



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE BIOLOGÍA**

**SISTEMÁTICA**

**Revisión taxonómica y delimitación de especies mexicanas de *Pelegrina* Franganillo,  
1930 (grupo *furcata*) (Araneae: Salticidae)**

**T E S I S**

Que para optar por el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

**Daniela Ble Carrasco**

Tutor principal: Dr. Oscar F. Francke Ballvé, Instituto de Biología UNAM

Comité tutor: Dr. Alejandro Valdez Mondragón, Instituto de Biología UNAM

Comité tutor: Dr. Juan José Morrone Lupi, Facultad de Ciencias UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





## **Agradecimientos institucionales**

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas del Instituto de Biología de la UNAM (IB-UNAM)** por todo el soporte que se me brindó a través del personal administrativo del Posgrado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo con la beca, para poder realizar mis estudios de maestría en el programa de Maestría en Ciencias Biológicas.

A mi **tutor principal** y los **miembros de mi comité tutor:** al Dr. Oscar F. Francke Ballvé, Dr. Alejandro Valdez Mondragón, y al Dr. Juan José Morrone Lupi gracias por sus comentarios, observaciones, correcciones y aportaciones que ayudaron a mejorar este trabajo.

## **Agradecimientos personales**

Al **Instituto de Biología (IBUNAM)** y a la **Colección Nacional de Arácnidos (CNAN)**, especialmente al Dr. Oscar F. Francke Ballvé por abrirme las puertas a su laboratorio y darme la oportunidad de ser parte del mismo.

Al **Laboratorio de Biología Molecular** del IBUNAM, en especial a la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín, por su apoyo y asesoría con el trabajo molecular.

Al **Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud** del IBUNAM, en especial a la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar y a la M. en C. Nelly María López Ortiz, LaNaBio.

A todos mis **profesores** que tuve durante mis clases de maestría de los cuales aprendí muchísimo y los que son parte fundamental de mi carrera científica, a Dr. Juan B. Morales, Dra. Gabriela Castaño, Dra. Margarita Ojeda, M. en C. Andrea R. Jiménez, M. en C. Laura M. Márquez, Dra. Gabriela Parra, Dr. Martín García, Dr. Gerardo Pérez, Dra. Patricia Ornelas, Dr. Carlos Pedraza, Dra. Susana Magallón, Dr. Ricardo García, Dr. Hernán Vázquez y Dr. Santiago Ramírez.

**Agradezco a todas aquellas personas que fueron parte fundamental en este proyecto.** A mis colegas y amigos, Dariana Guerrero, Daniela Candia, Mariana Vargas, Griselda Montiel, Jocelyn Odette, Aldo Ledesma y Luis Cuellar que me ayudaron en las salidas de campo realizadas. Al Dr. Wayne Maddison y al M. en C. Uriel Garcilazo por su ayuda en la obtención de material fresco para su revisión. En el trabajo de toma de fotografías quiero agradecer a Kirino Arreguin, Cecilia Silva y Aldo Ledesma.

Durante las clases, en el laboratorio de molecular y por todas aquellas pláticas presenciales, virtuales, por correo, y la lectura de mis avances, que me ayudaron sin duda a superar diferentes obstáculos en este proyecto, quiero dar gracias a mis colegas Dariana Guerrero, Daniela Candia, Rodrigo Monjaraz, a mis compañeros de clase Sara Verdugo, Rubén Castañeda, Jorge Hernández, y Miguel Suastes, y a mi compañero de vida Aldo Ledesma, porque sin ellos no hubiera sido lo mismo. Muchas gracias a todos ellos por las buenas vibras y la paciencia que tuvieron conmigo.

Sobre todo, quiero agradecer a Dariana Guerrero y Daniela Candia por hacer equipo conmigo y darme soporte incondicional en este camino, su apoyo fue invaluable.

Por último, agradezco el sostén moral e incondicional, así como el respeto a mi trabajo que tuvieron cada uno de los miembros de mi familia Ble y Carrasco. A mi familia más cercana que siempre estuvo conmigo y para mí en cada batalla, siendo mi consuelo en todo momento, a Beatriz Carrasco, Jaime Ble, Aldo Ledesma y Martha Ortiz. De la misma manera agradezco a mi segunda familia, mis queridos amigos, de los cuales recibí todo y más hasta el final de este proyecto.

**A mis familias, con amor**  
**Dani**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>2. GENERALIDADES.....</b>	<b>5</b>
2.1. Diversidad y distribución de Salticidae Blackwall, 1841 .....	5
2.2. Edad estimada de Salticidae .....	5
2.3. Historia taxonómica de Salticidae .....	6
2.4. Diversidad y distribución de la subfamilia Salticinae Blackwall, 1841 .....	7
2.5. Taxonomía y sistemática de la Subfamilia Salticinae .....	9
2.6. Diversidad y distribución del género <i>Pelegrina</i> Franganillo 1930.....	10
2.7. Taxonomía y sistemática del género <i>Pelegrina</i> .....	10
2.8. Diversidad y distribución de <i>Pelegrina</i> (grupo <i>furcata</i> ) Franganillo, 1930.....	15
2.9. Taxonomía de <i>Pelegrina</i> (grupo <i>furcata</i> Maddison, 1996).....	15
2.10. Delimitación de especies.....	16
<b>3. ANTECEDENTES.....</b>	<b>19</b>
3.1. Métodos de delimitación molecular de especies en arañas.....	19
3.1.1. Métodos basados en distancias genéticas.....	19
3.1.1.1. Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD”.....	20
3.1.1.2. Brecha dura del código de barras de DNA “HB” .....	21
3.1.2. Métodos basados en reconstrucción de árboles filogenéticos.....	22
3.1.2.1. Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC” .....	23
3.1.2.2. Implementación Bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP”.....	25
3.2. Delimitación molecular de especies en Salticidae.....	26
<b>4. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>29</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
6.1. Obtención del material biológico.....	30
6.1.1. Revisión en colecciones .....	30



6.1.2.	Trabajo de campo y preservación de material fresco .....	30
6.2.	Trabajo con morfología .....	32
6.2.1.	Preparación de fotografías de ejemplares vivos .....	32
6.2.2.	Revisión taxonómica .....	32
6.2.3.	Determinación y estudio morfológico .....	33
6.2.4.	Preparación de fotografías de ejemplares en alcohol .....	34
6.3.	Estudios moleculares .....	37
6.3.1.	Muestreo taxonómico y elección de grupos externos .....	37
6.3.2.	Extracción, amplificación y secuenciación .....	37
6.3.2.1.	Extracción de DNA .....	37
6.3.2.2.	Amplificación y secuenciación del DNA .....	40
6.3.3.	Edición y alineamiento de secuencias de DNA .....	42
6.4.	Análisis de delimitación de especies .....	43
6.4.1.	Análisis morfológico .....	43
6.4.2.	Análisis molecular .....	44
6.4.2.1.	Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD” .....	44
6.4.2.2.	Brecha dura del código de barras de DNA “HB” .....	45
6.4.2.3.	Modelo evolutivo e inferencia de árboles genéticos de CO1 .....	45
6.4.2.4.	Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC” .....	47
6.4.2.5.	Implementación bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP” .....	48
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>49</b>
7.1.	Obtención del material biológico .....	49
7.1.1.	Revisión en colecciones .....	49
7.1.2.	Trabajo de campo y preservación de material fresco .....	49
7.2.	Trabajo morfológico .....	52
7.2.1.	Revisión taxonómica .....	52
7.2.2.	Determinación y estudio morfológico .....	52
7.3.	Análisis de delimitación de especies - Morfológico .....	53
7.3.1.	Ramas terminales del émbolo en machos .....	54
7.3.2.	Solapas o “flaps” epiginiales en hembras .....	57
7.3.3.	Conductos reproductivos en hembras .....	59

7.3.4.	Patrones de bandas en el opistosoma de hembras .....	61
7.4.	Análisis de delimitación de especies - Molecular.....	64
7.4.1.	Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD” .....	64
7.4.2.	Brecha dura del código de barras de DNA “HB”.....	66
7.4.3.	Inferencia de árboles genéticos de CO1 .....	67
7.4.4.	Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC”.....	70
7.4.5.	Implementación bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP” .....	70
7.5.	Análisis de delimitación de especies - Enfoque integrativo .....	71
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>75</b>
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>81</b>
<b>10.</b>	<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>82</b>
<b>11.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>83</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Hipótesis filogenética del orden Araneae mostrando sus relaciones, con puntas colapsadas a niveles taxonómicos más altos. La flecha negra indica la ubicación de la familia Salticidae. Imagen tomada y modificada de Fernández y colaboradores (2018). ..... 7

**Figura 2.** Filogenia de la familia Salticidae basada en Máxima Verosimilitud. Los números indican el porcentaje de soporte de Bootstrap para cada clado. Los semicírculos indican clados apoyados también en los resultados de Maddison y colaboradores (2014) o de Ruiz y Maddison (2015). El clado sombreado con azul representa al clado Salticoida. Tomada y modificada de Maddison y colaboradores (2017). ..... 8

**Figura 3.** Especímenes vivos de diferentes especies de *Pelegrina*. Fotografías tomadas por Kirino Arreguin. **a)** *P. orestes* (macho) del Edo. de México, Aculco, cascada la Concepción (terreno de acacias y nopales), **b)** *P. edrilana* (hembra) del Edo. de México, Toluca, Parque de Sierra Morelos **c)** *P. sp.* aff. *P. chaimona* (macho) del Edo. de México, Toluca, Parque Sierra Morelos (bosque de pino- oyamel), **d)** *P. sp.* (macho) de Hidalgo, Jacala, **e)** *P. sp.* (hembra) de Nayarit, Jala, Volcan Ceboruco (cañada húmeda), **f)** *P. sp.* (hembra) del Edo. de México, Coatepec Harinas, Meyuca de Morelos, Cerro de las Huacas (selva baja caducifolia). ..... 11

**Figura 4.** Caracteres morfológicos que identifican parcialmente al género *Pelegrina*, presentes en otros dendryphantinos: **a)** pedipalpo ventral de *P. aeneola* Curtis, 1892, mostrando el émbolo con dos ramas terminales. Parte interna del pedipalpo mostrando la estructura de distensión “hematodocha” en **b)** *P. proterva* Walckenaer, 1837, **c)** *Eris flava* Peckham y Peckham, 1888, **d)** *Metaphidippus chera* Chamberlin, 1924. Epiginio mostrando las proyecciones en forma de “flaps” desarrollados para el **e)** epiginio externo de *P. furcata*, **f)** epiginio interno de *Beata magna* Peckham y Peckham, 1895. Caparazón del macho mostrando arrugas en el colmillo queliceraral en **g)** *P. balia* Maddison, 1996, **h)** *M. tricolor* Maddison, 1996. Caparazón del macho mostrando bandas distintivas laterales, de mejilla y la banda en forma de “V” para **i)** *P. proterva*, **j)** *M. chera*, **k)** *P. sabinema*. Parte lateral de la tibia del macho mostrando la apófisis tibial puntiaguda y esclerosada, acompañada de una cresta debajo de la misma en **l)** *P. furcata*, **m)** *B. hispida* Peckham y Peckham, 1901. Imágenes tomadas y modificadas de Maddison (1996). *Abreviaturas.* Se, sutura embolica; Hb, hematodocha basal; E, émbolo; He, hematodocha embolica; Et, esclerito tegular..... 13

**Figura 5.** Cladograma del género *Pelegrina*, realizado por Maddison con evidencia morfológica. El clado sombreado con azul representa el clado del grupo furcata. Imagen tomada y modificada de Maddison (1996)..... 14

**Figura 6.** Distribución de las especies del género *Pelegrina* (grupo furcata). **A)** Registros de Estados Unidos y Norte de México. **B)** Registros del Centro y Sur de México, y Guatemala, el recuadro a la derecha del mapa muestra el único registro que se tiene para Panamá. *Abreviaturas:* CDMX, Ciudad de México; CHH, Chihuahua; EDOMEX: Estado de México; HGO, Hidalgo; MOR, Morelos; NM, Nuevo Mexico; NLE, Nuevo León; PUE, Puebla; QR, Quintana Roo; QRO, Querétaro; VER, Veracruz. Registros tomados de Maddison (1996) y Richman y colaboradores (2012)..... 16

**Figura 7.** Localidades de colectas realizadas señaladas con puntos rosas (Cuadro 4) y de material de donación por el Dr. Maddison y el M. en C. Garcilazo, señaladas con puntos azules (Cuadro 3). **A)** Localidades de Canadá y Estados Unidos. **B)** Localidades del Centro de México. *Abreviaturas:* CDMX, Ciudad de México; EDO MÉX, Estado de México; GA, Georgia; MOR, Morelos; QRO, Querétaro; VER, Veracruz. .... 31

**Figura 8.** Fotografías de ejemplares vivos: **a)** parte dorsal del cuerpo, **b)** parte lateral del cuerpo, **c)** parte frontal del prosoma. Muestra de un ejemplar de *Pelegrina sp. nov.* EDOMEX (grupo furcata) del estado de México (BCD\_0037). Fotografías tomadas por Cecilia Silva..... 33

**Figura 9.** Caracteres morfológicos de macho y hembra del género *Pelegrina* grupo furcata. Prosoma de machos mostrando las marcas del caparazón para **a)** *P. furcata*, **b)** *P. volcana*, **c)** *P. bicuspidata*, **d)** *P. morelos*. Pedipalpo de machos mostrando características del émbolo en **e)** *P. furcata*, **f)** *P. volcana*, **g)** *P. bicuspidata*, **h)** *P. morelos*, **i)** *P. huachuca*. Opistosoma de hembras mostrando las bandas de sedas para **j)** *P. furcata*, **k)** *P. ochracea*, **l)** *P. morelos*, **m)** *P. huachuca*. Epiginio externo e interno, mostrando características de los “flaps” y de los conductos reproductivos en **n)** *P. furcata*, **ñ)** *P. ochracea*, **o)** *P. morelos*, **p)** *P. huachuca*. Imágenes tomadas y modificadas de Maddison, 1996. .... 35

**Figura 10.** **a)** Vista ventral del pedipalpo de un ejemplar macho de *Pelegrina sp. nov.* JALNAY (grupo furcata) de Jalisco (DGF0012B), foto original; **b)** Epiginio externo de ejemplar hembra de *P. sp. nov.* JALNAY cf. *P. morelos* (grupo furcata) de Nayarit (DGF0109E), foto original y editada en GIMP; **c)** Fotografía de epiginio interno del mismo ejemplar (DGF0109E), original y editada en GIMP. .... 36

**Figura 11.** Variación intraespecífica e interespecífica de los émbolos en machos (vista ventral) de ejemplares del grupo furcata. **A-F** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-B** Jala, Nayarit (DGF01\_0107A, DGF01\_0306); **C-E** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012B, DGF01\_0086, DGF01\_0012C); **F** Ahualulco del Mercado, Jalisco (DGF01\_0362A). Edo. de México (EDOMEX): **G** Meyuca Morelos, Edo. de México (BCD\_0037). **H** Zapopan, Jalisco (JAL-ZAPOPAN): (DGF01\_0376). *P. furcata*: **I-J** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0126, WPM\_0129). *P. morelos*: **K-L** Huitzilac, Morelos (WPM\_0176, WPM\_0037). Las letras y números debajo de las figuras representan la longitud (L) y la amplitud (A) de cada rama, retrolateral (Rl) y prolateral (Pl). Mediciones en milímetros. . 56

**Figura 12.** Variación intra e interespecífica de los alerones o “flaps” en el epiginio de las hembras (vista dorsal) de ejemplares del grupo furcata. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0108); **E-F** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084); **G-H** Ahualulco del Mercado, Jalisco (DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff. P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012E). Las letras y números debajo de las figuras representan la longitud (L) y la amplitud (A) de cada “flap” o solapa, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros. .... 58

**Figura 13.** Variación intra e interespecífica de los conductos reproductivos en el epiginio de las hembras (vista ventral) de ejemplares del grupo furcata. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0109B); **E-H** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084, DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff. P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012E). Las letras y números debajo de las figuras representan la amplitud (A) de la curva uno y dos del ducto espermatecal, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros..... 60

**Figura 14.** Variación interespecífica de los patrones de sedas y escamas en el opistosoma de hembras (vista dorsal) de ejemplares del grupo furcata. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0108); **E-H** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084, DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff. P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012F). Las

letras y números debajo de las figuras representan la amplitud (A) de la banda cuatro, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros..... 62

**Figura 15.** Árbol de Inferencia Bayesiana de CO1 para *Pelegrina* grupo *furcata* + otras especies de *Pelegrina*. Los números en las ramas representan los valores de soporte en porcentaje (izquierda) para el análisis de MV con base en 1000 réplicas de bootstrap y los valores de probabilidad posterior (derecha) para el análisis de IB con base a una búsqueda de 20 millones de generaciones. Los asteriscos representan valores de soporte de 100% para MV y valores de probabilidad posterior de 1.0 para IB. Las barras de colores indican las diferentes unidades taxonómicas utilizadas..... 68

**Figura 16.** Diferentes métodos de delimitación de especies obtenidos con DNA mitocondrial y datos morfológicos de *Pelegrina* grupo *furcata* + otras especies de *Pelegrina*. Árbol filogenético de CO1 con IB. Las barras de colores indican el número de particiones obtenidas con cada método y su correspondencia con los clados dentro del árbol. Los números en las ramas representan valores de soporte bootstrap (sp) en porcentaje del análisis de MV (izquierda) y valores de probabilidad posterior (pp) del análisis de IB (derecha) Los asteriscos señalan valores de sp del 100% y valores de pp de 1.0. Las imágenes expuestas pertenecen de arriba para abajo a opistosomas de hembras de *P. aff. P. morelos*, *P. furcata* y JALNAY y émbolos de machos de *P. furcata*, JALNAY y EDOMEX. Las barras blancas con signos de interrogación indican los ejemplares que carecen de alguna de las evidencias utilizadas, mientras que las que no presentan este signo indican una agrupación de individuos que involucra a más de una morfoespecie identificada por la morfología. Las flechas indican la continuidad de la agrupación. *Abreviaturas:* M-enfoque morfológico; ABGD, PI-partición primaria, PR-partición recursiva; GMYC, MY-modelo de Yule, MC-modelo Coalescente; bPTP, MV-solución de Máxima Verosimilitud, SB-solución Bayesiana de soporte alto; EI-enfoque integrador; CNC-especie candidata no confirmada..... 72

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Ejemplares secuenciados de <i>Pelegrina</i> , de Estados Unidos y México. Se muestran las especies, los códigos de ejemplares y las localidades. ....	38
<b>Cuadro 2.</b> Material revisado y utilizado de <i>Pelegrina</i> (grupo <i>furcata</i> ) de colecciones de universidades locales y colecciones nacionales.....	50
<b>Cuadro 3.</b> Material de donación del Dr. Maddison y M. en C. Garcilazo. ....	51
<b>Cuadro 4.</b> Estados y localidades muestreadas en el año 2019 de las especies de <i>Pelegrina</i> . .....	52
<b>Cuadro 5.</b> Divergencia genética intra e interespecífica (distancias p sin corregir en %) de las especies putativas, otras especies de <i>Pelegrina</i> y el grupo externo, recuperadas con métodos basados en distancias genéticas. La divergencia genética mínima y máxima están separadas por un guion. Los números en negrita indican la distancia intraespecífica y los que están en formato regular indican la distancia interespecífica. La celda con un guion representa aquella población en la que solo estaba disponible un ejemplar y por lo tanto, la divergencia intraespecífica no se pudo calcular. ....	65

## RESUMEN

El género de arañas *Pelegrina*, grupo *furcata*, está conformado actualmente por seis especies, de las cuales cuatro se encuentran distribuidas en México. Las hembras de este grupo presentan una amplia variación morfológica intraespecífica, lo que complica su identificación con base en taxonomía tradicional. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue realizar la revisión taxonómica de *Pelegrina* grupo *furcata* de México y realizar la delimitación de las especies putativas encontradas, con base en un criterio de taxonomía integradora (morfológica y evidencia molecular). Se llevó a cabo la revisión morfológica principalmente de los caracteres sexuales, como son los pedipalpos en machos y epiginios en hembras. En cuanto a la evidencia morfológica, el carácter que proporcionó mayor información fue la forma de los émbolos presentes en los pedipalpos de machos, identificando un total de seis especies putativas: tres especies conocidas para el género (*P. orestes*, *P. edrilana*, y *P. furcata*) y tres especies candidatas nuevas, nombradas con base en los estados en donde fueron encontradas (JALNAY, EDOMEX y JAL-ZAPOPAN). Para los análisis moleculares de delimitación de especies, se utilizó el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad 1 (CO1), el cálculo de las distancias genéticas no corregidas (distancias p) y corregidas con Kimura 2 parámetros (K2P), la reconstrucción de árboles filogenéticos (ML, IB), y el análisis de cuatro métodos de delimitación, dos de distancias genéticas (ABGD, HB) y dos basados en árboles utilizando métodos de coalescencia (GMYC, bPTP). Estos resultados sugirieron siete especies putativas: dos especies conocidas para el género (*P. orestes* y *P. edrilana*), la división de *P. furcata* en dos especies distintas, una especie afín a *P. morelos* y dos especies candidatas nuevas (JALNAY y EDOMEX). Bajo el criterio de congruencia entre los métodos moleculares y la evidencia morfológica se delimitaron un total de ocho especies, de las cuales fueron delimitadas como especies candidatas no confirmadas a JAL-ZAPOPAN de la cual no se incluyeron datos moleculares, una especie afín a *P. morelos* por no tener evidencia morfológica suficiente y dos morfoespecies de *P. furcata*, mientras que como especies candidatas confirmadas se recuperó a JALNAY, EDOMEX y a las dos especies conocidas de *Pelegrina*. Las distancias genéticas dieron resultados similares, la distancia p media interespecífica fue de 5.5% e intraespecífica de 0.63%. Se destaca que dos de los cuatro métodos de delimitación molecular son congruentes con la morfología en todas las especies, con excepción de *P. furcata*, además de proporcionar dos especies nuevas confirmadas para la ciencia JALNAY y EDOMEX. Concluimos que la evidencia morfológica y molecular, dentro de un contexto de taxonomía integradora, son evidencias suficientes para la delimitación de especies del género *Pelegrina*.



## ABSTRACT

The group of *Pelegrina* spiders of the *furcata* group, is currently made up of six species, of which four are found in Mexico. The females of this group present a wide intraspecific morphological variation, which complicates their identification based on traditional taxonomy. Therefore, this study carries out the taxonomic review of the *Pelegrina furcata* group from Mexico and delimits putative species found, based on an integrative taxonomy criterion (morphology and molecular evidence). The morphological revision was carried out mainly on the sexual characteristics as are the pedipalps in males and epiginia in females. Regarding the morphological evidence, the character that provided most information were the shape of the embolus present in the pedipalps in males, and with this, a total of six putative species were identified: three species known for the genus (*P. orestes*, *P. edrilana*, and *P. furcata*), three new candidate species, named based on the states where they were found (JALNAY, EDOMEX and JAL-ZAPOPAN). For the species delimitation molecular analyses, it was used the cytochrome oxidase subunit 1 (CO1), the calculation of the uncorrected genetic distances (distances p) and corrected with Kimura 2 parameters (K2P), the reconstruction of genetic trees (ML, IB), and the analysis of four delimitation methods, two based on genetic distances (ABGD, HB) and two tree-based using coalescence methods (GMYC, bPTP). These results suggested seven putative species: two known species for the genus (*P. orestes* and *P. edrilana*), the division of *P. furcata* into two different species, one species related to *P. morelos*, and two new candidate species (JALNAY and EDOMEX). Under the criterion of congruence between molecular methods and morphological evidence, a total of eight species were delimited, of which they were delimited as unconfirmed candidate species to JAL-ZAPOPAN of which no molecular data were included, a species related to *P. morelos* for not having morphological evidence and two morphospecies of *P. furcata*, while as confirmed candidate species to JALNAY, EDOMEX and the two known species of *Pelegrina* were recovered. The genetic distances gave similar results, the mean distance (p) interspecific was 5.5% and intraspecific 0.63%. It should be noted that two of the four molecular delimitation methods are congruent with morphology in all species, with the exception of *P. furcata*, in addition to providing two confirmed new species for science JALNAY and EDOMEX. We conclude that the morphological and molecular evidences, within a context of integrative taxonomy, are sufficient evidence for the delimitation of species of the genus *Pelegrina*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las arañas son uno de los grupos de artrópodos con mayor diversidad y riqueza de especies. Hasta la fecha, a nivel mundial se han descrito un total de 49,447 especies (World Spider Catalog, 2021). Este grupo de arácnidos, es reconocido como uno de los depredadores por excelencia en la cadena trófica, cumpliendo un importante papel ecológico en los lugares donde se distribuyen, debido a que las arañas, además de mantener estables las poblaciones de insectos, ayudan en los entornos antropizados consumiendo presas que pueden ser dañinas para el ser humano (Foelix, 2011).

A pesar del lugar importante que tienen las arañas en los ecosistemas, falta mucho por conocer de su diversidad y mucho trabajo taxonómico que realizar en los diferentes grupos, sobre todo en un país megadiverso como México. El orden Araneae Clerck, 1757 en este país incluye 2,388 especies y se estima que se conoce apenas el 22.9% de su riqueza en la República Mexicana (Francke, 2014; Brescovit et al. 2017). Esto implica una problemática ya que, al no tener el suficiente conocimiento taxonómico de este grupo, existe la posibilidad de que una gran cantidad de las especies de arañas presentes en México, estén desapareciendo sin nuestro apercibimiento (Brescovit et al. 2017). Aunado a esto, Salticidae es la familia de arañas más diversa del orden Araneae, presenta el mayor número de géneros y riqueza de especies, de la cual todavía faltan muchas especies por descubrir (World Spider Catalog, 2021).

*Pelegrina* Franganillo, 1930 es un género norteamericano de arañas saltícidos que se distribuye desde Canadá hasta el sur de Panamá. Actualmente cuenta con 38 especies descritas (World Spider Catalog, 2021), de las cuales 19 se encuentran distribuidas en México (Richman et al. 2012). La mayor parte de investigación con estas arañas ha sido enfocada principalmente en la parte taxonómica, con algunos trabajos sobre la historia de vida y aspectos biológicos (Dondale, 1961; Horner y Starks, 1972). Este género fue revisado por última vez en el trabajo de Maddison (1996), donde se plantean ciertos caracteres morfológicos que delimitan al género de manera parcial. Estos caracteres agrupan en diferentes conjuntos a las especies de *Pelegrina* con base en características de las estructuras reproductivas de machos y hembras. Las especies del grupo furcata, conforman la mayor cantidad de especies en comparación con el resto, y mantienen una amplia distribución que va desde Colorado en Estados Unidos hasta Panamá, atravesando México con presencia en 13 estados de la República Mexicana (Maddison, 1996).

En cuanto a la taxonomía tradicional en arañas, ésta se basa en las estructuras sexuales tales como los pedipalpos en machos y receptáculos seminales o epiginios en hembras. Estos son caracteres morfológicos robustos y suficientes para la separación de especies y diagnosis en la mayoría de los grupos de arañas (Huber, 2003). Sin embargo, en el caso del género *Pelegrina*, al igual que en muchos otros, las hembras presentan epiginios

con una variación morfológica continua, lo que vuelve complicado discernir si se trata de especies con una amplia variación intraespecífica y/o geográfica o de complejos de especies.

Por lo tanto, se considera necesario hacer la revisión taxonómica de las especies del grupo *furcata* debido a lo anteriormente mencionado, y a la ausencia de estudios de revisión de *Pelegrina*, siendo el trabajo de Maddison (1996) el más actual, así como a la escasez en el conocimiento de las especies mexicanas del género, tomando en cuenta que tanto en México como en América Central existen todavía especies del grupo sin describir (Maddison, 1996). Algunas de éstas son referidas por Maddison sobre especímenes encontrados en el Estado de México, Jalisco, Guerrero y Durango (Maddison, 1996: 365, figuras 464-471), mientras que otras se encuentran resguardadas en colecciones biológicas de México, como la Colección Nacional de Arácnidos (CNAN), del Instituto de Biología, UNAM. Además, debido a la alta incertidumbre que presenta *Pelegrina* en la variación de sus caracteres morfológicos, es necesaria la delimitación de las especies putativas mexicanas del grupo *furcata*, de manera integradora, utilizando la concordancia entre la evidencia morfológica y la evidencia molecular, utilizando una región del gen citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1), para posteriormente realizar la descripción de las especies nuevas.

## 2. GENERALIDADES

### 2.1. Diversidad y distribución de Salticidae Blackwall, 1841

La familia Salticidae es la familia de arañas con mayor riqueza de especies y diversidad morfológica, actualmente con 6,343 especies descritas válidas y 658 géneros a nivel mundial (Bradley, 2012; World Spider Catalog, 2021). Estas arañas se distribuyen en todos los continentes con excepción de la Antártida, siendo la mayoría de las especies tropicales (Bodner, 2002; Maddison et al. 2008). Su diversidad en México es pobremente conocida y ha sido poco estudiada. Se tienen algunos trabajos de Hoffmann (1976) que cita 177 especies, el estudio de Jiménez (1996) en donde se mencionan 193 especies y el de Richman y Cutler (2012) en donde se reportan 263 especies para el país.

Esta familia es caracterizada por presentar un par de ojos únicos y complejos, los grandes ojos anteriores medios, que le otorgan al grupo una visión muy aguda, causando el desarrollo de complejos comportamientos de apareamiento y de depredación (Blackwall, 1841; Maddison, 1996; Su et al. 2007).

### 2.2. Edad estimada de Salticidae

La edad estimada para la familia Salticidae, se encuentra establecida por dos hipótesis diferentes concordantes (García-Villafuerte, 2018). La primera resuelve una edad alrededor de los 44 a 49 Ma, colocando a la familia con un origen en el Periodo Paleógeno, durante la Época del Eoceno temprano-medio, con base en los fósiles más antiguos de tres géneros de saltícidos (*Almolinus* Petrunkevitch, 1958; *Gorgopsina* Petrunkevitch, 1955 y *Prolinus* Petrunkevitch, 1958) considerados extintos de la subfamilia Hisponinae Simon, 1901, para el ámbar del Báltico (Weitschat y Wichard, 2002 citado en Bodner y Maddison, 2012). La segunda hipótesis, de Bodner y Maddison (2012), con base en métodos de reloj molecular y utilizando calibraciones fósiles y restricciones geológicas, data el origen de la familia de 47 a 57 Ma para radiaciones en el Paleoceno tardío y Eoceno temprano. Considerando ambas hipótesis la aparición de la familia Salticidae correspondería a la era Cenozoica. No obstante, Penney (2010) menciona que no se descarta la idea de poder encontrar miembros fósiles de esta familia en el Mesozoico, en los registros del Cretácico, debido a la brecha de conocimiento que existe sobre la presencia de este grupo en el ámbar de Francia del Eoceno y los del Cretáceo.

En cuanto a la presencia de la familia Salticidae en América del Norte, los registros más antiguos que se tiene datan alrededor de los 15 a 23 Ma, con la evidencia de los fósiles del Mioceno en el ámbar de Chiapas, como es el caso de *Galionora* Maddison, 2006 (23 Ma; García-Villafuerte, 2018), y otros registros que amplían la diversidad de fauna saltícida

norteamericana desde el Mioceno temprano al medio (Hill y Edwards, 2013; García-Villafuerte, 2018).

### **2.3. Historia taxonómica de Salticidae**

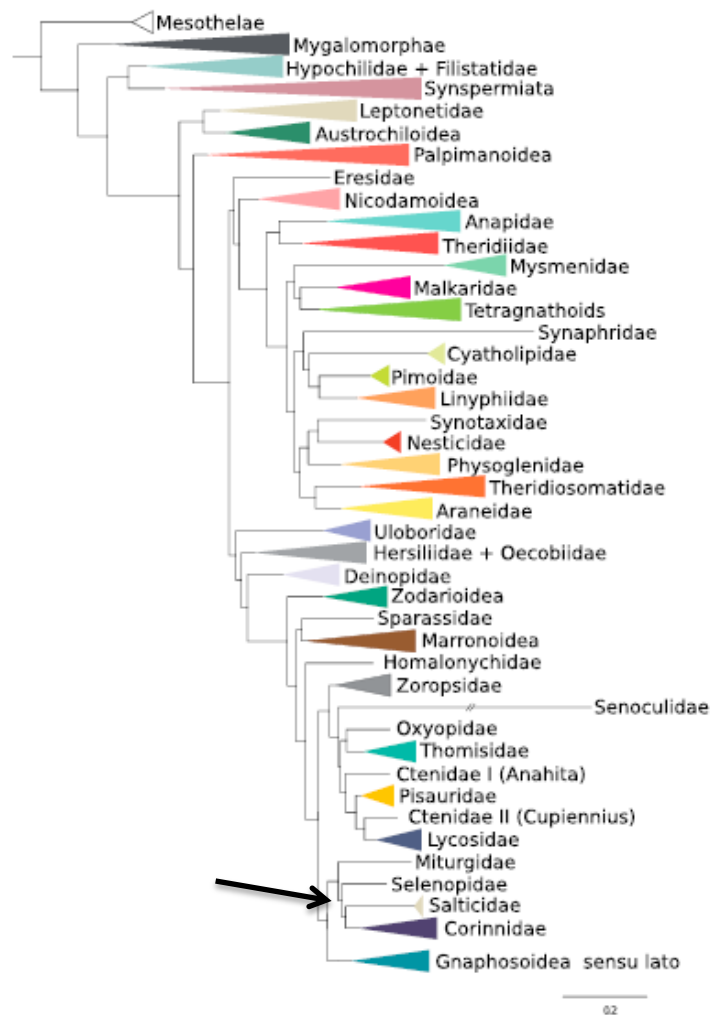
La historia sobre la sistemática de Salticidae comenzó con algunos trabajos de Eugene Simon en 1901, basado en características superficiales del cuerpo de saltícidos para su clasificación, como es la dentición presente en los quelíceros. Estas características pronto se vieron limitadas para representar la diversidad morfológica de la familia (Proszynski, 2016). Posteriormente se le dió importancia diagnóstica a las características genitales del macho, como son las principales estructuras del pedipalpo favoreciendo la organización de la familia con los trabajos de Jerzy Proszynski (Maddison y Hedin, 2003a). Después de esto, otros trabajos como el de Wanless (1984) asignaron nuevas estructuras diagnósticas del pedipalpo, y continuaron las revisiones de géneros y el reacomodo de especies (Maddison, 1996). El análisis de secuencias de DNA esclareció las relaciones filogenéticas de algunos grupos de la familia reestructurando grupos supragenéricos con base en diferentes secuencias genéticas (Maddison y Hedin, 2003a; Maddison et al. 2008; Bodner y Maddison, 2012).

A pesar de conocer la monofilia de la familia Salticidae, la evidencia que se tenía al respecto de su grupo hermano era escasa, con pocos trabajos que mencionaban algo al respecto (Ramírez, 2014; Garrison et al. 2016; Wheeler et al. 2017). Sin embargo, con el reciente trabajo sobre el estudio filogenómico y transcriptómico comparativo de Araneae, se logra soportar la relación de la familia Salticidae como grupo hermano de Corinnidae Karsch, 1880, utilizando una combinación de datos transcriptómicos con una matriz filogenética basada en secuencias Sanger (Fernández et al., 2018; Figura 1).

Actualmente, la monofilia de la familia Salticidae está soportada por la morfología y los análisis moleculares del grupo (Maddison, 2015). Las características morfológicas abarcan principalmente, la forma de los ojos anteriores medios y la disposición general de los ojos, además del comportamiento característico de salto marcado mayormente en estas arañas, lo que posiblemente implica caracteres de importancia en la cutícula, musculatura y sistema nervioso de las mismas, entre algunos otros (Ramírez, 2014; Maddison, 2015). En cuanto a los análisis moleculares, la monofilia de la familia ha sido corroborada en más de una ocasión, utilizando diferentes análisis filogenéticos, de máxima verosimilitud, parsimonia y métodos coalescentes, con secuencias genéticas y de hasta 447 loci (Maddison y Hedin, 2003a; Maddison et al. 2014; Maddison et al. 2017; Figura 2).

El amplio conjunto de los trabajos sobre la sistemática de los saltícidos, ha generado una clasificación tentativa de la familia Salticidae, compuesta por siete grandes subfamilias, en donde la mayoría de las especies están agrupadas en la subfamilia Salticinae Blackwall,

1841 (Maddison, 2015). Esta clasificación se basa en la evidencia molecular extraída de diferentes análisis filogenéticos multilocus, tomando en cuenta además los datos morfológicos existentes, con los cuales también se ha corroborado la monofilia y las relaciones entre las diferentes subfamilias (Maddison y Hedin, 2003a; Maddison y Hedin, 2003b; Zhang y Maddison, 2013; Maddison et al. 2014; Maddison et al. 2016; Maddison et al. 2017; Maddison et al. 2020).

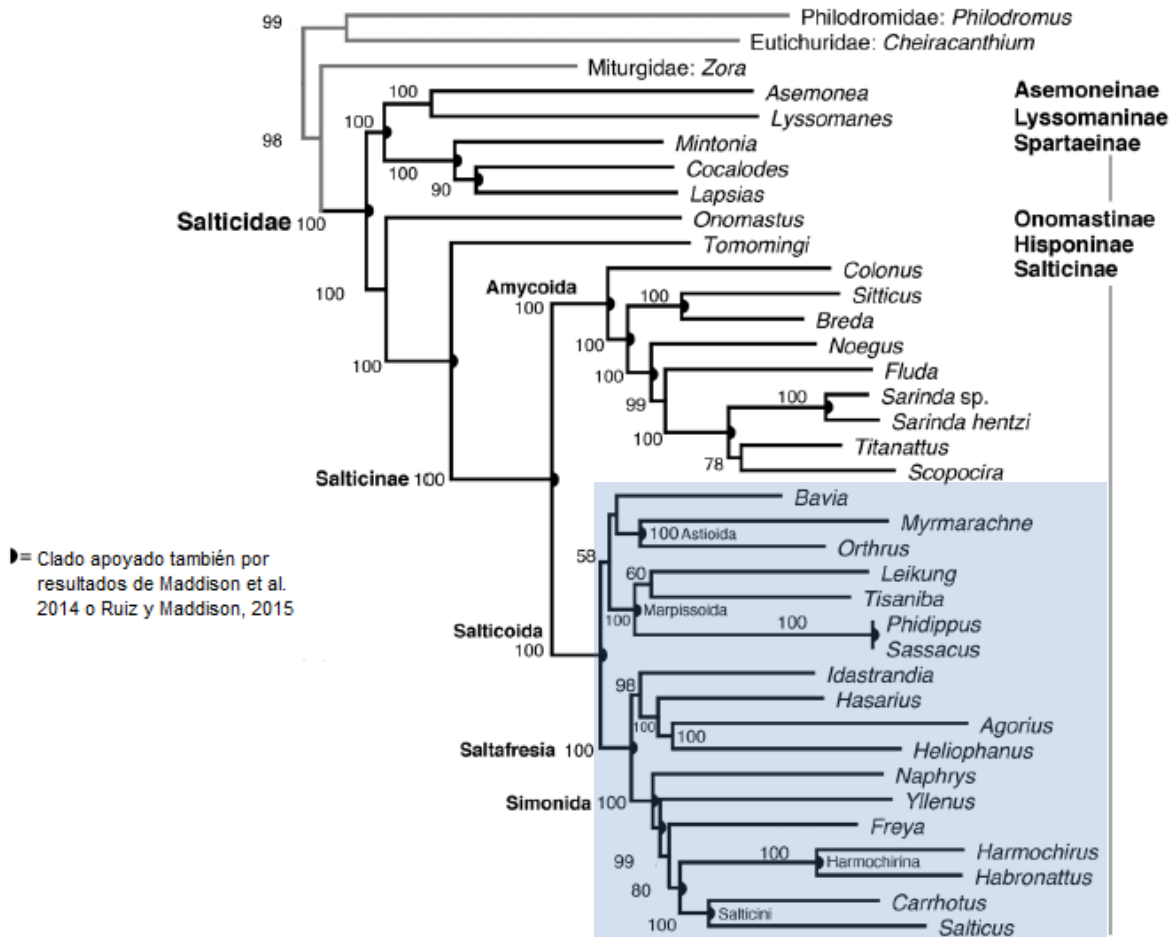


**Figura 1.** Hipótesis filogenética del orden Araneae mostrando sus relaciones, con puntas colapsadas a niveles taxonómicos más altos. La flecha negra indica la ubicación de la familia Salticidae. Imagen tomada y modificada de Fernández y colaboradores (2018).

#### 2.4. Diversidad y distribución de la subfamilia Salticinae Blackwall, 1841

La subfamilia Salticinae incluye el 93% de todas las especies conocidas de saltícidos, con 5,379 especies en 538 géneros, y presenta una distribución mundial que va desde regiones templadas hasta regiones árticas (Maddison, 2015). Esta subfamilia se

divide en dos grandes clados: Amycoidea Maddison y Hedin, 2003 y Salticoida Maddison y Hedin, 2003.



**Figura 2.** Filogenia de la familia Salticidae basada en Máxima Verosimilitud. Los números indican el porcentaje de soporte Bootstrap para cada clado. Los semicírculos indican clados apoyados también en los resultados de Maddison y colaboradores (2014) o de Ruiz y Maddison (2015). El clado sombreado con azul representa al clado Salticoida. Tomada y modificada de Maddison y colaboradores (2017).

El clado Amycoidea contiene una menor cantidad de especies con tan solo 430 especies en 63 géneros, se encuentra ausente en el viejo mundo y su distribución es predominante en América del Sur (Maddison, 2015). Este clado presenta una gran diversidad de formas y adaptaciones miméticas en diferentes especies, como son las especies que mimetizan hormigas, escarabajos, las que habitan la corteza plana y las que viven en el suelo (Maddison, 2015). El clado Salticoida agrupa la mayoría de las especies descritas en la subfamilia, con alrededor de 427 géneros y 4,825 especies, manteniendo una

distribución mundial, con una sobresaliente ocurrencia en Indonesia, China, Australia y América (Maddison, 2015; World Spider Catalog, 2021).

El clado Salticoida está a su vez dividido en tres principales clados, dentro de los cuales se encuentra el clado Marpissoida (Figura 2). Este clado agrupa alrededor de 90 géneros con 840 especies, con una distribución mundial sobresaliente en Norte y Centroamérica (Maddison, 2015). El clado Marpissoida se divide en tres tribus, dentro de las cuales Dendryphantini Menge, 1879 es considerada una de las tribus con mayor riqueza de especies dentro de la familia. Esta tribu agrupa 73 géneros y alrededor de 749 especies neotropicales (Maddison, 2015).

La tribu Dendryphantini agrupa cuatro subtribus, de las cuales Dendryphantina Menge, 1879 comprende 581 especies en 56 géneros (Maddison, 2015). La diversidad de estas especies domina en muchas áreas de América del Norte, con algunos géneros como *Dendryphantes* Koch, 1846 en Eurasia (Maddison, 2015). En esta subtribu se encuentran agrupados a géneros conocidos como *Phidippus* Koch, 1846, *Paraphidippus* Pickard-Cambridge, 1901, *Dendryphantes*, *Metaphidippus* Pickard-Cambridge, 1901 y *Pelegrina*, los cuales conforman los géneros con mayor número de especies dentro del grupo.

## **2.5. Taxonomía y sistemática de la Subfamilia Salticinae**

La monofilia de la subfamilia Salticinae está soportada por caracteres morfológicos como por datos moleculares (Maddison, 2015). Estos caracteres morfológicos son: la ausencia de uñas en el tarso del pedipalpo de la hembra, el esclerito interquelicerar reducido (Maddison, 1996) y la presencia de una apófisis mediana en el pedipalpo del macho (Maddison et al. 2016). A su vez, los salticinos presentan una mayor heterogeneidad de sedas en las patas que los no salticinos, presentando una importante variación en sus longitudes, además de las macrosedas y tricobotrias (Maddison, 2015).

Los dos grandes clados de esta subfamilia están delimitados únicamente por datos moleculares (Maddison, 2015). A pesar de que en el clado Salticoida se presentan algunas características en el pedipalpo inusuales para el resto de los salticidos, no se tiene una sinapomorfía morfológica establecida (Maddison, 2015).

La monofilia del clado Marpissoida está bien soportada por datos moleculares, con la única excepción de dos géneros pertenecientes a la tribu Tisanibini Maddison, 2015 (Bodner y Maddison, 2012). A pesar de que todos los integrantes de ese clado presentan un émbolo en forma de espiral y el desarrollo completo de la hematodocha del émbolo, las cuales podrían ser sinapomorfías del mismo, estos caracteres también se encuentran presentes en otros grupos que no pertenecen a este clado (Maddison, 2015). En cuanto a la tribu Dendryphantini no se conocen sinapomorfías morfológicas, pero se encuentra bien



soportada por los datos moleculares (Hedin y Maddison 2001; Maddison y Hedin 2003a; Maddison et al. 2014).

La subtribu Dendryphantina sí presenta caracteres morfológicos que lo delimitan, tales como la presencia de una carina en la parte inferior del quelícero masculino, la existencia de un émbolo en forma de espiral, y una abertura epiginial en forma de “S” (Maddison, 1996). Estos caracteres dan soporte a su monofilia junto con la evidencia molecular obtenida de varios géneros (Hedin y Maddison 2001; Maddison y Hedin 2003a). Esta subtribu agrupa una gran diversidad de saltícidos, los cuales se pueden encontrar con cuerpos robustos y altos como en el caso de *Paraphidippus*, *Phidippus* y *Dendryphantes*, así como arañas alargadas y delgadas como *Phanias* Pickard-Cambridge, 1901 y *Hetzia* Marx, 1883 (Hedin y Maddison, 2001), y algunas más compactas y pequeñas como *Metaphidippus* y *Pelegrina*.

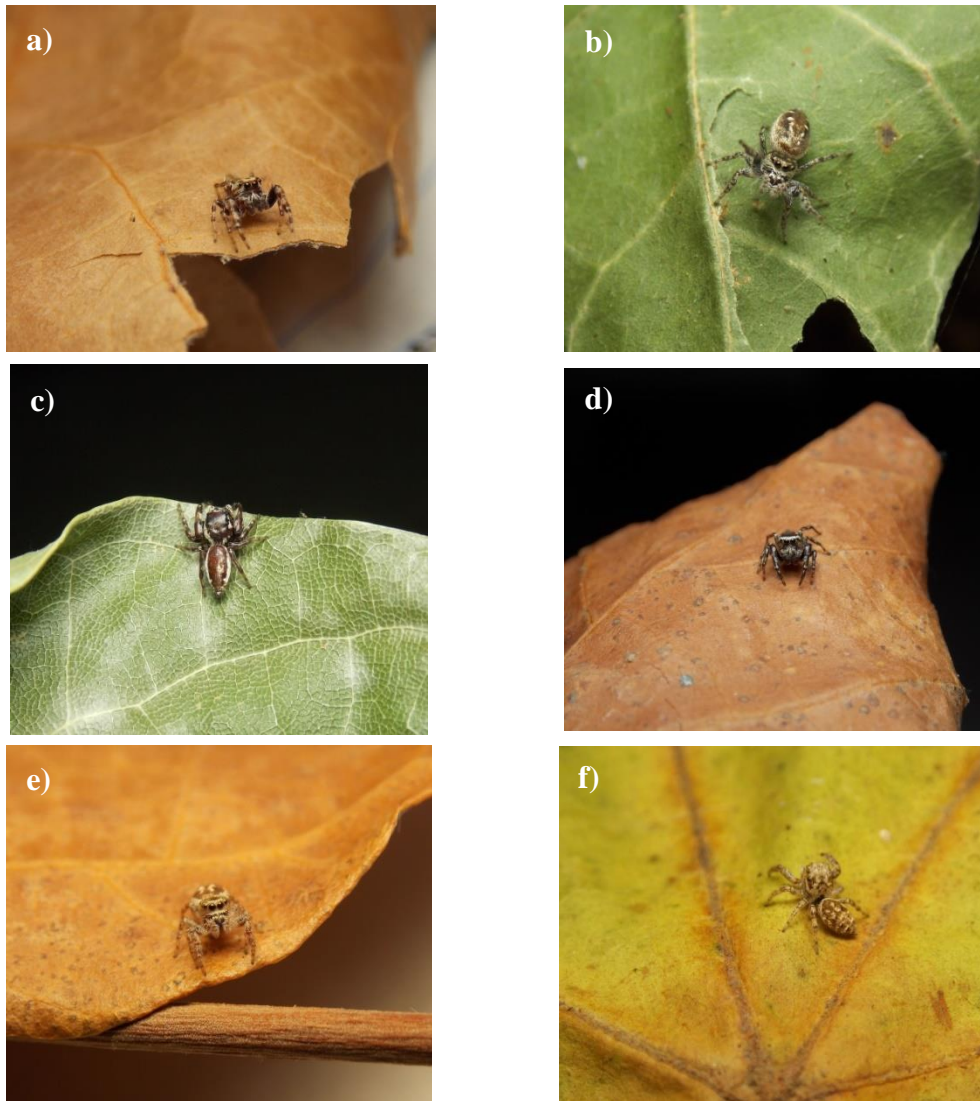
## **2.6. Diversidad y distribución del género *Pelegrina* Franganillo 1930**

El género *Pelegrina* se encuentra representado por 38 especies descritas, las que conforman el 7% dentro de la subtribu Dendryphantina, siendo uno de los cinco géneros con mayor riqueza de especies (World Spider Catalog, 2021). Las especies de *Pelegrina* presentan una distribución norteamericana que va desde Canadá hasta el sur de Panamá, con al menos 19 especies presentes en México, con presencia en 21 estados de la República Mexicana (Correa et al. 2014; Desales-Lara, 2014; Richman et al. 2012).

Este género se puede encontrar en diversos hábitats del Ártico hasta las tierras bajas tropicales del centro de América. Algunas especies pueden estar habitando en tierras altas de bosque nuboso, en bosque mixto de roble y pino y en tierras bajas tropicales de México, en donde las podemos observar en el follaje de árboles y arbustos, así como ocasionalmente en el suelo (Maddison, 1996; Figura 3).

## **2.7. Taxonomía y sistemática del género *Pelegrina***

El género *Pelegrina* fue descrito en 1930 por Pelegrín Franganillo Balboa de la cadena montañosa “Sierra Maestra” en la región oriental de Cuba. *Pelegrina* fue descrito como un género nuevo de la subfamilia Heliophaninae Franganillo, 1930 con la especie tipo *Pelegrina geniculata* Franganillo, 1936, conforme a caracteres tales como la presencia de un cefalotórax moderadamente alto, un clipeo encontrado tan alto como la mitad del diámetro de los ojos anteriores medios, la presencia de quelíceros en forma acodada, un esternón truncado a lo ancho de la parte anterior, la aparición de los ojos anteriores ligeramente recurvados, un cuadrángulo ocular más ancho que largo y la presencia del primer par de patas más robustas que las demás (Franganillo, 1930).



**Figura 3.** Especímenes vivos de diferentes especies de *Pelegrina*. Fotografías tomadas por Kirino Arreguin. **a)** *P. orestes* (macho) del Edo. de México, Aculco, cascada la Concepción (terreno de acacias y nopales), **b)** *P. edrilana* (hembra) del Edo. de México, Toluca, Parque de Sierra Morelos **c)** *P. sp.* aff. *P. chaimona* (macho) del Edo. de México, Toluca, Parque Sierra Morelos (bosque de pino- oyamel), **d)** *P. sp.* (macho) de Hidalgo, Jacala, **e)** *P. sp.* (hembra) de Nayarit, Jala, Volcan Ceboruco (cañada húmeda), **f)** *P. sp.* (hembra) del Edo. de México, Coatepec Harinas, Meyuca de Morelos, Cerro de las Huacas (selva baja caducifolia).

Después de la publicación de la descripción del género, Kaston en 1973 describe a las especies *flaviceps*, *peckhamorum* y *tillandsiae* como especies de *Metaphidippus*, actualmente pertenecientes a *Pelegrina*. Previamente, Peckham y Peckham (1901, 1909) describen a las especies *proxima*, *arizonensis* y *pervaga* como especies de *Dendryphantes* que posteriormente son parte de *Metaphidippus* y luego de *Pelegrina*. La última revisión del género fue hecha por Maddison en 1996, quién considerando otros géneros de Dendryphantina como *Metaphidippus*, *Nagaina* Peckham y Peckham, 1896, *Phanias*,

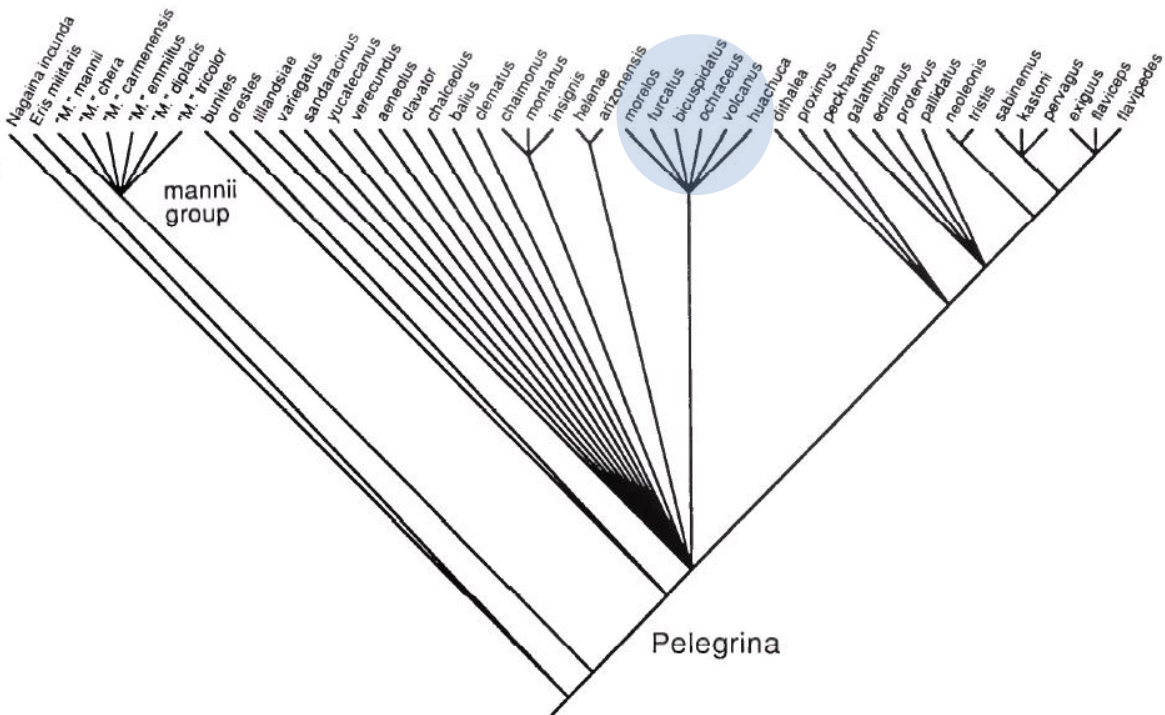
*Terralonus* Maddison, 1996, *Bagheera* Peckham y Peckham, 1896, *Dendryphantes*, *Beata* Peckham y Peckham, 1895, y *Ghelna* Maddison, 1996, transfiere 19 especies al género *Pelegrina*. En esta publicación, Maddison reacomoda 17 especies de *Metaphidippus*, una especie de *Dendryphantes* (*D. flavipedes*) y a otra especie de *Beata* (*B. variegata*), con base en características encontradas en los pedipalpos de machos, principalmente, y además realiza la descripción de 17 especies nuevas para el género (Maddison, 1996).

En el trabajo de Maddison (1996) se realiza la revisión completa de *Pelegrina*, agregando caracteres morfológicos que identifican a la mayoría de sus especies como parte de este género. Sin embargo, estos caracteres no están presentes en su conjunto en las especies de *Pelegrina* y, por lo tanto, la evidencia morfológica que se tiene delimita a este grupo de manera parcial.

Los caracteres de importancia taxonómica propuestos por Maddison (1996) son los siguientes (Figura 4): 1) la presencia de dos ramas terminales retrolaterales a la apertura en el émbolo del macho (a), 2) el potencial de distensión de la estructura “hematodocha” encontrada distalmente en el pedipalpo del macho, presente en todo *Pelegrina*, en las especies de *Metaphidippus* grupo *mannii* y el género *Eris* Koch, 1846, (b-d), 3) la aparición de las proyecciones a manera de alerones o “flaps” desarrolladas, largas y anchas cubriendo los opérculos genitales en la abertura epiginial de la hembra, encontrados en todo *Pelegrina* y en diferentes tamaños en otros dendryphantinos (e, f), 4) la existencia de arrugas en el margen anterior del colmillo quelicerar del macho observados en todo *Pelegrina* y presentes de diferente forma en otros dendryphantinos (g, h), 5) la presencia de bandas distintivas observadas contactando a los ojos anteriores medios en el caparazón del macho, encontradas junto con las bandas laterales en algunas especies del grupo *mannii* de *Metaphidippus* y en la mayoría de *Pelegrina* (i- k), 6) la aparición de una marca pálida en forma de “V” invertida en machos que mantiene contacto con los ojos anteriores medios, observada en la mayoría de los machos de *Pelegrina* y en algunos otros dendryphantinos (i- k), y 7) la existencia de una apófisis tibial puntiaguda y esclerosada en el pedipalpo del macho, acompañada de una cresta debajo de esta apófisis dándole una apariencia de apófisis bífida, presente en la mayoría de las especies de *Pelegrina* y del grupo *mannii* así como de otros dendryphantinos (l, m) (Maddison, 1996).

Debido a lo anterior, Maddison agrupa 19 especies de *Pelegrina* en diferentes conjuntos, los cuales comparten ciertos caracteres como evidencia indirecta de su monofilia (Maddison, 1996). El resto de las especies presentan émbolos característicos delgados con ramas terminales pequeñas en los machos, el cual podría ser considerado como un carácter plesiomórfico para el género (Maddison, 1996). Los seis grupos de *Pelegrina* se muestran en el cladograma (Figura 5), presentado el grupo *flavipedes* las especies *flavipedes* Maddison, 1996, actualmente *flavipes* Peckham y Peckham, 1888, *flaviceps* Kaston, 1973 y

*exigua* Banks, 1892, el grupo *pervaga* con *pervaga* Peckham y Peckham, 1909, *sabinema* Maddison, 1996 y *kastoni* Maddison, 1996, el grupo *neoleonis* las especies *neoleonis* Maddison, 1996 y *tristis* Maddison, 1996, el grupo *arizonensis* con *arizonensis* Peckham y Peckham, 1901 y *helenae* Banks, 1921, el grupo *montana* las especies *montana* Emerton, 1891, *insignis* Banks, 1892 y *chaimona* Maddison, 1996, y el grupo *furcata* con las especies *furcata* Pickard-Cambridge 1901, *huachuca* Maddison 1996, *morelos* Maddison 1996, *bicuspidata* Pickard-Cambridge 1901, *volcana* Maddison, 1996, y *ochracea* Pickard-Cambridge, 1901 (Maddison, 1996).



**Figura 5.** Cladograma del género *Pelegrina*, realizado por Maddison con evidencia morfológica. El clado sombreado con azul representa el clado del grupo *furcata*. Imagen tomada y modificada de Maddison (1996).

Los trabajos actuales sobre Salticidae no se han centrado en las relaciones filogenéticas internas del género *Pelegrina* y tampoco se tiene todavía una filogenia molecular que represente y corrobore la monofilia del género propuesta por Maddison (1996) con base en caracteres morfológicos. Sin embargo, los trabajos que se tienen hasta ahora sobre la familia y que incluyen dentro de los dendriantinos a representantes de *Pelegrina*, colocan a este género como grupo hermano de *Eris*, siendo soportados con análisis de Máxima Verosimilitud utilizando árboles concatenados de COI + ND1 (Hedin y Maddison, 2001; Maddison y Hedin, 2003a). Además, en otro trabajo sobre biogeografía de saltícidos se han publicado filogenias en donde *Pelegrina* se coloca como grupo hermano

del género *Phidippus* con análisis de Inferencia Bayesiana y probabilidades posteriores de 0.98 utilizando los genes 16s-ND1 (Bodner y Maddison, 2012).

## **2.8. Diversidad y distribución de *Pelegrina* (grupo *furcata*) Franganillo, 1930**

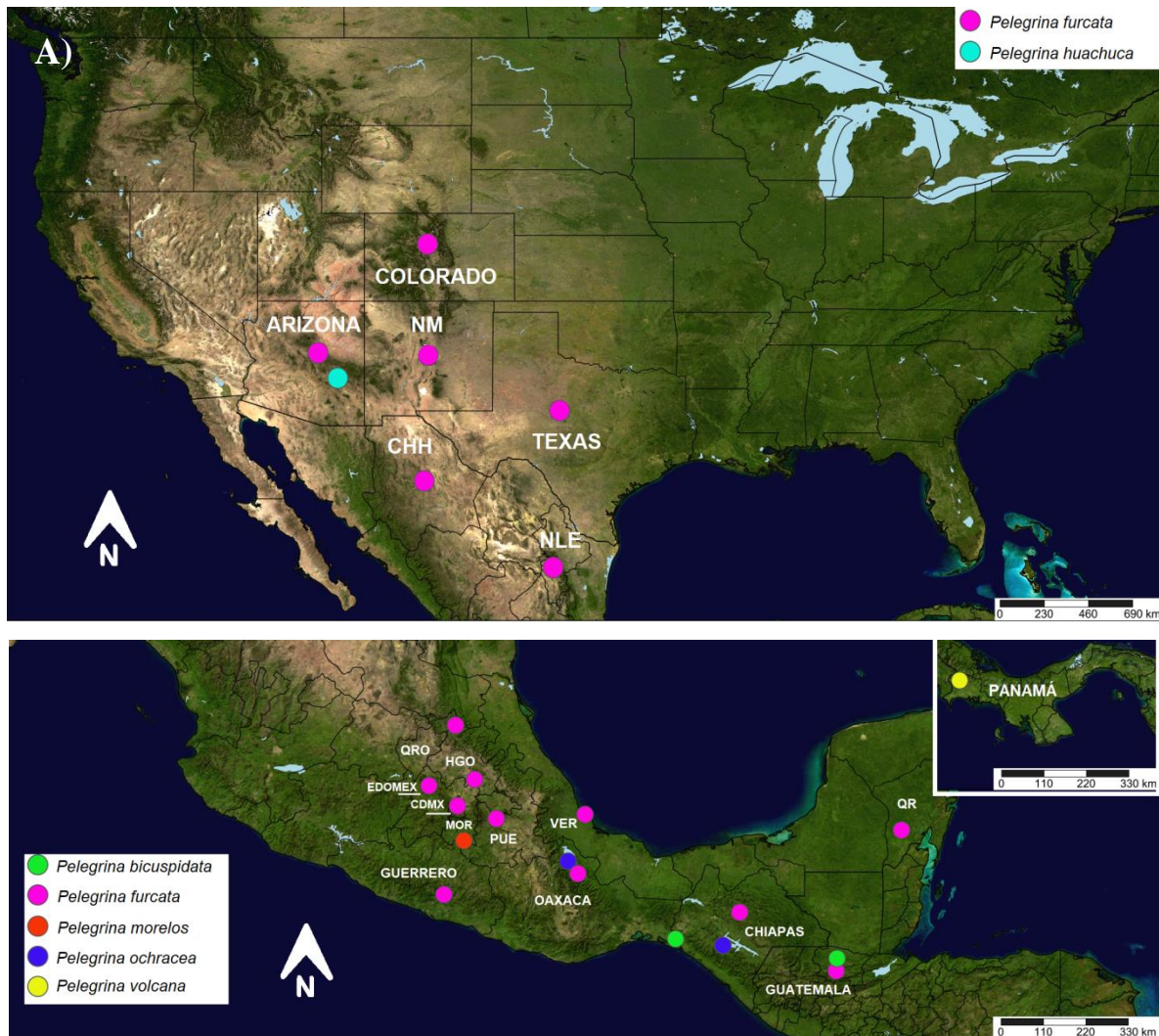
Las especies que conforman el grupo *furcata* del género *Pelegrina*, mantienen la siguiente distribución geográfica; Figura 6, Mapa generado en SimpleMappr (Shorthouse, 2010): en el norte de Colorado con *P. furcata*, pasando por el centro y sureste de Arizona con *P. furcata* y *P. huachuca*, atravesando México llegando al sur de Guatemala con las especies *P. furcata*, *P. morelos*, *P. bicuspidata*, y *P. ochracea*, hasta llegar a Panamá con la presencia de *P. volcana* (Maddison, 1996; Richman et al. 2012).

Los registros del grupo *furcata* para México indican la presencia de cuatro especies (*P. furcata*, *P. bicuspidata*, *P. morelos* y *P. ochracea*) reconocidas y distribuidas en 13 estados del país: Chihuahua, Nuevo León, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Estado de México, Ciudad de México, Morelos, Veracruz, Guerrero, Oaxaca, Chiapas y Quintana Roo (Desales-Lara, 2014, Richman et al. 2011).

## **2.9. Taxonomía de *Pelegrina* (grupo *furcata* Maddison, 1996)**

Las especies dentro del grupo *furcata* comparten los caracteres taxonómicos tres y siete mencionados anteriormente para el género *Pelegrina* (Figura 4 e, l). Estas especies presentan los alerones epiginiales de las hembras fuertemente convexos similares a los encontrados en *P. proxima* Peckham y Peckham, 1901 y *P. peckhamorum* Kaston, 1973, y la presencia de la cresta bajo la apófisis tibial en los pedipalpos de machos, desarrollada como una segunda apófisis, además de presentar los machos surcos en el borde retrolateral de la base del émbolo en sus pedipalpos, similares en *P. insignis* y las hembras una superficie epiginial cóncava detrás de los alerones o “flaps” similar a la encontrada en *P. próxima*, *P. peckhamorum* y *P. balia* Maddison, 1996 (Maddison, 1996).

Los estudios sobre este grupo de especies del género *Pelegrina* se limitan a las descripciones originales de las especies (Pickard-Cambridge, 1901, Maddison, 1996), a sus diferentes transferencias a otros géneros (Petrunkevitch, 1911, Prószyński, 1971, Peckham y Peckham, 1909, Chamberlin, 1925, Jung y Roth, 1974), y a la revisión de Maddison antes mencionada, la cual es la mayor aportación al grupo, no solo en su taxonomía, sino también sobre el comportamiento de cortejo y la historia natural del grupo (Maddison, 1996). Además, las especies del grupo *furcata* se pueden encontrar en algunos estudios de diversidad de arañas (García-Villafuerte, 2009; Jiménez-Jiménez, 1989; Medina-Soriano, 2002), y en listados de la familia Salticidae (Desales-Lara, 2014; Hoffmann, 1976; López-Villegas et al. 2012; Richman et al. 2012; Richman y Cutler, 1988).



**Figura 6.** Distribución de las especies del género *Pelegrina* (grupo *furcata*). **A)** Registros de Estados Unidos y Norte de México. **B)** Registros del Centro y Sur de México, y Guatemala, el recuadro a la derecha del mapa muestra el único registro que se tiene para Panamá. *Abreviaturas:* CDMX: Ciudad de México; CHH: Chihuahua; EDOMEX: Estado de México; HGO: Hidalgo; MOR: Morelos; NM: Nuevo Mexico; NLE: Nuevo León; PUE: Puebla; QR: Quintana Roo; QRO: Querétaro; VER: Veracruz. Registros tomados de Maddison (1996) y Richman y colaboradores (2012).

## 2.10. Delimitación de especies

Las especies son unidades fundamentales y juegan un papel central en biología (Rannala y Yang, 2020; Stockman y Bond, 2007). Su descubrimiento y delimitación es uno de los objetivos empíricos de la sistemática que se mencionan con mayor frecuencia (Brooks y McLennan, 1999; Wheeler y Meier 2000), pues el develar una especie permite entender muchas de las ramas de la biología, como lo son la misma sistemática, la ecología

y la biología de la conservación (Wheeler y Meier 2000). Aunado a esto, el reconocer especies es fundamental para percibir y actuar en función de la diversidad de organismos con la que habitamos el planeta, así como poder estimar y disminuir la tasa actual de extinción, ya que, debido a la existencia de límites de linajes inciertos y al alto porcentaje estimado de especies que falta por descubrir (de un 80 a 90% sin descubrir), es posible que muchos de estos linajes pasen inadvertidos (Rannala y Yang, 2020).

Dada su importancia, la separación de linajes ha causado controversia por mucho tiempo debido al número de conceptos de especie propuestos, los cuales pueden ser incompatibles al momento de establecer límites entre esta categoría, y causar confusión al momento de elegir los criterios para establecer nuevas especies (Brooks y McLennan, 1999; Carstens et al. 2013; De Queiroz, 2007). El concepto unificador de especie se logra tratando la existencia de un linaje de metapoblación que evoluciona por separado como la única propiedad necesaria de las especies, en donde los diferentes criterios de especies secundarias son utilizados como diferentes líneas de evidencia relevantes para evaluar la separación de linajes, los cuales pueden utilizarse en diferentes etapas del proceso de especiación (Baum y Smith, 2012; Carstens et al. 2013; De Queiroz, 2007).

El proceso para establecer estos límites sigue los pasos del descubrimiento o la delimitación de especies *de novo* para algunos autores (Eberle et al., 2019), la identificación o validación de especies y la delimitación de linajes (Prendini, 2005). El reconocimiento de especies candidatas se realiza con base en cualquier evidencia de las propiedades secundarias de los linajes, lo que conocemos como los diferentes conceptos de especie (Vieties et al. 2009). La identificación de estas especies se hace evaluando objetivamente estas evidencias con ayuda de análisis estadísticos (heurísticos o paramétricos), lo que conforma la propiedad operativa de cada concepto (De Queiroz, 2007; Site y Marshall, 2004). Por último, la delimitación de las especies se realiza comparando estadísticamente las diferentes hipótesis generadas o por dos criterios principales por congruencia entre los métodos de delimitación o por acumulación de las evidencias reunidas y los distintos métodos utilizados (DeSalle et al., 2005; Padial et al., 2010).

Con base en lo anterior, la delimitación de especies se enfrenta al problema de estudiar la o las propiedades evolutivas necesarias que estén operando en un linaje al momento de su estudio, y en ocasiones a saber discernir e integrar la información obtenida de cada una de las evidencias (DeSalle et al. 2005; Vieties et al. 2009). En la mayoría de los casos es preciso y necesario incluir una segunda o tercera evidencia para poner a prueba nuestras especies candidatas (DeSalle et al. 2005; Vieties et al. 2009). En la sistemática moderna, la evidencia morfológica, la distribución geográfica y la evidencia molecular son las principales propiedades que se utilizan para discernir entre una especie y otra (De Salle et al. 2005). La evidencia morfológica sigue siendo una propiedad secundaria preliminar y en algunas ocasiones es suficiente al momento de realizar la separación de especies. No

obstante, esto depende mucho del grupo de estudio, siendo en otras ocasiones insuficiente o inadecuada (Hamilton et al. 2014; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Pante, et al. 2015; Valdez-Mondragón et al. 2019; Valdez-Mondragón, 2020).

En el caso de la información del DNA, utilizada en el contexto de código de barras ha sido muy criticada al usarse como única evidencia para delimitar especies. Esto debido a la necesidad de reconocer una entidad evolutiva en la naturaleza y a la manera en cómo se estudia la cadena de nucleótidos al momento de la delimitación (DeSalle et al. 2005). No obstante, el potencial de las secuencias genéticas para seleccionar organismos microscópicos u organismos crípticos (Rannala y Yang, 2020), y para asignar especímenes no identificados a especies ya establecidas, ha sugerido su uso como una herramienta importante en el descubrimiento de especies y su identificación (Hebert y Gregory, 2005; Prendini, 2005; Savolainen, et al. 2005; Vieties et al. 2009).

Las discusiones sobre las ventajas y desventajas de utilizar el DNA como única evidencia para delimitar linajes deben de fomentar la generación de hipótesis robustas, en donde se plantee todo el conocimiento posible de los organismos a separar (Brooks y McLennan, 1999; Padial et al., 2010). Además, se reconoce que la delimitación de especies basada en una amplia gama de datos, forma hipótesis científicas con mayor reafirmación, con las cuales se pueden hacer predicciones explícitas sobre muchas otras características biológicas del organismo, generando patrones evolutivos que se requieren explicar (De Queiroz, 2007; Lipscomb et al. 2003; Sites y Marshall, 2003).



### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Métodos de delimitación molecular de especies en arañas**

A partir del año 2000 ha habido un fuerte progreso en cuanto a las técnicas moleculares para utilizar la información del DNA, incrementando su uso tanto para definir especies como para estudiar el proceso de especiación (Stockman y Bond, 2007; Rannala y Yang, 2020).

Existe una gran cantidad de métodos estadísticamente novedosos para identificar especies de manera objetiva y rigurosa desde distintas perspectivas (Sites y Marshall, 2003). Una gran cantidad de procedimientos con evidencia molecular son utilizados para inferir de manera indirecta la presencia o ausencia del flujo génico dentro y entre las especies hipotéticas, con un enfoque más cercano a la genética de poblaciones (Sites y Marshall, 2003, 2004). Otros métodos se basan en el concepto filogenético de especie, delimitando a las especies como linajes históricos representados como grupos naturales o monofiléticos (Hennig, 1966), basados en las relaciones históricas de los linajes, o basados en la posesión de caracteres exclusivos de los mismos (Baum y Donoghue, 1995). Finalmente, algunos de los métodos más populares son los basados en la teoría de la coalescencia, los que delimitan poblaciones en un nivel genealógico, identificando a las especies como grupos exclusivos de organismos, en donde la convergencia de genes dentro de una población es más reciente entre sí, que con los organismos fuera de la misma (Baum y Donoghue, 1995; Davis, 1996).

Es preciso resaltar que los diferentes métodos para delimitar especies pueden generar hipótesis distintas al momento de identificar linajes, derivadas de los múltiples procesos evolutivos que se encuentran operando dentro y entre las poblaciones, así como dependiendo del criterio utilizado por cada método. Por esto, resulta indispensable definir objetivamente el o los conjuntos de datos a utilizar, y los métodos empíricos rigurosos a elegir para examinar los datos (Brooks y McLennan, 1999; Cracraft, 2000; Sites y Marshall, 2003, 2004). Además, es importante tener en cuenta la manera en la que se van a integrar los resultados de las diferentes evidencias y métodos utilizados (Padiál et al., 2010).

##### **3.1.1. Métodos basados en distancias genéticas**

Algunos de los métodos de delimitación molecular utilizados en los trabajos con arañas, son los análisis basados en distancias genéticas. Estos métodos se basan en la premisa de que la brecha de la divergencia intraespecífica es menor a la generada por la divergencia interespecífica, y logran ser eficientes cuando estas brechas se comportan así en el gen utilizado, vistas como el resultado de un aislamiento reproductivo (Puillandre,

2012). El objetivo de estos métodos es encontrar la “brecha de código de barras” que marque la separación entre una especie y otra, para inferir las especies putativas de los linajes bajo estudio (Barret y Hebert, 2005; Puillandre et al., 2012).

Una de las desventajas de utilizar estos métodos para separar especies es que existe una alta probabilidad de encontrar diferencias fijas falsas en el DNA de muestras pequeñas de individuos, e incluso diferentes haplotipos en diferentes poblaciones de una misma especie, lo que puede generar confusión al momento de separar especies (Rannala y Yang, 2020). También se sabe que esta brecha de código de barras varía entre los diferentes grupos de organismos debido a factores como el tamaño efectivo de la población y los tiempos de divergencia de las especies (Rannala y Yang, 2020), entre otras circunstancias que tienen que ver con la estructura poblacional, la capacidad de dispersión, etcétera (Eberle et al., 2019; Johannesen et al., 2012). Por lo tanto, con el propósito de evitar la subjetividad, se considera un buen uso de esta información como un análisis preliminar y en conjunto con otros métodos complejos de delimitación de especies (DeSalle, 2006).

Algunos de estos métodos basados en distancias genéticas, son: “Descubrimiento automático de espacios en el código de barras” (*Automatic Barcode Gap Discovery*) por sus siglas en inglés ABGD, el “Índice de código de barras” (*Barcode Index Numbers*) por sus siglas en inglés BINs y el “Código de barras de DNA de brecha dura” (*Hard-Gap DNA barcoding*) por sus siglas en inglés HB. Estos métodos son utilizados por muchos de los trabajos recientes sobre delimitación molecular de especies en arañas (Candia-Ramirez y Francke, 2020; Hamilton et al. 2014; Hendrixson et al. 2013; Lo et al. 2021; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón y colaboradores; 2019).

#### **3.1.1.1. Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD”**

El método ABGD trabaja a través de un proceso automatizado en el que utiliza una matriz de distancias genéticas. Con esta matriz se genera una primera partición de los datos en especies putativas (particiones primarias), y a partir de ésta, se generan particiones recursivas para identificar grupos adicionales que puedan tener diferentes espacios en el código de barras. Las particiones recursivas se realizan hasta que no se puedan dividir más los datos, llegando a tener una única especie (Puillandre, 2012). Para realizar esto, el programa necesita una divergencia intraespecífica previa con un límite inferior y un límite superior (Rannala y Yang, 2020).

Este método surgió debido a que es difícil establecer un límite estándar de divergencia en algunos grupos de organismos, ya que con frecuencia las divergencias intra e interespecífica se traslapan, haciendo difícil definir un umbral. Dado lo anterior, este

método tiene el objetivo de encontrar automáticamente la distancia en donde se localizan las brechas entre códigos de barras, dividiendo el conjunto de datos en especies candidatas, aunque las distribuciones de diferencias se superpongan (Puillandre et al., 2012; Smith et al., 2005). Dos de las desventajas de este método es que depende de cálculos simples de distancias pareadas y que las distancias intraespecíficas pueden ser multimodales presentando “picos falsos”, debido a factores como el crecimiento de la población o la selección (Rannala y Yang, 2020).

ABGD es uno de los métodos que son empleados comúnmente en trabajos de taxonomía integradora con arañas. Este método ha sido utilizado en trabajos con el género *Ganthea* Xu y Kuntner, 2015 (Liphistiidae Thorell, 1869), indicando que, incluso con los datos de un solo locus (en este caso CO1), integrados con datos morfológicos y geográficos, se puede proporcionar una delimitación de especies confiable (Xu et al. 2015). También ha sido utilizado en trabajos de biodiversidad de arañas como es el de Tyagi y colaboradores (2019), en donde se reconocen alrededor de 21 especies de saltícidos, utilizando el gen CO1. Se conocen varios trabajos con tarántulas en donde se ha utilizado el método ABGD, utilizando únicamente el gen CO1 (Candia-Ramirez y Francke, 2020; Hamilton et al. 2014), y utilizando el gen CO1 y diferentes regiones del espaciador transcrito interno (ITS) (Hendrixson et al. 2013; Ortiz y Francke, 2016), trabajos en los que sus resultados coinciden con la mayoría del resto de los métodos utilizados.

En dos de los trabajos recientes con *Loxocoles* Heineken y Lowe, 1832 de Valdez-Mondragón y colaboradores (2019) y de Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón (2020), utilizando una matriz concatenada de CO1+ITS2, se obtienen resultados congruentes entre todos los métodos de delimitación, con excepción de la partición recursiva de ABGD. Estos resultados son típicos en este método, dado que muchas veces se llega a una congruencia de especies putativas en las particiones primarias, mientras que posteriormente se da una sobreestimación de especies en las particiones recursivas. Por otro lado, en un trabajo reciente con la familia Oxyopidae Thorell, 1870, en donde se delimitan dos especies nuevas para el género *Oxyopes* Latreille, 1804, los resultados de ABGD no fueron la excepción, siendo congruentes con el resto de los métodos y la evidencia morfológica, y únicamente fueron discordantes con el método GMYC (Lo et al. 2021).

### **3.1.1.2. Brecha dura del código de barras de DNA “HB”**

El método HB es una variación del ABGD propuesta por Ortiz y Francke (2016) para restringir el criterio para detectar la brecha de código de barras universal. Este método tiene el objetivo de disminuir la posibilidad de que las especie se dividan en exceso, restringiendo las divisiones a los casos en los que existan grandes espacios en el código de barras, basándose únicamente en la información presente de la matriz analizada (Ortiz y Francke, 2016).

Hard-Gap barcoding es un método recientemente propuesto y utilizado en un estudio con *Bonnetina* Vol, 2000 (Theraphosidae Thorell, 1869), en un enfoque integrador utilizando CO1 e ITS1 (Ortiz y Francke, 2016). En este estudio, el método fue exitoso utilizando el gen CO1, al encontrar una brecha significativa entre las diferentes especies, mientras que para el gen ITS1 de cambio más lento, el método no fue informativo porque no pudo encontrar un espacio significativo en la variación. Por lo tanto, este estudio considera que el método HB es conservador al ser utilizado con marcadores de evolución rápida, como CO1, pero probablemente no está exento de sobreestimar la diversidad (Ortiz y Francke, 2016).

### 3.1.2. Métodos basados en reconstrucción de árboles filogenéticos

La mayoría de los métodos actuales de delimitación de especies se basan en la reconstrucción de árboles filogenéticos (Carstens et al., 2013). Estos métodos se diferencian de los demás debido a que utilizan las propiedades relacionadas con la topología de los árboles filogenéticos para delimitar las especies (Sites y Marshall, 2003). Por lo tanto, al utilizar la monofilia como una propiedad de la topología y un criterio para delimitar especies, estos métodos en su mayoría no requieren asignar previamente las terminales a especies putativas y recaen directamente en el concepto filogenético de especie (Candia-Ramírez y Francke, 2020).

Para estos métodos, la interpretación suele ser confusa cuando no existe una jerarquía subyacente de las especies a estudiar (Goldstein y DeSalle, 2000). Aunado a esto, existen argumentos que cuestionan el utilizar en primera instancia la información de DNA en busca de caracteres con el objetivo de observar caracteres derivados y posteriormente realizar los análisis filogenéticos que nos hablen de la heredabilidad de estos (DeSalle et al. 2005; Goldstein y DeSalle, 2000). Sin embargo, algunas otras opiniones argumentan a favor del uso preliminar de secuencias genéticas con estos métodos cuando existe información de más de una región genética (DeSalle, 2006).

También se han sugerido métodos de delimitación en donde se obtiene la reconstrucción preliminar de una jerarquía basada en cambios de caracteres y posteriormente el ajuste de las tasas de cambio a diferentes modelos de diversificación (Carstens et al. 2013; DeSalle et al. 2005; Goldstein y DeSalle, 2000; Pons et al., 2006). Algunos de estos métodos son: el “Modelo Coalescente General Mixto de Yule” (*Generalized Mixed Yule Coalescent*) por sus siglas en inglés GMYC y la “Implementación bayesiana del proceso del árbol de Poisson” (*Bayesian implementation of the Poisson Tree Process*) por sus siglas en inglés bPTP. Estos métodos son utilizados por los trabajos recientes sobre delimitación molecular de especies en arañas (Ballesteros y Hormiga, 2018; Candia-Ramírez y Francke, 2020; Hamilton et al. 2011; Hendrixson et al. 2013; Lo et al.

2021; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón, 2020).

### 3.1.2.1. Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC”

El método GMYC parte de varias dificultades que presenta la delimitación de linajes con datos de DNA (Pons et al. 2006). Este método se ha propuesto para establecer agrupaciones preliminares de linajes, así como para delimitar especies sin requerir de una agrupación previa de los organismos. Además, GMYC está pensado para la delimitación de especies utilizando un solo marcador genético (Monaghan et al., 2009; Pons et al., 2006).

El sistema GMYC es un modelo estadístico que se basa en predecir los límites de especies analizando las tasas de ramificación en un árbol reconstruido con datos de DNA, combinando los modelos coalescentes a nivel poblacional, con las ecuaciones del nacimiento de linajes a nivel de especie (Pons et al., 2006). Se denomina Modelo Coalescente de Yule, debido a que considera primero una ramificación dentro de las poblaciones, asumiendo una coalescencia neutra dentro de cada especie debido al flujo génico azaroso; y segundo, la divergencia entre especies debido al aislamiento reproductivo entre las mismas, obteniendo así las probabilidades de dichos tiempos de divergencia en cada filogenia (Pons et al., 2006). Además, este modelo implementa una solución a las suposiciones estrictas de cada proceso, introduciendo parámetros que permiten una amplia gama de modelos diferentes para ambos procesos, lo que le otorga el nombre de general mixto. El enfoque más simple para considerar la ramificación entre especies es el modelo de Yule de solo nacimientos, y a nivel poblacional es el Coalescente de tamaño constante (Fujisawa, 2013; Pons et al., 2006).

En un sentido práctico, GMYC trabaja clasificando los intervalos de tiempo de divergencia en procesos de bifurcación de linajes intra e interespecíficos, con ayuda de restricciones del reloj molecular definidos en los nodos de un árbol ultramétrico (Pons et al., 2006). Para esto, se suman las probabilidades de los tiempos de ramificación en todo el árbol y se utiliza la Máxima Verosimilitud para evaluar el ajuste de las ramas a procesos poblacionales y específicos, y así hacer la delimitación de especies. También se aplica una prueba de proporción de verosimilitud para probar la existencia múltiples especies *versus* una sola especie (Pons et al., 2006; Rannal y Yang, 2020).

El modelo presenta dos enfoques; el enfoque más sencillo es el de umbral único, el cual indica un umbral antes del cual existen eventos de especiación y después del cual existen eventos de coalescencia, estimando así el número de especies al identificar los nodos descendientes que cruzan ese umbral (Monaghan et al., 2009; Pons et al., 2006). Mientras que el enfoque de umbral múltiple permite la variación de esta transición a través

del árbol filogenético y es adecuado cuando se trata un conjunto de datos que abarca un mayor número de linajes (Monaghan et al., 2009).

Algunos inconvenientes de GMYC es que tiende a ignorar los errores implícitos en el árbol genético. Además, funciona mejor para conjuntos de datos con intervalos largos entre eventos de especiación y tamaños poblacionales pequeños, ya que así es poco probable que exista una separación incompleta de linaje y aumenta la probabilidad de que realmente se observe un árbol filogenético recíprocamente monofilético (Rannala y Yang, 2020).

GMYC es uno de los métodos de reconstrucción de árboles más utilizado en muchos de los trabajos de delimitación de especies actuales. Uno de los estudios que utilizan este método es el de Hendrixson y colaboradores (2013), donde se estudian poblaciones del género *Aphonopelma* Pocock, 1901, del desierto de Mojave. En este estudio los valores de razón de verosimilitud para la hipótesis alternativa de GMYC no fueron significativos en comparación con el modelo nulo (una sola especie), por lo que, al observar resultados similares con otros trabajos, se llega a la conclusión de que el modelo nulo está diseñado de manera biológicamente incorrecta (Hendrixson et al. 2013). También se sugiere que GMYC tiene dificultades para delimitar especies en grupos que exhiben una estructura filogeográfica significativa, como sucedió en estos resultados, en donde GMYC divide a *A. mojave* Prentice, 1997 (sensu lato) en cinco especies, lo que se aprecia sesgado por la distribución estructurada que presentan sus ejemplares (Hendrixson et al. 2013). En otro trabajo con *Aphonopelma*, GMYC obtuvo resultados similares dividiendo dos de las especies estudiadas con base en su estructura geográfica, sin embargo, en comparación con el trabajo anterior, los resultados tuvieron un ajuste significativamente mejor a los datos que al modelo nulo (Hamilton et al. 2011).

Existen otros trabajos que utilizan a GMYC, como es el de Ballesteros y Hormiga (2018) en donde estudian a *Leucauge venusta* Walckenaer, 1841 (Tetragnathidae Menge, 1866). En este trabajo se obtienen resultados congruentes entre GMYC y los otros métodos, con base en los cuales se proponen cambios taxonómicos que restringen a *L. venusta* para el clado del norte en E.U. y a la sinonimia *L. argyrobapta* White, 1841, para las poblaciones de Florida, México y Brasil (Ballesteros y Hormiga, 2018). De igual manera, en el trabajo de Valdez-Mondragón (2020), al estudiar arañas del género *Ixchela* Huber, 2000, los resultados de GMYC son congruentes con el resto de los métodos de delimitación. Mientras que para el trabajo reciente de Lo y colaboradores (2021) con *Oxyopes*, los resultados de GMYC basados en ambos modelos (Yule y Coalescente) son discordantes con la delimitación de ABGD y el resto de los métodos, sobrestimando algunas de las especies estudiadas. En este sentido, se discute que posiblemente el modelo coalescente esté detectando la estructura genética en lugar de las especies, por lo cual es posible que

este método identifique de manera errónea la estructura de la población como especies putativas (Lo et al. 2021).

Por último, en los trabajos actuales con *Loxocles* también han utilizado el método GMYC. En el trabajo de Valdez-Mondragón y colaboradores (2019), usando GMYC obtuvieron resultados congruentes con el resto de los métodos de delimitación (ABGD y bPTP), utilizando una matriz concatenada de CO1+ITS2; así como, en el trabajo de Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón (2020), se obtuvo la misma congruencia con los mismos genes, y se obtuvieron resultados muy similares utilizando únicamente el gen CO1 y muy disímiles utilizando únicamente ITS2, en cuyo caso los métodos fueron incongruentes en la mayoría de los grupos.

### **3.1.2.2. Implementación Bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP”**

El método bPTP es otro método de reconstrucción de árboles, el cual tiene un fundamento similar al GMYC, sin embargo, bPTP utiliza directamente las longitudes de las ramas de un árbol genético para identificar el estado de las especies (Zhang et al., 2013). Para esto se necesita de un alineamiento del cual se genera un árbol genético con longitudes de ramas, con base en un árbol no ultramétrico de Máxima Verosimilitud o Inferencia Bayesiana. El programa asigna cada una de las ramas a una tasa diferente en escala logarítmica, dado los datos del árbol y con ayuda de una búsqueda heurística de la máxima probabilidad (Rannala y Yang, 2020; Zhang et al., 2013).

La diferencia con GMYC es que éste utiliza un árbol no ultramétrico que no depende de un reloj molecular (Zhang et al., 2013), es decir, que requiere la estimación de un árbol genético, pero con longitudes de rama proporcionales a la cantidad de cambio genético más que al tiempo (Luo et al. 2018). Sin embargo, este método presenta la misma desventaja que el GMYC, dado que asume implícitamente una monofilia recíproca y la coincidencia del árbol de genes con el árbol de especies, por lo que, al igual que GMYC, se espera que funcione mejor para especies separadas por largos intervalos entre eventos de especiación y con poblaciones pequeñas (Rannala y Yang, 2020).

Este método al igual que GMYC ha sido utilizado en muchos de los más recientes trabajos de delimitación con arañas. En trabajos con araneomorfos como Pholcidae Koch, 1850, se ha utilizado en un enfoque integrador, reconociendo dos nuevas especies de *Ixchela*, en donde bPTP fue el método más discordante con la morfología, sobreestimando el número de especies (Valdez-Mondragón, 2020). También han sido utilizados en trabajos con Sicariidae Keyserling, 1880, donde han delimitado nuevas especies para México del género *Loxocles* bajo un enfoque integrador. En estos trabajos los resultados de bPTP han sido concordantes con el resto de los métodos utilizando el gen CO1 y una matriz

concatenada CO1+ITS2; sin embargo, han sido discordantes al utilizar únicamente el gen ITS2 (Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Valdez-Mondragón et al. 2019).

Además, bPTP se ha utilizado en varios trabajos con tarántulas, como es el caso del género *Bonnetina*, en donde utilizando el gen CO1 se obtuvo un rendimiento relativamente bueno en comparación con la delimitación integradora al utilizar el gen ITS1 en donde se fragmentaron algunas especies (Ortíz y Francke, 2016). De la misma manera en el trabajo del complejo de especies pentalaris de *Davus* Pickard-Cambridge, 1892, este método contribuyó de buena manera a la delimitación de 12 nuevas especies para *Davus*, considerando la sobreestimación únicamente de un par de especies, con base al resto de los resultados (Candia-Ramírez y Francke, 2020).

Finalmente, se pueden resaltar algunos de los factores que alteran la delimitación de especies utilizando GMYC y bPTP. Estos tienen que ver con el muestreo de ejemplares, el tamaño poblacional y los tiempos de divergencia de los linajes, los patrones de estructuración geográfica que presentan los mismos, así como los marcadores moleculares utilizados. Un muestreo de ejemplares en donde no se esté recuperando toda la distribución de la especie o en donde no se obtenga un suficiente número de ejemplares para ver la variación geográfica y genética, podría causar conflictos al momento de hacer la separación de linajes, subestimando o sobrestimando estos (Luo et al. 2018). Por otro lado, sucede lo mismo al trabajar con subpoblaciones fuertemente estructuradas, ocasionando una sobreestimación de las especies, como en Hamilton y colaboradores (2011) y Hendrixson y colaboradores (2013). Por último, el uso inadecuado de los marcadores moleculares puede conducir a agrupaciones erróneas, al utilizar genes que no presenten tasas de mutación adecuadas para detectar la variación genética a nivel de especie, como sucedió en el trabajo de Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón (2020) utilizando el gen ITS2.

### **3.2. Delimitación molecular de especies en Salticidae**

En los trabajos sobre la familia Salticidae la mayoría de los estudios que utilizan información del DNA están relacionados con aspectos evolutivos (Adriamalala, 2007; Su et al. 2007), relaciones filogenéticas entre los diferentes grupos de la familia (Hedin y Maddison, 2001; Maddison et al. 2008; Maddison et al. 2014; Maddison y Hedin, 2003a; Maddison y Hedin, 2003b; Maddison y Needham, 2006; Ruiz et al. 2019; Ruiz y Maddison, 2015; Zhang y Maddison, 2013; Zhang y Maddison, 2014) y aspectos biogeográficos y de radiación de saltícidos (Andriamalala, 2007; Arnedo y Gillespie, 2006; Bodner y Maddison, 2012; Masta, 2000; Zhang y Maddison, 2013; Zhang y Maddison, 2015), incluyendo en su mayoría más de una región genética, con sus excepciones (Maddison et al. 2016).



En cuanto a los trabajos relacionados con la delimitación de especies, la mayoría de los estudios separan y describen nuevas especies con ayuda únicamente de la morfología. Muchos de estos trabajos con saltícidos existen desde 1970 (Griswold, 1979), hasta la actualidad, como son muchos de los estudios de Prószyński (Prószyński, 2016; Prószyński et al. 2018). Estos trabajos varían en la utilización de diferentes herramientas para la obtención de fotografías de mayor calidad como es la macrofotografía de especímenes vivos, la fotografía multifocal o la microscopía electrónica de barrido, entre otros, así como en el uso de análisis estadísticos utilizando evidencia morfológica. Además, muchos de estos trabajos utilizan, junto con la evidencia morfológica, información sobre la distribución, la segregación altitudinal (Kronstedt y Logunov, 2003), entre otras características ecológicas o de comportamiento.

La información genética como evidencia para la delimitación de especies en saltícidos, es usada en trabajos a partir del 2000 para adelante. En la mayoría de estos estudios se utiliza un solo marcador genético, siendo el más comúnmente utilizado el marcador mitocondrial CO1, en donde se busca una concordancia entre la divergencia genética intra e interespecífica, y la evidencia morfológica para la separación de especies (Baba et al. 2019; Luong et al. 2016; Richardson y Gunter, 2012; Suguro y Yahata, 2014; Vink et al. 2011; Yamasaki et al. 2018a; Yamasaki et al. 2018b; Yamasaki et al. 2020; Yamasaki y Tanikawa, 2019). En una minoría de trabajos se ha utilizado el marcador mitocondrial ARN 16s para corroborar que las diferencias encontradas en la morfología no son causadas por variación intraespecífica (Marusik et al. 2018). Los trabajos que utilizan la evidencia de más de una región genética para separar especies son escasos o casi nulos, un ejemplo de esto es el estudio de Vink y colaboradores (2011) donde se utiliza el gen mitocondrial CO1 y el gen nuclear ARN ribosómico 28s.

De estos estudios mencionados, la mayoría utilizan la divergencia intra e interespecífica de una región genética para separar especies, e incluyen algún método de inferencia filogenética. Estos pueden ser basados en distancias genéticas, como es comúnmente utilizando el algoritmo del Vecino más cercano “Neighbor joining” (NJ) (Baba et al. 2019; Luong et al. 2016; Suguro y Yahata, 2014; Yamasaki et al. 2018a; Yamasaki et al. 2018b), o basados en un criterio de optimización, los que pueden ser paramétricos como “Máxima verosimilitud” (MV) e “Inferencia Bayesiana” (IB) (Vink et al. 2011) o no paramétricos como “Parsimonia” (Marusik et al. 2018). Estos métodos, al inferir relaciones entre grupos de especies, son utilizados como un criterio más para separar especies, basados en el concepto de especie filogenética, en donde se busca la monofilia de un grupo compuesto por terminales individuales de una misma población.

Muchos de estos trabajos realizan la separación de especies por medio de la morfología y posteriormente confirman conespecificidad genética entre machos y hembras de una especie (Suguro y Yahata, 2014; Yamasaki et al. 2018b; Yamasaki et al. 2020).

Otros realizan la redescipción de una especie al hacer cambios taxonómicos con base en el código de barras de DNA aunados a los datos morfológicos (Luong et al. 2016; Yamasaki et al. 2018a;). Una mínima cantidad de trabajos únicamente utilizan la información del código de barras como información complementaria de la descripción de las especies (Caleb et al. 2017). Los estudios que utilizan métodos de delimitación de especies, al igual que los estudios en donde se utiliza más de una región genética también son escasos. Un ejemplo es el trabajo de Baba y colaboradores (2019), donde se utiliza el método ABGD para obtener el “gap” de separación interespecífica en un conjunto de individuos utilizando el gen CO1.

El descubrimiento de especies con código de barras de DNA ha sido utilizado para una amplia variedad de artrópodos, donde se ha utilizado para la identificación de especies, así como en la mayoría de estudios de biodiversidad y ecología de arañas utilizando el gen CO1 (Ashraaf et al. 2020; Barrett y Hebert, 2005; Herbert et al., 2003b; Naseem y Tahir, 2016; Savolaine, 2005). En uno de los múltiples trabajos con arañas, se obtuvieron porcentajes medios de divergencia intraespecífica del gen CO1 para saltícidos dendryphantinos de 0.5% para *Phidippus clarus* Keyserling, 1885; de 0.4% para *Habronattus decorus* Blackwall, 1846, y de 0.9% con un rango de 0.4% a 1.3% para *Eris militaris* Hentz, 1845. Mientras que la divergencia interespecífica se mostró con valores promedio de 10.4% para *Habronattus* Pickard-Cambridge, 1901 y de 8.2% con un rango de 8.0% a 8.4% para *Phidippus* (Barrett y Hebert, 2005). Algunos otros trabajos con saltícidos, como el de Richardson y Gunter (2012) con el género *Servaea* Simon, 1888, obtienen divergencias intraespecíficas menores al 2% con rangos de 0 a 1.7%, e interespecíficos de 4% a 9%. En el trabajo de Luong y colaboradores (2016) con la especie *Phintella aequipeiformis* Zabka, 1985, se obtuvieron rangos intraespecíficos de 0% a 8.4% y distancias interespecíficas entre especies congenéricas de 9.35% a 11.11%. En otro trabajo de Yamasaki y colaboradores (2018) con *Chrysilla lauta* Thorell, 1887, se reportaron valores intraespecíficos de 0% a 1.5%, confirmando la existencia de una sola especie.

Por último, en uno de los estudios sobre ecología de arañas incluyendo saltícidos, en donde se utilizan métodos de delimitación además de las distancias genéticas, se buscó la identificación y delimitación de especies crípticas y complejos de especies, incluyendo análisis de distancias genéticas, genotipado, análisis de árboles (NJ e IB), y cuatro métodos de delimitación (ABGD, GMYC, PTP, BINs) (Tyagi et al. 2019). Un estudio más similar al anterior es el trabajo de Ashfaq y colaboradores (2019), en donde se utilizó, además de la información morfológica, análisis de árbol (NJ, IB), el análisis de brecha de código de barras y un método de delimitación (BINs) para el descubrimiento de especies nuevas potenciales y la creación de una librería de referencia de código de barras.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

1) Con base en el conocimiento del género *Pelegrina*, se necesita hacer la revisión del grupo *furcata* que representa el grupo con el mayor número de especies, siendo cuatro de seis de sus especies distribuidas en México y del cual solo se conocen sus descripciones originales (tres de F.P.-Cambridge, 1901, y tres de Maddison, 1996), y la revisión de Maddison (1996). Además, la evidencia preliminar indica la existencia de nuevas especies del grupo aparte de las mencionadas por Maddison para México (Maddison, 1996: 365, Figuras 464-471), dado que el género no ha sido revisado desde 1996.

2) Según la revisión realizada por Maddison (1996) del género *Pelegrina*, resulta complejo establecer la separación correcta de especies por medio únicamente de caracteres morfológicos, debido a la alta variación intraespecífica que se presenta sobre todo en hembras, por lo que es necesario plantear la delimitación de especies de manera integradora, por medio de evidencia morfológica y molecular.

#### 5. OBJETIVOS

##### **General:**

Realizar la revisión taxonómica y delimitación de especies mexicanas del grupo *furcata* del género *Pelegrina* Franganillo, 1930 (Araneae: Salticidae).

##### **Particulares:**

- 1.- Delimitar con caracteres morfológicos y datos moleculares (citocromo c oxidasa, subunidad 1, CO1) las especies mexicanas del grupo *furcata*.
2. Describir las especies nuevas mexicanas dentro del grupo *furcata* identificadas bajo un contexto de taxonomía integradora.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Obtención del material biológico

#### 6.1.1. Revisión en colecciones

Se revisaron los ejemplares adultos del género *Pelegrina* y aquellos a utilizar como grupos externos de los géneros *Eris*, *Metaphidippus* y *Paraphidippus* principalmente, depositados y resguardados en alcohol al 80% en colecciones de universidades locales y colecciones nacionales, los que fueron solicitados a manera de préstamo, así como los almacenados en la Colección Nacional de Arácnidos en alcohol al 96% para su uso en el presente proyecto (Resultados-Cuadro 2). Estas colecciones son:

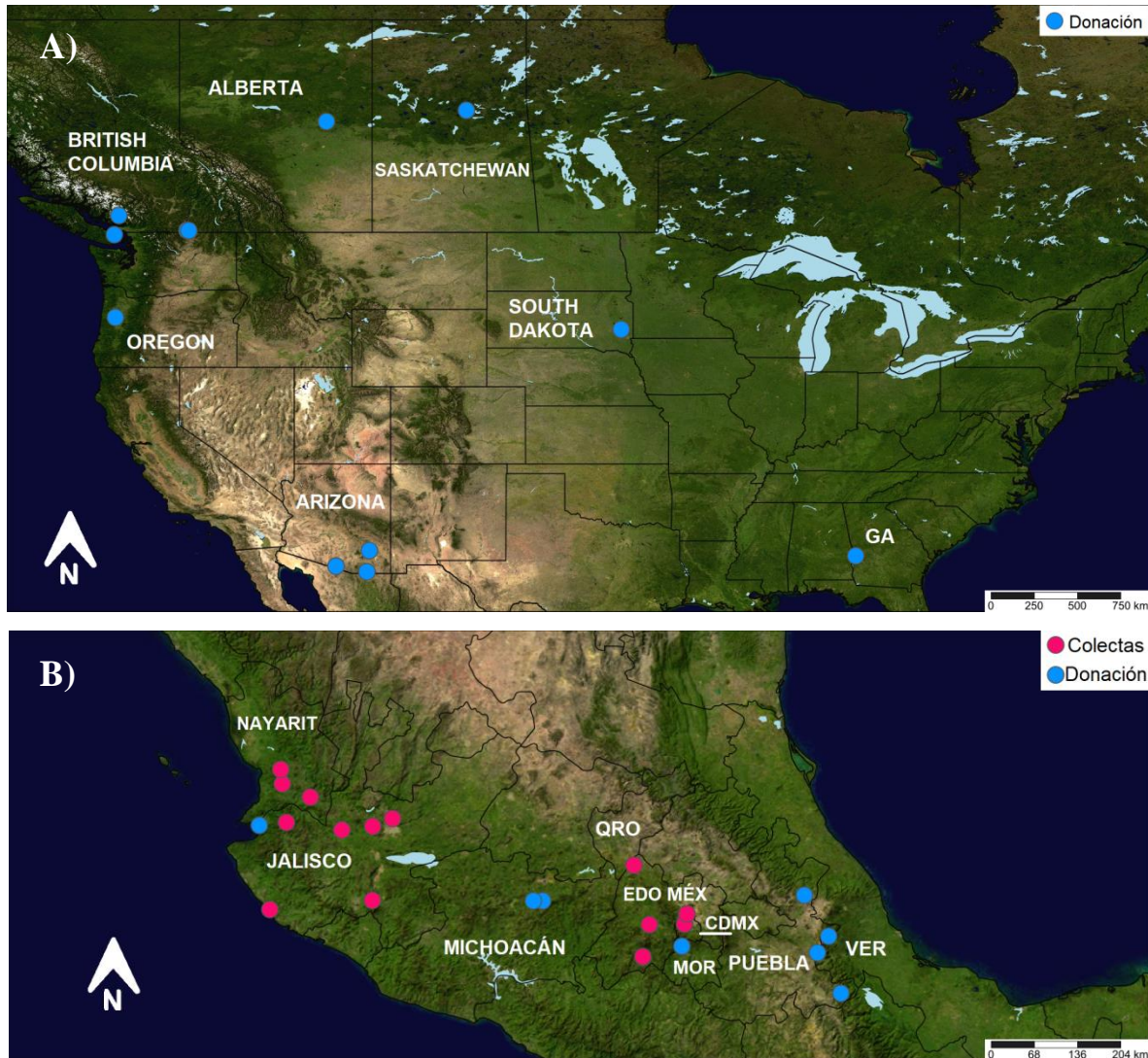
- a) Colección Aracnológica y Miriapodológica de la UANL, Monterrey, Nuevo León (CAYM-UANL).
- b) Colección de Arácnidos de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (CAFBUM).
- c) Colección de Arácnidos del Sureste de México, ECOSUR-Tapachula (CASEM), Chiapas, México.
- d) Colección de Artrópodos de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (CA-FCN-UAQ), Querétaro, México.
- e) Colección Nacional de Arácnidos (CNAN) del IBUNAM, Cd. de México, México.
- f) Laboratorio de Aracnología de la Facultad de Ciencias (L AFC), UNAM, Cd. de México, México.

Se solicitó la colaboración del Dr. Wayne Maddison, el último revisor del género en 1996, para la obtención de muestras de las especies no mexicanas del grupo *furcata*. De él se recibió una donación de ejemplares resguardados en alcohol al 96% de *Pelegrina* y *Metaphidippus* principalmente, recolectados de muchos estados de E.U., como Arizona, Oregon y Dakota del Sur, además de ejemplares de Canadá, Columbia Británica y de algunos estados de México como Michoacán y Morelos. Adicionalmente, se recibió otra donación por parte del M. en C. Uriel Garcilazo Cruz de material fresco de *Pelegrina* recolectados en México de los estados de Veracruz, Oaxaca y Puebla (Resultados-Cuadro 3, Figura 7). Mapa generado en SimpleMappr (Shorthouse, 2010).

#### 6.1.2. Trabajo de campo y preservación de material fresco

Se realizaron cuatro salidas de campo a los estados de México, CDMX, Jalisco, Nayarit y Querétaro, de mayo a diciembre del 2019, abarcando los meses de lluvia. La obtención de material fresco se realizó recolectando principalmente en las localidades tipo de las nuevas especies y en donde se tienen registros del género para México. En estas

salidas se recogió el mayor número de ejemplares para observar la variación geográfica que presentan algunas especies como *P. furcata* según lo estudiado por Maddison (1996), dando prioridad a los estados de donde no se tenía material fresco y en donde se tenían registradas las especies nuevas (Resultados-Cuadro 4, Figura 7).



**Figura 7.** Localidades de colectas realizadas señaladas con puntos rosas (Cuadro 4) y de material de donación por el Dr. Maddison y el M. en C. Garcilazo, señaladas con puntos azules (Cuadro 3). **A)** Localidades de Canadá y Estados Unidos. **B)** Localidades del Centro de México. *Abreviaturas:* CDMX: Ciudad de México; EDO MÉX: Estado de México; GA: Georgia; MOR: Morelos; QRO: Querétaro; VER: Veracruz.

Los ejemplares fueron obtenidos de arbustos y ramas de árboles, sobre todo encinos (*Quercus* sp.) y pinos, empleando la técnica de golpeo (Beating) usando una manta de Bignell (1 m x 1 m) y un garrote de madera de 60 cm, golpeando árboles y arbustos desde la altura de la cabeza hasta las rodillas. Todos los individuos fueron mantenidos en

cautiverio en frascos de plástico de 100 ml, hidratados con agua y alimentados de tres a cuatro veces a la semana principalmente con moscas de la fruta de alas disfuncionales y eventualmente con grillos del tamaño del opistosoma de las arañas, o bien patas de grillos más grandes. Los especímenes juveniles se mantuvieron hasta la adultez y los adultos se preservaron hasta la toma de fotografías. Una vez tomadas las fotografías, los individuos fueron sacrificados para su determinación, siendo preservados en tubos eppendorf con alcohol al 96% a una temperatura de -20°C para mantener la calidad del DNA.

## **6.2. Trabajo con morfología**

### **6.2.1. Preparación de fotografías de ejemplares vivos**

Los ejemplares vivos se fotografiaron en el laboratorio utilizando para algunos de ellos una cámara digital Nikon Coolpix L840 con un rango de amplitud de 4.0 mm a 15.2 mm y un macro de proporción 1:3, empleando un domo de iluminación con fondo claro y un flash con un difusor neutro, en algunas ocasiones empleando hojas de árboles simulando sus hábitats (Figura 8). Otros ejemplares fueron fotografiados con una cámara digital Canon EOS 6D con un macro de 100 mm sobre una hoja de *Quercus* sp. Estas fotografías fueron tomadas por Kirino Arreguin, Aldo Ledesma y Cecilia Silva Campos.

Con estas fotografías se buscó capturar los patrones de coloración de diferentes partes del cuerpo con el objetivo de determinar su relevancia taxonómica. Esto se realizó debido a que la coloración de las sedas se pierde al entrar en contacto con el alcohol, y existe la posibilidad de perder las mismas al momento de hacer la revisión al microscopio. Las fotografías se tomaron de la siguiente manera: a) parte dorsal del cuerpo (patrones en forma de “V” invertida en el prosoma de machos y patrones de bandas pareadas en el opistosoma de hembras, principalmente), b) parte lateral del cuerpo (bandas laterales y del “cachete” en el caparazón de machos, y terminación de bandas en el opistosoma de hembras, principalmente), c) parte frontal del prosoma (inicio de bandas y sedas de quelícero en el caparazón del macho, y sedas del clipeo en hembras).

### **6.2.2. Revisión taxonómica**

Para la revisión taxonómica utilizamos la terminología básica usada para Araneae por Cushing (2005), así como la terminología seguida por Maddison (1996) para el género *Pelegrina*.

La revisión se llevó a cabo de todos los especímenes encontrados para el grupo furcata, así como de algunos de ellos para otras especies de *Pelegrina* y grupos externos como *Metaphidippus*, *Eris* y *Paraphidippus*. La observación implicó la exploración meticulosa de todo el cuerpo de ejemplares únicamente adultos, con la intención de

encontrar características que puedan ser caracteres de importancia taxonómica para el grupo. Las arañas fueron examinadas morfológicamente con ayuda de un microscopio estereoscópico Nikon SMZ645, utilizando una caja de Petri para sumergir los ejemplares en alcohol etílico al 80%, en el caso del material de préstamo y al 96%, para el material recolectado y las donaciones, usando arena de mar clara en los casos que se requiera un mejor posicionamiento y manejo de los ejemplares. Las medidas del cuerpo fueron tomadas en milímetros con ayuda de una rejilla ocular calibrada en el microscopio binocular.



**Figura 8.** Fotografías de ejemplares vivos: **a)** parte dorsal del cuerpo, **b)** parte lateral del cuerpo, **c)** parte frontal del prosoma. Muestra de un ejemplar de *Pelegrina sp. nov.* EDOMEX (grupo *furcata*) del estado de México (BCD\_0037). Fotografías tomadas por Cecilia Silva.

La revisión de los caracteres sexuales se llevó a cabo mediante el proceso de disección y aclarado de los pedipalpos en machos y del epiginio en hembras, siguiendo el protocolo modificado de Guerrero y Francke (2019). Para la limpieza de algunas muestras también se utilizó el protocolo de digestión de tejidos suaves internos descrito por Álvarez-Padilla y Hormiga en 2007, usando el complejo de enzimas digestivas conocido como pancreatina para limpiar muestras difíciles de manejar únicamente con el KOH, que permite mejores resultados y evita dañar las genitales al remover los residuos. Esta revisión implicó la observación de las estructuras internas y externas en hembras y únicamente externas en machos.

### 6.2.3. Determinación y estudio morfológico

Los caracteres de machos y hembras a revisar de las especies de *Pelegrina* grupo *furcata*, incluyen los siguientes (Maddison, 1996; Figura 9).

En Machos. *Marcas del cuerpo*: 1) bandas laterales de sedas blancas sobre el prosoma delgadas o anchas con base en el grosor de las bandas laterales del opistosoma, bandas contactando a los ojos anteriores medios para formar una banda continua o no, 2) bandas de sedas de la mejilla en el prosoma, delgadas o anchas, contactando a las bandas

laterales o no, 3) sedas cubriendo el clípeo por debajo de los ojos anteriores medios o no, 4) banda de sedas frontal presente o no, contactando a los ojos anteriores medios o no.

*Pedipalpos*: 1) forma de la cresta bajo la apófisis tibial, representando una segunda apófisis o solo un borde, 2) surcos en el borde retrolateral de la base del émbolo, de manera transversal u horizontal, 3) inclinación y forma de las ramas terminales del émbolo, representando una inclinación retrolateral o prolatral, y ramas con una forma más aguda o más ancha hacia la parte superior, en forma de pico, cuadradas o redondeadas, presentándose curvadas o no.

*Quelíceros*: 1) escamas presentes en la parte prolatral de quelíceros o no, en más de la mitad o menos de la mitad del quelíceros.

En hembras. *Marcas del cuerpo*: 1) clípeo cubierto o no con sedas blancas, 2) bandas de sedas horizontales del opistosoma formando una sola banda o dos.

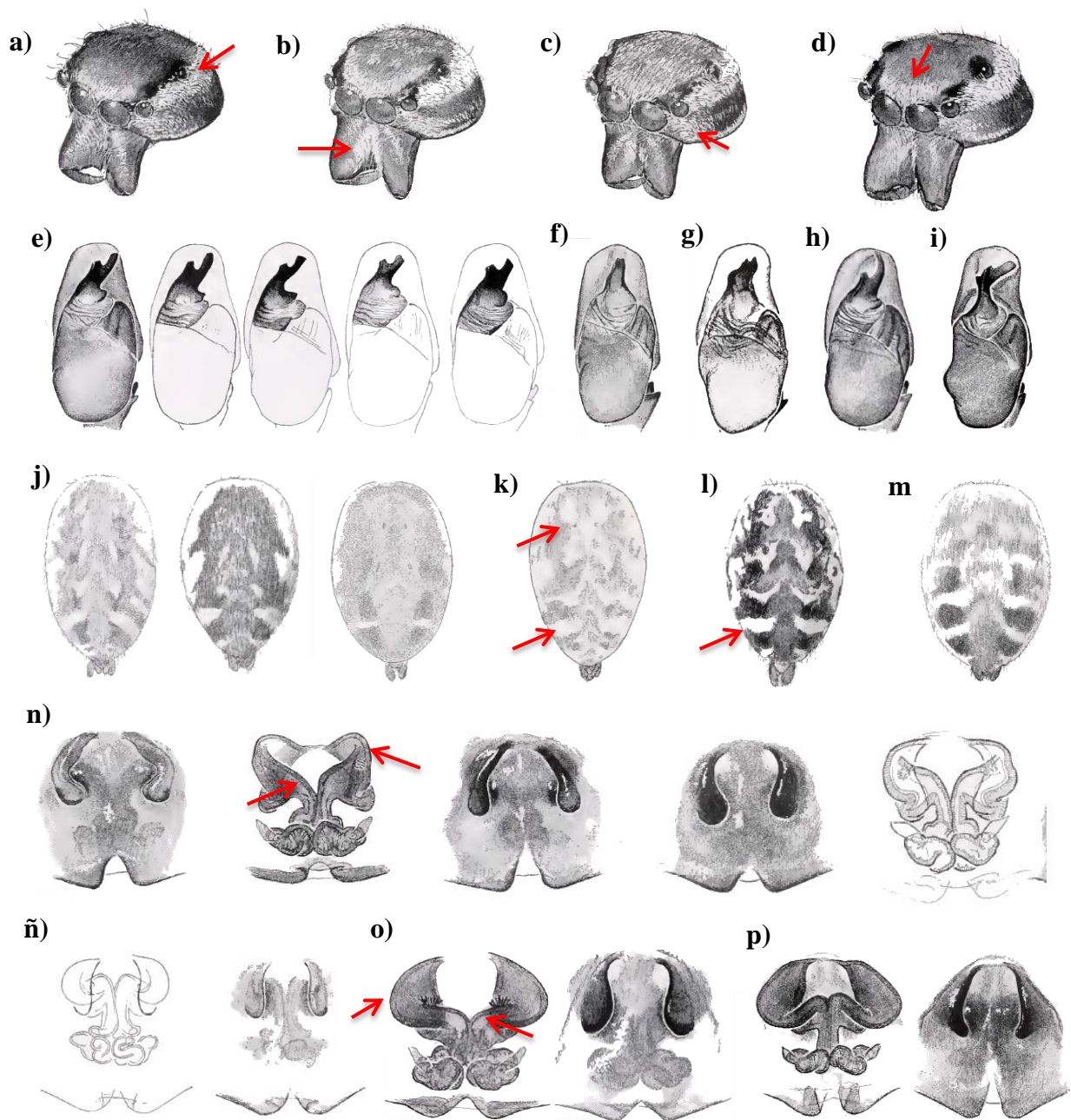
*Epiginio*: 1) “flaps” planos o fuertemente convexos, oscuros, claros o transparentes, 2) superficie epiginial cóncava o plana detrás de los “flaps”, 3) primera y segunda curva de los conductos reproductivos de igual grosor o distinto.

La coloración fue tomada en cuenta con ayuda de por lo menos una fotografía por morfotipo, esta coloración se valorará en cinco tonos (café oscuro, café, café claro, amarillo y blanco) para la parte dorsal y frontal del prosoma, la parte dorsal del opistosoma y las patas.

#### **6.2.4. Preparación de fotografías de ejemplares en alcohol**

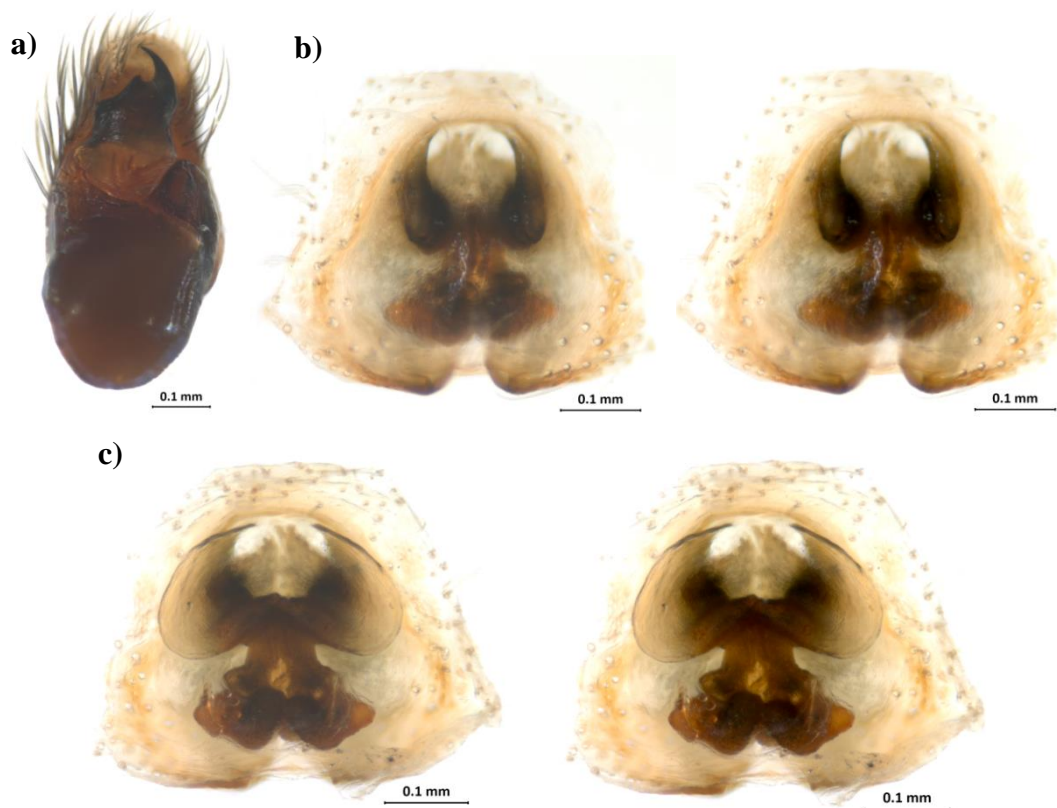
Las fotografías de las genitales, previamente realizado el proceso de disección y aclarado anteriormente mencionado, así como de los caracteres morfológicos de importancia taxonómica, fueron tomadas en el laboratorio de Microscopía electrónica y fotografía de la Biodiversidad del Instituto de Biología de la UNAM y en el laboratorio de la CNAN. Algunas de estas fotografías se obtuvieron en un microscopio estereoscópico ZEISS Axio Zoom V.16, equipado con una cámara AxioCam MRc5 para fotografía multifocal y un programa para la digitalización de las mismas. Para estas fotografías se utilizó un lente de 0.1x, con un volumen de luz de 40-80 y una exposición de luz de 60 a 200, utilizando el método multifocal con una amplitud que abarcó el enfoque de toda la imagen y con una escala en milímetros. Estas fotografías fueron exportadas previamente empalmadas, y guardadas para su edición en el programa GIMP versión 2.10 (The GIMP Development Team, 2019), en donde se modificaron hasta 0.100 puntos los parámetros de exposición del nivel negro y de color, así como el recorte de las imágenes requeridas (Figura 10).





**Figura 9.** Caracteres morfológicos de macho y hembra del género *Pelegrina* grupo *furcata*. Prosoma de machos mostrando las marcas del caparazón para **a)** *P. furcata*, **b)** *P. volcana*, **c)** *P. bicuspidata*, **d)** *P. morelos*. Pedipalpo de machos mostrando características del ém émbolo en **e)** *P. furcata*, **f)** *P. volcana*, **g)** *P. bicuspidata*, **h)** *P. morelos*, **i)** *P. huachuca*. Opisthosoma de hembras mostrando las bandas de sedas para **j)** *P. furcata*, **k)** *P. ochracea*, **l)** *P. morelos*, **m)** *P. huachuca*. Epiginio externo e interno, mostrando características de los “flaps” y de los conductos reproductivos en **n)** *P. furcata*, **ñ)** *P. ochracea*, **o)** *P. morelos*, **p)** *P. huachuca*. Imágenes tomadas y modificadas de Maddison, 1996.

Para otras fotografías se utilizó un microscopio Nikon SMZ645 con una lámpara de luz y una cámara Nikon COOLPIX s10, con un zoom óptico de 10x (6.3-63 mm), utilizando igualmente el método de multifocal esta vez manual, en donde se tomaron fotografías en diferentes planos focales. Estas últimas fotografías fueron exportadas y guardadas para su edición en el programa Adobe Photoshop 2020 versión 21.0.2 (<http://www.adobe.com>), en donde se abrieron como capas para alinear y fusionar todas las fotografías y con esto obtener una sola imagen enfocada de manera óptima. Posteriormente se utilizó el programa Digital Photo Professional versión 4 para editar el color, el contraste y el brillo de las fotos. Por último, se utilizó el programa GIMP para recortar el fondo de las fotografías. Todas las fotografías se presentan en una escala en milímetros.



**Figura 10.** a) Vista ventral del pedipalpo de un ejemplar macho de *Pelegrina sp. nov.* JALNAY (grupo *furcata*) de Jalisco (DGF0012B), foto original; b) Epiginio externo de ejemplar hembra de *P. sp. nov.* JALNAY cf. *P. morelos* (grupo *furcata*) de Nayarit (DGF0109E), foto original y editada en GIMP; c) Fotografía de epiginio interno del mismo ejemplar (DGF0109E), original y editada en GIMP.

## 6.3. Estudios moleculares

### 6.3.1. Muestreo taxonómico y elección de grupos externos

Las especies y los ejemplares utilizados en los análisis moleculares se enlistan en el Cuadro 1, utilizando un total de 32 especímenes. En esta matriz de CO1, se incluyen los ejemplares del grupo *furcata*; dos ejemplares de *P. furcata*, un ejemplar de *P. aff. P. morelos*, 15 ejemplares de la especie putativa JALNAY de Jalisco y Nayarit, y tres ejemplares de la especie putativa EDOMEX del estado de México. También se incluyeron secuencias de *Pelegrina* fuera del grupo *furcata*; cuatro ejemplares de *P. edrilana* Maddison, 1996 y cuatro de *P. orestes* Maddison, 1996. Estos últimos se incluyeron con base en la distancia de estas especies con el grupo *furcata*, mostrada en el cladograma previo de *Pelegrina* realizado por Maddison (1996) obtenidos con evidencia morfológica y los resultados de análisis previos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Estas secuencias fueron seleccionadas considerando las especies de las cuales se obtuvieron un mayor número de secuencias propias.

Por último, se agregaron tres ejemplares de *Paraphidippus aurantius* Lucas, 1833 como grupo externo al género con el objetivo de enraizar los árboles resultantes, utilizando secuencias que fueron obtenidas en la CNAN con el mismo cebador y número de pares de bases (pb).

### 6.3.2. Extracción, amplificación y secuenciación

La extracción de DNA y la amplificación fueron realizadas en el Laboratorio de Biología Molecular de Zoología, y la secuenciación se realizó en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud, ambos del Instituto de Biología, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

#### 6.3.2.1. Extracción de DNA

*Selección de ejemplares.* Los especímenes fueron preservados en alcohol al 96% a una temperatura de -20°C. Los ejemplares previamente fueron revisados para su determinación, posteriormente se seleccionaron los individuos mejor conservados para su uso como holotipo y uno o más paratipos, dependiendo del número total de especímenes por especie, siendo seleccionados mínimo dos ejemplares de paratipos para extraer su DNA, obteniendo así el mayor número posible de secuencias por especie. Algunas mediciones de los ejemplares utilizados para la extracción fueron realizadas después de la misma, utilizando para ello el exoesqueleto vacío recuperado.

**Cuadro 1.** Ejemplares secuenciados de *Pelegrina*, de Estados Unidos y México. Se muestran las especies, los códigos de ejemplares y las localidades.

<b>Especie</b>	<b>Código</b>	<b>Localidad</b>
JALNAY	DGF01_0012G	México: Jalisco: San Sebastián del Oeste
JALNAY	DGF01_0362E	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
JALNAY	DGF01_0084	México: Jalisco: San Sebastián del Oeste
JALNAY	DGF01_0012B	México: Jalisco: San Sebastián del Oeste
JALNAY	DGF01_0086	México: Jalisco: San Sebastián del Oeste
JALNAY	DGF01_0327B	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
JALNAY	BCD_0025	México: Nayarit: Jala
JALNAY	BCD_0024	México: Nayarit: Jala
JALNAY	DGF01_0108	México: Nayarit: Jala
JALNAY	BCD_0026	México: Nayarit: Jala
JALNAY	DGF01_0327C	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
JALNAY	DGF01_0326	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
JALNAY	DGF01_0109B	México: Nayarit: Jala
JALNAY	DGF01_0107A	México: Nayarit: Jala
JALNAY	DGF01_0362B	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
EDOMEX	DGF01_0863	México: Estado de México: Coatepec Harinas
EDOMEX	DGF01_0857	México: Estado de México: Coatepec Harinas
EDOMEX	DGF01_0840	México: Estado de México: Coatepec Harinas
<i>Pelegrina furcata</i>	WPM_0073	Estados Unidos: Arizona: Santa Cruz
<i>Pelegrina furcata</i>	WPM_0124	Estados Unidos: Arizona: Santa Cruz
<i>Pelegrina aff. P. morelos</i>	DGF01_0012F	México: Jalisco: San Sebastián del Oeste
<i>Pelegrina edrilana</i>	PAS1	México: Ciudad de México: Coyoacán
<i>Pelegrina edrilana</i>	PAS2	México: Ciudad de México: Coyoacán
<i>Pelegrina edrilana</i>	CDMXJB	México: Ciudad de México: Coyoacán
<i>Pelegrina edrilana</i>	DGF01_0327A	México: Jalisco: Ahualulco del Mercado
<i>Pelegrina orestes</i>	BCD_0018	México: Jalisco: Zapopan
<i>Pelegrina orestes</i>	BCD_0030	México: Jalisco: Zapopan
<i>Pelegrina orestes</i>	DGF01_0361	México: Nayarit: Compostela
<i>Pelegrina orestes</i>	DGF01_0545	México: Estado de México: Aculco
<i>Paraphidippus aurantius</i>	DGF01_0226G	México: Estado de México: Aculco de Espinoza
<i>Paraphidippus aurantius</i>	DGF02_1261G	México: Estado de México: Coatepec Harinas
<i>Paraphidippus aurantius</i>	DGF01_0282G	México: Estado de México: Toluca de Lerdo

*Extracción de DNA.* El DNA fue extraído de los especímenes tomando tanto tejido cómo fue posible. Se utilizó el cuerpo completo de una minoría de individuos juveniles, considerando únicamente los ejemplares con una determinación confiable, es decir,

aquellos juveniles que se encontraban presentes en muestras con otros ejemplares adultos de la misma especie. Los ejemplares restantes se utilizaron de dos maneras, de algunos individuos se cortaron las patas del lado derecho para su conservación y el resto del cuerpo fue utilizado para la extracción, realizando previamente una apertura en la parte central posterior del prosoma, mientras que de otros ejemplares más pequeños, se utilizaron las patas izquierdas machacadas junto con el resto del cuerpo con la apertura en el prosoma, para obtener la mayor cantidad de DNA posible de cada ejemplar, dado el tamaño diminuto de cada uno.

La extracción de DNA se realizó utilizando el kit de Quiagen DNeasy Blood & Tissue (Quiagen, 2016). Este kit se usó siguiendo el protocolo establecido de ocho pasos, modificando únicamente el último paso de elución del DNA, al depositar la misma cantidad del buffer AE en dos proporciones de 100  $\mu$ L entre cada centrifugación. Esta modificación se realizó con el objetivo de diluir el DNA de manera gradual, sin provocar su pérdida. Al final se obtuvo una concentración de DNA de 200  $\mu$ L en cada muestra. Las secuencias obtenidas se enlistan en el Cuadro 1.

*Calidad y cantidad de DNA.* El DNA extraído se revisó con ayuda de un espectrofotómetro de espectro total (220-750 nm) Nanodrop, con el cual se midió la concentración de DNA extraído, la limpieza y la posible contaminación del DNA con proteínas y lípidos. Con esta información se identificaron las muestras con una cantidad pequeña de DNA, para tenerlo presente en los pasos posteriores. Así también se observaron las muestras contaminadas con lípidos y proteínas, para retroalimentar la manera de proceder en la extracción, o bien considerar la limpieza de algunas muestras para su uso posterior. Con los datos del Nanodrop, se identificó el éxito de muestras de hasta un mínimo de concentración de DNA de 6.5 ng/ $\mu$ l y se modificó el protocolo de extracción en el paso de la elución del DNA, sin necesidad de resuspender alguna muestra. De igual manera, las mediciones de lípidos y proteínas del Nanodrop ayudaron a mejorar la atención al momento de manejar la pipeta durante la extracción, aunque no hubo necesidad de limpiar las muestras debido a que la contaminación no afectó a la recuperación de las secuencias, obteniendo secuencias decentes en la mayoría de los casos, con una concentración por arriba de los 20 ng/ $\mu$ l.

La calidad del DNA también se verificó realizando una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (1.5 g. de agarosa + 100 ml. De TAE), utilizando 1  $\mu$ l de una mezcla de GelRed (Biotium) más buffer de carga para correr el DNA y poder apreciarlo en el gel, utilizando un fotodocumentador con rayos UV. Con este método se visualizó la calidad del DNA, observando las bandas que forman el recorrido del DNA en el gel y otorgándole una mayor o menor calidad a cada muestra. Con esta visualización se obtuvieron algunas bandas deslizadas, causado por la obtención de moléculas de diferente peso molecular, es decir, fragmentos de DNA de diferente masa, exponiendo muestras degradadas. Por el

contrario, en otras muestras se obtuvieron mejores resultados con bandas bien marcadas y definidas, es decir, con moléculas de alto peso molecular y similar. Estos resultados junto con los del Nanodrop ayudaron a considerar la repetición de algunas muestras antes de continuar con el procedimiento.

### 6.3.2.2. Amplificación y secuenciación del DNA

*Selección de marcadores moleculares.* Los estudios de separación de especies utilizando secuencias genéticas usan marcadores determinados de diferentes loci identificados como altamente variables, debido a que las tasas de evolución molecular varían entre los diferentes segmentos del genoma, por lo que es necesario analizar regiones de rápida evolución para identificar linajes con evolución temprana y asegurar el diagnóstico de las especies.

El DNA mitocondrial en los animales puede ser una mejor herramienta al momento de delimitar especies ya que éste no presenta intrones en su cadena, por lo que representa una tasa de mutación más alta que el DNA nuclear (Barrett y Hebert, 2005). Además, al provenir el DNA mitocondrial solo de la madre, la ausencia de recombinación hace que los cambios mutacionales se reflejen de manera más directa y rápida en los linajes y, por consiguiente, se aprecie una rápida divergencia de este gen que permita ser una evidencia de la especiación (Rosenberg y Nordborg, 2002).

Por lo tanto, la delimitación molecular de especies se realizó con el marcador mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1) que refleja una alta variación entre especies del mismo género (Hebert et al. 2003a; Hebert et al. 2003b; Luo et al. 2011). Se utilizaron dos primers (*forward* y *reverse*) para señalar el inicio del copiado de la polimerasa en cada cadena de DNA, y así obtener una región conocida y significativa del gen CO1. Los dos primers que se utilizaron para CO1, fueron el *forward* C1-J-1718: 5' GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC 3' (Simon *et al.* 1994), y el *reverse* C1-N-2776: 5' GGA TAA TCA GAA TAT CGT CGA GG 3' (Hedin y Maddison, 2001), ambos utilizados en el trabajo de Hedin y Maddison (2001) para las secuencias de la filogenia de Dendryphantinae de la familia Salticidae, donde se obtuvieron secuencias de 969 pb de *Pelegrina chaldeola* Maddison, 1996.

*Amplificación de un fragmento de DNA.* Se realizó la amplificación de una parte del gen CO1 delimitada por los primers C1-J-1718 y C1-N-2776, de cada muestra de DNA extraído, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de punto final (PCR) para realizar el copiado del fragmento. La técnica se llevó a cabo usando una mezcla maestra “GoTaq Green Master Mix” de marca Promega, para la actividad de la DNA polimerasa “GoTaq”, la cual incluye la DNA Taq polimerasa a una concentración 2X, deoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs): 400 µM dATP, 400 µM dTTP, 400 µM dGTP y 400

$\mu\text{M}$  dCTP, necesarios para formar la cadena complementaria de cada cadena de DNA, 3 mM de cloruro de Magnesio ( $\text{MgCl}_2$ ) indispensable para estabilizar la replicación, y los buffers de reacción óptimos que aumentan la densidad de la muestra y contiene colorantes que funcionan como colorantes de carga para analizarlos en electroforesis. El protocolo por seguir con las proporciones adecuadas de la Master Mix, los primers, el DNA objetivo y el agua libre de nucleasas, fue tomado y estandarizado del protocolo de uso de la GoTaq Green Master Mix por M. en C. Dariana Guerrero Fuentes. Finalmente, se realizaron dos protocolos para la PCR, uno para obtener una concentración final de 25  $\mu\text{l}$  y otro para una de 50  $\mu\text{l}$ . Las proporciones finales de este protocolo fueron: 12.5  $\mu\text{l}$  de Go Taq, 1  $\mu\text{l}$  del primer *forward*, 1  $\mu\text{l}$  del primer *reverse*, 1  $\mu\text{l}$  de DNA objetivo y 9.5  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}$ , para obtener 25  $\mu\text{l}$  por muestra, y 25  $\mu\text{l}$  de Go Taq, 1  $\mu\text{l}$  del primer *forward*, 1  $\mu\text{l}$  del primer *reverse*, 1  $\mu\text{l}$  de DNA blanco y 22  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}$ , para obtener 50  $\mu\text{l}$ .

Para llevar a cabo la PCR del fragmento de CO1 con el protocolo de reactivos mencionado, se utilizó un termociclador siguiendo y modificando el programa de PCR utilizado por Hedin y Maddison (2001), para obtener el programa final de: un inicio de 94°C por 5 min durante 1 ciclo, una desnaturalización de 94°C por 45 seg, un alineamiento de 44°C por 1 min, la extensión de la polimerasa de 72°C por 45 seg durante 35 ciclos, y una extensión final de 72°C por 7 min durante 1 ciclo, bajando la temperatura a 4°C por tiempo en que se retiran las muestras del termociclador. El resultado de la amplificación de cada fragmento de DNA se revisó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, utilizando 1  $\mu\text{l}$  de una mezcla de GelRed (Biotium) y buffer de carga para correr el DNA y verificar la longitud del DNA amplificado mediante la presencia de las bandas en el gel de agarosa, obteniendo bandas de más de 963 pb.

*Secuenciación de DNA.* El producto de PCR, previamente a su secuenciación, fue purificado utilizando una mezcla de enzimas Fosfatasa Alcalina Termosensible (FastAP) y la Exonucleasa I (Exo I) (ThermoFisher Scientific), con 1  $\mu\text{l}$  de FastAP y 0.5  $\mu\text{l}$  de Exo I. Esta mezcla se añadió a 6  $\mu\text{l}$  de cada muestra a purificar. Posteriormente se colocaron las muestras en un termociclador con el siguiente programa: 37°C por 15 min, 80°C por 15 min y 10°C por tiempo indeterminado, para posteriormente almacenar las muestras a menos 20°C.

Para la secuenciación de las hebras de DNA (5'-3' y 3'-5') como producto de PCR, éstas se prepararon utilizando 0.4  $\mu\text{l}$  del kit de secuenciación BigDye Terminator v.3.1, 2  $\mu\text{l}$  del Buffer5x, 4  $\mu\text{l}$  de agua, 1  $\mu\text{l}$  de cada primer a 10  $\mu\text{M}$  y 3  $\mu\text{l}$  del amplificado purificado. El programa de la reacción de secuenciación fue de 96°C por 10 seg, 50°C durante 5 seg, y 60°C por 4 min, durante 30 ciclos. Terminando esto, las muestras se purificaron con placas Centri-Sep (ThermoFisher Scientific) siguiendo las especificaciones del fabricante. Por último, a estas muestras purificadas se les agregó 25  $\mu\text{l}$  de EDTA a 0.5  $\mu\text{M}$  y se corrieron en un secuenciador de 96 capilares 3730xL marca Applied Biosystems (ThermoFisher

Scientific) con Polímero POP-7 (ThermoFisher Scientific). La purificación y secuenciación de las muestras fue realizada por la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdelamar y a la M. en C. Nelly María López Ortiz, de LaNaBio.

### 6.3.3. Edición y alineamiento de secuencias de DNA

*Edición de secuencias genéticas.* La revisión del cromatograma producto de la secuenciación se llevó a cabo con el programa Sequencher versión 4.1.4 (Sequencher®) para detectar nucleótidos mal secuenciados e información ilegible. Las secuencias en formato .ab1 continuas formadas por las secuencias *forward* y *reverse*, fueron revisadas en cada sitio y editadas tomando como base la secuencia *forward* o *reverse* más legible, en donde los picos del cromatograma se apreciaron definidos. Sólo en mínimas ocasiones (alrededor de cinco) el código degenerado se dejó en los sitios donde no se encontraron diferencias en los picos de diferentes bases. Las secuencias que no se empalmaron fueron pocas, de las cuales, en algunos casos se usó únicamente el *forward* que era el más legible de éstas, mientras que en otras no fue posible utilizar ni el *forward* ni el *reverse*, debido a la ausencia de picos legibles en un 50% o más de la secuencia, por lo que se desecharon y se volvieron a secuenciar las muestras. La mayoría de las secuencias fueron recortadas únicamente en las colas quedando en 996 pb, con algunas excepciones. Estas secuencias editadas se exportaron individualmente para generar un archivo consenso formato .fasta con todas las secuencias en PhyDE versión 0.997 (Miller et al. 2010), en donde se les modificó el nombre para hacerlo más homogéneo.

Las secuencias recuperadas se revisaron con el algoritmo “BLAST” (Altschul et al. 1990) de GenBank, una herramienta de alineación local que busca regiones de similitud entre secuencias biológicas, existente en la página del Centro Nacional de Información Biotecnológica NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). La revisión se hizo para corroborar el origen de las secuencias y testificar la ausencia de contaminación del DNA objetivo con DNA exógeno, buscando similitudes entre nuestras secuencias generadas y las secuencias almacenadas en GenBank. Los resultados obtenidos de esta revisión fueron porcentajes de 0.99 para especies de *Pelegrina* como *P. aeneola* Curtis, 1892 y *P. chalceola* principalmente.

*Alineamiento de secuencias genéticas.* El alineamiento de las secuencias se realizó en dos pasos utilizando el consenso con todas las secuencias editadas. Primero se revisaron las secuencias y se hizo un alineamiento a mano en el programa MEGA versión 10 (Kumar et al. 2018) verificando a la par los cromatogramas editados, con el objetivo de encontrar discordancias en el alineamiento debido a errores en la edición, en cuyo caso se corrigieron estos errores nuevamente en Sequencher. Posteriormente, con esta matriz alineada a mano y exportando el archivo .fasta, se realizó un segundo alineamiento en el programa MAFFT versión 7 (Kato y Standley, 2013) en línea, utilizando los parámetros por defecto, con la



elección de algoritmo automática considerando los algoritmos: FFT-NS-1, FFT-NS-2, FFT-NS-i o L-INS-i, y una penalización de apertura de gap de 1.53. Se obtuvo un alineamiento final en formato .fasta para ser usado en los análisis posteriores.

El alineamiento final quedó conformado por 32 terminales y 995 pb (Cuadro 1), el cual se revisó en el programa Mesquite versión 3.6.1 (Maddison y Maddison, 2019), en donde se definió el marco de lectura (1, 2, 3) y se verificó la ausencia de codones de stop en medio de la matriz, con el fin de corroborar su correcta realización y la ausencia de errores al momento de la edición de las secuencias.

#### **6.4. Análisis de delimitación de especies**

La delimitación de especies se realizó siguiendo el criterio de integración por congruencia, el cual integra y contrasta las diferentes evidencias (morfología, molecular) y métodos utilizados (variación morfológica, ABGD, HB, GMYC, bPTP) para buscar la congruencia entre ellos en una solución integradora, generando hipótesis robustas sobre las especies (Cartens et al., 2013; DeSalle et al. 2005; Padial et al. 2010). Se consideraron como especies candidatas respaldadas a las que fueron recuperadas consistentemente con la mayoría de los métodos moleculares utilizados (Padial et al. 2010).

##### **6.4.1. Análisis morfológico**

Se examinaron un total de 118 ejemplares adultos. De estos, en cuanto a las morfoespecies separadas, se revisaron 32 ejemplares (24 hembras y ocho machos) de la morfoespecie de Jalisco y Nayarit, tres especímenes (una hembra y dos machos) de la morfoespecie del Estado de México, un único ejemplar macho de la morfoespecie de Jalisco, Zapopan, y 12 hembras afines a la morfoespecie de Jalisco y Nayarit. Además, de las especies del grupo *furcata* se revisaron 23 especímenes (17 hembras y seis machos) de *P. furcata*, cuatro machos de *P. morelos*, 12 hembras afines a *P. morelos*, y una hembra de *P. huachuca*. Por último, en cuanto a las especies de *Pelegrina* fuera del grupo *furcata* que se revisaron para el análisis, éstas fueron 31 ejemplares (21 hembras y 10 machos) de *P. edrilana* y ocho especímenes (tres hembras y cinco machos) de *P. orestes*.

De los ejemplares utilizados para examinar la morfología, solo una parte fue utilizada para examinar los datos moleculares, incluyendo en la parte morfológica algunos ejemplares de otras localidades no utilizadas en la parte molecular. Únicamente los ejemplares juveniles que fueron utilizados en la parte molecular no se usaron para la morfología, sin embargo, estos fueron recolectados en las mismas localidades que los ejemplares adultos utilizados para la extracción de DNA.

El enfoque morfológico se realizó en búsqueda de caracteres diagnósticos que nos permitieran separar los especímenes en diferentes morfoespecies. Se seleccionaron únicamente ejemplares adultos debido a que los caracteres morfológicos más importantes para la separación de especies están presentes en las estructuras sexuales. Para realizar esto, se examinaron principalmente los caracteres establecidos en el trabajo de Maddison (1996), siendo los referidos en la sección 6.2.3 (Determinación y estudio morfológico, Figura 9). De estos caracteres mencionados los más útiles para la separación de especies fueron la forma del émbolo del macho y la forma y anchura de los ductos reproductivos presentes en los epiginios de hembras. En algunas ocasiones fueron de ayuda la forma de los “flaps” o solapas que cubren la apertura del epiginio y los patrones de bandas de escamas encontrados en el abdomen de las hembras.

Las fotografías se tomaron como se establece en la sección 6.2.5. (Preparación de fotografías de ejemplares en alcohol). Se mostraron en su mayoría imágenes del opistosoma de especímenes almacenados en alcohol, únicamente se presentan algunas fotografías de ejemplares en vivo, las cuales coinciden en la evidencia de sus patrones con las obtenidas de individuos en alcohol (Resultados-Figura 14). Para presentar de manera más explícita las variaciones encontradas, en las fotografías se muestran algunas medidas realizadas de cada uno de los caracteres mencionados en los resultados en la sección 7.4.1. (Enfoque morfológico), todas recuperadas de estructuras izquierdas y con una escala en milímetros. Estas medidas se exponen de la siguiente manera: Émbolo, largo y ancho de rama terminales, rama retrolateral (Rl L; A), rama prolateral (Pl L; A) (Figura 11); “Flaps”, largo y ancho de solapas (Flaps L; A) (Figura 12); Curvas de conductos reproductivos (Curva 1 A, Curva 2 A) (Figura 13); Banda cuatro del abdomen dorsal (Banda 4 L; A) (Figura 14).

#### **6.4.2. Análisis molecular**

Los métodos utilizados para la evidencia molecular fueron los siguientes: dos basados en distancias genéticas (ABGD, HB), utilizados para generar el primer esquema de partición de las especies putativas y dos basados en reconstrucción de árboles filogenéticos (GMYC, bPTP), utilizados para corroborar el esquema de partición obtenido con los métodos de distancias.

##### **6.4.2.1. Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD”**

El método ABGD se utilizó efectuando dos análisis independientes con el objetivo de corroborar nuestros resultados. El primer análisis se realizó utilizando una matriz de distancias no corregidas (distancias p), y un segundo análisis se condujo utilizando una matriz de distancias corregidas con el modelo de Kimura de dos parámetros (K2P), previamente generadas en MEGA.

Los análisis se realizaron en el servidor en línea (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>), donde se cargaron las matrices de distancias como archivos de entrada. Se utilizaron los parámetros establecidos por defecto en el servidor ( $P_{min} = 0.001$ ,  $P_{max} = 0.1$ , Pasos = 10; Nb bins: 20), excepto por la anchura relativa del espacio (X), la cual se evaluó empezando en 0.1 y se incrementó hasta recuperar una sola especie putativa. El número de especies putativas se consideró cuando las particiones fueron consistentes en todos los valores evaluados de X y los resultados fueron equiparables a los obtenidos con los datos morfológicos.

#### **6.4.2.2. Brecha dura del código de barras de DNA “HB”**

El método Hard-Gap se realizó calculando las distancias genéticas (distancias p y K2P) del alineamiento de secuencias en el programa MEGA. Después, cada una de las dos matrices se exportaron por separado en una hoja de cálculo de Excel, en donde, para cada conjunto de datos, primero se juntaron todas las distancias y posteriormente se ordenaron de menor a mayor divergencia, para detectar las brechas que indicaron una separación interespecífica.

Se consideró que existía una brecha de código de barras universal si ésta era al menos uno punto tres veces más amplia que los espacios anteriores (Ortiz y Francke, 2016). En el análisis no se permitió la superposición de distancias intra e interespecíficas. Para esto se eligieron los espacios elegibles para evitar tener errores en la identificación de la brecha. Los valores de los dos límites de cada brecha, valor igual o menor al límite inferior y el valor igual o mayor al límite superior de la brecha, fueron utilizados como umbrales para la variación intra e interespecífica, respectivamente. El número de especies putativas se consideró al momento de existir una brecha con separación interespecífica (Ortiz y Francke, 2016).

#### **6.4.2.3. Modelo evolutivo e inferencia de árboles genéticos de CO1**

Se determinó el modelo de sustitución de DNA y el esquema de partición apropiado para nuestros datos moleculares utilizando el programa Partition Finder 2.1.1 (Lanfear et al. 2012), en el portal de CIPRES (Miller et al. 2010). Este análisis se realizó utilizando una búsqueda “greedy”, contemplando todos los modelos, con longitudes de ramas no ligadas y bajo un modelo de selección con el Criterio de Akaike para conjuntos de datos <50 (AICc). Los modelos resultantes fueron el modelo HKY+I para la primera partición que incluye la 1era y 2nda posición del codón, y el modelo GTR+G para la segunda partición, que incluye la 3era posición del codón. El modelo HKY (Hasegawa et al. 1984; Hasegawa et al. 1985) incluye una tasa de cambio de transición y transversión, con una frecuencia distinta de cada base, y el modelo GTR (Tavaré, 1986) incluye una tasa de cambio simétrica y diferente entre una base y otra, con una frecuencia distinta de cada base. Estos modelos incluyen la

posibilidad de sitios invariables (+I), y la frecuencia de las bases con referencia a una distribución gamma en donde puede haber sitios invariables y hasta sitios muy cambiantes (+G).

Los árboles genéticos fueron enraizados utilizando como grupo externo tres secuencias de individuos de *Paraphidippus aurantius*, debido a que es uno de los géneros dentro de los dendryphantinos, cercanos a *Pelegrina*, así como *Eris* y *Phidippus*, y además, es la especie que estuvo mejor representada en los ejemplares revisados y en las secuencias obtenidas en la CNAN.

El árbol de CO1 fue reconstruido tanto con Máxima Verosimilitud (MV) como con Inferencia Bayesiana (IB), realizando cuatro análisis con diferente número de semilla y seleccionando el análisis con la mayor verosimilitud. El árbol de MV se realizó en el programa IQTree 2.1.1. (Minh et al. 2020) en la plataforma CIPRES, debido a que este programa utiliza más modelos además de GTR. Se utilizó el alineamiento con “?” como datos faltantes en formato .phylip y un archivo con el modelo establecido para cada partición, se eligió la opción de modelo no ligado por partición (-Q) y los valores de soporte de rama se calcularon con 1000 réplicas de bootstrap. El árbol de IB se realizó en el programa Mr. Bayes 3.2.7. (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) en CIPRES. Se utilizó el alineamiento en formato .nexus, en donde se anexaron las indicaciones para el análisis especificando el modelo por partición. Este análisis se llevó a cabo con cuatro corridas simultáneas cada una, utilizando cuatro cadenas de Markov de Monte Carlo (MCMC) con temperatura de 0.05, realizando una búsqueda de 20 millones de generaciones, con un muestreo cada 10,000 árboles y guardando el archivo cada 10,000 generaciones. Se especificó un 25% de muestreo considerado como ruido en el análisis previo a la convergencia de las cadenas (*burnin*).

Posteriormente, se utilizó el programa TRACER versión 1.7.1. (Rambaut, 2018) para evaluar la convergencia de las cadenas entre las cuatro corridas independientes, para verificar la eficacia de muestreo por arriba de 200 y para observar la convergencia de las cadenas visualmente en el gráfico de trazo (*trace plot*). En los resultados del análisis, se revisó que los parámetros media, moda e intervalo de credibilidad del 95% tuvieran un valor de PSRF (desviación estándar promedio del valor de las frecuencias divididas) mayor a 0.01 para evaluar si era necesario correr otro análisis por más tiempo. Se consideró que las cuatro corridas independientes habían convergido cuando el valor de PSRF fue mayor a 0.01 y el tamaño de muestreo efectivo (por sus siglas en inglés, ESS) fue mayor a 200. Finalmente, el árbol obtenido fue modificado en FIGTREE 1.4.3. (Rambaut, 2010) y exportado en formato .png.

#### 6.4.2.4. Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC”

El método GMYC se realizó utilizando un árbol ultramétrico con el alineamiento de secuencias genéticas usando un análisis bayesiano. En el programa BEAUTI versión 2.6.3 (Drummond y Rambaut, 2007) se eligieron los modelos de sitio para cada posición de codón, utilizando una distribución gamma. Para la posición uno y dos se seleccionó el modelo de sustitución HKY, mientras que para la posición tres se utilizó el modelo GTR, como se menciona anteriormente en la sección 6.4.2.3. (Modelo evolutivo e inferencia de árboles genéticos de CO1). Se utilizó un reloj molecular relajado lognormal, el cual contempla una tasa de divergencia molecular heterogénea entre linajes con diferente distribución estadística, en donde las tasas tienden a agruparse alrededor de un valor medio y son constantes (Drummond et al., 2006). El proceso de generación de árboles se realizó utilizando dos diferentes modelos de diversificación: (a) el modelo de Yule (Yule, 1925) de sólo nacimientos, que asume una tasa de nacimiento de linaje constante y desconocida para cada rama del árbol; este modelo se eligió dado que es adecuado para relaciones entre especies; y (b) el modelo Coalescente de población constante (Kingman, 1982), el cual asume un tamaño de población constante y desconocido en el tiempo, elegido para corroborar la divergencia presente entre individuos de la misma especie.

Se realizaron dos análisis, cada uno con un modelo de diversificación de árbol diferente, con el objetivo de identificar el modelo que produciría resultados más congruentes con la morfología (Candia-Ramírez y Francke, 2020; Ceccarelli et al., 2012). Los análisis fueron realizados en BEAST versión 2.1-2.6.3 (Drummond y Rambaut, 2007) en la plataforma de CIPRES. Cada análisis se realizó con tres corridas de 20 millones de generaciones, con un muestreo de árboles cada 1,000 generaciones y con un número de semilla diferente. Posteriormente, se revisó la convergencia de las cadenas en TRACER obteniendo valores de muestreo efectivo mayores a 200. Seguidamente, se hizo la combinación de los árboles obtenidos en las tres corridas de cada análisis en donde se descartó únicamente el 10% de *burnin*, utilizando el programa LOGCOMBINER versión 1.8.4-2.6.0 (Drummond y Rambaut, 2007) en CIPRES. Por último, para obtener el árbol ultramétrico necesario para el análisis de GMYC, se usó el programa TREEANNOTATOR versión 1.8.4-2.6.0. (Drummond y Rambaut, 2007) en el portal CIPRES, para construir el árbol de máxima credibilidad de clado, descartando el 25% de *burnin*, con un límite de probabilidad posterior de 0.5 y una altura de nodo media. Una vez obtenido el árbol ultramétrico, se prosiguió a obtener los resultados del método de GMYC con el servidor en línea (<https://species.h-its.org/gmyc/>), eligiendo la opción de umbral único para el análisis de delimitación.

#### **6.4.2.5. Implementación bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP”**

El método bPTP se realizó utilizando los árboles filogenéticos de Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB), como se menciona anteriormente en la sección 6.4.2.3. (Modelo evolutivo e inferencia de árboles genéticos de CO1). Se realizaron dos análisis de bPTP con cada uno de los árboles en formato .newick, utilizando el servidor en línea (<https://species.h-its.org/ptp/>). Para estos estudios se considerando 200,000 generaciones de búsqueda de las cadenas, con un muestreo cada 100 generaciones y un 10% de *burnin*. Por último, se revisaron los análisis realizados verificando la convergencia de las cadenas a través de cada *trace plot*.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Obtención del material biológico

Se obtuvieron 87 ejemplares del grupo *furcata* para estados del centro de México: Estado de México, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla y para Arizona en Estados Unidos (Cuadro 2, Cuadro 3). Estas arañas fueron encontradas en diferentes ecosistemas principalmente en Bosque tropical caducifolio, encontrando vegetación de pino, encinos como *Quercus* y matorral, siendo localizadas tanto en pinos jóvenes como en adultos. Los ejemplares también fueron encontrados en vegetación de Selva baja caducifolia, en Páztizal y en Matorral xerófilo con nopal, algunos de los cuales anteriormente mencionados por Maddison (1996) (Figura 3).

#### 7.1.1. Revisión en colecciones

En total se revisaron alrededor de 300 ejemplares y más de 22 especies de las cinco colecciones científicas, incluyendo especies de los géneros *Pelegrina*, *Eris*, *Metaphidippus* (grupo *manni*) y *Paraphidippus*, principalmente, además de las dos morfoespecies fuera del grupo *furcata* recuperadas de *Pelegrina* mencionadas por Maddison (1996). En las colecciones CAFBUM, LAFC-UNAM, y CNAN, se encontraron una de las especies del grupo *furcata*, *P. furcata* y una especie afín a *P. morelos*. También fueron encontradas las morfoespecies de Jalisco y Nayarit (JALNAY), del estado de México (EDOMEX) y de Jalisco Zapopan (JAL-ZAPOPAN) en la Colección Nacional de Arácnidos (Cuadro 2).

El material de donación por parte del Dr. Maddison y el M. en C. Garcilazo Cruz se revisó considerando alrededor de 150 ejemplares de los géneros *Pelegrina*, *Eris*, *Metaphidippus* (grupo *manni*) y *Paraphidippus*. En este material se recuperaron tres de las especies del grupo *furcata*, *Pelegrina furcata*, *Pelegrina huachuca*, y *Pelegrina morelos* (Cuadro 3).

#### 7.1.2. Trabajo de campo y preservación de material fresco

En las salidas de campo realizadas se obtuvieron alrededor de 47 ejemplares, con 5 especies para el género *Pelegrina*, incluyendo una de las nuevas especies mencionadas por Maddison (1996) y dos de las morfoespecies recuperadas del grupo *furcata* JALNAY y EDOMEX (Cuadro 4).

**Cuadro 2.** Material revisado y utilizado de *Pelegrina* (grupo *furcata*) de colecciones de universidades locales y colecciones nacionales.

<b>Colección</b>	<b>Especie</b>	<b>Ejemplares (sexo)</b>	<b>Estado, municipio, localidad</b>
CAFBUM	<i>Pelegrina furcata</i>	3(h), 4(m)	Michoacán, Morelia, Rio bello. San Miguel del Monte. El Gigante.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> )	2 (h), 3 (m)	Jalisco, San Sebastián del Oeste, Cerro de la Bufa
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> )	3 (m), 2 (h)	Nayarit, Jala, Volcán Ceboruco.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> )	2 (m), 4 (h), 1(j)	Jalisco, Ahualulco del Mercado, Piedras Bola, Isla.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. aff. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> )	1 (h)	Jalisco, San Gabirel, Puerto El Floripondio.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> ) cf. <i>P. morelos</i>	1 (h)	Jalisco, San Sebastián del Oeste, Cerro de la Bufa
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> ) cf. <i>P. morelos</i>	1 (h)	Jalisco, Ahualulco del Mercado, Piedras Bola, Isla.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JALNAY</i> (grupo <i>furcata</i> ) cf. <i>P. morelos</i>	6 (h)	Nayarit, Jala, Volcán Ceboruco.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. EDOMEX</i> (grupo <i>furcata</i> )	1(h), 1(m), 1(j)	Edo. México, Coatepec Harinas, Meyuca de Morelos, Cerro de las Huacas.
CNAN-IBUNAM	<i>P. sp. nov. JAL-ZAPOPAN</i> (grupo <i>furcata</i> )	1 (m)	Jalisco, Zapopan, Km 19 carretera Guadalajara-Salttillo, desv. a Parque Acuático Los Camacho.
CNAN-IBUNAM	<i>P. aff. P. morelos</i>	3 (h), 1(j)	Jalisco, San Sebastián del Oeste, Cerro de la Bufa
LAFC-UNAM	<i>Pelegrina furcata</i>	1 (h)	Veracruz, Pico de Orizaba.



**Cuadro 3.** Material de donación del Dr. Maddison y M. en C. Garcilazo.

<b>Donación</b>	<b>Especie</b>	<b>Ejemplares (sexo)</b>	<b>País, Estado, Municipio, Localidad</b>
Donación WPM	<i>Pelegrina furcata</i> morfo sur de Arizona/ norte de México	3m, 4h, 2j	E.U., Arizona, Santa Cruz Co. Santa Rita Mountains, M. Hopkins km 13-17
Donación WPM	<i>Pelegrina furcata</i> morfo sur de Arizona/ norte de México	2h	E.U., Arizona, Cochise Co. Huachuca Mountains, Miller Canyon
Donación WPM	<i>Pelegrina furcata</i> morfo sur de Arizona/ norte de México	2h, 2j	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>Pelegrina furcata</i> morfo sur de Arizona/ norte de México	3h, 1m	E.U., Arizona, Santa Cruz Co. Madera Canyon
Donación WPM	<i>P. furcata</i> morfo oeste de Oaxaca	1h, 2j	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. sp. aff. P. furcata</i> morfo oeste de Oaxaca	1h	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. furcata</i> morfo N de Arizona, Colorado, Nuevo Mex.	1h	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. furcata</i>	1h	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. furcata</i> cf. <i>P. morelos</i>	1h	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. morelos</i>	7m	México, Morelos, Huitzilac, Barrio de la Cruz
Donación WPM	<i>P. huachuca</i>	1h	E.U., Arizona, Santa Cruz Co. Montosa Canyon, ca. Km 3 on Mt. Hopkins Road
Donación UGC	<i>P. furcata</i> morfo sur de Arizona/ norte de México	1f, 2m, 2j	México, Puebla, Zoquitlan, Azalpa

**Cuadro 4.** Estados y localidades muestreadas en el año 2019 de las especies de *Pelegrina*.

Colecta	Mes/Año de colecta	Estado	Localidades muestreadas	Ejemplares identificados	Especie
#1	may-19	Ciudad de México	1	6m, 1h, 2j	<i>P. edrilana</i>
#2	jun-19	Ciudad de México	1	3m, 5h	<i>P. edrilana</i>
#3	jul-19	Jalisco, Nayarit	3	6m, 7h, 2j	<i>P. orestes</i> <i>M. tricolor</i> cf. <i>M. diplacis</i> JALNAY <i>P. sp. nov.</i> (Maddison Guerrero-Jalisco)
#4	ago-19	Querétaro	1	2h	<i>P. edrilana</i> <i>P. sp. aff. P. edrilana</i>
#5	ago-19	Edo. México	1	1m, 2j	EDOMEX
#6	sep-19	Ciudad de México	1	1m, 1j	<i>P. edrilana</i> <i>P. sp. aff. P. edrilana</i>
#7	oct-19	Ciudad de México	1	1m , 3j	<i>P. edrilana</i>

## 7.2. Trabajo morfológico

### 7.2.1. Revisión taxonómica

Se realizó la revisión taxonómica del género *Pelegrina* grupo *furcata*, de los ejemplares obtenidos de las colecciones científicas, el material de donación y las salidas de campo (Cuadro 2, Cuadro 3, Cuadro 4). También se realizó la revisión de los ejemplares obtenidos como grupos externos de los géneros *Eris*, *Metaphidippus* (grupo *manni*) y *Paraphidippus*.

### 7.2.2. Determinación y estudio morfológico

La determinación de ejemplares de *Pelegrina* dió como resultado la separación de tres de las especies del grupo *furcata*; a *Pelegrina furcata*, con tres de las cuatro variaciones descritas por Maddison (1996): 1) el morfotipo del sur de Arizona y Norte de México, de los estados de Arizona, Morelos y Puebla, con ejemplares machos y hembras, 2) el

morfotipo del oeste de Oaxaca, del estado de Morelos con ejemplares hembras y 3) el morfotipo del Norte de Arizona, Colorado y Nuevo México, de Morelos con una hembra, considerando un nuevo registro de esta especie para Zoquitlán Puebla (Cuadro 3).

Se obtuvieron ejemplares de *Pelegrina morelos* del estado de Morelos con especímenes machos, con un nuevo registro para Huitzilac, Morelos, y se recuperó a la especie *Pelegrina huahuca* del estado de Arizona con un único ejemplar hembra (Cuadro 3), además, se consiguió una especie afín a *P. morelos* de Jalisco con un solo ejemplar hembra. Asimismo, se realizó el hallazgo morfológico de tres especies putativas del grupo furcata: la especie JALNAY de los estados de Jalisco y Nayarit, la especie EDOMEX del Estado de México y una tercera especie JAL-ZAPOPAN de Zapopan Jalisco. Aunado a esto, se obtuvieron tres morfotipos presentes en la especie JALNAY, con base en la forma de los “flaps” y los conductos reproductivos en el epiginio, de los cuales los tres están presentes en los ejemplares de Nayarit y dos están presentes en los de Jalisco (Cuadro 2, Cuadro 4).

Además, se obtuvieron especies de *Pelegrina* que no forma parte del grupo furcata, de las cuales algunas son mencionadas en el Cuadro 4. Éstas incluyen ejemplares de *P. dilathea* Maddison, 1996, *P. pallidata* Pickard-Cambridge, 1901, *P. bunites* Maddison, 1996, *P. clavator* Maddison, 1996, *P. galathea*, *P. variegata* Pickard-Cambridge, 1901, *P. clemata* Levi y Levi, 1951, *P. sp.* de Neriaco México (Maddison, fig. 464-466), *P. sp.* de Durango (Maddison, fig. 470), *P. kastoni*, *P. verecunda* Chamberlin y Gertsch, 1930, *P. aeneola*, *P. yucatecana* Maddison, 1996, *P. arizonensis*, *P. flavipedes*, *P. balia*, *P. flavipes*, *P. aff. P. tristis*, *P. proterva*, *P. insignis*, *P. verecunda*, y *P. tillandsiae* Kaston, 1973. Las muestras obtenidas recuperan una serie de registros nuevos del género para diferentes estados de la República Mexicana. Estos ejemplares se encontraron almacenados en su mayoría en la CNAN y algunos otros fueron obtenidos de la donación por parte del Dr. Maddison.

### **7.3. Análisis de delimitación de especies - Morfológico**

Al examinar la morfología se identificaron nueve diferentes morfoespecies: Jalisco-Nayarit (JALNAY), Estado de México (EDOMEX), Jalisco, Zapopan (JAL-ZAPOPAN), *P. furcata*, *P. morelos*, *P. aff. P. morelos*, *P. huachuca*, *P. edrilana* y *P. orestes*. De estas morfoespecies solo se muestran fotografías de los integrantes del grupo furcata (Figuras 11, 12, 13, 14), sin contemplar a *P. edrilana* y *P. orestes*. La morfología se examinó incluyendo todos los ejemplares adultos utilizados para la parte molecular.

Se encontró una fuerte variación en los alerones o “flaps” que se encuentran cubriendo la apertura del epiginio y en los conductos reproductivos en la parte interna del epiginio entre ejemplares hembras de la misma morfoespecie y localidad (Figuras 12, 13).

Esta variación coincide con la variación intraespecífica mencionada por Maddison (1996) en hembras del grupo *furcata*, específicamente en *P. furcata*. Sin embargo, la variación interespecífica fue clara entre hembras de las especies putativas y el resto de las especies de *Pelegrina* en las que se contaba con la hembra, sobre todo al observar los conductos reproductivos y, en algunas ocasiones, los patrones del opistosoma en hembras (Figura 14). No obstante, solo se pudieron obtener las características de los “flaps” y conductos reproductivos de las hembras de JALNAY, *P. furcata*, *P. aff. P. morelos* y *P. huachuca*, debido a que el epiginio de la hembra de EDOMEX fue extraviado antes de la toma de fotografías y para las especies de JAL-ZAPOPAN y *P. morelos* solo se recuperaron machos.

Las características encontradas en machos se limitan a los caracteres sexuales, es decir, la forma y posición de las ramas terminales del émbolo, ya que las características somáticas presentan una diversidad críptica (Figura 11). Estas características se pudieron recuperar para las tres especies putativas y el resto de las especies incluidas de *Pelegrina*, con la única excepción de *P. aff. P. morelos* de la cual no se recuperaron machos. Los machos no presentaron una variación intraespecífica marcada en estos caracteres y, por lo tanto, en el grupo *furcata* como en el resto de las especies de *Pelegrina*, los machos son indispensables para la separación morfológica de especies.

Las tres especies putativas nuevas encontradas son distinguibles por la morfología de los caracteres sexuales tales como las ramas terminales del émbolo en machos (forma e inclinación de la rama proteral (Pl) y la rama retrolateral (Rl); Figura 11); los “flaps” epiginiales en hembras (forma e inclinación paralela, convergente o divergente; Figura 12); los conductos reproductivos en hembras (anchura y curvatura de las vueltas del ducto espermatecal; Figura 13); y los patrones en el abdomen dorsal en hembras (número, forma, anchura e inclinación de bandas; Figura 14).

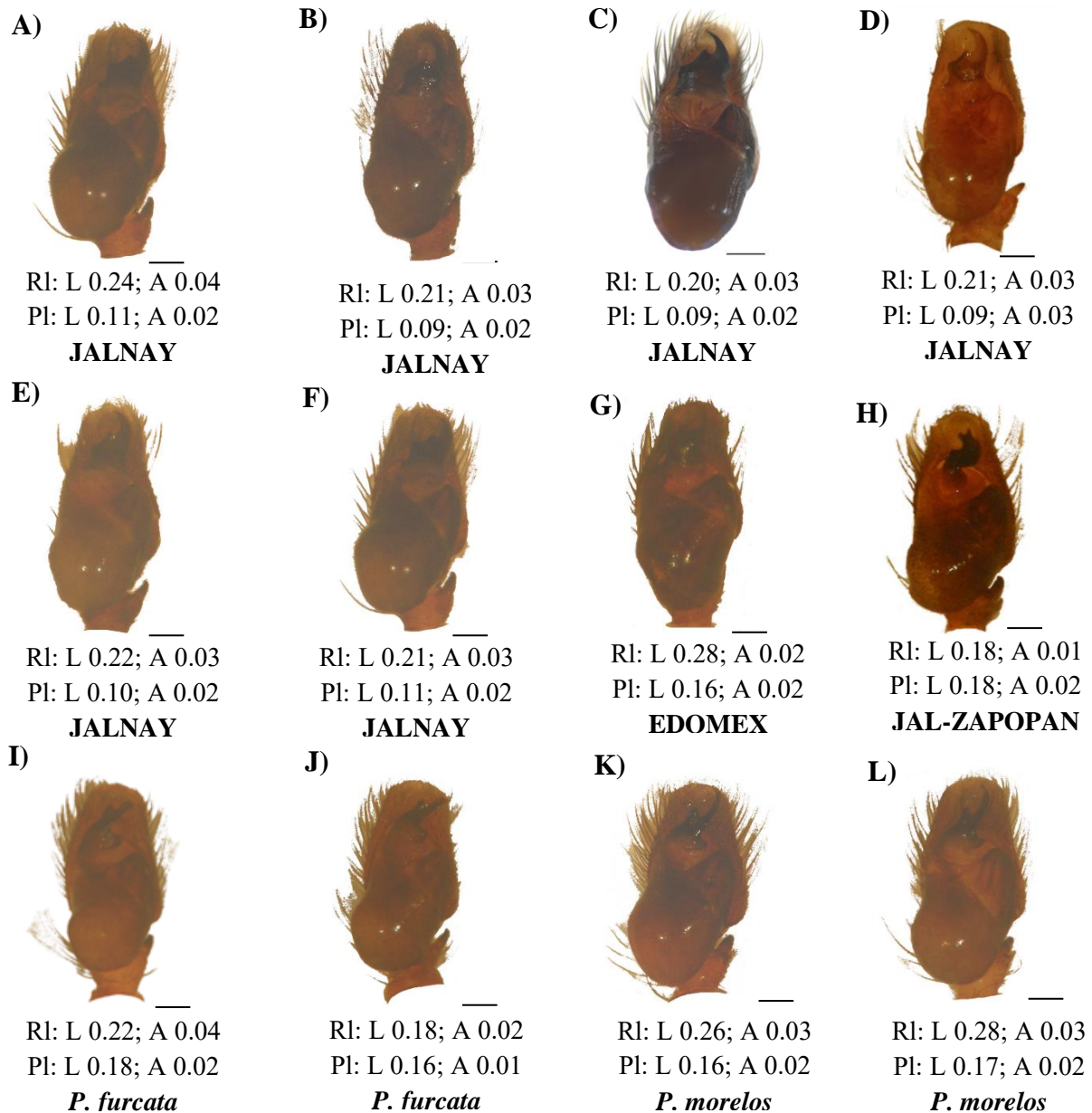
### **7.3.1. Ramas terminales del émbolo en machos**

La forma e inclinación de las ramas terminales del émbolo es el carácter más informativo que separa las especies putativas, dado su casi nula variación intraespecífica y debido a la presencia de machos para la mayoría de las especies recuperadas del grupo *furcata* (Figura 11). En el caso de la especie putativa JALNAY, los machos presentan una rama Rl con forma de garfio grueso con inclinación hacia la derecha pero con curvatura hacia la rama Pl, similar a la rama Rl encontrada en *P. tristis* (Figura 11 A-F). Estos machos presentan una rama Pl formando, junto con el borde de la apertura del émbolo, un cuadrado o rectángulo con inclinación diagonal hacia la rama Rl colocada en una base del émbolo, fuertemente ancha, con un anchor similar al que abarca sus ramas terminales.

El émbolo de JALNAY se asemeja al de *P. morelos*, así como a *P. furcata* únicamente en la inclinación de sus ramas terminales, dado que también presenta una rama Rl con inclinación hacia la derecha con diferente prolongación, pero en el caso de estas especies, ésta rama se encuentra fuertemente inclinada a la derecha. En *P. morelos* la rama Rl se encuentra prolongada con una ligera curva en la punta hacia la rama Pl, simulando un gancho recto fuertemente delgado con la punta curvada (Figura 11 K-L). Por otro lado, *P. morelos* como *P. furcata* presentan una rama Pl con inclinación hacia la derecha y truncada en la punta, con puntas generalmente cuadradas (Figura 11 I-L). En contraste, el émbolo de JALNAY no guarda semejanzas con las especies del grupo furcata *P. volcana* y *P. bicuspidata*, ya que éstas dos presentan ramas terminales muy similares en tamaño y forma, lo que no sucede con JALNAY. Por último, en el caso de *P. huachuca*, la especie también presenta una rama Rl prolongada con inclinación hacia la derecha, sin embargo, ambas ramas terminales tienen una forma muy distinta a las encontradas en JALNAY y a las del resto del grupo furcata (Maddison, 1996).

Los machos de la especie putativa EDOMEX presentan un émbolo con una rama Rl muy similar a JALNAY con forma de garfio, pero con menor prolongación, como un garfio truncado y más delgado que en JALNAY, y dicha rama muestra una apariencia ligera y únicamente en la forma de gancho a la rama Rl de *P. proterva* (Figura 11 G). Además, la especie putativa EDOMEX también presenta una rama Pl que forma un cuadrado con el borde de la apertura del émbolo, pero con este borde ligeramente marcado en algunos ejemplares y con una base del émbolo ancha al igual que en JALNAY abarcando la anchura de sus ramas terminales. Estas diferencias son significativas debido a que se presentan de la misma manera en todos los ejemplares de JALNAY y en los dos ejemplares obtenidos de EDOMEX.

En la especie putativa JAL-ZAPOPAN, los machos presentan un émbolo con ramas terminales muy distintas a las encontradas en la mayoría del grupo furcata, con algunas excepciones (Figura 11 H). Esta especie presenta una base del émbolo y un émbolo curvado hacia la derecha, con un borde más o menos triangular en la pared izquierda inferior. Se presenta con ramas terminales paralelas y ligeramente inclinadas hacia la izquierda, con ramas pequeñas y truncadas en la punta, de ramas a ligeramente cuadradas. La forma curvada con el borde izquierdo en el émbolo es muy similar en cuanto a la estructura al émbolo de *P. bicuspidata*, sin embargo, el borde que presenta el émbolo del lado izquierdo es más marcado en esta última especie (Maddison, 1996). Además, la curva que hace la parte distal del émbolo, deslizando las dos ramas terminales hacia arriba y a la izquierda, es mayormente marcada y con mayor inclinación en JAL-ZAPOPAN. Por último, la forma de las ramas terminales, Pl y Rl, se aprecia con mayor similitud en JAL-ZAPOPAN que en *P. bicuspidata*. Por otro lado, la similitud que guarda el émbolo de JAL-ZAPOPAN con el de *P. volcana*, es únicamente en la presencia de ramas terminales pequeñas y paralelas (Maddison, 1996).



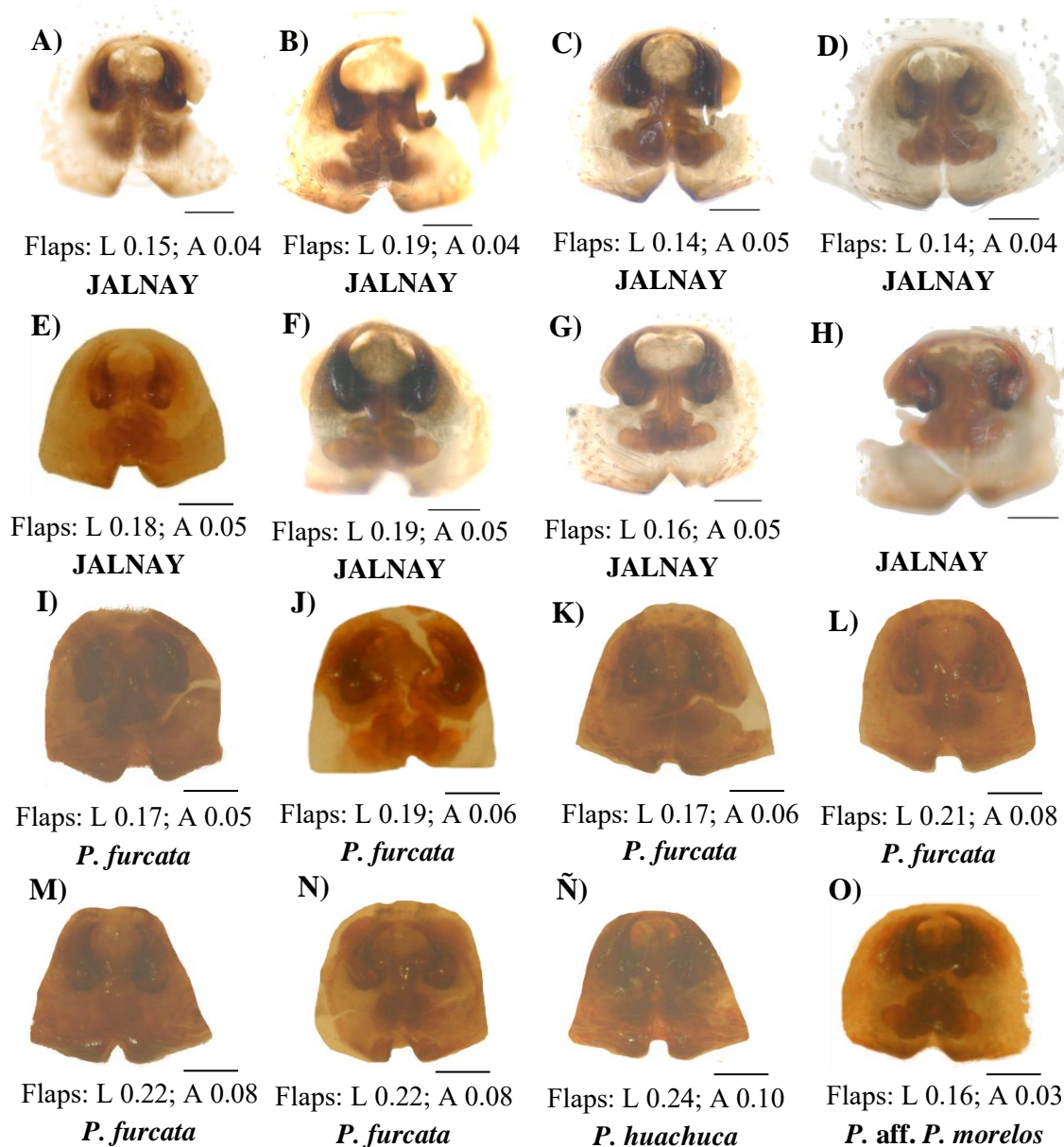
**Figura 11.** Variación intraespecífica e interespecífica de los émbolos en machos (vista ventral) de ejemplares del grupo *furcata*. **A-F** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-B** Jala, Nayarit (DGF01\_0107A, DGF01\_0306); **C-E** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012B, DGF01\_00086, DGF01\_0012C); **F** Ahualulco del Mercado, Jalisco (DGF01\_0362A). Edo. de México (EDOMEX): **G** Meyuca Morelos, Edo. de México (BCD\_0037). **H** Zapopan, Jalisco (JAL-ZAPOPAN): (DGF01\_0376). *P. furcata*: **I-J** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0126, WPM\_0129). *P. morelos*: **K-L** Huitzilac, Morelos (WPM\_0176, WPM\_0037). Las letras y números debajo de las figuras representan la longitud (L) y la amplitud (A) de cada rama, retrolateral (Rl) y prolateral (Pl). Mediciones en milímetros.

### 7.3.2. Solapas o “flaps” epiginiales en hembras

Las solapas o “flaps” que cubren las aperturas en los epiginios de las hembras presentan una fuerte variación entre los ejemplares de la especie putativa JALNAY, presentando tres morfotipos distintos (Figura 12 A-H). En el primer morfotipo los “flaps” se presentan paralelos en forma de gota alargada, con la parte superior de estos haciéndose cada vez más delgada y convergente, y con la parte inferior de estos ligeramente convergente, divergente o rectos (Figura 12 A, D, E, F). El segundo morfotipo presenta unas solapas con una forma similar, pero con la pared externa más o menos recta y con la pared interna con un ligero borde en la mitad de la pared, de la mitad inferior a la superior (Figura 12 B, G, H). Los “flaps” se presentan paralelos pero inclinados hacia la parte interna del epiginio, con la parte superior muy delgada y curvada casi a partir de la mitad de estos, dándole una apariencia divergente a la parte superior y una apariencia convergente en la inferior. El tercer morfotipo presenta unas solapas con forma de gota alargada pero no tan alargada como la del primer morfotipo, se muestran un poco más anchas que los dos anteriores en toda la solapa, y convergentes en la parte superior y paralelas en la parte inferior (Figura 12 C).

Estos “flaps” de la especie putativa JALNAY son distintos a los de *P. furcata*, en cuanto a que, para estos últimos, se presentan en forma de gotas ligera o fuertemente dobladas, dependiendo del morfotipo, doblándose de la parte media hacia la parte interna del epiginio. Esto les da una apariencia de “flaps” curvados y convergentes en la parte superior, mientras que en la parte inferior pueden presentarse convergentes (Figura 12 J, L, N) o rectos (Figura 12 I, K), con la presencia también de algunas solapas mayormente robustas y ligeramente convergentes (Figura 12 M), variación que también se encuentra en esta especie dependiendo del morfotipo (Maddison, 1996). En cuanto a las solapas de JALNAY y *P. morelos*, éstas se diferencian dado que *P. morelos* presenta una pared interna “abombada”, sobre todo en la mitad inferior, una pared externa un poco más recta y, en general, por ser “flaps” más robustos que los encontrados en JALNAY (Maddison, 1996).

Por otro lado, las diferencias entre JALNAY y *P. aff. P. morelos* son escasas, ya que estos últimos también aparentan una forma de gota alargada con los “flaps” convergentes en la parte superior, y de rectos a convergentes en la parte inferior, con la diferencia de que no se presentan fuertemente curvadas en la parte superior como en algunos de los morfotipos de JALNAY (Figura 12 O). Sin embargo, este carácter no es suficiente para separar estas especies, debido a que únicamente se tiene la evidencia de un ejemplar hembra afín a *P. morelos*, el cual es muy similar en este carácter a algunos de los ejemplares de JALNAY.



**Figura 12.** Variación intra e interespecífica de los alergones o “flaps” en el epiginio de las hembras (vista dorsal) de ejemplares del grupo *furcata*. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0108); **E-F** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084); **G-H** Ahualulco del Mercado, Jalisco (DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff. P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012E). Las letras y números debajo de las figuras representan la longitud (L) y la amplitud (A) de cada “flap” o solapa, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros.



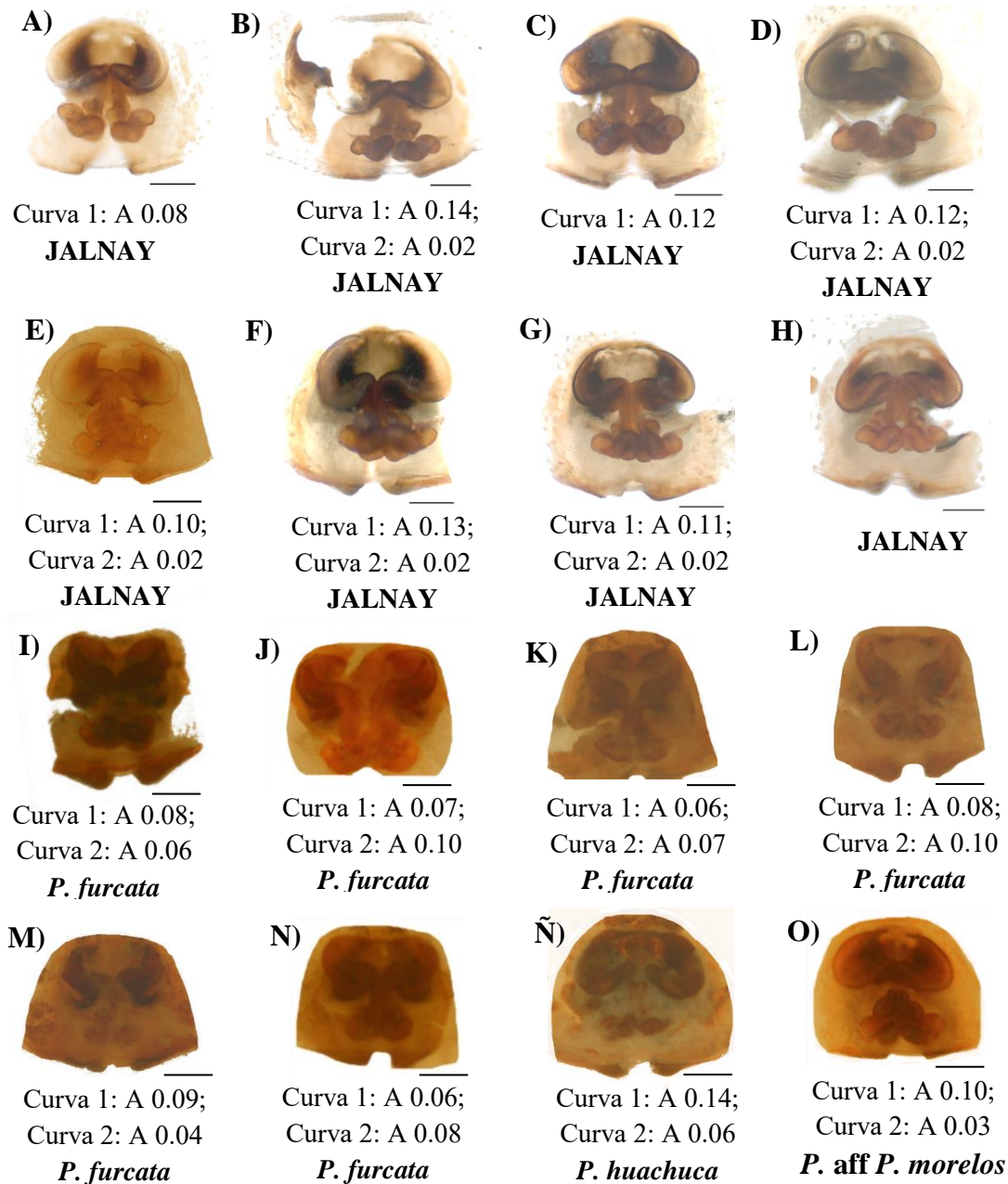
Las diferencias entre las solapas de JALNAY y *P. huachuca*, son que esta última presenta unos “flaps” robustos y convergentes, con forma más o menos triangular, similares a los encontrados en *P. edrilana*, con la parte inferior interna terminando en un borde agudo (Figura 12 Ñ). Por último, las diferencias entre las solapas de JALNAY y *P. ochracea* son muy evidentes, debido a que esta última presenta “flaps” bastante cortos, sin prolongación en la parte superior y un poco angostos (Maddison, 1996).

### 7.3.3. Conductos reproductivos en hembras

La parte interna o ventral del epiginio de hembras también presenta una fuerte variación en los ductos espermatecales entre los ejemplares de la especie putativa JALNAY. Ésta presenta los mismos tres morfotipos mencionados para los “flaps”, con una primera vuelta de los conductos ancha y una segunda vuelta aguda (Figura 13 A-H). El primer morfotipo presenta ductos paralelos con la primera vuelta del conducto en el mismo plano horizontal, formando un óvalo (Figura 13 A, E, F) y en algunas ocasiones ligeramente más aguda (Figura 13 D). El segundo morfotipo presenta ductos con una primera vuelta ligeramente más aguda que los anteriores, formando una vuelta en el plano diagonal (Figura 13 B, G) y en algunas ocasiones hacia abajo en dirección a la esquina inferior externa (Figura 13 H). El tercer morfotipo presenta unos ductos con una vuelta de ovalada a rectangular con los bordes ligeramente marcados, en dirección hacia la esquina inferior externa, pero sin pasar del plano horizontal (Figura 13 C).

Estos ductos de la especie JALNAY se diferencian de los presentes en *P. furcata*, en tanto que para los primeros ductos presentan la primera vuelta fuertemente ancha y en dirección hacia la esquina inferior externa, con una segunda vuelta aguda, como en forma de “G”, con una cola abajo. Por otro lado, la primera vuelta en los conductos de *P. furcata* se presenta aguda y en dirección hacia la esquina superior externa, con una segunda vuelta ancha como en forma de “alas de mariposa” o la forma del “cuello y cola de un cisne” (Figura 13 I-N). Cabe mencionar que los conductos reproductivos de JALNAY son muy similares a los de la especie *P. morelos*, que tienen la primera curva del conducto ancha y la segunda curva estrecha, pero presentando la primera curva un poco más alargada, gruesa y con inclinación horizontal que en JALNAY (Maddison, 1996). No obstante, las diferencias entre JALNAY y *P. aff. P. morelos* no son claras, por lo que este carácter no funciona como evidencia para separar a estas especies (Figura 13 O).

En el caso de *P. huachuca*, las diferencias entre ésta y JALNAY son evidentes, ya que, aunque ambos presentan curvas con similar grosor, la primera curva en *P. huachuca* muestra bordes marcados, con una forma más o menos cuadrada, con inclinación hacia la esquina inferior externa, lo cual es diferente en JALNAY (Figura 13 Ñ). Por último, las diferencias entre las especies JALNAY y *P. ochracea* son evidentes, ya que esta última presenta conductos reproductivos pequeños y angostos (Maddison, 1996).



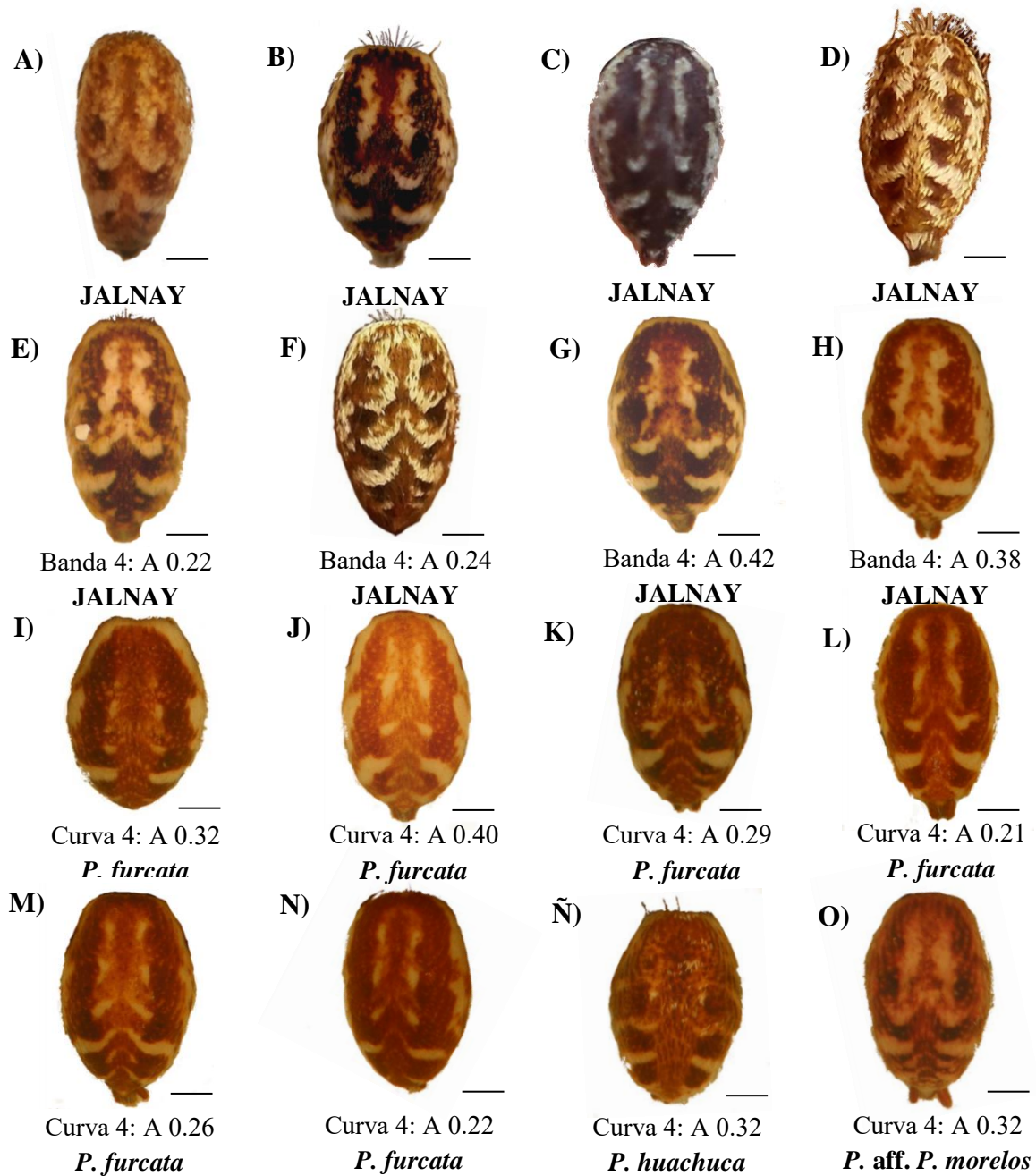
**Figura 13.** Variación intra e interespecífica de los conductos reproductivos en el epiginio de las hembras (vista ventral) de ejemplares del grupo *furcata*. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0109B); **E-H** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084, DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012E). Las letras y números debajo de las figuras representan la amplitud (A) de la curva uno y dos del ducto espermatecal, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros.

#### 7.3.4. Patrones de bandas en el opistosoma de hembras

Los patrones de bandas presentes en el opistosoma de las hembras presentan ciertas variaciones muy sutiles, las cuales están dadas por la pérdida natural de sedas del ejemplar o por su pérdida al conservar el ejemplar en alcohol. Sin embargo, se alcanzan a distinguir las marcas donde estuvieron presentes estas bandas de sedas de blancas a amarillas en los ejemplares fotografiados en alcohol (Figura 14). Además, al recuperar fotografías tanto de ejemplares vivos, como almacenados en alcohol, sobre todo de los ejemplares de JALNAY, se pudieron observar estos patrones, así como también ayudaron a darnos una idea los patrones que ya estaban desapareciendo en los ejemplares en alcohol. Por lo tanto, en la mayoría de los ejemplares presentados aquí se alcanzan a observar patrones bien definidos en el abdomen dorsal de hembras que difieren entre las especies (Figura 14). Estos patrones de bandas, como lo menciona Maddison (1996), se pueden clasificar en diferentes categorías, aquellas en las que los pares de bandas o manchas blancas dominan el dorso, aquellas en las que las manchas oscuras entre y al lado de las bandas blancas dominan el dorso y, agregando una última categoría en este trabajo, aquellas en las que existe una mezcla de dominancia de bandas.

En el caso de la especie JALNAY, ésta presenta cinco bandas paralelas blancas que dominan el dorso, más o menos simétricas, en donde la primera y la segunda marca se encuentran verticales y fusionadas, formando una “H” sin la conexión en medio (Figura 14 A-H) y, en algunas ocasiones la segunda banda presenta una prolongación ondulada en la parte posterior (Figura 14 F). La tercera banda se presenta de horizontal a diagonal, curvada, y con el extremo interno prolongado hacia arriba encontrándose con su par, formando la silueta de un triángulo. La banda cuatro se presenta muy similar a la tres, con excepción de que ésta, en su mayoría, no se encuentra o une con su par, únicamente en algunos casos (Figura 14 A, D, F, H). La marca cinco en algunos ejemplares no se alcanza a distinguir ya que es muy pequeña y en ocasiones solo se muestra como una marca horizontal (Figura 14 B, C, E, F, G), mientras que también se puede presentar, al igual que las bandas anteriores, curvada y hacia arriba, encontrándose con su par (Figura 14 A, D, H).

Estos patrones presentes en JALNAY se diferencian de los de *P. furcata*, debido a que en esta última, las bandas se encuentran mezcladas sin presentar una dominancia definida, las primeras dos bandas verticales y fusionadas se encuentran por lo general incompletas; lo mismo sucede con el par tres, las cuales se muestran curvadas y con prolongación, pero de manera incompleta, algunas con la curva más marcada que otras, simulando un triángulo al revés (Figura 14 I-N). Además, la cuarta banda, se presenta bien marcada, ancha en su extremo externo y haciéndose cada vez más delgada hacia el otro extremo hasta encontrarse con su par. Esta banda se encuentra muy delgada en una cuarta parte de su extremo interno y con prolongación hacia arriba. La quinta banda se presenta marcada, completa y muy delgada, encontrándose con su par. En esta especie se puede



**Figura 14.** Variación interespecífica de los patrones de sedas y escamas en el opistosoma de hembras (vista dorsal) de ejemplares del grupo *furcata*. **A-H** Jalisco-Nayarit (JALNAY): **A-D** Jala, Nayarit (BCD\_0025, BCD\_0024, BCD\_0026, DGF01\_0108); **E-H** San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012G, DGF01\_0084, DGF01\_0327B, DGF02\_0362C). **I-N** *P. furcata*: **I-K** Santa Cruz, Arizona (WPM\_0007, WPM\_0070, WPM\_0128); **L-N** Huitzilac, Morelos (WPM\_0173, WPM\_0174, WPM\_0032). **Ñ** *P. huachuca*: Santa Cruz, Arizona (WPM\_0199). **O** *P. aff. P. morelos*: San Sebastián del Oeste, Jalisco (DGF01\_0012F). Las letras y números debajo de las figuras representan la amplitud (A) de la banda cuatro, de las muestras examinadas de las que se pudieron obtener estas medidas. Mediciones en milímetros.

encontrar, entre la banda cuatro y cinco, una pequeña banda muy delgada en la misma forma que la anterior formando la silueta de un triángulo, con los bordes internos marcados, pero corta en comparación con los anteriores.

La diferencia de esta especie putativa JALNAY y *P. morelos* es evidente, ya que el primer par de bandas presentes en *P. morelos* se encuentran curvas, formando una “L” inclinada en la parte exterior, y además estas bandas no se presentan unidas, aunque al igual que en JALNAY, *P. morelos* presenta una dominancia de bandas blancas en el dorso. En el caso de las bandas tres, cuatro y cinco, éstas sí son muy similares a las encontradas en JALNAY, debido a que se muestran curvadas y anchas, sobre todo en el caso de la banda cuatro; sin embargo, estas bandas no presentan una prolongación en su extremo interno, hacia arriba, uniéndose con sus pares (Maddison, 1996).

La diferencia entre JALNAY y *P. aff. P. morelos* es que, en esta última, se presenta además de la banda cinco, una sexta banda, con estas dos últimas muy tenues y delgadas, como bandas curvadas y completas, en contraste con las bandas de JALNAY, donde la banda cinco por lo general no se presenta completa, es decir, que no se juntan el par de bandas de cada lado (Figura 14 O). En este ejemplar, las bandas blancas también presentan dominancia en el dorso y este carácter si bien ayuda de manera sutil a distinguir estas especies, no es suficiente evidencia para separarlas sin su estudio molecular.

La especie putativa JALNAY difiere de *P. huachuca* de manera clara, esta última presenta una mezcla de bandas blancas y oscuras, así como no presenta las bandas uno y dos definidas (Figura 14 Ñ). La banda tres de *P. huachuca* es tenue, delgada, y aunque sí se muestra curvada, ésta se encuentra continua, pero en el extremo externo hacia los bordes del opistosoma. Además, mientras que las bandas cuatro y cinco se presentan marcadas, la banda cuatro es un poco más gruesa, pero ambas solo se muestran como bandas paralelas y horizontales que salen de los lados del opistosoma, sin tocarse en el centro del mismo. Por último, en la especie JALNAY se encuentran diferencias escasas con la especie *P. ochracea*, debido a que esta última presenta las primeras dos bandas unidas, así como también se unen la banda tres, cuatro y cinco que, presentan curvas con prolongaciones en el centro del opistosoma formando picos marcados, sin embargo, todas las bandas se muestran difusas, sin estar bien definidas y parecen ser continuas, tocando los bordes del opistosoma (Maddison, 1996).

Por lo tanto, el émbolo en los machos, los “flaps” y los conductos reproductivos en hembras fueron los caracteres que ayudaron significativamente a la separación de las especies putativas JALNAY, EDOMEX Y JAL-ZAPOPAN, debido a que se contó con machos de las tres especies. Además, no se encontraron diferencias significativas entre las hembras de las especies JALNAY y EDOMEX, por presentar los flaps y las curvas de los conductos reproductivos muy similares en forma y en amplitud, y por tener únicamente la

evidencia de una hembra de EDOMEX. No obstante, en algunos casos como el de EDOMEX y JAL-ZAPOPAN, será necesario contar en futuros estudios con las hembras para tener en cuenta también estas características, así como una mayor cantidad de especímenes para incrementar nuestro conocimiento en cuanto a la variación intraespecífica presente en éstas. De igual manera, para el resto de las especies de *Pelegrina* para las cuales se contó solamente con un ejemplar, será necesario en el futuro obtener un mayor número de individuos de ambos sexos para poder apreciar mejor la variación interespecífica entre estas especies, sobre todo en el caso de *P. aff. P. morelos*, en donde las diferencias morfológicas únicamente de una hembra no ayudaron a diferenciar este ejemplar.

#### **7.4. Análisis de delimitación de especies - Molecular**

Algunos de los ejemplares y especies incluidas en la revisión morfológica no se pudieron incluir en la parte molecular, como es el caso de *P. morelos*, *P. huachuca* y la especie putativa JAL-ZAPOPAN. Además, se descartaron tres secuencias de JALNAY, debido a que presentan distancias genéticas de 1.69% entre estas y *P. furcata*, lo cual está por debajo del 1.80% encontrado entre el resto de las secuencias de JALNAY y *P. furcata*. Los resultados de la delimitación molecular de especies utilizando el DNA mitocondrial CO1 se muestran en la Figura 16. La matriz de distancias genéticas se muestra únicamente con las distancias p, debido a que los resultados obtenidos fueron muy similares con el modelo de K2P (Cuadro 5).

##### **7.4.1. Descubrimiento automático de espacios en el código de barras “ABGD”**

Los resultados obtenidos con el método de ABGD fueron consistentes a través de los diferentes valores de rango y concordantes con la morfología, con la excepción únicamente de *P. furcata*, para los cuales se particionó en dos grupos a la hembra y al macho de esta especie (Figura 16). Se realizaron diferentes análisis utilizando la matriz de distancias p no corregidas y la matriz de distancias corregidas con K2P, arrojando resultados similares; además, se exploraron diferentes esquemas de partición obtenidos a partir de diferentes valores de X (anchura relativa del espacio). La partición obtenida que más se repitió fue de ocho grupos (JALNAY, EDOMEX, *P. furcata*, *P. furcata*, *P. aff. P. morelos*, *P. edrilana*, *P. orestes*, *Paraphidippus aurantius*) en las particiones iniciales y de nueve grupos (JALNAY, EDOMEX, *P. furcata*, *P. furcata*, *P. aff. P. morelos*, *P. edrilana*, *P. orestes*, *P. orestes*, *Paraphidippus aurantius*) en las particiones recursivas. Ambas particiones fueron constantes en cada uno de los análisis con valores de X que fueron del 0.1 al 0.6, con lo cual se llegó a la partición de una sola especie.

En estas particiones se recuperaron las especies candidatas, el resto de las especies de *Pelegrina* y el grupo externo. Sin embargo, en el caso de *P. furcata* la separación de sus ejemplares coincide con las distancias genéticas obtenidas, en donde estos presentan una

distancia intraespecífica de 1.54, la cual representa la mayor divergencia obtenida dentro de una especie en este trabajo (Cuadro 5). En el caso del ejemplar de *P. edrilana*, que se separó del resto de sus ejemplares en la partición recursiva, esto se puede deber a que el ejemplar fue muestreado en una localidad distinta. No obstante, se sabe que este método tiende a realizar una sobreestimación de especies, sobre todo en las particiones recursivas, ya que suele ser sensible al efecto de muestreo, como se ha demostrado en otros trabajos (Hamilton et al. 2014; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón et al. 2019).

Por otro lado, las distancias genéticas obtenidas con distancias p y con K2P, generaron los mismos resultados (Cuadro 5). Estas distancias arrojaron valores intraespecíficos menores al 2%, que van del 0.0-1.54%, con este último valor sobresaliente para *P. furcata*. Esta distancia puede estar dada por una tendencia de filopatría en las hembras de *P. furcata*, ya que, aunque no se tiene ninguna evidencia de esto en el grupo, se sabe que en algunas arañas solitarias y coloniales, así como en otros artrópodos, las hembras presentan tendencia a la filopatría, así como los machos tienden a tener una mayor dispersión en busca de hembras (Eberle et al., 2019; Johannesen et al., 2012). No obstante, es preciso señalar que los ejemplares de *P. furcata* fueron recolectados de la misma localidad en Santa Cruz, Arizona, Estados Unidos, sin embargo, fueron obtenidos en sitios específicos diferentes, por lo cual estos ejemplares pudieron encontrarse separados por una barrera biológica importante, razón por lo cual se explicarían las diferencias genéticas acumuladas (ver Cuadro 3).

**Cuadro 5.** Divergencia genética intra e interespecífica (distancias p sin corregir en %) de las especies putativas, otras especies de *Pelegrina* y el grupo externo, recuperadas con métodos basados en distancias genéticas. La divergencia genética mínima y máxima están separadas por un guion. Los números en negrita indican la distancia intraespecífica y los que están en formato regular indican la distancia interespecífica. La celda con un guion representa aquella población en la que solo estaba disponible un ejemplar y por lo tanto, la divergencia intraespecífica no se pudo calcular.

	1	2	3	4	5	6	7
<b>1. JALNAY</b>	<b>0.0-0.6</b>						
<b>2. EDOMEX</b>	1.9-2.5	<b>0.0-0.7</b>					
<b>3. <i>P. furcata</i></b>	1.8-2.2	2.6-3.0	<b>1.54</b>				
<b>4. <i>P. aff. P. morelos</i></b>	4.7-5.0	5.2-5.3	4.6-5.0	-			
<b>5. <i>P. edrilana</i></b>	3.6-4.1	3.9-4.3	3.5-4.8	5.6-5.9	<b>0.0-0.4</b>		
<b>6. <i>P. orestes</i></b>	7.4-8.3	7.8-8.5	8.1-8.9	9.7-10.4	8.7-9.4	<b>0.1-1.0</b>	
<b>7. <i>Pa. aurantius</i></b>	9.6-10.3	10.0-10.4	9.0-9.7	10.7-11.1	9.0-10.0	10.4-11.5	<b>0.1-0.7</b>

Entre los ejemplares de *P. furcata* y JALNAY se obtuvieron valores interespecíficos a partir del 1.80%. La mayoría de los ejemplares de JALNAY tuvieron una distancia de 1.80% entre estos y la hembra de *P. furcata*, dos de los ejemplares de JALNAY presentaron un porcentaje 1.91% y una secuencia mostró un valor de 2.14% entre los ejemplares de JALNAY y la hembra de *P. furcata*, mientras que los machos de *P. furcata* se separaron de los ejemplares de JALNAY con distancias que van del 2.05-2.22% (Cuadro 5). Esta situación se repitió entre las especies de EDOMEX y JALNAY, en donde se presentaron valores de 1.91-2.21% entre la hembra de EDOMEX y los ejemplares hembras y machos de JALNAY, mientras que el macho y el ejemplar juvenil de EDOMEX presentaron distancias de 2.21-2.52% con los ejemplares de JALNAY. Esto puede deberse a que los ejemplares del grupo JALNAY han divergido recientemente y, por lo tanto, no han acumulado los suficientes cambios en las secuencias genéticas estudiadas en este trabajo del gen CO1, por lo que no presentan distancias genéticas interespecíficas como en otras especies de *Pelegrina* (Padial et al. 2010).

El resto de las distancias entre especies se mantuvo por arriba del 2%, similares a las distancias encontradas en otros trabajos con saltícidos, en donde se mostró un incremento significativo entre aquellas del grupo *furcata* y *P. aff. P. morelos*, con un rango de 4.61-5.31%, mientras que las distancias entre estas especies y *P. edrilana* fueron menores con rangos de 3.49-4.78% (Cuadro 5). Por último, *P. orestes* mantuvo un rango mayor de distancias genéticas con las especies del grupo *furcata*, que fue de 7.40-8.87%, y posteriormente el grupo externo *Paraphidippus aurantius* fue el que mostró las distancias interespecíficas mayores, con un rango de 9.0-10.43%. De acuerdo con los resultados obtenidos con ABGD y las distancias genéticas observadas, se recuperan dos especies candidatas JALNAY y EDOMEX (Figura 16).

#### **7.4.2. Brecha dura del código de barras de DNA “HB”**

Los resultados del método Hard-Gap DNA barcoding, utilizando la matriz de distancias p no corregidas y las distancias corregidas con K2P, fueron similares. Estos resultados fueron concordantes con los métodos anteriores, separando a las especies *P. furcata*, *P. aff. P. morelos*, *P. edrilana*, *P. orestes* y *Paraphidippus aurantius* (Figura 16). Sin embargo, fueron discordantes al agrupar juntas a las especies putativas JALNAY y EDOMEX, separándolas como una sola especie, con la presencia únicamente de pequeños espacios (gaps) de distancia entre sus secuencias.

Al ordenar las distancias genéticas desde el valor 0.0, se observaron pequeños “saltos” de 0.1% y 0.17%, hasta la primera brecha de 0.46% de distancia. Esta brecha representó un incremento 2.7 veces mayor que la brecha más grande identificada anteriormente. Por lo tanto, este espacio indicó un límite inferior de 0.1 % (intraespecífica) y un límite superior de 1.54 % (interespecífica) para las secuencias de JALNAY junto con



las de EDOMEX. Siguiendo con el análisis, se encontró una variación de distancias más o menos continua que van de 0.01-0.26%, hasta la segunda brecha de 0.42%. Esta distancia presentó un incremento 1.6 veces mayor que la brecha más grande identificada anteriormente. Por lo que este espacio indicó un límite inferior de 1.54 % (intraespecífico) y un límite superior de 3.49 % (interespecífico) entre *P. furcata* y *P. aff. P. morelos*. Continuando con las distancias ordenadas se encontraron variaciones de distancias parcialmente continuas que van de 0.01 -0.21% hasta la brecha de 0.28%. Esta brecha representó un incremento 1.3 veces mayor a la brecha anterior. Por lo tanto, este espacio indicó un límite superior de 4.61 % (interespecífica) para las secuencia de *P. aff. P. morelos*. Posteriormente, se tuvieron brechas de 1.46% indicando el rango de variación de *P. edrilana*, y de 0.27% indicando el rango de *P. orestes*.

### 7.4.3. Inferencia de árboles genéticos de CO1

Las topologías de árboles basadas en análisis de MV e IB son congruentes en todas las ramas (Figura 15). De la misma manera, los valores de soporte de las ramas son muy similares en ambas topologías, con valores altos para las ramas cercanas a la raíz y la mayoría de las ramas intermedias, y con valores más o menos bajos para algunas de las ramas terminales (Figura 15). Ambos análisis muestran la diversidad intraespecífica encontrada en la especie putativa JALNAY y recuperan tres linajes (*P. orestes*, *P. edrilana* y EDOMEX) con valores de apoyo significativos (soporte bootstrap (sp)  $\geq 80\%$  y probabilidades posteriores (pp) cercanos a 1.0:  $\geq 0.98$ ), agrupados en dos grandes clados (Figura 15). Los análisis de MV e IB seleccionados fueron los que presentaron los valores más altos de verosimilitud final, el de MV con un valor de LnL= -2346.356 y el de IB con uno de LnL= -2382.58.

El primer clado (sp 100%, pp 1.0) incluye a muestras de *P. orestes* (sp 100%, pp 1.0) con ejemplares de Zapopan, Jalisco, de Compostela, Nayarit, y de Aculco, Estado de México. El segundo clado (sp 82%, pp 1.0) está conformado por especímenes de *P. edrilana* (sp 100%, pp 1.0) de Aqualulco del Mercado, Jalisco y de Ciudad de México. Posteriormente se presenta una unidad taxonómica nombrada *P. aff. P. morelos* de San Sebastián del Oeste, Jalisco, no soportada y presentando una politomía junto con *P. edrilana* y el clado del grupo *furcata* en el análisis de IB (Figura 15). En este mismo clado se encuentran agrupados los ejemplares de *P. furcata* (sp 69%, pp 0.98) de Arizona, E.U., no soportados por los datos en el análisis de MV, al presentar valores menores al 80%, y no obstante, en el análisis de IB, si se recuperan estos ejemplares al presentarse con valores de pp muy cercanos a 1.0. Estos resultados del análisis de MV indican que existen diferencias más grandes entre las dos secuencias utilizadas de *P. furcata* que entre otros grupos, lo que también se ve reflejado en la matriz de distancias genéticas (Cuadro 5).

Posteriormente, se encuentra a la unidad taxonómica JALNAY (sp 39%, pp 0.62) de Jala, Nayarit, San Sebastián del Oeste y Ahualulco del Mercado, Jalisco, con soportes que se colocan muy por debajo de los valores de apoyo significativos, mencionados anteriormente, considerándose un clado con incertidumbre, en donde ninguno de los dos análisis sostiene esta agrupación. Por último, se presenta la unidad taxonómica EDOMEX (sp 100%, pp 1.0) de Coatepec Harinas, Estado de México, siendo soportada en ambos análisis.

Los individuos de *P. orestes* se recuperan como grupo hermano del resto de las agrupaciones de *Pelegrina* (Figura 15), lo cual es consistente al ser el grupo hermano de los dos grandes clados que agrupan a todas las especies del género con excepción de *P. bunites*, presentando un émbolo característico en machos considerado como un carácter plesiomórfico, según el cladograma de Maddison (1996) (Figura 15). El segundo clado que incluye a *P. edrilana* y el resto de las especies es soportado por ambos análisis y coloca a *P. edrilana* como grupo hermano del resto de las especies del grupo furcata, lo que tiene sentido al ser una de las especies de *Pelegrina* pertenecientes al clado hermano donde se encuentra el grupo furcata, según Maddison (1996) (Figura 15). Además de presentar características que no la incluyen dentro del grupo furcata, como es el caso de un borde debajo de la apófisis no desarrollado como una segunda apófisis en machos, y una superficie epiginial elevada como un montículo enseguida de los “flaps”, no fuertemente cóncava hasta su borde como en las hembras del grupo furcata, entre otras características (Maddison, 1996).

El siguiente conjunto está conformado por *P. aff. P. morelos*, en donde se coloca como grupo hermano del resto del grupo furcata, sin tener valores de soporte significativos, el cual se separa coincidiendo con *P. morelos* al ser parte del grupo furcata (Maddison, 1996), a pesar de ser de la misma localidad que algunos de los ejemplares de JALNAY y de presentar diferencias morfológicas sutiles con estos (Figura 15). Posteriormente, el clado de *P. furcata*, JALNAY y EDOMEX (sp 61%, pp 0.95) y el clado de JALNAY y EDOMEX (sp 60%, pp 0.93) no se recuperan con valores de soporte significativos por los análisis.

En general, todos los individuos muestreados con localidades únicas o cercanas se recuperan como parientes cercanos, con la excepción de los ejemplares de JALNAY, en donde se realizan pequeños subconjuntos de estos, los cuales no corresponden a las diferentes localidades muestreadas. Finalmente, en el árbol se puede apreciar un problema de resolución, observando que algunas de las relaciones basales no fueron resueltas con este marcador de CO1, el cual está detectando variaciones a un nivel específico, sin embargo, no resultó adecuado para algunas de estas relaciones estrechamente cercanas (Figura 15).

#### 7.4.4. Modelo Coalescente General Mixto de Yule “GMYC”

Los resultados obtenidos con GMYC fueron discordantes con los obtenidos anteriormente y con el enfoque morfológico (Figura 16). El análisis realizado utilizando el modelo de Yule recuperó agrupaciones de especies subestimando el número de entidades a tres entidades y tres grupos (intervalos de confianza = 1-31 entidades; 1-10 grupos) (Figura 16). Este estudio agrupó a las especies putativas JALNAY y EDOMEX junto con *P. furcata*, como una sola especie candidata. La especie *P. edrilana* se agrupó con *P. aff. P. morelos* en una segunda especie y en un último grupo, se presentaron las especies *P. orestes* y *Paraphidippus aurantius*. Estos resultados no mejoraron significativamente el modelo nulo (modelo GMYC = 265.4201, modelo nulo = 264.8773; proporción de verosimilitud no significativa = 0.5811439), el cual asume un solo evento de ramificación en el árbol en donde todas las secuencias representan una sola especie (Pons et al. 2006).

El análisis utilizando el modelo Coalescente recuperó 15 entidades en siete grupos (intervalos de confianza = 1-31 entidades; 1-7 grupos), en donde se sobreestimó el número de especies, dividiendo algunas especies y no recuperando algunos ejemplares en ningún grupo de especies (Figura 16). Este análisis separó tres especies candidatas en el conglomerado JALNAY, así como, dos de los ejemplares de EDOMEX se agruparon como una sola especie candidata dejando por fuera de la delimitación a un tercer ejemplar de esta especie putativa. En cuanto a *P. furcata* y *P. aff. P. morelos* estas entidades no se delimitaron en ninguna agrupación. Por último, las especies *P. edrilana*, *P. orestes* y *Paraphidippus aurantius*, agruparon cada una únicamente a tres o dos de sus ejemplares en una especie, dejando sin delimitar al resto de sus ejemplares como se muestra en la Figura 16. Estos resultados al igual que los anteriores, no mejoraron significativamente el modelo nulo (modelo GMYC = 90.49266, modelo nulo = 89.33338; proporción de verosimilitud no significativa = 0.3137111).

Los resultados de estos análisis son discordantes con el resto de los métodos de delimitación utilizados en este trabajo, la única excepción se da en el caso de *P. edrilana*, en la cual se agrupan tres de sus ejemplares en una única especie dejando de lado a un cuarto ejemplar, lo que también sucede en las particiones recursivas con el método ABGD (Figura 16).

#### 7.4.5. Implementación bayesiana del proceso del árbol de Poisson “bPTP”

Los resultados del método bPTP fueron concordantes con los métodos de delimitación anteriores con excepción de GMYC (Figura 16). De igual manera los resultados obtenidos con los árboles de MV e IB fueron muy similares, por lo que solo presentamos los resultados que se obtuvieron utilizando el árbol de IB. La partición

obtenida por este método fue de ocho especies, la cual se consiguió con la solución de Máxima Verosimilitud y la solución Bayesiana más alta.

La solución de Máxima Verosimilitud separó la especie putativa JALNAY con soportes de 82.8%, mientras que EDOMEX se separó con el porcentaje de 55.4%. Los ejemplares de *P. furcata* se dividieron en dos grupos con porcentajes de 98.9%, lo cual coincide con los discutido en análisis anteriores (ver sección 7.4.2.2.1. ABGD). La rama única de *P. aff. P. morelos* se separó del resto con un soporte del 100%. Mientras que las especies de *P. edrilana*, *P. orestes* y *Paraphidippus aurantius* se separaron con soportes de 76.8%, 61%, y 62.9%, respectivamente. En cuanto a la solución Bayesiana soportada más alta, ésta obtuvo el mismo esquema de partición con los mismos valores de soporte. Estos análisis obtuvieron un intervalo del número esperado de siete a 15 especies. Por último, este método logra recuperar a las especies candidatas JALNAY y EDOMEX, la primera con soportes altos, mientras que la segunda con valores bajos (Figura 16). Los resultados con valores de soporte bajos, se pueden deber a que este método puede fallar debido a la generación de errores en el cálculo, sobre todo en conjuntos de datos que comprenden una menor cantidad de secuencias por especie.

### **7.5. Análisis de delimitación de especies - Enfoque integrativo**

El enfoque de la taxonomía integradora se fundamenta en la premisa de que la inferencia taxonómica debe basarse en la congruencia entre análisis que utilicen múltiples evidencias o propiedades secundarias de los organismos estudiados (Padial et al. 2010). Los análisis de delimitación de especies explorados en este trabajo dan resultados generalmente de acuerdo entre sí, excepto en los casos de HB y GMYC, donde HB agrupa como una especie candidata a los conglomerados JALNAY y EDOMEX, mientras que GMYC utilizando el modelo de Yule, coloca a estos dos junto con *P. furcata* en una sola especie y con el modelo Coalescente, divide en tres especies al conglomerado JALNAY y en dos a EDOMEX (Figura 16).

En el caso de las especies candidatas JALNAY y EDOMEX, dos de los cuatro métodos de delimitación molecular de especies, recuperaron todos los individuos de cada una de estas especies como pertenecientes a una especie, respectivamente. Analizando la evidencia morfológica de JALNAY y EDOMEX, los diferentes morfotipos de los “flaps” y ductos espermatecales y sobre todo la forma de la rama R1 del émbolo (Figura 12, Figura 13, Figura 11), aunado a las distancias genéticas interespecíficas encontradas entre estas dos (1.9 - 2.5%) y con *P. furcata* (1.8 - 2.2% y 2.6 - 3.0%) (Cuadro 5), llegamos al mismo resultado, separando a los conjuntos JALNAY y EDOMEX en dos especies candidatas distintas. Además, en cuanto a la distribución encontrada de estos ejemplares, todos los individuos cercanos en el árbol filogenético que están agrupados en JALNAY pertenecen a las mismas localidades de Jalisco (San Sebastián del Oeste y Ahualulco del Mercado) y

Nayarit (Jala), mientras que los ejemplares de EDOMEX (Estado de México) y *P. furcata* (Arizona) fueron obtenidos de diferentes estados (Cuadro 1).

Con respecto a JAL-ZAPOCAN solo se pudo llevar a cabo una parte del proceso de delimitación al ser respaldado únicamente por un método, el análisis morfológico, donde a pesar de contar solamente con el macho, la morfología recuperada en este ejemplar es clara y suficiente para su separación morfológica dentro del grupo *furcata* (Figura 11). Además, este ejemplar fue localizado en una localidad distinta a las anteriormente mencionadas para JALNAY en el estado de Jalisco (Cuadro 2).

Acercas del ejemplar de *P. aff. P. morelos*, tres de los cuatro métodos de delimitación molecular recuperan este como una especie separada (Figura 16). Este único espécimen hembra, se asoció como un individuo afín a *P. morelos*, sin embargo, la morfología encontrada con base en los “flaps” y conductos reproductivos epiginiales, así como a los patrones del abdomen dorsal, no es suficiente para su separación con respecto a JALNAY (Figura 12, Figura 13, Figura 14). Sin embargo, las distancias genéticas entre *P. aff. P. morelos* y JALNAY (4.7 - 5.0%) son grandes en comparación con las encontradas entre otras especies como por ejemplo, JALNAY y EDOMEX, al igual que en el resto de las especies de *Pelegrina* (Cuadro 5). En general los datos moleculares apoyan su estado independiente, con excepción de GMYC, en donde se agrupa a esta especie junto con *P. edrilana* con el modelo de Yule y no es delimitada por el modelo Coalescente (Figura 16). Por otro lado, este individuo se obtuvo en el mismo evento de colecta y localidad que algunos de los individuos de JALNAY (San Sebastián del Oeste) (Cuadro 1), y no se obtuvieron secuencias de machos que se puedan asociar a este ejemplar, contrario a lo que sucedió con JALNAY.

En cuanto a *P. furcata* solo uno de los cuatro métodos de delimitación molecular respaldan que los dos ejemplares de este grupo pertenezcan a una misma especie (Figura 16). El análisis morfológico recupera bien a ambos individuos macho y hembra como ejemplares de *P. furcata* (Figura 11, Figura 12, Figura 13 y Figura 14) (Maddison, 1996). Sin embargo, la distancia genética intraespecífica es grande (1.54%) en comparación con el resto de las especies de *Pelegrina* en este estudio, no obstante, no alcanza la distancia interespecífica mínima encontrada en este trabajo (Cuadro 5). Esta brecha entre los dos individuos aquí identificados como *P. furcata* también se ve reflejada con el método de ABGD y en los métodos de reconstrucción de árboles filogenéticos, en el caso de bPTP este es un resultado relevante debido a que no se sobreestima ningún otro grupo en el análisis (Figura 16). Al respecto de la colecta de estos ejemplares, ambos fueron colectados en Arizona en el condado de Santa Cruz (Cuadro 1). Por último, la conoespecificidad del macho y la hembra de *P. furcata* realizada por Maddison (1996), en la que nos basamos para la determinación de estos ejemplares, fue otorgada no solamente por medio de la morfología,

si no también por el estudio de su comportamiento de apareamiento y su distribución geográfica (Maddison, 1996).

Por último, con respecto a *Paraphidippus aurantius*, *P. orestes* y *P. edrilana*, estas especies son recuperadas por tres de cuatro métodos de delimitación molecular de especies (Figura 16). En el caso de estas especie se ve una fuerte subestimación de los grupos con el modelo de Yule con el método GMYC, mientras que con el modelo Coalescente, se sobreestiman las especies en estos grupos, situación que también se ve reflejada en la partición recursiva de ABGD para *P. edrilana* (Figura 16).

## 8. DISCUSIÓN

Actualmente, la taxonomía moderna utiliza como líneas de evidencia tanto datos morfológicos como moleculares analizados simultáneamente, desarrollando el término de taxonomía integradora (DeSalle et al. 2005; Goulding y Dayrat, 2016; Lipscomb et al. 2003). Este enfoque surge para resolver la necesidad de la aceleración en el conocimiento de la biodiversidad a través de herramientas para la identificación rápida de especies, sin comprometer la precisión con la que son validadas (Goulding y Dayrat, 2016; Padial et al. 2010). Recientemente, los métodos de delimitación molecular de especies han proporcionado una forma ordenada y justificada para separar especies utilizando la información genealógica específica por medio principalmente, de marcadores de códigos de barras de DNA (DeSalle et al. 2005; Hebert et al. 2003 a, b).

La taxonomía integradora se ha propuesto como marco para incorporar nuevas teorías y métodos, incluyendo datos de diferentes disciplinas que estudian el origen, los límites y la evolución de las especies, con el objetivo de mejorar el descubrimiento y la descripción de especies (Padial et al. 2010). Actualmente, muchos de los trabajos que describen especies de arañas, contemplan previamente la delimitación de especies con un enfoque integrador (Ballesteros y Hormiga, 2018; Candia-Ramirez y Francke, 2020; Hamilton et al. 2011; Hamilton et al. 2014; Hendrixson et al. 2013; Lo et al. 2021; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón y colaboradores; 2019).

En el caso de las arañas del género *Pelegrina*, generalmente los machos presentan una morfología uniforme, en donde los caracteres sexuales, los pedipalpos, permiten un diagnóstico preciso, aunque no en todas las especies de este género (Maddison, 1996). Además, en el caso de las hembras, estas presentan regularmente una amplia variación morfológica intraespecífica, lo que dificulta su identificación y delimitación (Maddison, 1996). Con base en esto, se utilizó la evidencia morfológica y diferentes métodos moleculares de delimitación en un enfoque de taxonomía integradora (Carstens et al. 2013; De Queiroz, 2007), considerando la presencia de discordancias entre los distintos métodos moleculares, como la violación de los supuestos de uno o más métodos, lo que los conduciría a fallar en su delimitación y, por lo tanto, a generar resultados erróneos (Carstens et al. 2013).

En cuanto a los caracteres morfológicos encontrados en *Pelegrina*, el émbolo de los pedipalpos en machos sigue siendo un importante carácter para la identificación de especies en este género, debido a que presenta poca variación intraespecífica (Figura 11), en comparación con los “flaps” y los conductos reproductivos en hembras (Figura 12, Figura 13), como lo menciona Maddison (1996) y como fue demostrado en este trabajo. Con base en lo anterior, las características de las ramas terminales del émbolo en machos ayudaron a

separar todas las especies de *Pelegrina* utilizadas en este trabajo (Figura 11). Respecto a las marcas de sedas presentes en el caparazón de los machos, carácter de importancia taxonómica mencionado por Maddison (1996), en este trabajo no se lograron corroborar como caracteres de importancia, debido a que no se recuperaron fotografías de todos los ejemplares vivos y, de los que sí se obtuvieron no se lograron apreciar diferencias significativas entre morfoespecies. En el caso de las solapas y ductos espermatecales en hembras, a pesar de su alta variación intraespecífica (Figura 12, Figura 13), lograron separar a JALNAY y EDOMEX del resto de las especies descritas de *Pelegrina*. En cuanto a los patrones de sedas presentes en el abdomen dorsal de hembras, sucedió lo mismo que para los “flaps” y conductos reproductivos, logrando separar la mayoría de las especies, pero con diferencias poco claras entre la mayoría de los ejemplares hembras de JALNAY, y los dos especímenes de EDOMEX, en comparación a las encontradas entre *P. furcata* y estas especies, por ejemplo, y sin encontrar diferencias morfológicas entre estas especies y *P. aff. P. morelos* (Figura 14).

Los resultados de la delimitación molecular en este trabajo fueron medianamente congruentes entre la mayoría de los análisis basados en el DNA mitocondrial CO1 y coinciden en la presencia de dos especies candidatas confirmadas, en donde, los análisis de HB y GMYC, fueron discordantes con el resto de los métodos (Figura 16).

El cálculo de las distancias genéticas no corregidas fue congruente con muchos de los trabajos que existen sobre diversidad de arañas, en donde las distancias genéticas de CO1 han tenido un buen desempeño para separar especies (Barrett y Hebert, 2005; Luong et al. 2016; Richardson y Gunter, 2012; Yamasaki et al. 2018; Yamasaki y Tanikawa, 2019). Esta congruencia se vió reflejada en la consistencia de las distancias intraespecíficas e interespecíficas encontradas entre los individuos de diferentes grupos, sin embargo, algunas de las distancias genéticas interespecíficas obtenidas fueron menores a las encontradas en otros de estos trabajos (Cuadro 5). Respecto a los resultados de HB y ABGD, nosotros inferimos que estos métodos presentan un umbral de divergencia interespecífica diferente, entendiendo que ABGD tiene un umbral de divergencia interespecífica menor al utilizado en el análisis de HB. Debido a lo cual ABGD delimita las especies candidatas JALNAY y EDOMEX, que presentan distancias genéticas interespecíficas menores en comparación con el resto de las especies, así como separa a *P. furcata* en dos grupos, los cuales muestran una distancia intraespecífica mayor con respecto al resto, mientras que con el método HB sucede exactamente lo contrario (Figura 16).

Los resultados obtenidos con ABGD coinciden con los de otros trabajos, en donde las particiones primarias son congruentes en su mayoría con el resto de los métodos moleculares y la morfología, pero las subsecuentes particiones recursivas sobreestiman el número de especies (Hamilton et al. 2014; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 202; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón, 2020; Valdez-Mondragón et al. 2019; Xu et al.



2015). Por otro lado, los resultados de HB no coinciden con los encontrados en el trabajo de Ortiz y Francke (2016), en donde utilizando el gen CO1 recuperan todas las morfoespecies con una única excepción y también separan algunos linajes morfológicamente crípticos, coincidiendo sus resultados con la mayoría de los métodos, así como con el análisis morfológico. Esta diferencia en la resolución de CO1 con respecto a otros grupos, posiblemente se debe a la reciente divergencia de JALNAY y EDOMEX o posibles patrones diferenciales de dispersión. Por lo tanto, concluimos que el método ABGD fue adecuado para atender los límites de las especies candidatas de *Pelegrina* con la región utilizada del gen CO1, en tanto que HB no lo fue.

Por otro lado, GMYC presentó una subestimación y sobreestimación de las especies, lo cual está directamente relacionado con los supuestos de los modelos Yule y Coalescente, así como con los de GMYC (Pons et al. 2006). Estos resultados difieren con los recuperados en otros trabajos en donde se obtienen los mismos resultados con ambos modelos (Hamilton et al. 2011; Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón, 2020; Valdez-Mondragón, 2020; Valdez-Mondragon et al. 2019). Asimismo, los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con otros estudios, en donde utilizando el modelo de Yule se presenta una subestimación de las especies y con el modelo Coalescente se da una sobreestimación, dividiendo los grupos de morfoespecies en más de una especie (Ortiz y Francke, 2016), o se da una sobreestimación generalizada de las especies encontradas, siendo discordantes con el resto de los métodos y con la morfología (Candia-Ramírez y Francke, 2020; Hamilton et al. 2014; Hendrixson et al. 2013; Lo et al. 2021; Tyagi et al. 2019; Xu et al. 2015).

Esta incongruencia podría deberse a que el rendimiento de GMYC se puede ver afectado por la relación entre el tamaño poblacional y los tiempos de divergencia de las especies, en donde estos resultados pueden estar mostrando una estructura poblacional más que la divergencia de especies y podemos estar observando un muestro de linaje incompleto al utilizar únicamente el gen CO1 (Luo et al. 2018). La sobreestimación del número de especies también se puede señalar como algo típico de este método, lo cual ha sido demostrado por estudios empíricos y análisis simulados con GMYC (Luo et al. 2018). No obstante, se sabe que este procedimiento tiende a dar un menor rendimiento que otros métodos cuando las distancias interespecíficas son pequeñas (Luo et al. 2018), situación que está presente entre las especies candidatas JALNAY y EDOMEX.

Por su parte, los resultados obtenidos con el método bPTP son congruentes con el resto de los análisis y con la morfología, recuperando a las especies candidatas nuevas, así como a todas las especies utilizadas en este trabajo, únicamente siendo incongruente con la morfología de *P. furcata* al igual que la mayoría de los análisis (Figura 16). Estos resultados coinciden con algunos trabajos de delimitación molecular, como el de Navarro-Rodríguez y Valdez-Mondragón (2020) y el de Valdez-Mondragón y colaboradores (2019),

en donde, los resultados de la solución de Máxima Verosimilitud y de la solución Bayesiana más alta concuerdan en la separación de especies. Asimismo, estos resultados difieren con una mayor cantidad de trabajos que han utilizado este método, en donde se obtiene una sobreestimación de las especies (Candia-Ramírez y Francke, 2020; Ortiz y Francke, 2016; Valdez-Mondragón, 2020). En consecuencia, concluimos que el método GMYC no fue adecuado para atender los límites de las especies candidatas de *Pelegrina* con la región utilizada del gen CO1, mientras que, bPTP posiblemente fue acertado para resolver estos umbrales. Sin embargo, también cabe la posibilidad de que al igual que en muchos otros trabajos, esta separación de grupos producida por bPTP sea producto de una sobreestimación por parte del método (Figura 16).

Otra situación por la que se puede estar generando una separación de especies incongruente entre los análisis aplicados, es el hecho de que métodos como GMYC y bPTP asumen que el árbol genético refleja con precisión la diversificación de las especies (Luo et al. 2018). A pesar de que la historia de un solo gen puede ser suficiente para la separación molecular de especies, en algunos casos, se sabe que el uso de un solo marcador molecular puede producir diferentes escenarios de delimitación a través de diferentes métodos, pudiendo sobreestimar o subestimar el número de linajes dependiendo de la tasa de sustitución propia del gen y de los supuestos de cada método (DeSalle et al. 2005). Aunado a esto, el gen CO1 ha presentado relaciones que difieren con los resultados de otros genes mitocondriales y nucleares, en análisis filogenéticos de la familia Salticidae (Hedin y Maddison, 2001). En este caso, a pesar de que este gen ha funcionado de manera adecuada para estudios de separación de especies utilizando distancias genéticas simples (Baba et al. 2019; Vink et al. 2011; Suguro y Yahata, 2014; Yamasaki et al. 2020), no sucede lo mismo al utilizar análisis de reconstrucción de árboles filogenéticos, y no se ha evaluado de manera explícita el comportamiento de CO1 para estudios de delimitación molecular de especies en saltícidos.

No obstante, los resultados obtenidos en este trabajo con los árboles genéticos de MV e IB, son más o menos similares con los recuperados en estudios de relaciones filogenéticas de saltícidos, en donde utilizando el gen CO1, se ha generado una señal filogenética conflictiva, siendo en ocasiones el único marcador que falla en recuperar la monofilia de algún grupo (Hedin y Maddison, 2001). En el caso del presente trabajo, la presencia de soportes de bootstrap bajos para la mayoría de los clados en los árboles filogenéticos, puede ser causado por el número de sitios variables o informativos en la región genética utilizada y/o por la presencia de homoplasia (Erixon et al. 2003). Dado que al estar tratando con especies estrechamente relacionadas y a la naturaleza de CO1, se puede estar enmascarando información mediante múltiples sustituciones en un solo sitio, como se sabe que sucede con la saturación de la tercera posición del codón (Simon et al. 1994).

En términos generales consideramos que la resolución que se tuvo con el gen CO1 fue pobre, debido a los bajos niveles de soporte en la resolución de las relaciones interespecíficas, además de que se obtuvieron particiones diferentes en general, entre los métodos de distancia y los de coalescencia (Figura 16). Con base en estos resultados y la información que se tiene al respecto del comportamiento de CO1 en la familia Salticidae, se considera conveniente obtener la muestra de más de un locus para estudios futuros de delimitación molecular de especies con saltícidos. En este caso, se recomienda utilizar además de CO1 o en su lugar, la evidencia de otro gen mitocondrial y nuclear, los genes mitocondriales pueden ser la subunidad I de la NADH deshidrogenasa (ND1) o el gen ARNr 16s, y el nuclear puede ser el codificante de la proteína relacionada con la actina 5 (ACTIN 5), algunos de los cuales se conoce han dado buenos resultados en estudios filogenéticos de la familia (Hedin y Maddison, 2001).

De acuerdo con Vieites y colaboradores (2009) se proponen tres categorías de especies candidatas, donde se consideran especies candidatas no confirmadas (CNC) a las respaldadas únicamente por datos moleculares (distancias genéticas), linajes conespecíficos profundos (LCP) a las recuperadas únicamente por datos genéticos (linajes genalógicos) y especies candidatas confirmadas (CC) a las reconocidas por dos o más fuentes independientes de evidencia. En este trabajo se proponen dos especies candidatas confirmadas y nuevas para la ciencia, JALNAY y EDOMEX (Figura 16), con base en la consistencia de los resultados obtenidos de diferentes métodos de delimitación molecular, al ser separadas por dos de los cuatro métodos moleculares, en combinación con la morfología, así como con la distribución geográfica. Asimismo, planteamos la delimitación de cuatro especies candidatas no confirmadas, JAL-ZAPOCAN nueva para la ciencia, *P. aff. P. morelos*, *P. aff. P. furcata* y *P. aff. P. furcata* (Figura 16). La primera debido a presentar únicamente evidencia morfológica, la segunda por presentar incertidumbre morfológica y como única evidencia los métodos moleculares, mientras que la tercera y la cuarta por presentar como únicas evidencias la morfología. Por último, se logran delimitar dos especies conocidas descritas *P. edrilana* y *P. orestes* (Figura 16), las cuales fueron delimitadas morfológicamente y molecularmente por tres de cuatro métodos, y su distribución fue acorde con estos resultados.

Finalmente, los resultados obtenidos aquí confirman las ventajas de utilizar un enfoque integrador, aplicando la evidencia de los códigos de barras de DNA con diferentes métodos y la morfología tradicional. Este enfoque fue favorable para nuestros datos, logrando la identificación y delimitación de especies de *Pelegrina* donde, fue de gran ayuda para dilucidar los límites de las especies, sobre todo en aquellas que presentaban una gran variación intraespecífica. Con esto, nosotros podemos concluir la existencia de dos especies nuevas JALNAY y EDOMEX debido a que: 1) se pueden distinguir morfológicamente por sus caracteres sexuales, donde por lo menos los machos pueden diferenciarse del resto de las especies de *Pelegrina*; 2) los resultados obtenidos con múltiples métodos utilizando

datos moleculares del gen CO1 fueron congruentes en su mayoría; y 3) la distribución geográfica de los ejemplares utilizados fue consistente con la separación de estas especies. Además, se sugiere la existencia de una especie nueva candidata no confirmada, JAL-ZAPOPAN, debido a que sus características morfológicas la separan del resto de las especies conocidas de *Pelegrina*.

En cuanto a los objetivos de ésta tesis, el primero involucró realizar la delimitación de especies del grupo furcata con un enfoque de taxonomía integradora; éste fue llevado a cabo utilizando los caracteres morfológicos obtenidos y los datos moleculares del gen CO1, con diferentes métodos de delimitación molecular. El segundo objetivo implicó la descripción de las especies nuevas delimitadas; de éste objetivo se realizó la revisión taxonómica del grupo, la toma de fotografías en vivo, en alcohol y de las genitalias de los ejemplares, así como se realizaron algunas medidas prelimiars de estas especies. Sin embargo, se espera concluir la descripción taxonómica de las especies nuevas para un trabajo de publicación.

## 9. CONCLUSIONES

1. La variación morfológica en los “flaps” y conductos reproductivos de las hembras de las especies de *Pelegrina* del grupo *furcata* dificulta su identificación y delimitación, por lo que la evidencia molecular junto con la morfológica dentro de un contexto de taxonomía integradora son evidencia necesaria y suficiente para la delimitación de especies.

2. La forma e inclinación de las ramas terminales de los pedipalpos en machos presentan caracteres taxonómicamente robustos para la identificación de especies de *Pelegrina*, pues presentan poca variación intraespecífica, lo que permite una diagnosis e identificación a nivel específico.

3. CO1 permitió en un menor grado la delimitación de especies de los ejemplares estudiados de *Pelegrina* en un enfoque integrador, ya que, no resolvió de manera favorable las relaciones interespecíficas de las especies y sólo fue consistente en la mitad de los métodos de delimitación molecular, por lo que sería recomendable utilizar otros genes mitocondriales como ND1 o 16s, y nucleares como ACTIN 5.

4. La taxonomía tradicional basada en evidencia morfológica, no es suficiente para la delimitación y diagnóstico de algunas de las especies de *Pelegrina*, por lo que es necesario utilizar varias pruebas al momento de analizar especies de este grupo de arañas.

5. Con esta revisión taxonómica y delimitación integradora de *Pelegrina*, se infiere que la diversidad de arañas de este género en México esta subestimada, por lo que el trabajo con morfología así como el uso de diferentes líneas de evidencia, permitirá proponer hipótesis de especies robustas y conocer la diversidad de este grupo de arañas en el país.

## 10. PERSPECTIVAS

Se debe realizar trabajo de campo adicional para recolectar el resto de las especies del grupo furcata de México (*Pelegrina bicuspidata*, *P. ochracea*), así como recuperar ejemplares de *P. furcata* del resto de su distribución, ya que esto no fue posible.

Es necesario hacer la revisión taxonómica de las especies de *Pelegrina*, no solo del grupo furcata, en todo México, ya que desde hace 25 años no se revisa el género y, hasta la fecha, no se conoce ningún trabajo de este tipo enfocado a este género, además se presumen especies nuevas potenciales para el país.

Es muy importante recolectar los ejemplares del género *Pelegrina* en toda la distribución que abarcan, para estudiar la variación morfológica y molecular de las especies que presentan una gran distribución geográfica, como es el caso de *P. furcata*. Se recomienda ampliar los muestreos hacia las Sierras y Eje neovolcánico de México donde se presentan zonas de Bosque templado y donde faltan estados por muestrear.

Se sugiere el uso de los genes ND1 y 16s, ya que la evidencia de trabajos de inferencia filogenética utilizando estos genes, establecen una mejor resolución de las relaciones a varios niveles en Salticidae, por lo que se espera planteen lo mismo para la delimitación de las arañas del género *Pelegrina*.

Es muy probable que existan especies nuevas de *Pelegrina* por descubrir en el país y es sumamente importante el entendimiento de su taxonomía para mejorar el conocimiento de la biodiversidad de arañas en México.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-Padilla, F., y Hormiga, G., 2007. A protocol for digesting internal soft tissues and mounting spiders for scanning electron microscopy. *The Journal of Arachnology*, 35(3), 538-542.
- Andriamalala, D., 2007. *Revision of the Genus Padilla Peckham and Peckham, 1894 (Araneae: Salticidae): Convergent Evolution of Secondary Sexual Characters Due to Sexual Selection, and Rates of Molecular Evolution in Jumping Spiders* (Vol. 58, No. 13). California Academy of Sciences.
- Arnedo, M. A., y Gillespie, R. G., 2006. Species diversification patterns in the Polynesian jumping spider genus *Havaika* Prószyński, 2001 (Araneae, Salticidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 41(2), 472-495.
- Ashfaq, M., Blagoev, G., Tahir, H. M., Khan, A. M., Mukhtar, M. K., Akhtar, S. y Hebert, P. D., 2019. Assembling a DNA barcode reference library for the spiders (Arachnida: Araneae) of Pakistan. *PloS one*, 14(5), e0217086.
- Ashraaf, S., Tahir, H. M., y Naseem, S., 2020. Assessing the Diversity of Cursorial Spiders using DNA Barcoding. *Pakistan Journal of Zoology*, 53(1).
- Baba, Y. G., Yamasaki, T., y Tanikawa, A., 2019. A new species of *Siler* (Araneae: Salticidae) from Japan. *Arachnology*, 18(3), 253-257.
- Ballesteros, J. A., y Hormiga, G., 2018. Species delimitation of the North American orchard-spider *Leucauge venusta* (Walckenaer, 1841) (Araneae, Tetragnathidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 121, 183-197.
- Barrett, RD., y Hebert, PD., 2005. Identifying spiders through DNA barcodes. *Canadian Journal Zoology*, 83, 481-491.
- Baum, D. A., y Donoghue, M. J., 1995. Choosing among alternative" phylogenetic" species concepts. *Systematic botany*, 560-573.
- Baum, D. A., y Smith, S. D., 2012. Tree thinking: an introduction to phylogenetic biology. In *Tree thinking: An introduction to phylogenetic biology* (pp. 476-476).
- Blackwall, J. 1841. XLII. The Difference in the Number of Eyes with which Spiders are provided proposed as the Basis of their Distribution into Tribes; with Descriptions of newly discovered Species, and the Characters of a new Family and three new Genera of Spiders. *Transactions of the Linnean Society of London*, (4), 601-670.

- Bodner, G. S., 2002. Biodiversity assessment and systematics of neotropical jumping spiders (Araneae: Salticidae). The University of Arizona. Tesis doctoral. Arizona, Estados Unidos. 409 p.
- Bodner, M. R., y Maddison, W. P., 2012. The biogeography and age of salticid spider radiations (Araneae: Salticidae). *Molecular Phylogenetics and evolution*, 6(1), 213-240.
- Bradley, R. A., 2012. *Common Spiders of North America*. Univ of California Press.
- Brescovit, A. D., Francke, O., Laborda, Á., Parra, G. M., Scioscia, C., Simó, M., y Núñez, C. V., 2017. Neotropical Arachnological Collections: Basic Tools for the Development of Spider Research. In *Behaviour and Ecology of Spiders*. Montevideo, Uruguay: Springer. pp. 55-84.
- Brooks, D. R., y McLennan, D. A., 1999. Species: turning a conundrum into a research program. *Journal of Nematology*, 31(2), 117.
- Caleb, J. T., Chatterjee, S., Tyagi, K., Kundu, S., y Kumar, V., 2017. Two new jumping spiders of the genera *Epicilla* Thorell, 1887 and *Mogrus* Simon, 1882 from India (Araneae: Salticidae). *Arthropoda Selecta*, 26(4), 329-334.
- Candia-Ramírez, D. T., y Francke, O. F., 2020. Another stripe on the tiger makes no difference? Unexpected diversity in the widespread tiger tarantula *Davus pentaloris* (Araneae: Theraphosidae: Theraphosinae). *Zoological Journal of the Linnean Society*.
- Carstens, B. C., Pelletier, T. A., Reid, N. M., y Satler, J. D., 2013. How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology* 22, 4369–4383.
- Ceccarelli, F. S., Sharkey, M. J., y Zaldívar-Riverón, A., 2012. Species identification in the taxonomically neglected, highly diverse, neotropical parasitoid wasp genus *Notiospathius* (Braconidae: Doryctinae) based on an integrative molecular and morphological approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 485-495.
- Chamberlin, R. V., 1925. New North American spiders. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 14(4), 105-142.
- Correa S., A., J. V. Horta V., J. García J. y L. Barrientos L. (Eds.), 2014. Biodiversidad Tamaulipeca Vol. 2, Núm. 2. Tecnológico Nacional de México - Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. 276 pp.
- Cracraft, J., 2000. Species concepts in theoretical and applied biology: a systematic debate with consequences.



- Cushing, P. E., 2005 Introduction. In: Ubick, D., P. Paquin, P. E. Cushing and V. Roth (Eds.), *Spiders of North America: an identification manual*. American Arachnological Society, Keene (New Hampshire), U.S.A. 376p.
- Davis, J. I., 1996. Phylogenetics, molecular variation, and species concepts. *Bioscience*, 46(7), 502-511.
- De Queiroz, K., 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic biology*, 56(6), 879-886.
- Desales-Lara, M. A., 2014. Araneofauna (Arachnida: Araneae) del Estado de México, México. *Acta zoológica mexicana*, 30(2), 298-320.
- DeSalle, R., Egan, M. G., y Siddall, M., 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical transactions of the royal society B: Biological sciences*, 360(1462), 1905-1916.
- DeSalle, R., 2006. Species discovery versus species identification in DNA barcoding efforts: response to Rubinoff. *Conservation Biology*, 20(5), 1545-1547.
- Dondale, C. D., 1961. Life histories of some common spiders from trees and shrubs in Nova Scotia. *Canadian Journal of Zoology*, 39(6), 777-787.
- Drummond, A. J., y Rambaut, A., 2007. "BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees." *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 1-8.
- Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J., y Rambaut, A., 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS biology*, 4(5), e88.
- Eberle, J., Bazzato, E., Fabrizi, S., Rossini, M., Colomba, M., Cillo, D., Uliana, M., Sparacio, I., Sabatinelli, G., Warnock, R. C. M., Carpaneto, G., y Ahrens, D., 2019. Sex-biased dispersal obscures species boundaries in integrative species delimitation approaches. *Systematic Biology*, 68, 441-459.
- Fernandez, R., Kallal, R. J., Dimitrov, D., Ballesteros, J. A., Arnedo, M. A., Giribet, G., y Hormiga, G., 2018. Phylogenomics, diversification dynamics, and comparative transcriptomics across the spider tree of life. *Current Biology*, 28(9), 1489-1497.
- Foelix, R. F., 2011. *Biology of Spiders*. Harvard University. Press, Cambridge, Massachusetts.
- Francke, O. F., 2014. Biodiversidad de Arthropoda (Chelicerata: Arachnida ex Acari) en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 408-418.

- Franganillo, P. B., 1930. Arácnidos de Cuba. Más arácnidos nuevos de la Isla de Cuba. *Memorias del Instituto Nacional de Investigaciones Científicas y Museo de Historia Natural*, 1, 47-97.
- Fujisawa, T., y Barraclough, T. G., 2013. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed yule coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, 62, 707–724.
- García-Villafuerte, M. Á., 2009. La araneofauna (Araneae) reciente y fósil de Chiapas, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80(3), 633-646.
- García-Villafuerte, M. Á., 2018. Primer registro fósil de un lapsino (Araneae, Salticidae) en el ámbar de Chiapas, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 70(3), 689-708.
- Garrison, N. L., Rodríguez, J., Agnarsson, I., Coddington, J. A., Griswold, C. E., Hamilton, C. A., y Bond, J. E., 2016. Spider phylogenomics: untangling the Spider Tree of Life. *PeerJ*, 4, e1719.
- Goldstein, P. Z., y DeSalle, R., 2000. Phylogenetic species, nested hierarchies, and character fixation. *Cladistics*, 16(4), 364-384.
- Griswold, C. E., 1979. New species of Pellenes from California (Araneae: Salticidae). *Journal of Arachnology*, 129-138
- Guerrero-Fuentes, D. R., y Francke, O. F., 2019. Taxonomic revision of Anicius Chamberlin, 1925 (Araneae: Salticidae), with five new species of jumping spiders from Mexico. *Zootaxa*, 4638(4), 485-506.
- Hamilton, C. A., Hendrixson, B. E., Brewer, M. S., y Bond, J. E., 2014. An evaluation of sampling effects on multiple DNA barcoding methods leads to an integrative approach for delimiting species: a case study of the North American tarantula genus *Aphonopelma* (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 71, 79-93.
- Hamilton, C. A., Formanowicz, D. R., y Bond, J. E., 2011. Species delimitation and phylogeography of *Aphonopelma hentzi* (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae): cryptic diversity in North American tarantulas. *PloS one*, 6(10), e26207.
- Hasegawa, M., Kishino, H., y Yano, T. A., 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of molecular evolution*, 22(2), 160-174.

- Hasegawa, M., Yano, T. A., y Kishino, H., 1984. A new molecular clock of mitochondrial DNA and the evolution of Hominoids. *Proceedings of the Japan Academy, series B*, 60(4), 95-98.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L., y Dewaard, J. R., 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., y De Waard, J. R., 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl\_1), S96-S99.
- Hebert, P. D., y Gregory, T. R., 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic biology*, 54(5), 852-859.
- Hedin, M. C., y Maddison, W. P., 2001. A combined molecular approach to phylogeny of the jumping spider subfamily Dendryphantinae (Araneae: Salticidae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 18(3), 386-403.
- Hendrixson, B. E., DeRussy, B. M., Hamilton, C. A., y Bond, J. E., 2013. An exploration of species boundaries in turret-building tarantulas of the Mojave Desert (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae, Aphonopelma). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66(1), 327-340.
- Hennig, W., 1966. *Phylogenetic Systematics*. Urbana, IL: University of Illinois Press. 263 p.
- Hill, D., y Edwards, G. B., 2013. Origins of the North American jumping spiders (Araneae: Salticidae). *Peckhamia*, 107.1, 1-67.
- Hoffmann, A., 1976. *Relación bibliográfica preliminar de las arañas de México (Arachnida: Araneae)*. Publicaciones especiales No. 3. Instituto de Biología. UNAM. México. 117p.
- Horner, N. V., y Starks, K. J., 1972. Bionomics of the jumping spider *Metaphidippus galathea*. *Annals of the Entomological Society of America*, 65(3), 602-607.
- Huber, B.A., 2003. Rapid evolution and species-specificity of arthropod genitalia: fact or artifact?. *Organisms Diversity and Evolution*, 3(1), 63-71.
- Jiménez, M. L., 1996. Araneae (p. 83-101). En: Llorente, J. A. García y E. González (Editores). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México Tomo 2 Hacia una síntesis de su conocimiento*. UNAM. México. 660p.

- Jiménez-Jiménez, M. L., 1989. Las arañas Araneomorphae de San Francisco Oxtotilpan Estado de México (Doctoral dissertation, Tesis, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México).
- Johannesen, J., Wennmann, J. T., y Lubin, Y., 2012. Dispersal behaviour and colony structure in a colonial spider. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66(10), 1387-1398.
- Jung, A. K., y Roth, V. D., 1974. Spiders of the Chiricahua Mountain Area; Cochise Co., Arizona. *Journal of the Arizona Academy of Science*, 9(1), 29-34.
- Kaston, B. J., 1973. Four new species of *Metaphidippus*, with notes on related jumping spiders (Araneae: Salticidae) from the eastern and central United States. *Transactions of the American Microscopical Society*, 106-122
- Katoh, K., Standley, D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4), 772-780.
- Kingman, J. F. C., 1982. The coalescent. *Stochastic Processes and their Applications*, 13(3), 235-248.
- Kronstedt, T., y Logunov, D. V., 2003. Separation of two species standing as *Sitticus zimmermanni* (Simon, 1877) (Araneae, Salticidae), a pair of altitudinally. *Revue suisse de Zoologie*, 110(4), 855-873.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., y Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y. W., Guindon, S., 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29(6), 1695-1701.
- Lipscomb, D., Platnick, N., y Wheeler, Q., 2003. The intellectual content of taxonomy: a comment on DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, 2(18), 65-66.
- López-Villegas, V. M. S., Castelo-Calvillo, J. L., y Víctor-Rosas, L. J., 2012. Listado faunístico de arañas de la familia Salticidae (Aracnida: Araneae) del Distrito Federal, México. *Entomología Mexicana*, 11, 59-62.
- Lo, Y. Y., Cheng, R. C., y Lin, C. P., 2021. Species delimitation and taxonomic revision of *Oxyopes* (Araneae: Oxyopidae) of Taiwan, with description of two new species. *Zootaxa*, 4927(1), 58-86.

- Luo, A., Ling, C., Ho, S. Y., y Zhu, C. D., 2018. Comparison of methods for molecular species delimitation across a range of speciation scenarios. *Systematic Biology*, 67(5), 830-846.
- Luong, P. T. H., Yamasaki, T., y Eguchi, K., 2016. Conspecificity of *Phintella aequipeiformis* Zabka, 1985 and *P. lucai* Zabka, 1985 (Araneae: Salticidae) confirmed by DNA barcoding. *Revue suisse de Zoologie*, 123(2), 283-290.
- Maddison, W. P., Bodner, M. R. y Needham, K. M., 2008. Salticid spider phylogeny revisited, with the discovery of a large Australasian clade (Araneae: Salticidae). *Zootaxa*, 1893, 49-64.
- Maddison, W. P., Evans, S. C., Hamilton, C. A., Bond, J. E., Lemmon, A. R., y Lemmon, E. M., 2017. A genome-wide phylogeny of jumping spiders (Araneae, Salticidae), using anchored hybrid enrichment. *ZooKeys*, (695), 89.
- Maddison, W. P., Li, D., Bodner, M., Zhang, J., Xu, X., Liu, Q., y Liu, F., 2014. The deep phylogeny of jumping spiders (Araneae, Salticidae). *ZooKeys*, (440), 57.
- Maddison, W. P., Maddison, D. R., Zhang, J., y Szűts, T., 2016. Phylogenetic placement of the unusual jumping spider *Depreissia* Lessert, and a new synapomorphy uniting Hisponinae and Salticinae (Araneae, Salticidae). *ZooKeys*, (549), 1.
- Maddison, W. P., Maddison, D. R., Derkarabetian, S., y Hedin, M., 2020. Sitticine jumping spiders: phylogeny, classification, and chromosomes (Araneae, Salticidae, Sitticini). *ZooKeys*, 925, 1.
- Maddison, W. P., y Hedin, M., 2003a. Jumping spider phylogeny (Araneae: Salticidae). *Invertebrate systematics*, 17(4), 529-549.
- Maddison, W. P., y Hedin, M., 2003b. Phylogeny of *Habronattus* jumping spiders (Araneae: Salticidae), with consideration of genital and courtship evolution. *Systematic Entomology*, 28(1), 1-22.
- Maddison, W. P., y Maddison, D. R., 2019. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.61.
- Maddison, W. P., y Needham, K. M., 2006. Lapsiines and hisponines as phylogenetically basal salticid spiders (Araneae: Salticidae). *Zootaxa*, 1255(1), 37-55.
- Maddison, W. P., 1996. *Pelegrina* Franganillo and other jumping spiders formerly placed in the genus *Metaphidippus* (Araneae: Salticidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 154 (4).
- Maddison, W. P., 2015. A phylogenetic classification of jumping spiders (Araneae: Salticidae). *Journal of Arachnology*, 231-292.

- Marusik, Y., Fomichev, A., y Vahtera, V., 2018. A new species of *Chalcoscirtus* (Araneae: Salticidae) from Altai, South Siberia, Russia. *Entomologica Fennica*, 29(1), 39-48.
- Masta, S. E., 2000. Phylogeography of the jumping spider *Habronattus pugillis* (Araneae: Salticidae): recent vicariance of sky island populations?. *Evolution*, 54(5), 1699-1711.
- Medina-Soriano, F. J., 2002. Las arañas y su distribución temporal en un bosque de San Martín Cachihuapan, Municipio de Villa del Carbón, Estado de México (Doctoral dissertation, Tesis, Facultad de Estudios Superiores, Campus Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México).
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., y Schwartz, T., 2010. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 - 8.
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., von Haeseler, A., y Lanfear, R., 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular Biology and Evolution*, 37(5), 1530-1534.
- Monaghan, M. T., Wild, R., Elliot, M., Fujisawa, T., Balke, M., Inward, D. J., ... y Vogler, A. P., 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic biology*, 58(3), 298-311.
- Naseem, S., y Tahir, H. M., 2016. Use of mitochondrial COI gene for the identification of family Salticidae and Lycosidae of spiders. *Mitochondrial DNA Part A*, 29(1), 96-101.
- Navarro-Rodríguez, C. I., y Valdez-Mondragón, A., 2020. Description of a new species of *Loxosceles* Heineken and Lowe (Araneae, Sicariidae) recluse spiders from Hidalgo, Mexico, under integrative taxonomy: morphological and DNA barcoding data (COI+ ITS2). *European Journal of Taxonomy*, (704).
- Ortiz, D., y Francke, O. F., 2016. Two DNA barcodes and morphology for multi-method species delimitation in Bonnetina tarantulas (Araneae: Theraphosidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 101, 176-193.
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences, M., 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7, 1-14.
- Pante, E., Schoelinck, C., y Puillandre, N., 2015. From integrative taxonomy to species description: one step beyond. *Systematic Biology*, 64(1), 152-160.
- Peckham, G. W., y Peckham, E. G., 1901. *Spiders of the Phidippus group of the family Attidae*. Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters.

- Peckham, G. W. y Peckham, E. G., 1909. Revision of the Attidae of North America. *Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts and Letters* 16(1): 355-655.
- Penney, D., 2010. The evolution of jumping spiders (Araneae: Salticidae): the palaeontological evidence. *Peckhamia*, 81(1), 1-3.
- Petrunkévitch, A., 1911. *A synonymic index-catalogue of spiders of North, Central and South America with all adjacent islands, Greenland, Bermuda, West Indies, Terra del Fuego, Galapagos, etc.* Bulletin of the American Museum of Natural History, 29, 1-791.
- Pickard-Cambridge, F. O., 1901. Arachnida - Araneida and Opiliones. In: *Biologia Centrali-Americana, Zoology*. London 2, 193-312.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D. P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W. D., y Vogler, A. P., 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55, 595–609.
- Prendini, L., 2005. Comment on" Identifying spiders through DNA barcodes". *Canadian Journal of Zoology*, 83(3), 498-504.
- Prószyński, J., 1971. Catalogue of Salticidae (Aranei) specimens kept in major collections of the world. *Annales Zoologici, Warszawa*, 28, 367-519.
- Prószyński, J., 2016. Delimitation and description of 19 new genera, a subgenus and a species of Salticidae (Araneae) of the world. *Ecologica Montenegrina*, 7, 4-32.
- Prószyński, J., 2016. Monograph of Salticidae (Araneae) of the world 1995–2015. Part II. Global Species Database of Salticidae (Araneae). *Version May*, 5, 2016.
- Prószyński, J., Noordam, A., Oger, P., y Schäfer, M., 2018. Delimitation of Mediterranean genus *Iberattus* gen. n., with comments on genus *Saitis* (Araneae: Salticidae). *Ecologica Montenegrina*, 18, 82-98.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., y Achaz, G., 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21(8), 1864-1877.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., y Suchard, M. A., 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, syy032.
- Rambaut, A., 2010. FigTree. Version 1.3.1. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (accessed 20 January 2020).

- Ramírez, M. J., 2014. The morphology and phylogeny of dionychan spiders (Araneae: Araneomorphae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 2014(390), 1-374.
- Rannala, B., y Yang, Z. 2020. Species delimitation. Self published.
- Richardson, B. J., y Gunter, N. L., 2012. Revision of Australian jumping spider genus *Servaea* Simon 1887 (Araneae: Salticidae) including use of DNA sequence data and predicted distributions. *Zootaxa*, 3350(1), 1-33.
- Richman, D. B., Cutler, B., y Hill, D. E., 2012. Salticidae of North America, including Mexico. *Peckhamia*, 95(3), 1-88.
- Richman, D. B., y Cutler, B., 1988. A list of the jumping spiders of México. *Peckhamia*, 2(5), 63-88.
- Ronquist, F., y Huelsenbeck, J. P., 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12),1572-1574.
- Rosenberg, N. A., y Nordborg, M., 2002. Genealogical trees, coalescent theory and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 3(5), 380-390.
- Ruiz, G. R., Maddison, W. P., y Galiano, M. E., 2019. A revision of the concept of *Mago* O. Pickard-Cambridge, 1882, and proposal of a new genus (Araneae: Salticidae: Amycini). *Zootaxa*, 4658(1), Zootaxa-4658.
- Ruiz, G. R., y Maddison, W. P., 2015. The new Andean jumping spider genus *Uruguayu* and its placement within a revised classification of the Amycoidea (Araneae: Salticidae). *Zootaxa*, 4040(3), 251-279.
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., y Lane, R., 2005. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811.
- Sequencher® version 4.1.4 DNA sequence analysis software, Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI USA.
- Shorthouse, D. P., 2010. SimpleMappr, an online tool to produce publication-quality point maps. [Retrieved from <https://www.simplemappr.net>].
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., y Flook, P., 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the entomological Society of America*, 87(6), 651-701.



- Sites, Jr. J. W., y Marshall, J. C., 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(9), 462-470.
- Sites, Jr. J. W., y Marshall, J. C., 2004. Operational criteria for delimiting species. *Annual. Revision Ecology and Evolution Systematics*, 35, 199-227.
- Smith, M. A., Fisher, B. L., Hebert, P. D. N., 2005. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 360, 1825–1834.
- Stockman, A. K., y Bond, J. E., 2007. Delimiting cohesion species: extreme population structuring and the role of ecological interchangeability. *Molecular Ecology*, 16, 3374–3392.
- Suguro, T., y Yahata, K., 2014. Taxonomic notes on Japanese species of the genera *Pseudicius* and *Tasa* (Araneae: Salticidae). *Acta Arachnologica*, 63(2), 87-97.
- Su, K. F., Meier, R., Jackson, R. R., Harland, D. P., y Li, D., 2007. Convergent evolution of eye ultrastructure and divergent evolution of vision-mediated predatory behaviour in jumping spiders. *Journal of evolutionary biology*, 20(4), 1478-1489.
- Tavaré, S., 1986. Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on mathematics in the life sciences*, 17(2), 57-86.
- The GIMP Development Team. 2019. GIMP.
- Tyagi, K., Kumar, V., Kundu, S., Pakrashi, A., Prasad, P., Caleb, J. T., y Chandra, K. 2019. Identification of Indian spiders through DNA barcoding: cryptic species and species complex. *Scientific reports*, 9(1), 1-13.
- Valdez-Mondragón, A., Navarro-Rodríguez, C. I., Solís-Catalán, K. P., Cortez-Roldán, M. R., y Juárez-Sánchez, A. R., 2019. Under an integrative taxonomic approach: the description of a new species of the genus *Loxosceles* (Araneae, Sicariidae) from Mexico City. *ZooKeys*, 892, 93.
- Valdez-Mondragon, A., 2020. COI mtDNA barcoding and morphology for species delimitation in the spider genus *Ixchela* Huber (Araneae: Pholcidae), with the description of two new species from Mexico. *Zootaxa*, 4747(1), 054-076.
- Vieites, D. R., Wollenberg, K. C., Andreone, F., Köhler, J., Glaw, F., y Vences, M., 2009. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian territory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 8267–8272.

- Vink, C. J., Dupérré, N., y McQuillan, B. N., 2011. The black-headed jumping spider, *Trite planiceps* Simon, 1899 (Araneae: Salticidae): redescription including cytochrome c oxidase subunit 1 and paralogous 28S sequences. *New Zealand Journal of Zoology*, 38(4), 317-331.
- Wanless, F. R., 1984. Review of the spider subfamily Spartaeinae nom. N. (Araneae: Salticidae) with descriptions of six new genera. *Bulletin of the British Museum, Natural History. Zoology*, 46(2), 135-205.
- Weitschat, W., y Wichard, W., 2002. Atlas of plants and animals in Baltic amber: München, Pfeil, 256 p.
- Wheeler, W. C., Coddington, J. A., Crowley, L. M., Dimitrov, D., Goloboff, P. A., Griswold, C. E., y Almeida-Silva, L., 2017. The spider tree of life: phylogeny of Araneae based on target-gene analyses from an extensive taxon sampling. *Cladistics*, 33(6), 574-616.
- Wheeler, Q. D., y Meier, R. (Eds.), 2000. *Species concepts and phylogenetic theory: a debate*. Columbia University Press.
- World Spider Catalog. 2021. World Spider Catalog. Version 22.0. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, accessed on {date of access}.
- Xu, X., Liu, F., Chen, J., Li, D., y Kuntner, M., 2015. Integrative taxonomy of the primitively segmented spider genus *Ganthela* (Araneae: Mesothelae: Liphistiidae): DNA barcoding gap agrees with morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 175(2), 288-306.
- Yamasaki, T., Hashimoto, Y., Endo, T., Hyodo, F., Itioka, T., y Meleng, P., 2018a. New species of the ant-mimicking genus *Myrmarachne* MacLeay, 1839 (Araneae: Salticidae) from Sarawak, Borneo. *Zootaxa*, 4521(3), 335-356.
- Yamasaki, T., Hashimoto, Y., Endo, T., Hyodo, F., Takao, I., y Meleng, P., 2020. A new species of the genus *Agorius* (Araneae: Salticidae) from Sarawak, Borneo. *Acta Arachnologica*, 69(1), 37-41.
- Yamasaki, T., Yamaguchi, M., Phung, L. T. H., Pao-Shen, H., y Tso, I. M., 2018b. Redescription of *Chrysilla lauta* Thorell 1887 (Araneae: Salticidae) based on the comparison with the holotype, and DNA barcoding. *Acta Arachnologica*, 67(1), 23-29.
- Yule, G. U., 1925. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr J. C. Willis, F. R. S. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 213, 21-87.
- Zhang, J. X., Kapli, P., Pavlidis, P., y Stamatakis, A., 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29, 2869-2876

- Zhang, J. X. y Maddison, W. P., 2013. Molecular phylogeny, divergence times and biogeography of spiders of the subfamily Euophryinae (Araneae: Salticidae). *Molecular Phylogenetics y Evolution*, 68, 81–92.
- Zhang, J. X., y Maddison, W. P., 2014. Tisaniba, a new genus of marpissoid jumping spiders from Borneo (Araneae: Salticidae). *Zootaxa*, 3852(2), 252-272.
- Zhang, J. X., y Maddison, W. P., 2015. Genera of euophryine jumping spiders (Araneae: Salticidae), with a combined molecular-morphological phylogeny. *Zootaxa*, 3938, 1-147.