistemática del género *Acanthogonatus* en Argentina y realza la idea de que aún queda mucho trabajo por hacer en este grupo de arañas, generalmente poco conocido. Es fundamental comprender y establecer los límites entre las especies, ya que esto no solo permite su identificación y evaluación, sino que también facilita el seguimiento de su estado de amenaza y la implementación de intervenciones, así como la realización de estudios ecológicos y de gestión ambiental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agnarsson, I., Coddington, J. A. & Kuntner, M. (2013). Systematics: progress in the study of spider diversity and evolution. En D. Penney (Ed.), Spider research in the 21st century: trends and perspectives. Siri Scientific Press, Manchester.

Bisby, F. A. & Coddington, J. A. (1995). Biodiversity from a taxonomic and evolutionary perspective. En V. H. Heywood (Ed.), Global biodiversity assessment. Cambridge University Press.

Bond, J. E., Hedin, M. C., Ramírez, M. G. & Opell, B. D. (2001). Deep molecular divergence in the absence of morphological and ecological change in the Californian coastal dune endemic trapdoor spider *Aptostichus simus*. Molecular Ecology, 10, 899–910.

Bond, J. E. & Stockman, A. K. (2008). An integrative method for delimiting cohesion species: Finding the population-species interface in a group of Californian trapdoor spiders with extreme genetic divergence and geographic structuring. Systematic Biology, 57, 628–646.

Calatayud-Mascarell, A., Ferretti, N., Enguidanos, A. & Arnedo, M. A. (2022). Same place, different stories: Disparate evolutionary trends of mygalomorph spiders from the Peripampasic orogenic arc. Journal of Biogeography, 49(7), 1234–1247.

Candia-Ramírez, D. T. & Francke, O. F. (2021). Another stripe on the tiger makes no difference? Unexpected diversity in the widespread tiger tarantula *Davus pentaloris* (Araneae: Theraphosidae: Theraphosinae). Zoological Journal of the Linnean Society, 192(1), 75–104.

Coddington, J. A. (2005). Phylogeny and classification of spiders. En D. Ubick, P. Paquin, P. Cushing, & V. Roth (Eds.), Spiders of North America: an identification manual (pp. 18–24). American Arachnological Society.

Coyle, F. A. & Ketner, N. D. (1990). Observations on the prey and prey capture behaviour of the funnelweb mygalomorph spider genus Ischnothele (Araneae, Dipluridae). Bulletin of the British Arachnological Society, 8(4), 97–104.

Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. Biological Journal of the Linnean Society, 85(3), 407–417.

De Oca, L. M., Indicatti, R. P., Opatova, V., Almeida, M., Pérez-Miles, F. & Bond, J. E. (2022). Phylogenomic analysis, reclassification, and evolution of South American nemesioid burrowing mygalomorph spiders. Molecular Phylogenetics and Evolution, 168, 107377.

De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. Systematic Biology, 56(6), 879–886.

Derkarabetian, S., Castillo, S., Koo, P. K., Ovchinnikov, S. & Hedin, M. (2019). A demonstration of unsupervised machine learning in species delimitation. Molecular Phylogenetics and Evolution, 139, 106562.

Ferretti, N., Pompozzi, G. & Pérez-Miles, F. (2011). Sexual behavior of *Acanthogonatus centralis* (Araneae: Mygalomorphae: Nemesiidae) from Argentina, with some notes on their burrows. The Journal of Arachnology, 39(3), 533–536.

Ferretti, N., Pompozzi, G., Copperi, S., Pérez-Miles, F. & González, A. (2012). Mygalomorph spider community of a natural reserve in a hilly system in central Argentina. Journal of Insect Science, 12(1), 31.

Fišer, C., Robinson, C. T. & Malard, F. (2018). Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. Molecular Ecology, 27(3), 613–635.

Foelix, R. (2011). Biology of spiders (3ra ed.). Oxford University Press, London.

Freudestein, J. V., Broe, M. B., Folk, R. A. & Sinn, B. T. (2016). Biodiversity and the species concept—Lineages are not enough. Systematic Biology, syw098.

Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. & Hurst, G. D. D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: A reappraisal. Molecular Ecology, 18(22), 4541–4550.

Garrison, N. L., Rodriguez, J., Agnarsson, I., Coddington, J. A., Griswold, C. E., Hamilton, C. A., Hedin, M., Kocot, K. M., Ledford, J. M. & Bond, J. E. (2016). Spider phylogenomics: Untangling the Spider Tree of Life. PeerJ, 4, e1719. https://doi.org/10.7717/peerj.1719

Goloboff, P. A. (1993). A reanalysis of mygalomorph spider families (Araneae). American Museum Novitates, 3056, 1–32.

Goloboff, P. A. (1995). A revision of the South American spiders of the family Nemesiidae (Araneae, Mygalomorphae). Part I: Species from Peru, Chile, Argentina and Uruguay. Bulletin of the American Museum of Natural History, 224, 1–189.

Graham, C. H. & Hijmans, R. J. (2006). A comparison of methods for mapping species ranges and species richness. Global Ecology and Biogeography, 15, 578–587.

Hamilton, C. A., Hendrixson, B. E. & Bond, J. E. (2016). Taxonomic revision of the tarantula genus *Aphonopelma* Pocock, 1901 (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae) within the United States. ZooKeys, 560, 1–340.

Harvey, M. S., Rix, M. G., Framenau, V. W., Hamilton, Z. R., Johnson, M. S., Teale, R. J., Humphreys, G. & Humphreys, W. F. (2015). Refugia within refugia: In situ speciation and conservation of threatened *Bertmainius* (Araneae: Migidae), a new genus of relictual trapdoor spiders endemic to the mesic zone of south-western Australia. Invertebrate Systematics, 29(6), 511–553.

Hebert, P. D., Ratnasingham, S. & De Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(suppl 1), S96–S99.

Hedin, M. & Bond, J. E. (2006). Molecular phylogenetics of the spider infraorder Mygalomorphae using nuclear rRNA genes (18S and 28S): Conflict and agreement with the current system of classification. Molecular Phylogenetics and Evolution, 41(2), 454–471.

Hendrixson, B. E., Guice, A. V. & Bond, J. E. (2015). Integrative species delimitation and conservation of tarantulas (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae) from a North American biodiversity hotspot. Insect Conservation and Diversity, 8(2), 120–131.

Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution, 33(7), 1870–1874.

Lanfear, R., Hua, X. & Warren, D. L. (2016). Estimating the effective sample size of tree topologies from Bayesian phylogenetic analyses. Genome Biology and Evolution, 8(8), 2319–2332.

Leavitt, D. H., Starrett, J., Westphal, M. F., Wong, H. T. & Hedin, M. (2015). Multilocus sequence data reveal dozens of putative cryptic species in a radiation of endemic Californian mygalomorph spiders (Araneae, Mygalomorphae, Nemesiidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.05.016

Lima-Ribeiro, M. S., Varela, S., González-Hernández, J., De Oliveira, G., Diniz-Filho, J. A. F. & Terribile, L. C. (2015). EcoClimate: A database of climate data from multiple models for past, present, and future for macroecologists and biogeographers. Biodiversity Informatics, 10, 1–9.

Newton, L. G., Starrett, J., Hendrixson, B. E., Derkarabetian, S. & Bond, J. E. (2020). Integrative species delimitation reveals cryptic diversity in the southern Appalachian Antrodiaetus unicolor (Araneae: Antrodiaetidae) species complex. Molecular Ecology, 29, 2269–2287.

Nguyen, N. K., Nguyen, P. B., Nguyen, H. T. & Le, P. H. (2015). Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. LWT-Food Science and Technology, 64(2), 1149–1155.

Nyffeler, M. (2000). Ecological impact of spider predation: A critical assessment of Bristowe's and Turnbull's estimates. Bulletin of the British Arachnological Society, 11, 367–373.

Opatova, V. & Arnedo, M. A. (2014). Spiders on a hot volcanic roof: Colonisation pathways and phylogeography of the Canary Islands endemic trap-door spider *Titanidiops canariensis* (Araneae, Idiopidae). PLoS One, 9(12), e115078.

Opatova, V., Hamilton, C. A., Hedin, M., Montes de Oca, L., Král, J. & Bond, J. E. (2019). Phylogenetic systematics and evolution of the spider Infraorder Mygalomorphae using genomic scale data. Systematic Biology, 69(4), 671–707.

Ortiz, D. & Francke, O. F. (2017). Reconciling morphological and molecular systematics in tarantulas (Araneae: Theraphosidae): Revision of the Mexican endemic genus *Bonnetina*. Zoological Journal of the Linnean Society, 180(4), 819–886.

Pearson, R. G., Raxworthy, C. J., Nakamura, M. & Peterson, A. T. (2007). Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: A test case using cryptic geckos in Madagascar. Journal of Biogeography, 34, 102–117.

- Phillips, S. J., Dudik, M. & Schapire, R. E. (2009). MAXENT (Maximum Entropy Modeling of Species Geographic Distributions). Version 3.3.3k. Disponible en: http://www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent/
- Platnick, N. I. (2020). Spiders of the world: A natural history (Vol. 2). Princeton University Press.
- Platnick, N. I. & Gertsch, W. J. (1976). The suborders of spiders: A cladistic analysis (Arachnida, Araneae). American Museum Novitates, No. 2607.
- Pliscoff, P. & Fuentes-Castillo, T. (2011). Modelación de la distribución de especies y ecosistemas en el tiempo y en el espacio: Una revisión de las nuevas herramientas y enfoques disponibles. Revista de Geografía Norte Grande, 48, 61–79.
- Pompozzi, G. & Copperi, S. (2018). Feeding frequency, prey acceptance, and natural diet of the mygalomorph spider *Acanthogonatus centralis* Goloboff 1995 (Araneae: Nemesiidae). Zoological Studies, 57, 1–10.
- Pompozzi, G., Schwerdt, L., Copperi, S. & Ferretti, N. (2019). Do disturbed environments affect density of the tunnel-web spider *Acanthogonatus centralis* (Mygalomorphae: Nemesiidae) from native grasslands in Argentina? Turkish Journal of Zoology, 43(1), 146–151.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & Achaz, G. J. M. E. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. Molecular Ecology, 21(8), 1864–1877.
- Raven, R. J. (1985). The spider infraorder Mygalomorphae (Araneae): Cladistics and systematics. Bulletin of the American Museum of Natural History, 182, 1–180.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19(12), 1572–1574.
- Sandall, E. L., Maureaud, A. A., Guralnick, R., McGeoch, M. A., Sica, Y. V., Rogan, M. S. & Jetz, W. (2023). A globally integrated structure of taxonomy to support biodiversity science and conservation. Trends in Ecology & Evolution.

Santos, C. M. D. & Amorim, D. S. (2007). Why biogeographical hypotheses need a well-supported phylogenetic framework: A conceptual evaluation. Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo), 47, 63–73.

Schiapelli, R. D. & Gerschman de Pikelin, B. S. (1971). Estudio de algunas arañas descriptas por Mello-Leitão para el Uruguay. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 33(1-4), 57–62.

Schiapelli, R. & Gerschman, B. (1962). Importancia de las espermatecas en la sistemática de las arañas del suborden Mygalomorphae (Araneae). Physis, 23, 69–75.

Starrett, J., Hedin, M., Ayoub, N. & Hayashi, C. Y. (2013). Hemocyanin gene family evolution in spiders (Araneae), with implications for phylogenetic relationships and divergence times in the infraorder Mygalomorphae. Gene, 524(2), 175–186.

Starrett, J., Jochim, E. E., Quayle, I. L., Zahnle, X. J. & Bond, J. E. (2024). Microgeographic population structuring in a genus of California trapdoor spiders and discovery of an enigmatic new species (Euctenizidae: *Promyrmekiaphila korematsui sp. nov.*). Ecology and Evolution, 14(3), e10983.

Wake, M. H. (2003). What is 'Integrative Biology'? Journal of Integrative and Comparative Biology, 43, 239–241.

Warren, D. L., Glor, R. E. & Turelli, M. (2010). ENMTools: A toolbox for comparative studies of environmental niche models. Ecography, 33(3), 607–611.

Will, K. W. & Rubinoff, D. (2004). Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. Cladistics, 20, 47–55.

Winston, J. E. & Disney, H. (2000). Describing species: Practical taxonomic procedure for biologists. Nature, 405(6787), 619.

World Spider Catalog. (2024). World Spider Catalog. Version 25.5. Natural History Museum Bern. Available at: http://wsc.nmbe.ch, accessed on 17 September 2024. doi: 10.24436/2

Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. Bioinformatics, 29(22), 2869–2876.