

# Informe final publicable de proyecto

## Origen y evolución de la inversión de roles sexuales en arañas lobo de la subfamilia Allocosinae en Sudamérica

Código de proyecto ANII: FCE\_1\_2017\_1\_136269

29/11/2021

**BIDEGARAY BATISTA, Leticia Fernanda** (Responsable Técnico - Científico)

**TEIXEIRA, Renato** (Investigador)

**AISENBERG OLIVERA, Anita Diana** (Co-Responsable Técnico-Científico)

**ALBÍN CELANA, Andrea Raquel** (Investigador)

**ARNEDO, Miquel** (Investigador)

**BOLLATTI, Fedra** (Investigador)

**BRESCOVIT, Antonio Domingos** (Investigador)

**IZQUIERDO, Matías** (Investigador)

**PERETTI, Alfredo Vicente** (Investigador)

**PIACENTINI, Luis Norberto** (Investigador)

**PLISCOFF, Patricio** (Investigador)

**POSTIGLIONI ERGUIZ, Rodrigo** (Investigador)

**SIMÓ NÚÑEZ, Miguel** (Investigador)

---

MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS "CLEMENTE ESTABLE"

(Institución Proponente) \\ FUNDACIÓN DE APOYO AL INSTITUTO CLEMENTE ESTABLE \\

INSTITUTO DE DIVERSIDAD Y ECOLOGÍA ANIMAL (IDEA-UNC-CONICET) LABORATORIO DE BIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y

EVOLUCIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICAS Y NATURALES. UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

\\

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE, FACULTAD DE HISTORIA, GEOGRAFÍA Y CIENCIA POLÍTICA, INSTITUTO DE GEOGRAFÍA

\\ UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE CIENCIAS \\

MUSEO ARGENTINO DE CIENCIAS NATURALES BERNARDINO RIVADAVIA \\ UNIVERSIDAD DE BARCELONA \\

INSTITUTO BUTANTAN

## Resumen del proyecto

Las arañas lobo *Allocosa senex* y *Allocosa marindia* que habitan las costas del sur de Sudamérica presentan características comportamentales y morfológicas únicas en arañas. A diferencia de lo extendido en este grupo, las hembras son el sexo móvil que sale en busca de pareja e inicia el cortejo y los machos poseen un mayor tamaño corporal que las hembras. Existen diversas hipótesis sobre las causas de la aparición y mantenimiento de estos comportamientos atípicos para el grupo, una de las cuales estaría relacionada con el tipo de ambiente que habitan. En este contexto, estudiamos otras especies del grupo, integrando información genética, taxonómica, morfométrica, ambiental y comportamental, para investigar cuáles son las presiones que originan y modelan la inversión de roles sexuales de estas arañas en Sudamérica. Encontramos que: i) la subfamilia presenta una mayor diversidad a la que se conocía, se describen nuevos géneros y especies para la ciencia; ii) hay nuevos casos con machos más grandes que las hembras que viven en ambientes de arenales costeros y están cercanamente emparentados con *A. senex* y *A. marindia*; iii) en un grupo de arañas encontradas en arenales de costas volcánicas, los machos son más activos que las hembras durante la noche, a diferencia de lo reportado en *A. senex* y *A. marindia*; y al igual que éstas especies presenta características del comportamiento relacionadas a la inversión de roles sexuales; iv) no todas las especies asociadas a ambientes de arenales costeros presentan inversión del dimorfismo sexual de tamaño, v) el tamaño corporal de los individuos varía según el microambiente; vi) hay diferencias entre los ambientes y la actividad de superficie nocturna de machos y hembras. Surgen nuevas preguntas para futuros estudios para seguir entendiendo sobre los factores que modelan las características únicas y llamativas reportadas en especies de nuestro país.

**Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Zoología, Ornitología, Entomología, Etología / Aracnología, Sistemática, Biología Evolutiva,**

**Palabras clave: Allocosa / Filogenia / Estrategias sexuales /**

## Introducción

Los roles sexuales reflejan las contribuciones de hembras y machos en la producción y mantenimiento de gametos, esfuerzo de cortejo y cópula, provisión de regalos nupciales u otros recursos asociados con la reproducción, e inversión parental [1, 2]. Usualmente, una mayor inversión femenina tanto en el tamaño de los gametos como en el cuidado de las crías determinará que las hembras sean el sexo selectivo y los machos serán quienes salgan en búsqueda de hembras, cortejen y compitan por el acceso a ellas [3]. Sin embargo, existen excepciones a esta regla. En especies con alta contribución reproductiva masculina, los roles de cada sexo y el dimorfismo sexual pueden invertirse de los patrones típicos, tornándose las hembras en el sexo que sale en búsqueda de potenciales parejas e inicia el cortejo y los machos en el sexo selectivo [2-5]. Si bien existen ejemplos de inversión de roles sexuales provenientes de varios taxones como aves, anfibios, peces, crustáceos e insectos [2, 4, 6], existen pocos estudios exhaustivos sobre el tema. Ambientes duros sometidos a condiciones ambientales variantes y/o extremas, y ambientes impredecibles con períodos de escasez de presas y refugios, han sido indicados como generadores de ejemplos de inversión de roles sexuales e inversión paternal [4, 7-9]. Asociado con esta idea, en algunas especies habitantes de este tipo de ambientes, los machos tendrían una alta inversión reproductiva (similar o mayor que las hembras).

El dimorfismo sexual es la respuesta diferencial de hembras y machos a los efectos de la selección sexual, selección natural, o de ambas, bajo las restricciones genéticas, filogenéticas, fisiológicas y ecológicas, que impone la especie [10]. En arañas, en general las hembras son más grandes que los machos, llegando en algunos casos al dimorfismo sexual de tamaño extremo con hembras gigantes y machos enanos [11-14]. Las arañas de la familia Lycosidae en general muestran un dimorfismo sexual de tamaño moderado, siendo los machos aproximadamente entre el 10–20% más pequeños que las hembras, pero con patas comparativamente más largas [15-19].

*Allocosa marindia* Simó et al. 2017 y *A. senex* (Mello-Leitão, 1945) son arañas lobo nocturnas (Subfamilia Allocosinae, Familia Lycosidae) que habitan los arenales costeros de ríos, lagunas y del Océano Atlántico en el sur de Sudamérica [20, 21]. Ambas especies presentan inversión de roles sexuales y de dimorfismo sexual de tamaño corporal [5, 22]. A diferencia de lo generalizado y esperado en arañas, los machos son más grandes que las hembras [22, 23]. Los machos cavan cuevas profundas tapizadas con seda en la arena y permanecen durante largos períodos esperando una visita femenina. Por el contrario, las hembras cavan refugios simples y son el sexo móvil que durante las noches de verano salen en búsqueda de cuevas masculinas e inician el cortejo [5, 22, 23]. La cópula ocurre en la cueva masculina y ambos

sexos son selectivos al momento del apareamiento. Tanto en *A. marindia* como en *A. senex*, las hembras prefieren aparearse con machos que presentan cuevas más largas [22, 24]. Las cuevas largas han mostrado ser buenos amortiguadores de temperatura, manteniendo niveles de humedad altos y constantes [25]. Los machos, por su parte, prefieren aparearse con hembras vírgenes y con mayor condición corporal [24, 25]. Exclusivamente en *A. senex*, las hembras rechazadas pueden ser atacadas y canibalizadas por los machos, coincidiendo con observaciones de campo realizadas en esta especie [26]. Luego de la cópula, los machos salen de sus cuevas, las cierran desde afuera y se alejan. Las hembras permanecen dentro de las cuevas masculinas y es allí donde realizarán sus puestas de huevos, emergiendo al momento de la dispersión de las crías [5, 27].

Estas especies sudamericanas de la subfamilia Allocosinae son los únicos casos estudiados en esta subfamilia y constituyen los primeros casos citados de inversión de roles sexuales y dimorfismo sexual de tamaño en Lycosidae y en arañas en general [5]. Hasta el momento no se han realizado estudios filogenéticos de la subfamilia y existen dudas sobre los géneros que la integran y sobre la delimitación de sus especies. Inferir sus relaciones filogenéticas, delimitar los géneros y especies que la componen y estudiar si existen más casos de comportamientos sexuales no tradicionales en esta subfamilia, es necesario para entender sobre el origen y evolución de estos comportamientos tan llamativos en el reino animal.

Actualmente la subfamilia Allocosinae contiene únicamente al género *Allocosa* y está compuesto por 133 especies con representantes de las regiones Neotropical, Australiana, Etiópica, Paleártica, Neártica y Oriental [28]. Sin embargo, de acuerdo a una revisión taxonómica de las especies de *Allocosa* de América del Norte y Central este género se restringe al nuevo mundo [29]. Actualmente hay 19 especies descritas para el Neotrópico, de las cuales 17 son conocidas para América del Sur. El conocimiento taxonómico de las especies sudamericanas de *Allocosa* es escaso. Por otro lado, este grupo presenta una gran homogeneidad genética, lo cual dificulta la delimitación de sus especies, haciendo necesario la integración de datos genéticos y morfológicos para su estudio sistemático. Los datos genéticos son muy útiles en este sentido, ya que la información generada a partir de múltiples marcadores moleculares nos proporciona mucha información que permite realizar aproximaciones multilocus para delimitar las especies e inferir sus relaciones filogenéticas [30-33]. Estas aproximaciones también nos permiten comparar diferentes hipótesis de delimitación de las especies, basadas ya sea en criterios exclusivamente moleculares, morfológicos, comportamentales o ecológicos, entre otros [34]. A su vez establecer sus relaciones filogenéticas nos permite reconstruir la historia evolutiva de los caracteres (p.ej. presencia de inversión del rol sexual) y estudiar su relación respecto a otros rasgos [35, 36].

Por otro lado estas aproximaciones multilocus han mostrado ser particularmente relevantes en los casos en los que los procesos de especiación ocurrieron en tiempos recientes [37-40]. Y este es el caso de *A. senex* y *A. marindia*. Estudios filogeográficos recientes basados en genes mitocondriales revelan un origen reciente para estas especies que data en menos de dos millones de años, en el Pleistoceno [41, 42]. Esto evidencia la necesidad de utilizar las aproximaciones antes mencionadas. El desarrollo tecnológico que ha experimentado en los últimos años los métodos de secuenciación masiva del ADN ha facilitado enormemente la obtención de múltiples marcadores moleculares en organismos para los cuales se disponen aún poca información genómica [43, 44]. En arañas existen estudios muy recientes donde ya se han utilizado estas técnicas [45-47].

En este contexto este proyecto busca investigar el origen y evolución de la inversión de roles sexuales en las arañas lobo de la subfamilia Allocosinae (Familia Lycosidae) de América del Sur mediante un abordaje multidisciplinario. Para lograr este objetivo se integrará información genética, morfológica, comportamental y ambiental. En primer lugar se infirió la filogenia de Allocosinae de América del Sur mediante una aproximación integrativa morfológica y molecular con el fin de establecer sus límites, determinar las relaciones entre géneros y delimitar sus especies. Se revisó material de colecciones científicas y se realizaron colectas en el campo en Argentina, Brasil, Chile y Uruguay. Se secuenciaron genes mitocondriales y nucleares siguiendo la aproximación ampliamente utilizada en estudios filogenéticos en arañas. Por otro lado, para un complejo de especies de divergencias recientes se está utilizando la metodología 2b-RAD [48] para generar SNPs y resolver su delimitación. El empleo de ambas metodologías permitirán establecer las relaciones filogenéticas, describir nuevos géneros y especies. Esto será un gran aporte a la sistemática y taxonomía de este grupo y a la aracnología en general. En segundo lugar se estudió el dimorfismo sexual de tamaño en especies de Allocosinae de América del Sur. Para ello se realizaron medidas corporales de individuos adultos de colección y colectados en el campo y se investigó si existe dimorfismo sexual a nivel intra e interespecífico. Esperamos reportar casos nuevos de especies de Allocosinae con dimorfismo sexual de tamaño invertido e identificar adaptaciones morfológicas en cada sexo asociadas a sus estrategias de comportamiento. Estos resultados son muy relevantes, ya que permitirán realizar estudios comparativos sobre el comportamiento reproductivo en otras especies de la subfamilia Allocosinae. En tercer lugar, se estudió la actividad de superficie de cada sexo en condiciones de campo para especies seleccionadas de Allocosinae incluyendo aquellas que habitan en ambientes con diferentes características de suelo. Se esperaba reportar nuevos casos

de especies de Allocosinae Sudamericanas que habiten en sustratos arenosos con hembras que presenten mayor actividad de superficie que los machos. Estos resultados permiten corroborar en el campo si las especies con hembras con mayor actividad de superficie que los machos también presentan dimorfismo sexual de tamaño invertido como lo ya reportado para *A. senex* y *A. marindia*, y si está relacionado con el ambiente que habitan. Finalmente, se integrará toda la información mencionada anteriormente para reconstruir la historia evolutiva de la inversión de roles sexuales en Allocosinae de América del Sur en relación a caracteres morfológicos y en base a sus preferencias ambientales. Se investigará la influencia de la cobertura de suelo y variables ambientales sobre los caracteres morfométricos obtenidos en los objetivos anteriores. Se esperaba que la inversión de roles sexuales, indicada por el dimorfismo sexual de tamaño invertido y mayor actividad de superficie, se encuentre relacionada con el tipo de ambiente en el que habitan las Allocosinae Sudamericanas, confirmando así que las presiones ecológicas ejercidas por los ambientes arenosos y relacionadas con hábitats duros e impredecibles promoverían la aparición de adaptaciones morfológicas y comportamentales para sobrevivir a los mismos. Este proyecto busca con un enfoque multidisciplinario entender sobre los factores que generan y modelan los comportamientos sexuales en arañas y discutir hipótesis de inversión de roles sexuales en un marco evolutivo.

## **Metodología/diseño del estudio**

### Revisión de material y estudio de colecciones

Se revisó el material de las especies de *Allocosa* descritas para Sudamérica, de especies de otras subfamilias que deberían ser transferidas a Allocosinae y de especies de Norte y Centro América. Cuando fue posible, se revisó el material tipo. Se revisó material de la subfamilia en las siguientes colecciones: California Academy of Sciences (USA), Instituto Butantan (Brasil), Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS (Brasil), Museo Argentino de Ciencias Naturales (Argentina) y Facultad de Ciencias (Uruguay).

### Muestreos de campo

Se realizaron muestreos nocturnos en Uruguay (Melilla, IIBCE, Área protegida Montes de Queguay y Playa San José de Carrasco), Argentina (Parque Nacional El Palmar, Parque Provincial Ischigualasto y Parque Nacional Lanín), Chile (Parque Nacional Río Clarillo) y Brasil (Reserva PUCRS Pró-Mata y Parque das Dunas en Salvador de Bahía) entre 2018, 2019 y 2020. Los muestreos fueron realizados durante el verano del hemisferio sur, meses de mayor actividad prevista para adultos de Allocosinae [21, 49]. El método de colecta fue manual, se realizó una hora después de la puesta del sol y durante dos horas por tres investigadores experimentados con linternas de minero. Se recolectaron todas las arañas Allocosinae adultas encontradas caminando o en las entradas de sus cuevas. Se filmaron a 6 adultos (3 hembras y 3 machos) durante 1 hora para registrar si la especie recolectada realizaba cavado. Para la filmación los individuos fueron colocados en botellas plásticas transparentes de 2 litros y cuarto, con 20 cm de sustrato del lugar de colecta y una capa de 5 cm en la base de sustrato húmedo. La filmaciones se realizaron durante el día para estimular el comportamiento de cavado. Todos los ejemplares fueron guardados en etanol 95%. Se depositaron especímenes representativos de cada especie de Allocosinae en colecciones científicas de cada país.

En el parque Parque Nacional Lanín se realizó una segunda salida de campo, en esta instancia para realizar observaciones de registro del comportamiento sexual del morfotipo encontrado en ese lugar.

### Estudio del material

Se aplicaron técnicas de microscopía óptica y electrónica para el estudio de la morfología somática y genital. Se utilizaron lupas estereoscópicas para reconocimiento, medición, toma de fotografías y dibujos con cámara clara. Se seleccionaron partes del cuerpo de algunos especímenes para estudio en microscopio electrónico de barrido (MEB), principalmente patas, hileras y órganos copuladores. Se realizó la curaduría del material colectado y se depositó en colecciones aracnológicas de la Facultad de Ciencias, UdelaR. Se caracterizaron las especies Sudamericanas de Allocosinae en base a sus preferencias ambientales y considerando como elementos el clima y la cobertura vegetal del suelo. Para caracterizar el clima se utilizó la localidad geográfica indicada y se la asoció a las superficies climáticas globales del proyecto WorldClim [50]. La información sobre cobertura de suelo se obtuvo de la base de datos armonizada de suelos de la FAO [51].

### Filogenia y delimitación molecular de las especies

Se extrajo el ADN del material colectado en las salidas de campo y del material de museo, intentando representar el rango de distribución de las especies o morfotipos. Se amplificó y secuenció por método de Sanger los fragmentos de los genes mitocondriales citocromo oxidasa c subunidad 1 (*cox1*), NADH deshidrogenasa subunidad I (*nadh*), subunidad ribosomal pequeña 12S; y los genes nuclear histona H3 e H4 y subunidad ribosomal grande 28S, usando cebadores y protocolos

estándar en arañas [52-54]. Para el análisis se incluyeron secuencias de los mismos genes de representantes de las subfamilias de Lycosidae publicadas en Piacentini & Ramírez (2019) [54]. La filogenia se infirió usando aproximación por concatenación de los genes mitocondriales y nucleares mediante análisis de Parsimonia, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana con los programas TNT [55], RAXML [56] y MRBAYES [57], respectivamente. Los tiempos de divergencia serán estimados con el programa BEAST [58] utilizando como "priors" las tasas de sustitución estimadas en Bidegaray-Batista & Arnedo [59]. Por otro lado, para un complejo de especies de divergencias recientes se utilizó está utilizando la metodología 2b-RAD [48] para generar SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), los cuales serán sujetos a análisis bayesianos para co-estimar el árbol de especies, árboles génicos y la delimitación de las especies a partir de múltiples locus [60]. Se espera que con ambas metodologías se puedan establecer las relaciones filogenéticas de la subfamilia, describir nuevos géneros y especies.

#### Mediciones de caracteres morfológicos y análisis de dimorfismo sexual de tamaño

Se registraron medidas corporales de individuos adultos de colección y colectados en el campo. Se consideraron exclusivamente las especies que posean un N mínimo de 5 ejemplares adultos de cada sexo. Se midieron las siguientes estructuras: ancho de cefalotórax, largo de cefalotórax, altura de cefalotórax, largo del segmento basal del quelícero, largo del segmento tibia-patela de pata I y largo del segmento tibia-patela de pata II. El ancho de cefalotórax y largo de cefalotórax se consideran medidas representativas del tamaño corporal en arañas [13, 61, 62]. Asimismo, se midió el largo del segmento tibia-patela en patas I y II, ya que son variables representativas del largo de patas en arañas [63]. La altura de cefalotórax, patas I y II, y los quelíceros están involucrados directamente en el comportamiento de cavado en *Allocosa* [64]. Por tanto, resulta de interés investigar si existe dimorfismo sexual intraespecífico en estas estructuras y diferencias entre especies de *Allocosinae*.

Para evaluar si existe variación en los caracteres morfológicos a nivel específico y en relación con los micro-hábitats, construimos modelos lineales (LM) y modelos lineales generalizados (GLM) en R [65]. Establecimos los rasgos morfológicos (mediciones especificadas arriba) de cada individuo como variables de respuesta en modelos separados, y como efectos fijos el micro-hábitat donde se encontraba el individuo, el sexo del individuo, la especie o morfotipo y la interacción entre estas dos últimas variables.

En todos los modelos, la normalidad y homogeneidad de las varianzas se evaluaron gráficamente utilizando la función 'fitdist' y el gráfico de Cullen y Frey del paquete fitdistrplus [66] y utilizando estadísticas de bondad de ajuste del mismo paquete. Las variables se modelaron con las funciones "lm" y "glm" del paquete de estadística R [65] y la función "lmer" del paquete "lme4" [67]. Se verificaron los residuos del modelo en busca de supuestos de normalidad y homocedasticidad. La significación estadística de GLM y LMM se calculó con la función 'Anova' del paquete "car" [68]. Consideramos la significancia estadística con un nivel de alfa = 0,05. Usamos la función "cld" del paquete "multcomp" [69] para una prueba a posteriori. Para la creación de gráficos utilizamos el paquete "ggplot2" [70].

#### Actividad de superficie de machos y hembras

Se realizaron los muestreos en las localidades seleccionadas siguiendo el diseño de muestreo ya descrito. Se llevó registro de las coordenadas de la localidad de muestreo, las condiciones de temperatura y humedad (ambiental y en el suelo) con un higrómetro-termómetro. Se registró la compactación del suelo con la ayuda del penetrómetro. La cobertura del suelo se determinó de acuerdo con [51].

Comparamos la probabilidad de encontrar hembras activas en la superficie codificando como variable de respuesta binomial la existencia en el campo de una hembra como 1 y de un macho como 0. Los modelos incluyeron como variables predictoras, en modelos separados, la especie y el microhábitat. Realizamos un LMM donde colocamos la proporción de hembras activas en superficie como variable respuesta y el índice de dimorfismo de estructuras morfológicas para cada especie como efecto fijo. En los modelos agregamos el denominador utilizado para calcular la proporción por el argumento de peso de la función "glmer" del paquete lme4 [67]. Para controlar la sobre-dispersión del modelo se incluyó un factor aleatorio, que consistió en un nivel por observación.

#### Reconstrucción de la historia evolutiva de la inversión de roles sexuales

Se procederá a la reconstrucción de los estados ancestrales del carácter "presencia de inversión del rol sexual" basado en la existencia de dimorfismo sexual de tamaño corporal invertido (especie con machos de tamaño corporal mayor que las hembras) utilizando la técnica del mapeado estocástico de caracteres (stochastic character mapping) [71] sobre la filogenia obtenida. El método consiste en muestrear las historias del carácter de interés en proporción directa a su probabilidad posterior bajo un modelo donde se define las tasas de transición entre todos los estados definidos. Para este fin se utilizará la función make.simmap del paquete de R PHYTOOLS [72], y se determinará la incertidumbre de la

reconstrucción utilizando 1000 árboles remuestreados a partir de la distribución posterior.

Se investigará la influencia de la cobertura de suelo y variables ambientales sobre los caracteres morfométricos, mediante la técnica de los Mínimos Cuadrados Generalizados Filogenéticos (PGLS) [73]. Definiremos la morfología como variable respuesta y las características del sustrato y variables ambientales como variables explicativas. Más concretamente, realizaremos una regresión de la matriz de la media por especie de las variables morfométricas sobre las diferentes características del sustrato y variables ambientales, y utilizaremos el criterio de información de Akaike (AIC) para seleccionar el modelo que mejor explica la variación evolutiva fenotípica. Estimaremos la matriz de varianzas-covarianzas de errores filogenéticos bajo diferentes modelos estándar, incluyendo el cronograma, así como modelos de especiación y modelos tipo birth-death. Debido a la naturaleza multivariante de la variable respuesta, utilizaremos un PGLS basado en distancias y permutaciones para evaluar la significación de los resultados [74]. Todos los análisis se llevarán a cabo con la ayuda de los paquetes de R APE [75], PHYTOOLS y GEOMORPH [76].

## Resultados, análisis y discusión

Los resultados se reportan en relación a los objetivos específicos.

OE1: Inferir la filogenia de Allocosinae de América del Sur mediante una aproximación integrativa morfológica y molecular con el fin de establecer sus límites, determinar las relaciones entre sus géneros y describir taxones nuevos.

Se realizaron todas las salidas de campo previstas en Uruguay (Melilla, IIBCE, Área protegida Montes de Queguay y Playa San José de Carrasco), Argentina (Parque Nacional El Palmar, Parque Provincial Ischigualasto y Parque Nacional Lanín), Chile (Parque Nacional Río Clarillo) y Brasil (Reserva PUCRS Pró-Mata y Parque das Dunas en Salvador de Bahía). A partir del material recolectado en las salidas de campo se identificó 1 morfotipo para El Palmar (Argentina), Melilla e IIBCE (Uruguay) y Porto Alegre (Brasil), 2 morfotipos en el Parque Provincial Ischigualasto, 2 morfotipos en Parque Nacional Río Clarillo, 1 morfotipo en el Parque Nacional Lanín, y 1 morfotipo en Parque das Dunas en Salvador de Bahía y especímenes de la misma localidad que fueron identificados como *A. cf. senex*. En las salidas de campo también se recolectaron individuos adultos de *A. senex* (El Palmar y Área protegida Montes de Queguay) y *A. marindia* (Playa San José de Carrasco).

En total se examinaron 2712 especímenes pertenecientes a 36 especies de Allocosinae y 5 especies no descritas, de colecciones de California Academy of Sciences (USA), Instituto Butantan (Brasil), Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS (Brasil), Museo Argentino de Ciencias Naturales (Argentina), Facultad de Ciencias (Uruguay) y del material colectado en las salidas de campo. Para los análisis filogenéticos se extrajo ADN de 102 especímenes. De los cuales se secuenciaron 90 individuos para un fragmento de los genes mitocondriales *cox1*, *12S* y *nadh*, y de los genes nucleares *h3*, *h4* y *28S*. A partir del análisis filogenético se identificaron seis linajes principales en la subfamilia Allocosinae. Uno de estos linajes incluye a *Allocosa senex*, *A. cf. senex* (Parque das Dunas en Salvador de Bahía), *A. marindia*, *A. alticeps*, y a uno de los morfotipos del Parque Provincial Ischigualasto, del Parque Nacional Río Clarillo, y del Parque Nacional Lanín. Este linaje tiene una amplia distribución asociado a sustratos arenosos de costas oceánicas y de ríos, cauces de arroyo seco y costa de lago de arena volcánica. Otro de los linajes incluye a los morfotipos colectados en El Palmar, Melilla, IIBCE, Porto Alegre, e identificados como *Paratrochosina amica*, especie que se encuentra en pastizales y ambientes abiertos con una distribución amplia en el subcontinente. Los seis linajes recuperados en la filogenia molecular se corresponden con la revisión taxonómica donde se identificaron 6 grupos de especies, de los cuales algunos grupos podrían corresponderse a géneros, algunos sin describir, dentro de la subfamilia Allocosinae.

Hasta el momento parte de estos resultados se han publicado o sometidos recientemente a publicación. En la publicación de Gonnet et al. (2021) [77] se analizó el material colectado durante este proyecto e identificado como uno de los morfotipos para Melilla e IIBCE (Uruguay), se revisó el material de las colecciones y se realizaron análisis filogenéticos, lo que llevó a la redescipción de *Paratrochosina amica* y ubicarla filogenéticamente en la subfamilia Allocosinae. En el trabajo sometido recientemente por Laborda et al. (2021) (ver Anexo), se describe un nuevo género para la subfamilia Allocosinae, que incluye las especies *Pardosa flammula* y *Alopecosa rosea*. Actualmente se está redactando otro manuscrito en el cual se describe otro género nuevo para la subfamilia (ver Anexo adjunto) y estamos refinando los análisis filogenéticos para su publicación y en donde se identifican seis linajes principales para la subfamilia Allocosinae Sudamericana.

También se está utilizando la metodología 2b-RAD para generar SNPs y resolver la delimitación de especies de especímenes inicialmente identificados como *A. senex*, *A. cf. senex* y morfotipos cuya genitalia es muy similar a la de *A. senex*. Estos especímenes tienen una amplia distribución y están presentes en arenales de costas de ríos, arroyos, océanos y costas volcánicas (Argentina, Uruguay, Brasil y Chile). Si bien presentan homogeneidad en la morfología genital, el lugar donde habitan, su amplia distribución y otros rasgos comportamentales nos hizo plantearnos un análisis más detallado para dilucidar si se trata de una única especie.

OE2: Estudiar el dimorfismo sexual de tamaño en especies de Allocosinae de América del Sur.

Analizando las especies de América del Norte y Central, encontramos evidencia de dimorfismo sexual de tamaño en *Allocosa noctabunda* y *A. parva*; en ambos casos las hembras mostraron mayor tamaño que los machos. En cuanto a las Allocosinae analizadas de Sudamérica, encontramos que *A. senex* y los morfotipos identificados del Parque Nacional Lanín (Argentina) y de Coquimbo (Chile) presentan dimorfismo sexual de tamaño, siendo en todos los casos los machos más grandes que las hembras. Estos individuos habitan ambientes de arenales costeros, ya sea de costas oceánicas, estuarinas, ribereñas y de lagos de arena volcánica. No encontramos evidencia de dimorfismo sexual de tamaño en las Allocosinae sudamericanas *Paratrochosina amica*, *Gnatholycosa spinipalpis*, *A. brasiliensis*, *Allocosa cf. senex*, en un morfotipo del Parque Nacional Río Clarillo (Chile) y los dos morfotipos del Parque Provincial Ischigualasto (Argentina). Los resultados también muestran que el tamaño de los individuos varía según el microambiente. Los individuos más pequeños se encuentran en hojarasca y pastizales, y los más grandes en costas de arena volcánica y costas fluviales. En todos los casos donde se encontró inversión del dimorfismo sexual de tamaño, las especies o morfotipos están presentes en ambientes de arenales costeros. Pero no todas las especies que viven en estos ambientes presentan esta inversión. Los datos en relación a este objetivo ya han sido analizados en su totalidad y el manuscrito está en preparación (ver anexo adjunto) para ser sometido a una revista internacional arbitrada.

OE3: Estudiar la actividad de superficie de cada sexo en condiciones de campo para especies seleccionadas de Allocosinae de América del Sur, incluyendo aquellas que habitan en ambientes con diferentes características de suelo.

Registramos diferencias en las proporciones sexuales de actividad superficial nocturna en las Allocosinae colectadas en las localidades muestreadas en Sudamérica. En general, los resultados muestran que en todas las especies y morfotipos hay una tendencia a encontrar con mayor probabilidad hembras activas durante la noche. Siendo esto más marcado en *A. cf. senex* del Parque das Dunas en Salvador de Bahía (Brasil) (prob = 0,9) y *A. senex* del Área protegida Montes de Queguay (Uruguay) (prob = 0,94). Sin embargo, encontramos que el morfotipo del Parque Nacional Lanín (Argentina), que habita en costas de lagos de arena volcánica, presenta un patrón contrario. En este morfotipo encontramos que es menos probable encontrar hembras activas durante la noche (prob = 0,04). En la especie *Paratrochosina amica*, encontramos proporciones sexuales similares, con una probabilidad de hallar hembra que oscilan entre 0,45 y 0,67. También encontramos diferencias entre ambientes en la actividad de superficie nocturna. La costa de arena volcánica presentó la menor probabilidad de encontrar hembras en superficie (prob = 0,04) mientras que en la costa oceánica hubo una alta probabilidad (prob = 0,90) de encontrar hembras.

Los datos de este objetivo ya se han analizado y serán publicados juntos con los correspondientes del OE2. El manuscrito está en preparación (ver anexo adjunto) para ser sometido a una revista internacional arbitrada.

OE4: Reconstruir la historia evolutiva de la inversión de roles sexuales en Allocosinae de América del Sur en relación a caracteres morfológicos y en base a sus preferencias ambientales.

Si bien contamos con todos los datos para realizar este objetivo, resta realizar estos análisis por dos razones: i) estamos terminando los análisis definitivos para obtener la filogenia de las Allocosinae sudamericanas, ii) nos encontramos re-evaluando la forma de analizar los datos. Inicialmente habíamos propuesto la reconstrucción de los estados ancestrales del carácter "presencia de inversión de roles sexuales" basado en la existencia de dimorfismo sexual de tamaño corporal invertido (especie con machos de tamaño corporal mayor que las hembras). En un estudio presentado en el VI Congreso Latinoamericano de Aracnología por Guerra et al. 2020 [78] reportó una excepción a la regla en la especie *A. alticeps* presente en dunas costeras al sur de la provincia de Buenos Aires. Esta especie no presenta dimorfismo sexual de tamaño corporal invertido, pero sí características del comportamiento que coinciden con las predicciones de inversión de roles sexuales para esta especie.

Otros resultados en relación al proyecto:

En la segunda salida de campo realizada en el Parque Nacional Lanín (Argentina) se registró el comportamiento sexual del morfotipo que habita los arenales volcánicos de las costas del lago Huechulafquen. Se observó que presenta características del comportamiento que coinciden con los de inversión de roles sexuales como las reportadas en *A. senex* y *A. marindia*. También se registraron casos de canibalismo sexual del macho hacia la hembra, al igual que el reportado en *A. senex* [79].

El proyecto también dio apoyo a otros estudios realizados en las especies foco de estudio que aportaran al entendimiento sobre la ecología, comportamiento, biología reproductiva, estructura genética, demografía y evolución de este grupo. Algunos de estos trabajos fueron publicados [77, 80-83] o han sido sometidos para su publicación y están en revisión (ver anexo adjunto), y en los cuales participaron los investigadores, colaboradores y estudiantes del proyecto.

Es de resaltar que durante el desarrollo del proyecto los resultados se presentaron en congresos nacionales, regionales e internacionales. Se realizaron conferencias y organizaron simposios. Se organizaron cursos y dictaron clases donde también se expuso el modelo de estudio y los resultados obtenidos. Se realizaron numerosas actividades de extensión (charlas y talleres en escuelas y liceos) divulgando los resultados obtenidos y abordando diferentes aspectos de las especies foco de estudio. Se brindaron entrevistas para la televisión, radio y periódicos. Se generó material de divulgación (póster, postales, banners, acuarelas, marcalibros, pegatinas, camisetas, videos y fotos) que se utilizaron en las diversas actividades de extensión. El detalle de esta información está en los anexos (Anexo\_FCE\_1\_2017\_1\_136269\_25x2021; Leyendas de fotos\_videos\_material divulgacion\_FCE\_1\_2017\_1\_136269\_25x2021).

## Conclusiones y recomendaciones

Encontramos que la subfamilia Allocosinae presenta una mayor diversidad a la reportada antes del comienzo del presente proyecto. A partir de la integración de datos moleculares y morfológicos se identificaron seis linajes principales. Uno de estos linajes incluye las especies *Allocosa senex*, *A. marindia*, *A. alticeps* y morfotipos colectados durante las salidas de campo del proyecto. Este linaje está asociado a sustratos arenosos de costas oceánicas y de ríos, cauces de arroyo y costa de lago de arena volcánica y tiene una amplia distribución. Otro de los linajes identificados incluye a los morfotipos, también colectados en las salidas de campo del proyecto e identificados como *Paratrochosina amica*, que también presenta una amplia distribución subcontinente y se encuentra en pastizales y ambientes abiertos. Esta especie fue redescrita y ubicada filogenéticamente dentro de la subfamilia Allocosinae. Los restantes linajes podrían corresponderse a géneros y/o especies nuevas que aguardan ser descritas en las futuras publicaciones.

Dentro de las Allocosinae analizadas de Sudamérica, los morfotipos identificados en Parque Nacional Lanín (Argentina) y Coquimbo (Chile) presentan machos más grandes que las hembras, al igual que lo reportado para *A. senex* y *A. marindia*. Queda confirmar si estos morfotipos se corresponden a nuevas especies. Estos morfotipos habitan ambientes de arenales costeros oceánicos y de lagos de arena volcánica. Respecto a las otras especies sudamericanas analizadas, no encontramos evidencia de dimorfismo sexual de tamaño. Si bien las especies o morfotipos que presentan inversión del dimorfismo sexual de tamaño están asociadas a ambientes de arenales costeros y pertenecen al mismo linaje, no todas las especies que viven en estos ambientes presentan esta inversión. También encontramos que el tamaño de los individuos varía según el microambiente, los más grandes son de costas de arena de arena volcánica y costas fluviales y los más chicos se encuentra en la hojarasca y pastizales. El hábitat parece ser relevante en la en la determinación de los tamaños corporales.

En general, encontramos que en todas las especies y morfotipos hay una tendencia a encontrar con mayor probabilidad hembras activas durante la noche, pero ésto es más marcado en las localidades analizadas para *A. senex* asociadas a arenales costeros de ríos y *A. cf. senex* asociada a arenales de costa oceánica. Encontramos un patrón opuesto en el morfotipo del Parque Nacional Lanín (Argentina), que habita en costas de lagos de arena volcánica. En este caso es más probable encontrar machos activos durante la noche. Este morfotipo, al igual que *A. senex* y *A. marindia*, también construye cuevas en la arena y presenta características del comportamiento sexual relacionadas a la inversión de roles sexuales. La especie *Paratrochosina amica*, que habita en pastizales y jardines, presentó probabilidad similares de hallar hembra y machos y no se detectó diferencia en el tamaño corporal entre los sexos. Encontramos diferencias entre ambientes en la actividad de superficie nocturna. En la costa de arena volcánica es menos probable encontrar hembras activas en superficie, mientras que las costa oceánica y ribereñas es más probable encontrar hembras.

Hasta el momento, todas las especies o morfotipos analizados que presentan inversión del dimorfismo sexual de tamaño corporal están asociadas a ambientes de arenales costeros y están filogenéticamente relacionadas (i.e. *A. senex*, *A. marindia*, morfotipos del Parque Nacional Lanín en Argentina y de Coquimbo en Chile). Resta analizar si estos morfotipos se corresponden a otra especie. Sería importante realizar estudios de comportamiento sexual en estos morfotipos y estudiar si presentan al igual que *A. senex* y *A. marindia* inversión en los roles sexuales. Sería especialmente interesante estudiar el morfotipo del Parque Nacional Lanín, en el cual se encontró que los machos son más activos que las hembras durante la noche, al contrario de lo que ocurre con *A. senex* y *A. marindia*. A su vez este grupo de especies está cercanamente emparentado con *A. alticeps* y uno de los morfotipos del Parque Provincial Ischigualasto, las cuales no presentan inversión en el dimorfismo sexual. En el trabajo de Guerra et al. (2020) en *A. alticeps*, que habita las dunas costeras al sur de la provincia de Buenos Aires, se reportó que la especie presenta características del comportamiento que coinciden con las predicciones de inversión de roles sexuales. Este hallazgo también nos lleva a plantearnos nuevos estudios para investigar el comportamiento sexual en otras especies y morfotipos que estén presente en distintos ambientes (incluyendo también los de arenales costeros), pero para los cuales no se detectó inversión del dimorfismo sexual de tamaño. La realización de futuros estudios es muy importante, dado que inicialmente en nuestro proyecto el rasgo inversión del dimorfismo sexual de tamaño corporal fue propuesto como indicador para reconstruir la historia

evolutiva de la inversión de roles sexuales en la subfamilia Allocosinae de América del Sur.

Finalmente, es de destacar el gran potencial del grupo de investigación multidisciplinario y multicultural que se formó en este proyecto. El grupo trabajó de manera eficiente, colaborativa y constructiva, fortaleciéndose desde las diferentes disciplinas de estudio. Continuamos trabajando de esta manera y han surgido nuevas colaboraciones en temáticas relacionadas. Por otro lado, este proyecto pone a América del Sur como un sitio prometedor para realizar estudios que busquen entender las presiones que modelan los comportamientos sexuales y dimorfismo sexual en arañas.

## Referencias bibliográficas

1. Trivers R. Parental investment and sexual selection. In: Cambel B, editor. *Sexual Selection and the Descent of Man*. Chicago: Aldine; 1972. p. 136-79.
2. Bonduriansky R. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biol Rev*. 2001;76(3):305-39.
3. Andersson MB. *Sexual selection*. New York: Princeton University Press; 1994.
4. Gwynne DT. Sexual competition among females: What causes courtship-role reversal? *Trends Ecol Evol*. 1991;6(4):118-21.
5. Aisenberg A. Adventurous females and demanding males: sex role reversal in a neotropical spider. In: Macedo RH, Machado G, editors. *Sexual Selection: Perspectives and Models from the Neotropics*. USA: Elsevier; 2014. p. 163-82.
6. Eens M, Pinxten R. Sex-role reversal in vertebrates: behavioural and endocrinological accounts. *Behavioural processes*. 2000;51(1):135-47.
7. Queller DC. Why do females care more than males? *P Roy Soc Lond B Bio*. 1997;264(1388):1555-7.
8. Karlsson B, Leimar O, Wiklund C. Unpredictable environments, nuptial gifts and the evolution of sexual size dimorphism in insects: an experiment. *P Roy Soc Lond B Bio*. 1997;264(1381):475-9.
9. Lorch PD. Understanding reversals in the relative strength of sexual selection on males and females: a role for sperm competition? *Am Nat*. 2002;159(6):645-57.
10. Blanckenhorn WU. Behavioral causes and consequences of sexual size dimorphism. *Ethology*. 2005;111(11):977-1016.
11. Vollrath F, Parker GA. Sexual dimorphism and distorted sex ratios in spiders. *Nature*. 1992;360(6400):156-9.
12. Hormiga G, Scharff N, Coddington JA. The phylogenetic basis of sexual size dimorphism in orb-weaving spiders (Araneae, Orbiculariae). *Syst Biol*. 2000;49(3):435-62.
13. Foellmer MW, Moya-Laraño J. Sexual size dimorphism in spiders: patterns and processes. In: Fairbairn DJ, Blanckenhorn WU, Székely T, editors. *Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism*. Oxford: Oxford University Press; 2007. p. 71-81.
14. De Mas E, Ribera C, Moya-Laraño J. Resurrecting the differential mortality model of sexual size dimorphism. *J Evol Biol*. 2009;22(8):1739-49.
15. Head G. Selection on fecundity and variation in the degree of sexual size dimorphism among spider species (class Araneae). *Evolution*. 1995;49(4):776-81.
16. Vollrath F. Dwarf males. *Trends Ecol Evol*. 1998;13(4):159-63.
17. Walker SE, Rypstra AL. Sexual dimorphism and the differential mortality model: is behaviour related to survival? *Biol J Linn Soc* 2003;78(1):97-103.
18. Framenau VW. Gender specific differences in activity and home range reflect morphological dimorphism in wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *J Arachnol*. 2005;33(2):334-46.
19. Logunov DV. Sexual size dimorphism in burrowing wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Proceedings of the Zoological Institute RAS*. 2011;315(3):274-88.
20. Capocasale RM. Las especies de la subfamilia Hippasinae de America del Sur (Araneae, Lycosidae). *J Arachnol*. 1990;18(2):131-41.
21. Costa FG, Simó M, Aisenberg A. Composición y ecología de la fauna epígea de Marindia (Canelones, Uruguay) con especial énfasis en las arañas: un estudio de dos años con trampas de interceptación. In: Menafrá R, Rodríguez-Gallego L, Scarabino F, Conde D, editors. *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. Montevideo: Vida Silvestre Uruguay; 2006. p. 427-36.
22. Aisenberg A, Viera C, Costa FG. Daring females, devoted males, and reversed sexual size dimorphism in the sand-dwelling spider *Allocosa brasiliensis* (Araneae, Lycosidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2007;62(1):29-35.
23. Aisenberg A, Costa FG. Reproductive isolation and sex-role reversal in two sympatric sand-dwelling wolf spiders of the genus *Allocosa*. *Can J Zool*. 2008;86(7):648-58.
24. Aisenberg A, González M. Male mate choice in *Allocosa alticeps* (Araneae: Lycosidae), a sand-dwelling spider with sex role reversal. *J Arachnol*. 2011;39(3):444-8.
25. Aisenberg A, González M, Laborda A, Postiglioni R, Simó M. Spatial distribution, burrow depth and temperature: implications for the sexual strategies in two *Allocosa* wolf spiders. *Stud Neotrop Fauna E*. 2011;46(2):147-52.
26. Aisenberg A, González M, Laborda A, Postiglioni R, Simó M. Reversed cannibalism, foraging, and surface activities of *Allocosa alticeps* and *Allocosa brasiliensis*: two wolf spiders from coastal sand dunes. *J Arachnol*. 2009;37(2):135-8.
27. Postiglioni R, González M, Aisenberg A, editors. Permanencia en la cueva masculina y producción de ootecas en dos

- arañas lobo de los arenales costeros. Actas IX Jornadas de Zoología del Uruguay; 2008; Montevideo, Uruguay.
28. Natural History Museum Bern [Internet]. version 18.0. 2017 [cited 2016-10-18]. Available from: <http://wsc.nmbe.ch>.
  29. Dondale CD, Redner JH. The wolf spider genus *Allocosa* in North and Central America (Araneae: Lycosidae). *The Canadian Entomologist*. 1983;115(08):933-64.
  30. Heled J, Drummond AJ. Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Mol Biol Evol*. 2010;27(3):570-80.
  31. Leaché AD, Fujita MK. Bayesian species delimitation in West African forest geckos (*Hemidactylus fasciatus*). *Proc R Soc B*. 2010;277:3071-7.
  32. Yang Z, Rannala B. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(20):9264-9.
  33. Bryant D, Bouckaert R, Felsenstein J, Rosenberg NA, RoyChoudhury A. Inferring species trees directly from biallelic genetic markers: bypassing gene trees in a full coalescent analysis. *Mol Biol Evol*. 2012;29(8):1917-32.
  34. Leaché AD, Fujita MK, Minin VN, Bouckaert RR. Species delimitation using genome-wide SNP data. *Syst Biol*. 2014;63(4):534-42.
  35. Garamszegi LZ. *Modern phylogenetic comparative methods and their application in evolutionary biology*. New York: Springer; 2014.
  36. Harvey PH, Pagel MD. *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University press Oxford; 1991.
  37. Maddison WP. Gene trees in species trees. *Syst Biol*. 1997;46(3):523-36.
  38. Knowles LL, Maddison WP. Statistical phylogeography. *Mol Ecol*. 2002;11(12):2623-35.
  39. Edwards SV. Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution*. 2009;63(1):1-19.
  40. Sánchez-Gracia A, Castresana J. Impact of deep coalescence on the reliability of species tree Inference from different types of DNA markers in Mammals. *PLoS One*. 2012;7(1):e30239.
  41. Postiglioni R. *Estructuración genética y variación morfológica en ambientes fluviales y oceánico-estuarinos en la araña Allocosa brasiliensis (Lycosidae) del sur de Uruguay [M.Sc. dissertation]*. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República; 2015.
  42. Bidegaray-Batista L, Arnedo MA, Carlozzi A, Jorge C, Plissock P, Postiglioni R, et al. Dispersal strategies, genetic diversity and distribution of two wolf spiders (Araneae, Lycosidae), potential bio-indicators of ecosystem health of coastal dune habitats of South America. In: Viera C, Gonzaga MO, editors. *Behavioral and Ecology of Neotropical Spiders - Contributions of studies from the Neotropical region*: Springer; in press.
  43. Lemmon EM, Lemmon AR. High-throughput genomic data in systematics and phylogenetics. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2013;44:99-121.
  44. McCormack JE, Hird SM, Zellmer AJ, Carstens BC, Brumfield RT. Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Mol Phylogen Evol*. 2012;66:526-38. doi: 10.1016/j.ympev.2011.12.007.
  45. Garrison NL, Rodriguez J, Agnarsson I, Coddington JA, Griswold CE, Hamilton CA, et al. Spider phylogenomics: untangling the Spider Tree of Life. *PeerJ*. 2015;4:e1719; DOI10.7717/peerj.1719. doi: 4:e1719; DOI10.7717/peerj.1719.
  46. Hamilton CA, Lemmon AR, Lemmon EM, Bond JE. Expanding anchored hybrid enrichment to resolve both deep and shallow relationships within the spider tree of life. *BMC Evol Biol*. 2016;16(1):212.
  47. Starrett J, Derkarabetian S, Hedin M, Bryson RW, McCormack JE, Faircloth BC. High phylogenetic utility of an ultraconserved element probe set designed for Arachnida. *Mol Ecol Resour*. 2016;doi 10.1111/1755-0998.12621. doi: 10.1111/1755-0998.12621.
  48. Wang S, Meyer E, McKay JK, Matz MV. 2b-RAD: a simple and flexible method for genome-wide genotyping. *Nature methods*. 2012;9(8):808-10.
  49. Costa FG. *Ecología y actividad diaria de las arañas de la arena Allocosa spp. (Araneae, Lycosidae) en Marindia, localidad costera del sur del Uruguay*. *Rev Bras Biol*. 1995;55(3):457-66.
  50. Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*. 2005;25(15):1965-78.
  51. Fischer G, Nachtergaele F, Prieler S, Van Velthuizen H, Verelst L, Wiberg D. *Global agro-ecological zones assessment for agriculture (GAEZ 2008)*. IIASA, Laxenburg, Austria and FAO, Rome, Italy. 2008.
  52. Wheeler WC, Coddington JA, Crowley LM, Dimitrov D, Goloboff PA, Griswold CE, et al. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics*. 2016:1-43. doi: 10.1111/cla.12182.
  53. Planas E, Fernández-Montraveta C, Ribera C. Molecular systematics of the wolf spider genus *Lycosa* (Araneae: Lycosidae) in the Western Mediterranean Basin. *Mol Phylogen Evol*. 2013;67(2):414-28.
  54. Piacentini LN, Ramírez MJ. Hunting the wolf: A molecular phylogeny of the wolf spiders (Araneae, Lycosidae). *Mol Phylogen Evol*. 2019;136:227-40.
  55. Goloboff PA, Farris JS, Nixon KC. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*. 2008;24(5):774-86.

56. Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*. 2006;22(21):2688-90.
57. Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol*. 2012;61(3):539-42.
58. Drummond AJ, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol*. 2007;7(214):214.
59. Bidegaray-Batista L, Arnedo MA. Gone with the plate: the opening of the Western Mediterranean basin drove the diversification of ground-dweller spiders. *BMC Evol Biol*. 2011;11(1):317.
60. Degnan JH, Rosenberg NA. Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends Ecol Evol*. 2009;24(6):332-40.
61. Eberhard WG, Huber BA, S. RLR, Briceño RD, Salas I, Rodriguez V. One size fits all? Relationships between the size and degree of variation in genitalia and other body parts in twenty species of insects and spiders. *Evolution*. 1998;52(2):415-31.
62. Moya-Lara, J, Cabeza M. Bimodality in the body size distribution of Mediterranean tarantula juveniles: Humphreys' Russian roulette revisited. *Revista Ibérica de Aracnología*. 2003;7:211-9.
63. Foellmer MW, Fairbairn DJ. Selection on male size, leg length and condition during mate search in a sexually highly dimorphic orb-weaving spider. *Oecologia*. 2005;142(4):653-62.
64. Aisenberg A, Peretti AV. Male burrow digging in a sex role-reversed spider inhabiting water-margin environments. *Bulletin of the British Arachnological Society*. 2011;15(6):201-4.
65. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria 2020.
66. Delignette-Muller ML, Dutang C. fitdistrplus: An R package for fitting distributions. *J Stat Softw*. 2015;64(4):1-34.
67. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv:14065823*. 2014.
68. Fox J, Weisberg S, Adler D, Bates D, Baud-Bovy G, Ellison S, et al. Package 'car'. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2012:16.
69. Hothorn T, Bretz F, Westfall P, Heiberger RM, Schuetzenmeister A, Scheibe S, et al. Package 'multcomp'. Simultaneous inference in general parametric models Project for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2016.
70. Villanueva RAM, Chen ZJ. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Taylor & Francis; 2019.
71. Nielsen R, Huelsenbeck JP. Detecting positively selected amino acid sites using posterior predictive P-values. *Pac Symp Biocomput*. 2002:576-88. PubMed PMID: 11928509.
72. Revell LJ. phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods Ecol Evol*. 2012;3(2):217-23.
73. Rohlf FJ. Comparative methods for the analysis of continuous variables: geometric interpretations. *Evolution*. 2001;55(11):2143-60.
74. Adams DC. A method for assessing phylogenetic least squares models for shape and other high-dimensional multivariate data. *Evolution*. 2014;68(9):2675-88.
75. Paradis E, Claude J, Strimmer K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*. 2004;20(2):289-90.
76. Adams DC, Otárola-Castillo E. geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods Ecol Evol*. 2013;4(4):393-9.
77. Gonnet V, Bidegaray-Batista L, Aisenberg A, Laborda Á, Hagopíán D, Izquierdo MA, et al. A wolf spider from South American grasslands: phylogenetic placement and redescription of *Paratrochosina amica* (Mello-Leitão 1941). *Zoologischer Anzeiger*. 2021;295:1-11.
78. Guerra C, Ferretti N, Aisenberg A. VI Congreso Latinoamericano de Aracnología. ¿Una nueva excepción a la regla? Poniendo a prueba la hipótesis de inversión de roles sexuales en *Allocosa alticeps*. Buenos Aires, Argentina 2020. p. 254-5.
79. Aisenberg A, Costa FG, González M. Male sexual cannibalism in a sand-dwelling wolf spider with sex role reversal. *Biol J Linn Soc* 2011;103:68-75.
80. Postiglioni R, Bidegaray-Batista L, Simó M, Arnedo MA. Move to stay: genetic structure and demographic history of a wolf spider inhabiting coastal sand dunes of southern South America. *Syst Biodivers*. 2019;17(7):1-15.
81. Cavassa D, Gonnet V, Kacevas N. Entre la tierra y el pasto: preferencia de micro-hábitat en *Allocosa* sp. (Lycosidae), una araña lobo de los pastizales uruguayos. *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay*. 2019;28(2):95-9.
82. Pintos P, Toscano-Gadea CA, González M, Postiglioni R, Gonnet V, Kacevas N, et al. De tal palo, tales astillas: progenie de arañas lobo del Uruguay (Araneae: Lycosidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay*. 2021;30(1):53-60.
83. Albín A, González M, Simó M, Kossyrczyk EW, Bidegaray-Batista L, Aisenberg A. Eight-legged swimmers: Behavioral

responses to floods in two South American spiders. *Ethology*. 2021;00:1-8.

### **Licenciamiento**

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)