

Análise Filogeográfica da Aranha *Vitalius longisternalis* Bertani 2001 (Mygalomorphae, Theraphosidae)

Candidato: Wolf J Moeller; Orientador: Prof. Dr. José Paulo Leite Guadanucci;
Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro, SP

RESUMO

Aranhas da infraordem Mygalomorphae, conhecidas como caranguejeiras, se caracterizam pela alta homogeneidade morfológica e hábitos de vida sedentários, que refletem em baixa vagilidade e capacidade de dispersão. Estas características normalmente ocasionam forte estruturação na genética populacional. Desta forma, tornam-se excelentes organismos modelos em estudos integrativos como a filogeografia e a filogenia molecular, que visam descrever os mecanismos que moldam a distribuição geográfica das linhagens genealógicas em toda sua abrangência intraespecífica, relacionando com o histórico evolutivo entre as espécies. Através de uma abordagem integrativa, pautada em dados moleculares, morfométricos e geográficos, serão realizadas análises filogeográficas para a espécie *Vitalius longisternalis* Bertani 2001. Esta aranha, possui uma das distribuições mais amplas para o gênero, que em sua abrangência, transpassa possíveis barreiras geográficas, como o rio Iguazu, considerado o maior rio do estado do Paraná e o complexo de serras e escarpas que dividem os planaltos dos estados do Paraná, Santa Catarina e a Província de Misiones na Argentina. Também pretende-se analisar as diferenças morfológicas notadas entre as populações da espécie por meio de análises morfométricas, como variações nas proporções de largura e comprimento do esterno, característica esta, considerada diagnose para a espécie. Espera-se compreender as relações intraespecíficas e interespecíficas de *V. longisternalis*, delimitar possíveis espécies crípticas existentes, testar a eficácia de uma metodologia integrativa nos estudos de sistemática de aranhas e colaborar para um melhor entendimento dos padrões e processos que moldaram a atual distribuição da biodiversidade na Mata Atlântica.

ABSTRACT

Spiders of the Mygalomorphae infraorder, known as tarantula, are characterized by high morphological homogeneity and sedentary lifestyle habits, which reflect in low vagility and dispersion capacity. These characteristics usually cause a strong structure in population genetics. In this way, they become excellent model organisms in integrative studies such as phylogeography and molecular phylogeny, which aim to describe the mechanisms that shape the geographic distribution of genealogical lineages in all their intraspecific scope, relating to the evolutionary history between species. Through an integrative approach, based on molecular, morphometric and geographic data, phylogeographic analyzes will be carried out for the species *Vitalius longisternalis* Bertani 2001. This spider has one of the largest distributions for the genus, which crosses possible geographical barriers, like the Iguazu River, considered the largest river in the state of Paraná and the complex of mountains and escarpments that divide the plateaus of Paraná, Santa Catarina states and Misiones Province in Argentina. It is also intended to analyze the morphological differences noted between the populations of the species using morphometric analyzes, such as variations in the proportions of the width and length of the sternum, a characteristic that is considered diagnosis for the species. It is expected to understand the intraspecific and interspecific relationships of *V. longisternalis*, delimit possible cryptic species, test the effectiveness of an integrative methodology in the systematic studies of spiders and collaborate for a better understanding of the patterns and processes that have shaped the current distribution of biodiversity in the Atlantic Forest.

1. INTRODUÇÃO

As aranhas são predadoras, altamente especializadas em suas estratégias de sobrevivência e amplamente distribuídas no Planeta (FOELIX, 2011). Consideradas o quinto táxon mais rico em diversidade de espécies, ficando atrás de Ordens de insetos como Coleoptera, Lepidoptera e Hymenoptera, e entre os aracnídeos, atrás dos ácaros (ZHANG, 2013). É representada por aproximadamente 48 mil espécies descritas (WORLD SPIDER CATALOG, 2020), mas sua diversidade real ainda encontra-se subestimada (CODDINGTON & LEVI, 1991). A principal sinapomorfia do grupo é a produção da seda por meio de órgãos especializados, denominados fiandeiras e a presença de um bulbo copulatório nos tarsos dos pedipalpos dos machos, uma estrutura especializada na transferência de esperma (WHEELER *et al.*, 2017).

Segundo a hipótese filogenética de Platnick & Gertsch (1976), a ordem Araneae é subdividida em duas subordens: Mesothelae, representada pela infraordem Liphistiomorphae, com distribuição exclusiva na região Indo-Malaia e caracterizadas por reterem caracteres considerados muito basais, como segmentação externa do abdômen, dois pares de pulmões foliáceos e quatro pares de fiandeiras dispostas na face ventral, inseridas medialmente no abdômen; Opisthothelae, com ampla distribuição mundial e caracterizadas pela posição posterior das fiandeiras no abdômen, representada pelas infraordens Mygalomorphae e Araneomorphae (FOELIX, 2011).

A Infraordem Mygalomorphae inclui as aranhas conhecidas como caranguejeiras, tarântulas, aranhas teia de funil ou aranhas de alçapão. É um grupo que retém caracteres plesiomórficos como a posição paraxial das quelíceras e dois pares de glândulas coxais (PLATNICK & GERTSCH, 1976). São representadas por cerca de 3.000 espécies, aproximadamente 6% da diversidade total de aranhas (WORLD SPIDER CATALOG, 2020). Estão distribuídas segundo Opatova *et al.*, 2019, em 28 famílias: Atypidae, Antrodiaetidae, Meciobothridae, Ischnothelidae, Microexuridae, Hexathelidae, Euagridae, Porrhothelidae,

Macrothelidae, Paratropididae, Stasimopidae, Atracidae, Actinopodidae, Halonoproctidae, Migidae, Idiopidae, Ctenizidae, Euctenizidae, Bemmeridae, Barychelidae, Theraphosidae, Nemesiidae, Pycnothelidae, Dipluridae, Cyртаcheniidae, Anamidae, Hermachidae e Microstigmatidae.

As aranhas migalomorfas de maneira geral possuem comportamento sedentário, com distribuição limitada e baixa vagilidade (PÉREZ-MILES & PERAFÁN, 2017). Habitam a serrapilheira, troncos de árvores, cavidades, frestas no solo e cavernas. Algumas podem assumir hábito arborícola, ou construir suas tocas utilizando estruturas para amparar a seda. Em outros casos, podem escavar a toca no solo, que por vezes pode conter um opérculo de proteção, caracterizando o alçapão (FOELIX, 2011; FONSECA-FERREIRA *et al.*, 2017; PÉREZ-MILES&PERAFÁN, 2017).

A sistemática e taxonomia de Mygalomorphae é um desafio à parte. O grupo possui um reduzido número de caracteres taxonômicos, que geralmente são conservativos, ocasionando muitas reconstruções homoplásticas quando comparados com Araneomorphae (BOND& OPELL, 2002; PÉREZ-MILES & PERAFÁN, 2017). Desta forma, o uso de caracteres morfológicos para diferenciação de táxons pode apresentar resultados imprecisos e divergentes, que refletem em um reduzido número de trabalhos representativos pautados nestas características até o último século (RAVEN 1985; GOLOBOFF 1993). O recente avanço das técnicas de biologia molecular tornou seu uso mais acessível, permitindo a utilização em trabalhos de taxonomia e sistemática, demonstrando maior precisão, principalmente quando aliada aos caracteres morfológicos. Esta mudança resultou no aumento de trabalhos de alta relevância voltados a sistemática interfamiliar somente nas duas últimas décadas (HEDIN & BOND 2006, BOND *et al.*, 2012; HEDIN *et al.*, 2018, HEDIN *et al.*, 2019, OPTOVA *et al.*, 2019).

Das famílias de Mygalomorphae, Theraphosidae é a mais representativa, composta por 987 espécies (WORLD SPIDER CATALOG, 2020). Atualmente é representada por 11 subfamílias,

baseadas em dados morfológicos, conforme a hipótese filogenética proposta por Guadanucci (2014): Thrigmopoeinae e Ornithoctoninae (Ásia), Eumenophorinae, Stromatopelminae e Harpactirinae (África), Selenogyrinae (África e Índia), Theraphosinae, Aviculariinae e Schismatothelinae (região neotropical), Selenocosmiinae (Austrália, Ásia e Américas) e 'Ischnocolinae' (Américas e África). Ainda, Schmidt (2010) propõe uma divisão de Selenocosmiinae, com a criação de uma nova subfamília Psalmopoeinae.

O Gênero *Vitalius* pertence a subfamília Theraphosinae e foi originalmente proposto por Lucas, Silva & Bertani (1993) durante a revisão do gênero *Pamphobeteus*, e posteriormente revisado por Bertani (2001). Nesta revisão, foram propostos os principais caracteres taxonômicos para o gênero: êmbolo com uma quilha subapical triangular nos machos, ausência de cerdas estridulatórias, espermateca com dois receptáculos separados por uma base fortemente esclerotizada e presença de cerdas urticantes tipo III nas fêmeas. Foram estabelecidas nove espécies: *Vitalius buecherli* (Bertani, 2001), *Vitalius dubius* (Mello-Leitão, 1923), *Vitalius longisternalis* (Bertani, 2001), *Vitalius lucasae* (Bertani, 2001), *Vitalius paranaensis* (Bertani, 2001), *Vitalius roseus* (Mello-Leitão, 1923), *Vitalius sorocabae* (Mello-Leitão, 1923), *Vitalius vellutinus* (Mello-Leitão, 1923) e *Vitalius wacketi* (Mello-Leitão, 1923). Posteriormente, Bertani *et al.* (2012) transferem de *Hapalopus* para *Vitalius* a espécie *Vitalius nondescriptus*. A distribuição do gênero inclui os estados brasileiros de Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Mato Grosso, além de registros na província de Misiones na Argentina para as espécies *V. longisternalis* e *V. paranaensis* (BERTANI, 2001, BERTANI 2012, FERRETTI, 2015), percorrendo três biomas: Pampa, Mata Atlântica e Cerrado.

Dentre as espécies do gênero, *V. longisternalis* se destaca pela sua ampla área de ocorrência (Santa Catarina, Paraná, São Paulo e Misiones na Argentina), sendo registrada em diferentes fitofisionomias de Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Mista e Floresta Estacional

Semidecidual) e altitudes que variam entre 170m (Parque Nacional do Iguaçu - PR) à 1300m (São Bento – SC). Diferencia-se das demais espécies do gênero pelo esterno muito mais longo do que largo (BERTANI, 2001, FERRETTI, 2015).

Sua distribuição ocorre nos estados brasileiros do Paraná e Santa Catarina e na província de Misiones na Argentina, percorrendo diferentes regiões geomorfológicas: Planalto de Rio Paraná, Planalto das Araucárias, Planalto de Paranapiacaba, Patamar Oriental do Rio Paraná e Serra catarinense. É importante ressaltar que devido ao histórico de formação destas unidades de relevo, existem um conjunto de descontinuidades geológicas, como serras e escarpas, que marcam as regiões limítrofes entre elas e podem agir como possíveis barreiras biogeográficas (VITTE & GUERRA, 2004). Tais características moldaram uma topografia disforme, com regiões de altas e médias altitudes intercaladas, que influenciam o clima e conseqüentemente o tipo de vegetação (CHRISTOFOLETTI, 1980). Além disto, a espécie se faz presente ao longo de toda a extensão da bacia do rio Iguaçu, considerado o maior em extensão do estado do Paraná (1.320 km), que nasce no Planalto de Paranapiacaba, próximo à cidade de Curitiba e deságua no rio Paraná, no Planalto das Araucárias. O grande porte deste corpo hídrico pode influenciar a distribuição de linhagens populacionais de *V. longisternalis*, como demonstrado em outras regiões e táxons como: lagartos (PELLEGRINO *et al.*, 2005; O'NEILL *et al.*, 2008), anfíbios anuros (LI, *et al.*, 2009; GEHRING *et al.*, 2012) aves Passeriformes (HAYES *et al.*, 2004), serpentes (BRANDLEY *et al.*, 2010), roedores (RORATTO *et al.*, 2015), peixes Actinopterygii (BARTÁKOVÁ *et al.*, 2015) e borboletas (HALL & HARVEY, 2002).

A influência de barreiras biogeográficas na delimitação de espécies e é um dos temas estudados pela filogeografia (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2013). O termo foi cunhado por AVISE *et al.*, (1987), após a modernização de técnicas de genética molecular, que passaram a utilizar DNA mitocondrial para abordar como indivíduos são genealogicamente relacionados (BEHEREGARAY, 2008; AVISE 2009). Considerada uma subdisciplina da biogeografia (CRISCI, 2001; SANTOS&

AMORIM, 2008), une através de informações moleculares, processos macroevolutivos, como a sistemática filogenética e a geografia histórica, a processos microevolutivos, como a genética de populações e a demografia (AVISE *et al.*, 1987; AVISE, 2009). Estudos filogeográficos no hemisfério sul ainda são pouco expressivos ao considerarmos o número de estudos realizados no hemisfério norte (BEHEREGARAY, 2008). No Brasil, tais estudos tem crescido de forma considerável nos últimos anos (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2013), especialmente para delineamento de hipóteses biogeográficas relacionadas aos biomas sul-americanos (COSTA 2003; MAGALHÃES *et al.*, 2015; BARTOLETI *et al.*, 2017), a dinâmica de ambientes físicos e bióticos ao longo do tempo com base em uma população atual (ALEIXO 2004; CARNAVAL *et al.*, 2009; FRANÇOSO *et al.*, 2016), delimitação de espécies e/ou populações presentes em complexos crípticos (OLIVEIRA *et al.*, 2011; MACRINI *et al.* 2015).

Existem alguns estudos filogeográficos representativos para aranhas Theraphosidae. Em Hendrixson *et al.* (2013), os autores estudaram a relação entre populações de *Aphonopelma joshua* e *Aphonopelma mojave*. Enquanto *A. joshua* possui distribuição endêmica ao Parque Nacional Joshua Tree e arredores no sudeste do estado da Califórnia - EUA, *A. mojave* possui distribuição ampla ao longo do Deserto de Mojave percorrendo os estados da Califórnia, Nevada e Utah. Além disto, *A. mojave* também apresenta dois morfótipos distintos. Os autores coletaram dados de distribuição e material genético de ambas as espécies em diversas localidades. As análises genéticas sustentaram a posição de *A. joshua* como espécie, mas demonstraram que as populações de *A. mojave* eram parafiléticas, divididas em 5 clados distintos, passíveis de serem elevadas a espécie. Ainda, Hamilton *et al.* (2011), realizaram estudos filogeográficos com *Aphonopelma hentzi*. O objetivo dos autores foi reconstruir a filogenia das espécies do grupo *hentzi* com base em marcadores de DNA mitocondrial e dados biogeográficos. Os resultados apontaram a possibilidade de haver espécies crípticas dentro do grupo. Também sugerem que a fragmentação do habitat durante o Pleistoceno e a subsequente expansão destas áreas moldou os padrões filogeográficos contemporâneos e a diversidade de

Aphonopelma no sudoeste dos Estados Unidos. Para o neotrópico, Montes de Oca *et al.*, 2016, também utilizaram esta abordagem integrativa na resolução de problemas taxonômicos relacionados à *Grammostola anthracina*. Esta espécie era originalmente representada por duas populações não simpátricas com diferentes colorações, distribuída por todo o Uruguai e separadas pelo Rio Negro. A população ao norte apresentava coloração preta enquanto a população ao sul apresentava coloração marrom avermelhado. Além disto, já haviam sido registradas diferenças no comportamento de corte e cópula entre elas (POSTIGLIONI & COSTA, 2006). Para compreender a dinâmica destas populações, foram levantados dados de distribuição, material genético e morfologia. Os resultados apontaram que além da distribuição distinta, havia divergência genética significativa entre as populações e que estas também apresentavam diferenças morfológicas na apófise tibial dos machos. Desta forma foi proposta a divisão da espécie, considerando a população ao sul como *G. anthracina* e a população ao norte como *Grammostola quirogai*.

Até o momento, apenas quatro trabalhos usando aranhas como modelos filogeográficos foram realizados no Brasil, nenhum com aranhas Mygalomorphae (MACRINI *et al.*, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2015; BARTOLETI *et al.*, 2017; PERES *et al.*, 2017). O uso de uma metodologia que integre as técnicas de biologia molecular, biogeografia e morfometria em estudos com aranhas migalomorfas pode solucionar problemas que a taxonomia clássica, pautada apenas em caracteres morfológicos tradicionais não tem sido eficaz (BOND & STOCKMAN, 2008; HARVEY *et al.*, 2012; ORTIZ & FRANCKE, 2016; RIX *et al.*, 2017). Diante disto, propõe-se o uso da espécie *V. longisternalis* como modelo para um estudo de filogeografia com aranhas Theraphosidae de Mata Atlântica. Esta escolha se justifica com base em seu padrão de distribuição, que em sua abrangência, se fixa em unidades de relevo com características topográficas e climáticas distintas, transpõe possíveis barreiras biogeográficas e acompanha quase a totalidade da área de abrangência da Floresta Ombrófila Mista. Ainda observações pessoais apontam sutis diferenças morfológicas, como a proporção largura x comprimento do esterno entre populações

(Figura 01), o que colabora com a hipótese da existência de um possível complexo críptico. Para isto, análises morfométricas serão realizadas como meio de complementar os resultados filogeográficos.

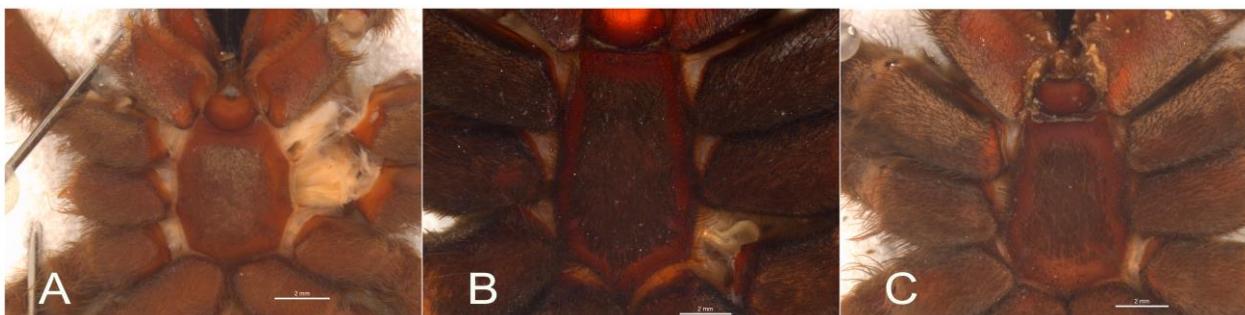


Figura 01. Diferenças morfológicas do esterno de *Vitalius longisternalis*. A) *V. longisternalis* IBSP 108149, Cruzeiro do Oeste – PR. B) *V. longisternalis* IBSP 108152 Três Barras – PR. C) IBSP 108139, Cruzeiro do Oeste – PR. Foto: Arthur Galeti Lima.

2. JUSTIFICATIVAS

A importância deste trabalho se baseia nas seguintes justificativas: (1) Aranhas, especialmente da infraordem Mygalomorphae, são ótimos modelos biogeográficos, capazes de contribuir para o melhor entendimento dos processos e padrões que moldaram a atual biodiversidade de biomas brasileiros; (2) A espécie *V. longisternalis*, assim como as demais espécies do gênero, apresenta caracteres morfológicos conservativos e baixo grau de dispersão, o que acarreta em populações geneticamente estruturadas. (3) A distribuição da espécie, que está presente em diferentes fitofisionomias, transpassa possíveis barreiras biogeográficas e percorre uma ampla faixa de altitude, fatores estes que podem indicar a possibilidade de populações geneticamente distintas e a possível existência de espécies crípticas; (4) O uso de uma metodologia integrativa que alia a genética molecular, biogeografia e morfometria é uma prática ainda pouco empregada na sistemática de aranhas mas que demonstra potencial promissor para solucionar problemas taxonômicos com o grupo (5) A estrutura e suporte do Laboratório de Aracnologia da UNESP *campus* Rio Claro que suporta o presente trabalho com parte do material necessário, reduzindo o esforço de campo e de análises moleculares. (6) O estudo proposto fará parte do projeto de pesquisa “Sistemática morfológica e molecular e

biogeografia de aranhas Mygalomorphae da Mata Atlântica” sob coordenação do Prof. Dr. José Paulo Leite Guadanucci com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Destaca-se que este estudo será parte complementar da revisão do Gênero *Vitalius*, sob título “Sistemática do gênero *Vitalius* Silva, Lucas & Bertani: evidências morfológicas, moleculares e biogeográficas”, que corresponde projeto de doutorado do MSc. Arthur Galleti Lima, contribuindo como uma das primeiras pesquisas filogeográficas para aranhas Theraphosidae no Brasil.

3. OBJETIVOS

- (1) Identificar as relações genéticas entre populações de *V. longisternalis*;
- (2) Estimar o tempo de coalescência entre as populações de *V. longisternalis*, correlacionando o tempo de divergência entre suas populações com possíveis eventos geológicos e/ou climáticos a que estas foram submetidas;
- (3) Determinar a possível influência de barreiras geográficas na distribuição de populações e/ou espécies crípticas;
- (4) Identificar possíveis diferenças morfológicas e morfométricas entre populações e/ou possíveis espécies crípticas.
- (5) Testar a eficácia do uso de metodologias integrativas na taxonomia de aranhas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção e preservação de espécimes

Serão realizadas coletas ao longo de todo o polígono conhecido de ocorrência da espécie, as localidades estão dispostas na Tabela 01. Pode haver necessidade de coleta de material adicional nos municípios adjacentes aos pontos escolhidos caso o material obtido nestas áreas seja insuficiente. Pretende-se realizar quatro expedições de campo, a primeira nos pontos: 1, 2, 3 e 6; a segunda nos pontos: 8, 10, 11 e 12; a terceira nos pontos: 4, 5 e 13 e a

quarta nos pontos: 7, 9 e 14 (Figura 02). É esperado obter ao menos cinco exemplares por localidade/população, garantindo dados genéticos e morfológicos abrangentes para a espécie. A escolha das áreas visa amostrar o maior número de populações em cada área, levando em conta as possíveis barreiras biogeográficas descritas. Um panorama geral da área de distribuição atual e prevista da espécie e suas características geológicas é apresentado na figura 02.

O material será coletado em campo, tanto de forma ativa (através de técnicas que consistem em revirar rochas, troncos e folhiço, investigar fendas e escavar tocas) quanto de forma passiva, com a instalação de armadilhas de queda (pitfall), compostas por baldes de 10 litros sem líquido fixador e conectados por rede de interceptação. Todo material será fixado em álcool 70% e depositado na coleção de aracnídeos do Instituto Butantan. Pretende-se iniciar as atividades de coleta no possível período reprodutivo da espécie, estimado entre os meses de Setembro à Janeiro, aumentando a probabilidade de encontrar indivíduos adultos, especialmente machos maturados.

Para as análises moleculares, a perna III do lado direito de cada espécime será extraída e fixada em álcool absoluto e mantida à -20°C nas dependências do Departamento de Biodiversidade da UNESP Rio Claro. Para otimizar os gastos com coletas em campo, serão submetidos às extrações de DNA e análises morfométricas os materiais já coletados pelo MSc. Arthur Galeti Lima e espécimes depositados há menos de cinco anos em coleções zoológicas.

Ainda, as seguintes instituições serão contatadas para obtenção de material: **IBSP**, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil – A. D. Brescovit; **MACN**, Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires, Argentina – C. Scioscia; **MZSP**, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil – R. Pinto da Rocha; **MHNCI**, Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brasil – A. Silva; **MCN**, Museu de Ciências Univates, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil – L. Johann. Destaca-se que o material da coleção do **MCTP**,

Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, já se encontra em posse do Laboratório de Aracnologia da UNESP *campus* Rio Claro.

Ponto	Localidade	Município	Estado	País
1	FLONA Piraí do Sul	Piraí do Sul	Paraná	Brasil
2	FLONA Assunguí	Campo Largo	Paraná	Brasil
3	FLONA Irati	Irati	Paraná	Brasil
4	FLONA Caçador	Caçador	Santa Catarina	Brasil
5	FLONA Chapecó	Chapecó	Santa Catarina	Brasil
6	FLONA Três Barras	Três Barras	Santa Catarina	Brasil
7	FLONA Ibirama	Ibirama	Santa Catarina	Brasil
8	PARNA do Iguaçu	Foz do Iguaçu	Paraná	Brasil
9	PARNA São Joaquim	São Joaquim	Santa Catarina	Brasil
10	Parque Estadual Serra da Esperança	Guarapuava	Paraná	Brasil
11	APA Municipal de Laranjeiras do Sul	Laranjeiras do Sul	Paraná	Brasil
12	APA Municipal de Pitanga	Pitanga	Paraná	Brasil
13	APA Municipal de Pato Branco	Pato Branco	Paraná	Brasil
14	APA Municipal de Lages	Lages	Santa Catarina	Brasil

Tabela 01. Localidades pretendidas para coleta de *Vitalius longisternalis*.

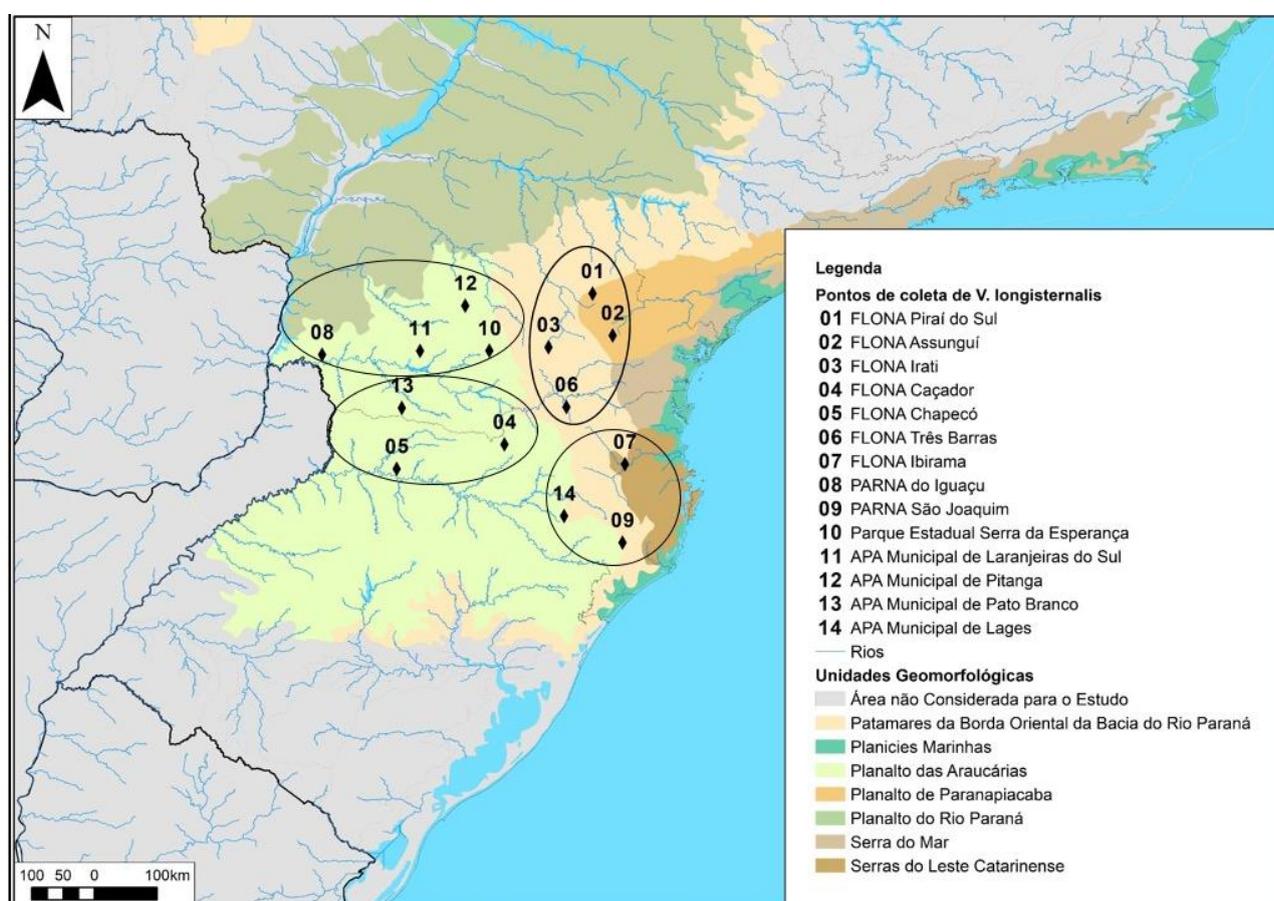


Imagem 02. Mapa geomorfológico da área de distribuição de *Vitalius longisternalis*, com registros de ocorrência e localidades de coleta pretendidas. Os grupos de pontos circulado representam as localidades que serão visitadas por expedição de coleta.

4.2 Definição dos terminais utilizados

Para a construção da árvore filogenética, serão utilizados espécimes de populações distintas de *V. longisternalis*, coletadas ao longo do polígono de ocorrência e distribuição da espécie. Como grupo externo, serão utilizados exemplares dos gêneros *Acanthoscurria* (Ausserer, 1871), *Lasiadora* (C. L. Koch, 1850), *Nhandu* (Lucas, 1983), *Proshapalopus* (Mello-Leitão, 1923) e *Pterinopelma* (Pocock, 1901), além de outras espécies de *Vitalius*. O material complementar para processamento e sequenciamento de DNA está disponível no laboratório de Aracnologia da UNESP *campus* Rio Claro.

4.3 Extração, sequenciamento e amplificação de DNA

O material genético será extraído de artigos das pernas das aranhas, com o kit de extração QIAGEN® (DN easy tissue kit), seguindo instruções do fabricante (QIAGEN, 2011), com extensão do período de incubação para 48h.

Para as análises moleculares serão utilizados dois genes amplamente utilizados em estudos filogeográficos e que apresentam boa resolução na detecção de variabilidade intraespecífica: o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) e o gene nuclear ITS2. A amplificação do COI terá como base a proposta de Hedin & Maddison, (2001) com o uso dos *primers* C1-J-1751"SPID" (5'- GAG CTC CTG ATA TAG CTT TTC C -3') e C1-N-2776 (5'- GGA TAA TCA GAA TAT CGT CGA GG- 3'). Já para a amplificação do ITS serão utilizados os primers: CAS18sF1 (5'-TAC ACA CCG CCC GTC GCT ACT A-3') e CAS28Sb1D (5'- TTC TTT TCC TCC SCT TAY TRA TAT GCT TAA-3'), segundo a metodologia estabelecida por Ji *et al.* (2003).

As amplificações dos fragmentos escolhidos serão feitas através de reações em cadeia de polimerase (PCR), seguindo os protocolos de RIX *et al.*, (2017). A verificação do resultado da PCR será feita com a observação do gel de agarose 1% sobre luz UV após eletroforese, com amostras evidenciadas por GelRed™. O tamanho do fragmento amplificado será estimado por

meio de comparação com amostra de padrão de peso molecular (DNA ladder). As amostras amplificadas com sucesso serão enviadas para purificação e sequenciamento.

4.4 Análises moleculares

Dois métodos serão usados para a construção de árvores filogenéticas: Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). Para as análises de MV e IB, as sequências serão submetidas ao programa jModelTest 2 (DARRIBA *et al.*, 2012), a fim de determinar o modelo de evolução e os parâmetros mais adequados para cada partição, usando o critério de informação de AKAIKE - AIC (AKAIKE, 1974), e analisadas no programa RAxML (STAMATAKIS, 2006), a fim de encontrar as árvores de máxima verossimilhança. O suporte de clados das árvores obtidas por MV será calculado através do bootstrap não-paramétrico (FELSENSTEIN, 2004). Para a análise baseada em IB, as sequências serão analisadas no programa BEAST 1.8 (DRUMMOND *et al.*, 2005). Todas as análises serão conduzidas para cada marcador em separado e com todas as sequências concatenadas (mantendo-se para cada marcador, o modelo evolutivo selecionado pelo jModelTest).

Os tempos de divergências entre as linhagens serão estimados através de métodos de relógio molecular relaxado (relaxed-clock methods), que permite taxas evolutivas variáveis em diferentes linhagens, implementadas no programa BEAST 1.8 (DRUMMOND *et al.*, 2005). A calibração do relógio relaxado será baseada na data de fósseis conhecidos de táxons relacionados a *Vitalius*. A convergência entre as análises independentes de IB será estimada através das médias de desvio padrão (average standard deviation of split frequencies) e conferida, juntamente com o valor de burn-in, usando o programa Tracer v. 1.6 (RAMBAUT *et al.*, 2013), através do valor de tamanho efetivo de amostra (Effective Sample Size, ESS). A partir dos resultados dessas análises, será possível inferir o papel de eventos climáticos e geológicos do passado sobre a dispersão e diversificação das espécies de *Vitalius longisternalis*.

Para a construção das redes de haplótipos, será utilizado o algoritmo de median-joining (BANDELT *et al.*, 1999), usando o programa PopART (LEIGH & BRYANT, 2015). Para reconstrução da dinâmica demográfica das populações, será usado o método Bayesian Skyline Plot (BSP), proposto por DRUMMOND *et al.* (2005), que busca quantificar a relação entre genealogias e história das populações estudadas, baseado na teoria da Coalescência (Ho & Shapiro, 2011).

4.5 Análises morfométricas

Para investigar as possíveis variações morfológicas significativas entre as populações de *Vitalius longisternalis*, serão realizadas análises morfométricas em caracteres taxonômicos significantes em aranhas, como carapaça, cômodo ocular, esterno, lábio, bulbo copulador dos machos (vista prolateral e retrolateral), apófise tibial (vista frontal), região de flexão do metatarso I sobre a apófise tibial dos machos e espermateca das fêmeas (BOND & STOCKMAN, 2008; SPASOJEVIC *et al.*, 2016). Para isto, serão obtidas imagens através de uma câmera fotográfica digital (Leica MC170HD) acoplada a um estereomicroscópio (Leica M205C). Será utilizado o *software* TPSDIG32 v. 1.31 para inserção de coordenadas de marcos anatômicos (landmarks) e os resultados submetidos ao *software* MorphoJ v.1.05 para as análises dos componentes principais, correlação canônica e análise discriminante (ROHLF, 2001; KLINGENBERG, 2011).

4.6 Análises geográficas

Para a reconstrução dos cenários climáticos, que através da modelagem climática poderão contribuir para o entendimento dos princípios e processos que podem ter influenciado na distribuição atual das espécies de *Vitalius longisternalis*, serão utilizados os seguintes períodos: presente, 6 mil e 21 mil anos atrás, associados a variáveis climáticas obtidas a partir do Worldclim (Versão 2.0.). As variáveis serão previamente selecionadas utilizando uma Análise Fatorial. Serão utilizados os seguintes algoritmos: Bioclim, Gower Distance, Máxima Entropia e Support Vector Machines. Dez réplicas de cada algoritmo serão geradas no software R.

5. RESULTADOS ESPERADOS

A utilização de análises integrativas, cruzando dados moleculares, morfométricos e geográficos, podem esclarecer as relações intraespecíficas de *V. longisternalis*. Espera-se que por meio delas, seja possível definir a estruturação genética das diferentes populações, o tempo de diferenciação entre elas e o nível de fluxo gênico existente. Estes dados correlacionados com as possíveis barreiras biogeográficas ao longo da distribuição, podem trazer informações sobre o nível de permeabilidade e a influência destas na segregação de populações e levantar hipóteses sobre como e onde as populações basais conseguiram atravessar estas barreiras, levando-se em conta o histórico temporal das modificações climáticas, da vegetação e geológicas. Estes dados podem auxiliar estudos futuros sobre padrões e processos que moldaram a atual distribuição da biodiversidade da Mata Atlântica.

Espera-se também que as análises morfométricas corroborem com os resultados moleculares, endossando as descrições de possíveis espécies crípticas, com eficiência equiparável ou superior a metodologia de taxonomia tradicional. Em suma, estima-se que o uso desta metodologia em um possível complexo de espécies como *V. longisternalis* traga resultados promissores pelo potencial de resolver problemas taxonômicos em grupos com alto grau de homogeneidade morfológica. Logo, os resultados desta pesquisa podem colaborar para o avanço das técnicas empregadas nos estudos de sistemática de aranhas.

Ainda, espera-se que os resultados preliminares obtidos no primeiro ano desta dissertação, como dados de distribuição e variações morfológicas, possam ser apresentados em forma de resumo no VI Congresso Latino Americano de Aracnologia, programado para dezembro de 2020 em Buenos Aires – Argentina. Também se estima a que ao final deste estudo, dois artigos possam ser confeccionados um com os resultados das análises morfológicas e notas sobre a história natural da espécie e outro com os resultados filogenéticos e biogeográficos.

6. CRONOGRAMA

Atividades	1º semestre	2º semestre	3º semestre	4º semestre
Levantamento bibliográfico				
Créditos obrigatórios				
Excursões de coletas				
Contato com curadores				
Seleção de espécimens e confecção de fotos				
Análises morfométricas				
Extração e amplificação de DNA				
Sequenciamento de DNA				
Participação no VI CLAA				
Redação de manuscritos e tese				
Defesa da tese				

7. REFERÊNCIAS

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19: 716-723. 1974.

ALEIXO, A. Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution*, 58(6), 1303-1317. 2004.

AUSSERER, A. Beiträge zur Kenntniss der Arachniden-Familie der Territelariae Thorell (Mygalidae Autor). Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien 21: 117-224, pl. I. 1871.

AVISE, J. C. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), 3-15. 2009.

AVISE, J. C., ARNOLD, J., BALL, R. M., BERMINGHAM, E., LAMB, T., NEIGEL, J. E., REEB, C. A., & SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), 489-522. 1987.

BANDELT, H. J., FORSTER, P. & RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16 (1): 37-48. 1999.

BARTÁKOVÁ, V., REICHARD, M., BLAŽEK, R., POLAČIK, M., & BRYJA, J. Terrestrial fishes: rivers are barriers to gene flow in annual fishes from the African savanna. *Journal of Biogeography*, 42(10), 1832-1844. 2015.

BARTOLETI, L. F. D. M., PERES, E. A., SOBRAL-SOUZA, T., FONTES, F. V. H. M., SILVA, M. J. D., & SOLFERINI, V. N. Phylogeography of the dry vegetation endemic species *Nephila sexpunctata* (Araneae: Araneidae) suggests recent expansion of the Neotropical Dry Diagonal. *Journal of Biogeography*. 2017.

BEHEREGARAY, L. B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, 17(17), 3754-3774. 2008.

BERTANI, R. Revision, cladistic analysis, and zoogeography of *Vitalius*, *Nhandu*, and *Proshapalopus*; with notes on other theraphosine genera (Araneae, Theraphosidae). *Arquivos de Zoologia* 36: 265-356. 2001.

BERTANI, R., NAGAHAMA, R. H. & FUKUSHIMA, C. S. *Vitalius nondescriptus* comb. nov. (Araneae: Theraphosidae: Theraphosinae): an example of theraphosid taxonomic chaos. *Zoologia* 29: 467-473. 2012.

BOND, J. E., HENDRIXSON, B. E., HAMILTON, C. A., & HEDIN, M. A reconsideration of the classification of the spider infraorder Mygalomorphae (Arachnida: Araneae) based on three nuclear genes and morphology. *PLoS One*, 7(6), e38753. 2012.

BOND, J. E., & OPELL, B. D. Phylogeny and taxonomy of the genera of south-western North American Euctenizinae trapdoor spiders and their relatives (Araneae: Mygalomorphae, Cyrtaucheniidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 136(3), 487-534. 2002.

BOND, J. E., & STOCKMAN, A. K. 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(4), 628-646. 2008.

BRANDLEY, M. C., GUIHER, T. J., PYRON, R. A., WINNE, C. T., & BURBRINK, F. T. Does dispersal across an aquatic geographic barrier obscure phylogeographic structure in the diamond-backed watersnake (*Nerodia rhombifer*)?. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(2), 552-560. 2010.

CARNAVAL, A. C., HICKERSON, M. J., HADDAD, C. F., RODRIGUES, M. T., & MORITZ, C. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323(5915), 785-789. 2009.

CRISCI, J. V. The voice of historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28(2), 157-168. 2001.

CHRISTOFOLETTI, A. *Introdução à Geomorfologia*. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, p. 1-25, 1980.

CODDINGTON, J. A. Phylogeny and classification of spiders. *Spiders of North America: an identification manual*. *American Arachnological Society*, 377, 18-24. 2005.

COSTA, L. P. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, 30(1), 71-86. 2003.

DARRIBA, D., TABOAGA, G. L., DOALLO, R., & POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8): 772-782. 2012.

DRUMMOND, A. J., RAMBAUT, A., SHAPIRO, B. & PYBUS, O. G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 22(5): 1185-1192. 2005.

FELSENSTEIN, J. *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Sunderland, USA. 664p. 2004.

FERRETTI, N. E. et al. First record of *Vitalius longisternalis* Bertani, 2001 (Araneae, Theraphosidae) in Argentina and notes on its natural history in Misiones province. 2015.

FOELIX, R.F. *Biology of spiders*. Thord Edition. Oxford University Press, Oxford. 428p.

Fonseca-Ferreira, R., Zampaulo, R. D. A., & Guadanucci, J. P. L. (2017). Diversity of iron cave-dwelling mygalomorph spiders from Pará, Brazil, with description of three new species (Araneae). *Tropical Zoology*, 30(4), 178-199. 2010.

FRANÇOSO, E., ZUNTINI, A. R., CARNAVAL, A. C., & ARIAS, M. C. Comparative phylogeography in the Atlantic forest and Brazilian savannas: pleistocene fluctuations and dispersal shape spatial patterns in two bumblebees. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1), 267. 2016.

GEHRING, P. S., PABIJAN, M., RANDRIANIRINA, J. E., GLAW, F., & VENCES, M. The influence of riverine barriers on phylogeographic patterns of Malagasy reed frogs (Heterixalus). *Molecular phylogenetics and evolution*, 64(3), 618-632. 2012.

GOLOBOFF, P. A. A reanalysis of mygalomorph spider families (Araneae). *American Museum Novitates*; no. 3056. 1993.

GUADANUCCI, J.P.L. Theraphosidae phylogeny: relationships of Ischnocolinae genera (Mygalomorphae). *Zoologica Scripta*, 43: 508-518, 2014.

HARVEY, F. S., FRAMENAU, V. W., WOJCIESZEK, J. M., RIX, M. G., & HARVEY, M. S. Molecular and morphological characterisation of new species in the trapdoor spider genus

Aname (Araneae: Mygalomorphae: Nemesiidae) from the Pilbara bioregion of Western Australia. *Zootaxa*, 3383(1), 15-38. 2012.

HEDIN, M., & BOND, J. E. 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. 2006.

HEDIN, M., DERKARABETIAN, S., RAMÍREZ, M. J., VINK, C., & BOND, J. E. Phylogenomic reclassification of the world's most venomous spiders (Mygalomorphae, Atracinae), with implications for venom evolution. *Scientific Reports*, 8(1): 1636. 2018.

Hedin, M. C., & Maddison, W. P. A combined molecular approach to phylogeny of the jumping spider subfamily Dendryphantinae (Araneae: Salticidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 18(3), 386-403. 2001.

HALL, J. P., & HARVEY, D. J. The phylogeography of Amazonia revisited: new evidence from rioidinid butterflies. *Evolution*, 56(7), 1489-1497. 2002.

HAMILTON, CHRIS A.; FORMANOWICZ, DANIEL R.; BOND, JASON E. Species delimitation and phylogeography of *Aphonopelma hentzi* (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae): cryptic diversity in North American tarantulas. *PloS one*, v. 6, n. 10, p. e26207, 2011.

HAYES, F. E., & SEWLAL, J. A. N. The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. *Journal of Biogeography*, 31(11), 1809-1818. 2004.

HENDRIXSON, B. E., DERUSSY, B. M., HAMILTON, C. A., & BOND, J. E. An exploration of species boundaries in turret-building tarantulas of the Mojave Desert (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae, Aphonopelma). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 66, n. 1, p. 327-340, 2013.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11: 353-357. 2011.

JI, Y. J., ZHANG, D. X., & HE, L. J. Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates. *Molecular Ecology Notes*, 3(4), 581-585. 2003.

KOCH, C. L. Übersicht des Arachnidensystems. Nürnberg, Heft 5, pp. 1-77. 1850.

LEIGH, J. W., & BRYANT, D. popart: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116. 2015.

LI, R., CHEN, W., TU, L., & FU, J. Rivers as barriers for high elevation amphibians: a phylogeographic analysis of the alpine stream frog of the Hengduan Mountains. *Journal of Zoology*, 277(4), 309-316. 2009.

LUCAS, S. Descrição de gênero e espécie novos da subfamília Theraphosinae (Araneae, Orthoghatha), Theraphosidae. *Memórias do Instituto Butantan* 44/45: 157-160. 1983.

MacLeod, N. Phylogenetic signals in morphometric data. In 'Morphology, Shape, and Phylogeny'. (Eds N. MacLeod and P. L. Forey.) pp. 139-174. (Taylor and Francis: London, UK.) 2002.

MACRINI, C. M. T., PERES, E. A., & SOLFERINI, V. N. Cryptic diversity of *Aglaoctenus lagotis* (Araneae, Lycosidae) in the Brazilian Atlantic Rainforest: evidence from microsatellite and mitochondrial DNA sequence data. *Journal of Applied Biology and Biotechnology Vol*, 3(06), 009-014. 2002. 2015.

MAGALHAES, I. L., OLIVEIRA, U., SANTOS, F. R., VIDIGAL, T. H., BRESCOVIT, A. D., & SANTOS, A. J. Strong spatial structure, Pliocene diversification and cryptic diversity in the Neotropical dry forest spider *Sicarius cariri*. *Molecular Ecology*, 23(21), 5323-5336. 2014.

MELLO-LEITÃO, C. F. DE. Theraphosidae do Brasil. *Revista do Museu Paulista* 13: 1-438. 1923.

MONTES DE OCA, L., D'ELÍA, G., & PÉREZ-MILES, F. An integrative approach for species delimitation in the spider genus *Grammostola* (Theraphosidae, Mygalomorphae). *Zoologica Scripta*, 45(3), 322-333. 2016.

OPATOVA, V., HAMILTON, C. A., HEDIN, MONTES DE OCA, L. M., KRAL, J., & BOND, J. E. (2019). Phylogenetic systematics and evolution of the spider infraorder Mygalomorphae using genomic scale data. *BioRxiv*, p. 531756, 2019.

OLIVEIRA, I. S., LACORTE, G. A., FONSECA, C. G., WIELOCH, A. H., & MAYER, G. Cryptic speciation in Brazilian *Epiperipatus* (Onychophora: Peripatidae) reveals an underestimated diversity among the peripatid velvet worms. *Plos One*, 6(6), e19973. 2011.

O'NEILL, S. B., CHAPPLE, D. G., DAUGHERTY, C. H., & RITCHIE, P. A. Phylogeography of two New Zealand lizards: McCann's skink (*Oligosoma maccanni*) and the brown skink (*O. zelandicum*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48(3), 1168-1177. 2008.

ORTIZ, D., & FRANCKE, O. F. Two DNA barcodes and morphology for multi-method species delimitation in *Bonnetina* tarantulas (Araneae: Theraphosidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 101, 176-193. 2016.

PELLEGRINO, K. C., RODRIGUES, M. T., WAITE, A. N., MORANDO, M., YASSUDA, Y. Y., & SITES JR, J. W. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(1), 13-26. 2005.

PERES, E. A., SILVA, M. J., & SOLFERINI, V. N. Phylogeography of the spider *Araneus venatrix* (Araneidae) suggests past connections between Amazon and Atlantic rainforests. *Biological Journal of the Linnean Society*, blx036. 2017.

PÉREZ-MILES, F., & PERAFÁN, C. Behavior and Biology of Mygalomorphae. In *Behaviour and Ecology of Spiders* (pp. 29-54). Springer, Cham. 2017.

POCOCK, R. I. Some new and old genera of South American Avicularidae. *Annals and Magazine of Natural History* (7) 8: 540-555. 1901.

POSTIGLIONI, R.; COSTA, F. G. Reproductive isolation among three populations of the genus *Grammostola* from Uruguay (Araneae, Theraphosidae). *Iheringia. Série Zoologia*, v.96, n.1, p.71-74, 2006.

QIAGEN® 2011. DNeasy® Blood and Tissue Kit, quick-start protocol. QIAGEN®. Janeiro, 2011. Disponível em: <https://www.QIAGEN.com/us/?redirect=/literature/render.aspx?id=201165>. 2017.

RAVEN, R. J. The spider infraorder Mygalomorphae (Araneae): cladistics and systematics. *Bulletin of the American Museum of Natural History*; v. 182, 1-180. 1985.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J & SUCHARD, M. TRACER, v. 1.6. Disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. 2013.

RIX, M. G., COOPER, S. J., MEUSEMANN, K., KLOPFSTEIN, S., HARRISON, S. E., HARVEY, M. S., & AUSTIN, A. D. Post-Eocene climate change across continental Australia and the diversification of Australasian spiny trapdoor spiders (Idiopidae: Arbanitinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109, 302-320. 2017.

ROHLF, F.J. 'tpsDig.'. Available online at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>. 2001.

RORATTO, P. A., FERNANDES, F. A., & DE FREITAS, T. R. Phylogeography of the subterranean rodent *Ctenomys torquatus*: an evaluation of the riverine barrier hypothesis. *Journal of biogeography*, 42(4), 694-705. (2015).

SANTOS, C. M. D., & AMORIM, D. S. Why biogeographical hypotheses need a well supported phylogenetic framework: a conceptual evaluation. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, 47(4), 63-73. 2007.

SPASOJEVIC, T., KROPF, C., NENTWIG, W., & LASUT, L. Combining morphology, DNA sequences, and morphometrics: revising closely related species in the orb-weaving spider genus *Araniella* (Araneae, Araneidae). *Zootaxa*, 4111(4), 448-470. 2016.

STAMATAKIS, A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22: 2688– 2690. 2006.

TURCHETTO-ZOLET, A. C., PINHEIRO, F., SALGUEIRO, F., & PALMA-SILVA, C. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, 22(5), 1193-1213. 2013.

VITTE, A. C., GUERRA, A. J. T. Reflexões sobre a geografia física no Brasil. Bertrand Brasil, 2004.

WHEELER, W. C., CODDINGTON, J. A., CROWLEY, L. M., DIMITROV, D., GOLOBOFF, P. A., GRISWOLD, C. E., HORMIGA, G., PRENDINI, L., RAMÍREZ, M. J., SIERWALD, P., ALMEIDA-SILVA, L., ALVAREZ-PADILLA, F., ARNEDO, M. A., BENAVIDES SILVA, L. R., BENJAMIN, S. P., BOND, J. E., GRISMADO, C. J., HASAN, E., HEDIN, M., IZQUIERDO, M. A., LABARQUE, F. M., LEDFORD, J., LOPARDO, L., MADDISON, W. P., MILLER, J. A., PIACENTINI, L. N., PLATNICK, N. I., POLOTOW, D., SILVA-DÁVILA, D., SCHARFF, N., SZÚTS, T., UBICK, D., VINK, C. J., WOOD, H. M. & ZHANG, J. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics*, 33: 574–616. 2017.

WORLD SPIDER CATALOG *World Spider Catalog*. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, version 20.5, accessed on 04.VI.2020. 2020.

ZHANG, Z. Q. Animal biodiversity: An update of classification and diversity in 2013. In: ZHANG, Z. Q. (ed.) animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (addenda 2013). *Zootaxa*, 3703(1), 5-11. 2013.