



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

Patrón de distribución de las especies de la familia  
Trichodactylidae (Crustacea: Decapoda: Brachyura)  
en México

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

JUAN CARLOS OJEDA ESCOTO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA

COMITÉ TUTOR: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI

DR. JAVIER ALCOCER DURAND

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**

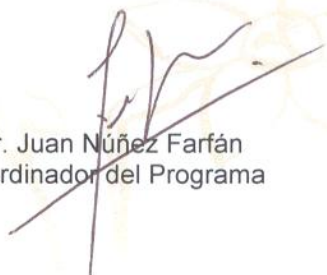
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de junio de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del alumno **OJEDA ESCOTO JUAN CARLOS** con número de cuenta **96260900** con la tesis titulada "**Patrón de distribución de las especies de la familia Trichodactylidae en México**", realizada bajo la dirección del **DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA**:

Presidente: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI  
Vocal: DR. FRANCISCO JAVIER VEGA VERA  
Secretario: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA  
Suplente: DR. JORGE CIROS PÉREZ  
Suplente: DR. JAVIER ALCOECER DURAND

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 21 de septiembre de 2010.

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, el haberme permitido realizar mis estudios de posgrado, cuya culminación es el presente trabajo de tesis.

Agradezco además al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología el otorgamiento de la beca, sin la cual no hubiera sido posible financiar mis estudios de posgrado.

Agradezco a los miembros de mi comité tutorial, cuyos consejos, correcciones y enseñanzas fueron guiándome a lo largo de este proyecto:

Dr. Fernando Álvarez Noguera

Dr. Juan José Morrone Lupi

Dr. Javier Alcocer Durand

A los miembros del jurado revisor del trabajo de tesis, constituido por los miembros de mi comité tutorial, el Dr. Francisco Vega Vera y el Dr. Jorge Ciro Pérez, cuyas correcciones y sugerencias mejoraron indudablemente la calidad de este escrito.

A la Colección Nacional de Crustáceos del Instituto de Biología de la UNAM por el apoyo brindado en infraestructura y principalmente, por la calidez y atenciones de las personas que ahí laboran.

Agradezco y brindo un reconocimiento a todos aquellos que con su apoyo, ayuda y comprensión participaron de forma directa e indirecta en la realización de este trabajo, prometiendo seguir siempre adelante.

## **DEDICATORIAS**

### **Lilia**

Sin ti, esto no hubiera sido posible.

Gracias por permitirme compartir contigo esta gran aventura que es la vida.

Te Amo

### **A mi familia**

A mis padres, hermanos y sobrinos,

a todas las personas que no llevan mi sangre

pero que estimo y considero como parte de mi familia,

gracias por confiar en mi.

### **Por Ti, Universidad**

*Por el placer de conocer*

*Al deseo insaciable (incansable) que despierta en mí, llegar a la verdad...*

*A la búsqueda del conocimiento, como una razón de ser...*

*A la Ciencia como una inspiración fundamental...*

*A la Investigación Científica, como parte de mí...*

*Por el placer, de saber*

## ÍNDICE

Resumen .....	V
Abstract .....	VI
Introducción .....	1
La familia Trichodactylidae .....	1
Origen .....	1
Distribución .....	2
Cangrejos tricodactílicos en México .....	3
Clasificación y situación actual de la familia .....	3
Filogenia de la familia Trichodactylidae .....	5
Técnicas moleculares .....	7
Genes mitocondriales .....	7
Gen mitocondrial COI .....	8
Gen mitocondrial 16S ARNr .....	8
Límite de especies .....	9
Antecedentes .....	10
Estudios ecológicos y biológicos de cangrejos tricodactílicos .....	10
Estudios a nivel molecular de cangrejos tricodactílicos .....	10
Sistemática molecular .....	11
Uso de marcadores moleculares en crustáceos .....	11
Justificación .....	13
Objetivos .....	13
Área de estudio .....	14
Sur de México .....	14
Chiapas .....	14
Oaxaca .....	15

Tabasco .....	15
Veracruz .....	16
Cuencas hidrológicas .....	16
Partes de una cuenca .....	16
Tipos de cuencas .....	17
Distribución basada en cuencas hidrológicas .....	17
Cuenca laguna de Sontecomapan .....	19
Cuenca lago de Catemaco .....	19
Cuenca del río Papaloapan .....	19
Cuenca del río Coatzacoalcos .....	19
Cuenca del río Tonalá .....	20
Cuenca del río Grijalva .....	20
Material y Método .....	22
Parámetros físico-químicos .....	22
Trabajo de campo .....	22
Trabajo de laboratorio .....	22
Resultados .....	27
Distribución .....	27
Distribución basada en cuencas hidrológicas .....	28
Variación morfológica .....	33
Variación genética .....	41
Discusión .....	47
Abundancia .....	47
Distribución .....	48
Distribución basada en cuencas hidrológicas .....	49
Variación morfológica .....	51
Variación genética .....	55



Tiempo de divergencia .....	56
Conclusiones .....	59
Recomendaciones .....	59
Apéndice 1. Clasificación de la familia Trichodactylidae propuesta por Rodríguez, 1992 .....	60
Apéndice 2. Clasificación de la familia Trichodactylidae tomada del <i>Systema Brachiurorum</i> Part I .....	61
Literatura Citada .....	64

### Índice de Tablas

Tabla 1. Programa utilizado en la PCR para la amplificación de ADN. ....	24
Tabla 2. Programa utilizado en la reacción de secuencias. ....	25
Tabla 3. Programa utilizado en la PCR para la amplificación de ADN, gen 16S ARNr. ....	26
Tabla 4. Intervalo de condiciones físico-químicas. ....	27
Tabla 5. Cuerpos de agua donde se han recolectado cangrejos tricodactílidos y las cuencas hidrológicas a las que pertenecen. ....	32
Tabla 6. Localidades y sus respectivas cuencas a las que pertenecen las muestras de gonópodos de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> . ....	38
Tabla 7. Poblaciones de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> y <i>A. oaxensis</i> analizadas molecularmente .....	42
Tabla 8. Matriz de distancia genética entre secuencias del gen COI .....	44
Tabla 9. Matriz de distancia genética entre secuencias del gen 16S ARNr .....	46

### Índice de Figuras

Figura 1. Distribución de la subfamilia Trichodactylinae. ....	2
Figura 2. A, cladograma original presentado por Rodríguez (1992); B, cladograma de consenso obtenido por Morrone y Lopretto (1996). ....	6
Figura 3. Cladograma de consenso obtenido por von Sternberg (1997). ....	6
Figura 4. Estructura del genoma mitocondrial de <i>Artemia franciscana</i> . ....	9

Figura 5. Estados del sur de México donde se distribuyen cangrejos tricodactílicos. ....	14
Figura 6. Cuencas hidrológicas reconocidas por CONABIO. ....	18
Figura 7. Mapa de distribución de las especies de la familia Trichodactylidae en México. ...	29
Figura 8. Cuencas hidrológicas y distribución de cangrejos tricodactílicos. ....	30
Figura 9. Caparazones de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> de diferentes cuencas hidrológicas. ....	35
Figura 10. A, tercer maxilípodo; B, vista ventral de dos hembras de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> . ....	36
Figura 11. Caparazón y abdomen de las tres especies del género <i>Avotrichodactylus</i> . ....	37
Figura 12. Individuo holotipo de <i>Rodriguezia villalobosi</i> depositado en la CNCR. ....	37
Figura 13. Gonópodos de las tres especies del género <i>Avotrichodactylus</i> . ....	38
Figura 14. Gonópodos de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> de las diferentes cuencas que habitan. ....	39
Figura 15. Gonópodos de individuos de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> de diferentes poblaciones. ....	40
Figura 16. Gonópodos de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> de las diferentes cuencas que habitan. ....	41
Figura 17. Secuencias alineadas en BioEdit del gen COI de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> y <i>A. oaxensis</i> . ....	43
Figura 18. Secuencias alineadas en BioEdit del gen 16S ARNr, de <i>Avotrichodactylus constrictus</i> y <i>A.oaxensis</i> . ....	43
Figura 19. Árbol de distancia (Neighbor Joining) del gen COI con soporte de ramas de bootstrap en la parte superior. ....	45
Figura 20. Árbol de distancia (Neighbor Joining) del gen 16S ARNr con soporte de ramas de bootstrap en la parte superior. ....	46

## RESUMEN

Los cangrejos de agua dulce son comunes a lo largo de su área de distribución y representan un componente importante de los ecosistemas dulceacuícolas. La familia Trichodactylidae está formada por alrededor de 51 especies con individuos de tallas pequeñas y medianas que son exclusivamente de agua dulce, omnívoros y de hábitos nocturnos, que permanen ocultos durante el día. Se distribuye en ríos y lagos de las planicies costeras desde el sur de México en los estados de Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Veracruz, hasta las grandes cuencas de Sudamérica al este de los Andes. La mayor parte de las especies se distribuyen en Sudamérica, con excepción de las mexicanas y una población aislada en Nicaragua.

Existen cinco especies descritas para México: *Avotrichodactylus constrictus*, *A. oaxensis*, *A. bidens*, *Rodriguezia villalobosi* y *R. mensabak*. Por ser especies con desarrollo directo, sus áreas de distribución pueden ser muy reducidas: una sección de un río, una porción de orilla de un lago, una cueva, una cañada, etc. Una excepción de este patrón es el área de distribución que presenta *A. constrictus*.

El objetivo de este estudio fue el de analizar los patrones de distribución de los cangrejos tricodactílidos en el sur de México, para lo que se realizó una búsqueda de los registros de diferentes colecciones de crustáceos, tanto nacionales como internacionales, con los cuales se logró diseñar un mapa de distribución. Las dos especies del género *Rodriguezia* sólo se localizan en el estado de Chiapas. Se observa que *A. constrictus* presenta una amplia distribución en las grandes cuencas del sur del país, a diferencia de las otras especies del género que tienen una distribución mas restringida. Debido a ésto se analizaron diferentes caracteres morfológicos encontrándose dos formas básicas, sin embargo, no existe una morfología en particular que pueda asociarse a una región dada. A pesar de que no se pudo observar un patrón de cambio regional, se encontraron variaciones morfológicas que no habían sido descritas anteriormente. Se secuenciaron fragmentos de los genes mitocondriales COI y 16S con el fin de analizar el grado de variación intraespecífica y comparar a *A. constrictus* y *A. oaxensis*. El análisis de las secuencias muestran una clara diferencia entre *A. constrictus* y *A. oaxensis* y un nivel reducido de variación entre las poblaciones de *A. constrictus*.

## ABSTRACT

Freshwater crabs are common throughout their range and represent an important component of freshwater ecosystems. The family Trichodactylidae is made up of about 51 species with small and medium size individuals that are exclusively freshwater, omnivorous and nocturnal, remaining hidden during the daytime. They are distributed in rivers and lakes of the coastal plain from southern Mexico in the states of Chiapas, Oaxaca, Tabasco and Veracruz, to the great basins of South America at east Andes. Most species are distributed in South America, with the exception of the Mexican ones and an isolated population at Nicaragua.

There are five species described for Mexico: *Avotrichodactylus constrictus*, *A. oaxensis*, *A. bidens*, *Rodriguezia villalobosi* and *R. mensabak*. As species with direct development, their range can be very reducing: a section of a river, a portion of a lake, a cave, a canyon, etc. An exception to this pattern is the range of *A. constrictus*.

The aim of this study was to establish the distribution pattern of trichodactylids in southern Mexico, for which we searched the records of several collections, both in Mexico and abroad, with which it was possible to construct a distribution map. The two species of *Rodriguezia* are only distributed in the state of Chiapas. It is noted that *A. constrictus* is widely distributed in large river basins in southern Mexico, unlike other species of the genus that have a more restricted distribution. Due to the large geographic range, different morphological characters were analyzed and two basic forms were identified, however, no a specific morphology could be associated to a particular region. Although no differences in the regional pattern could be derived, new morphological variations were found. Partial sequences of the mitochondrial genes COI and 16S were obtained using standard techniques to compare *A. constrictus* and *A. oaxensis*. The analysis of the sequences, showed a clear difference between *A. constrictus* and *A. oaxensis* and a low level of variation among populations of *A. constrictus*.

## **INTRODUCCIÓN**

Los cangrejos de agua dulce son comunes a lo largo de su área de distribución y representan un componente importante de los ecosistemas dulceacuícolas, porque son procesadores eficientes de materia orgánica, depredadores de pequeños invertebrados y peces; son a su vez, alimento de gran variedad de vertebrados (Ng, 1988; Magalhaes, 2003) y huéspedes intermediarios de parásitos del hombre.

De las más de 6,700 especies conocidas de crustáceos braquiuros, más de 1,300 son cangrejos de agua dulce y se caracterizan por su capacidad para completar su ciclo de vida independientemente del entorno marino. Estos cangrejos son asignados actualmente a ocho familias: Pseudohelphusidae y Trichodactylidae (México, Centroamérica y América del Sur), Potamonautidae (Africa y Madagascar), Deckeniidae y Platyhelphusidae (África Oriental), Potamidae (Norte de África, Sur de Europa, Asia), Gecarcinucidae (Asia), y Parahelphusidae (Asia, Australasia), que son importantes componentes de la biota acuática en arroyos, ríos, lagos y estanques (Martin y Davis, 2001).

Los cangrejos de agua dulce de México constituyen uno de los elementos más conspicuos de los invertebrados que habitan en las aguas epi e hipoc Continentales del territorio nacional. Los crustáceos que se distribuyen en los cuerpos de agua epicontinentales de México integran un grupo que resalta en América por la heterogeneidad de sus formas. La razón de esta gran riqueza se debe básicamente a dos factores: la evolución geológica que ha tenido el territorio nacional desde tiempos pangeicos hasta la conformación de su fisiografía actual y a la confluencia en México de especies provenientes de dos grandes regiones biogeográficas americanas, la Neártica y la Neotropical (Villalobos y Álvarez, 2008).

Por otro lado, la amplia distribución que han alcanzado los cangrejos y camarones de agua dulce a través del territorio nacional, abarcando toda la gama de ambientes, desde las llanuras costeras hasta los 3,000 metros de altitud y las adaptaciones fisiológicas y morfológicas que han desarrollado para independizarse totalmente del ambiente marino, apoyan la idea de que la presencia de estos artrópodos en México data de épocas muy remotas.

### **La familia Trichodactylidae**

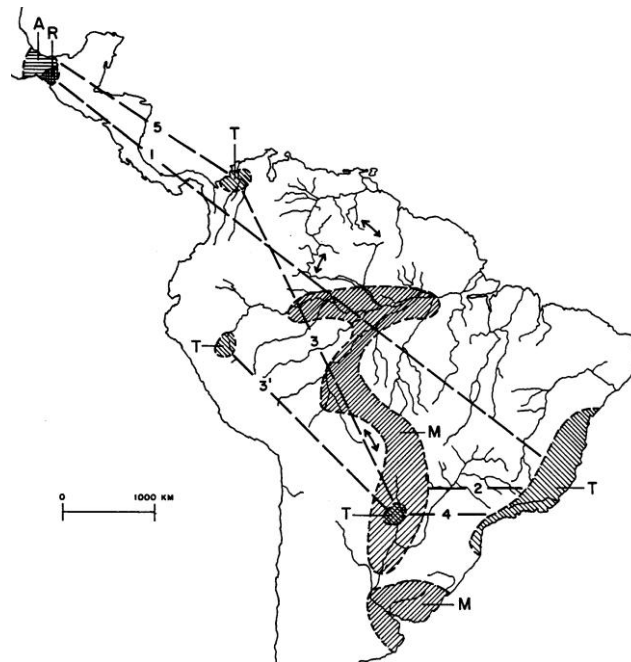
#### **Origen**

Existen evidencias claras sobre su probable origen. Rodríguez (1992) sugirió la existencia de un parentesco entre los Trichodactylidae y la superfamilia Portunoidea basado en la posición que guardan los genitales masculinos con respecto al segmento torácico en el cual están implantados, la presencia en ambos grupos de un lóbulo accesorio en el primer

maxilípedo y en otros caracteres secundarios también compartidos, como patas comprimidas sin espinas y con hileras de cerdas y similar morfología del gonópodo (Álvarez y Villalobos, 1997).

## Distribución

La familia Trichodactylidae esta formada por alrededor de 51 especies (Yeo *et al.*, 2008) con individuos de tallas pequeñas y medianas que son exclusivamente de agua dulce, se distribuye en ríos y lagos de las planicies costeras desde el sur de México en los estados de Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Veracruz, hasta las grandes cuencas de Sudamérica al este de los Andes (Rodríguez, 1992). El límite sur de la distribución se presenta en Uruguay y Argentina, en el delta del río Paraná y están ausentes de las Antillas. La mayor parte de las especies se distribuyen en Sudamérica, con excepción de las mexicanas y una población aislada en Nicaragua. En la figura 1 se presenta la distribución de la subfamilia Trichodactylinae. Los principales caracteres utilizados para discriminar entre especies son la forma y dentición del caparazón, la forma del abdomen y la morfología de los gonópodos. Las especies de cangrejos tricodactílicos son elementos importantes dentro de la carcinofauna neotropical de agua dulce y, desde un punto de vista biogeográfico, juegan un papel importante para entender la evolución biótica de la región (Morrone y Lopretto, 1994, 1995).



**Figura 1. Distribución de la subfamilia Trichodactylinae, A, *Avotrichodactylus*; T, *Trichodactylus*; R, *Rodriguezia*; M, *Mikrotrichodactylus*. Tomado de Rodríguez, (1992).**

## **Cangrejos tricodactílicos de México**

Existen cinco especies descritas para México: *Avotrichodactylus constrictus*, *A. oaxensis*, *A. bidens*, *Rodriguezia villalobosi* y *R. mensabak*. La presencia de estas especies en los estados del sur de México y del resto de las especies de la familia en Sudamérica, ha sido explicada por Rodríguez (1992) como una consecuencia de una amplia distribución pre-cretácica de la familia (Álvarez y Villalobos, 1997) a lo largo de la zona neotropical del continente (Morrone, 2003; Rodríguez, 1997).

Los dos géneros de la familia presentes en México, *Avotrichodactylus* y *Rodriguezia*, han sido agrupados dentro de la subfamilia Trichodactylinae, junto con los géneros *Trichodactylus* y *Mikrotrichodactylus* (Rodríguez, 1982; Magalhaes y Türkay, 1996a) distribuidos en Sudamérica.

Las poblaciones naturales de *A. oaxensis*, *A. bidens*, *R. mensabak* y *R. villalobosi* son en general reducidas, a diferencia de *A. constrictus* que tiene una amplia distribución. Por ser especies con desarrollo directo, se reduce la dispersión y permanecen cerca o en el lugar de origen puesto que mientras más se alejen de éste, las posibilidades de encontrar un lugar apropiado para establecerse disminuyen. Es debido al tipo de desarrollo, cuando menos parcialmente, que las áreas de distribución de cada especie pueden ser muy reducidas, una sección de un río, una porción de orilla de un lago, una cueva, una cañada, etc. Necesariamente, una dispersión reducida o ausente conduce a la diferenciación de las poblaciones y consecuentemente a la especiación. Cabe mencionar que en todas las poblaciones de cangrejos de agua dulce que los autores han examinado, han encontrado una variación morfológica intrapoblacional de los caracteres taxonómicos importantes muy reducida o ausente (Álvarez y Villalobos, 1997).

## **Clasificación y situación actual de la familia**

Estudios taxonómicos de cangrejos de agua dulce de la familia Trichodactylidae han sido principalmente concernientes a la descripción de especies, el primero de ellos fue publicado por Rathbun en 1906, posteriormente Bott (1969) publicó su estudio taxonómico de la familia. En la década de los 90's, los cangrejos de la familia Trichodactylidae han estado sujetos a varias revisiones taxonómicas a nivel de especie, género y niveles supragenéricos. La primera descripción de una especie de Trichodactylidae, *Cancer orbicularis*, fue publicada por Meuschen (1781). Pero desde su *Index Zoophylacium Gronovianum* no fue aceptado como un precedente en la nomenclatura binomial, su sinónimo *Cancer septemdentatus* Herbst, 1783, es considerado el primer nombre válido propuesto para una especie de esta familia. De 1825 a 1901, Latreille (1828b), Henri Milne-Edwards (1853b), Randall (1839), Eydoux y Souleyet (1842), Gerstäker (1856), White (1847), Alphonse Milne Edwards (1869), Von Martens (1869), Kingsley (1880), Göldi

(1886), Stimpson (1861), Rathbun (1893, 1906), Ortmann (1893), Nobili (1896) y Moreira (1901), agregaron 26 nuevas especies. La publicación de Rathbun de 1906 incluyó 29 especies, de las cuales nueve eran nuevas especies. Durante la primera mitad del siglo XX sólo tres nuevas especies fueron descritas por Pearse (1911), Moreira (1912) y Parisi (1923) respectivamente, pero en 1966, hubo un incremento relativo en la literatura. Trece nuevas especies fueron publicadas con la contribución de Bott (1969), Cottarelli y Argano (1977), Pretzmann (1968), Schmitt y Pretzmann (1968), Pretzmann y Mayta (1980), Rodríguez y Manrique (1967) y Smaley y Rodríguez (1972), con lo que el número total de nombres específicos publicados fue de 52. De este gran número de taxones, probablemente no más de 41 especies son válidas.

Como resultado de ello, y a pesar de las dimensiones relativamente modestas de la familia, su sistemática ha estado llena de controversias debido al uso muy común de especies sinónimas. Además, Bott y Pretzmann tienen descritas siete y quince subfamilias respectivamente. Por lo menos dos de las especies de Pretzmann son en realidad distintas, pero otras no pueden diferenciarse de las formas típicas. Esta situación se complica aún más por la existencia de diferentes sistemas en la determinación de géneros.

El acuerdo de taxonomía utilizada por Rathbun (1906) para la familia refleja la labor realizada por los anteriores investigadores durante el siglo XIX, los cuales habían creado los géneros *Trichodactylus* (Latreille, 1828a), *Valdivia* (White, 1847), *Sylviocarcinus* y *Dilocarcinus* (H. Milne-Edwards, 1853a). Rathbun (1906) dio la condición de genéricos sólo a *Trichodactylus*, la reducción de *Valdivia* y *Dilocarcinus* a subgénero de la primera, y descartó a *Sylviocarcinus*. Este simple mecanismo fue utilizado por todos los autores hasta que Pretzmann (1968) y Bott (1969) propusieron dos sistemas alternativos con poco en común entre ellos y con Rathbun.

Las diferencias en los rangos entre estos sistemas implican también considerables cambios en el agrupamiento de las especies. Por ejemplo, la especie *Sylviocarcinus pictus*, H. Milne Edwards, 1853, es colocada por Rathbun (1906) en el género *Dilocarcinus*, por Bott (1969) en el género *Sylviocarcinus* y por Pretzmann (1968b) con las especies tipo para su nuevo género *Holthuisia*.

Rodríguez (1992) en su revisión reconoció 10 géneros y 44 especies. Ubicó a los géneros dentro de dos subfamilias Trichodactylinae y Dilocarcininae, esta última dividida en tres tribus: Holthuisiini, Valdiviini y Dilocarcinini (Apéndice 1). Su clasificación fue construida con base en la elección apropiada de un grupo externo (un portunoideo de la familia Carcinidae) y la elección de caracteres que no habían sido considerados por otros autores como fueron la forma y dentición del caparazón, forma del abdomen y morfología de los gonópodos. En su análisis consideró 30 unidades terminales (incluyendo el juvenil *Zilchiopsis emarginatus*) y 40 caracteres que fueron polarizados comparándolos con el grupo externo para obtener la relación entre especies y concluyó que se trata de un grupo



monofilético. Ng *et al.* (2008) dentro del *Systema Brachiurorum* Parte I, presentan una clasificación de la familia (Apéndice 2), en la cual existen los siguientes cambios respecto a la revisión de Rodríguez (1992): se da la asignación de Superfamilia Trichodactyloidea; dentro de la subfamilia Trichodactylinae, desaparece el género *Mikrotrichodactylus* y sus especies son colocadas en el género *Trichodactylus*; la especie *Avotrichodactylus bidens* es reconocida como sinónima de *A. constrictus*; dentro de la subfamilia Dilocarcininae son reconocidos los géneros *Bottiella*, *Goyazana*, *Moreirocarcinus*, *Poppiana*, *Melocarcinus* y *Rotundovaldivia*, que se suman a los ya existentes *Sylviocarcinus*, *Valdivia*, *Forsteria*, *Zilchiopsis*, *Dilocarcinus* y *Fredilocarcinus*, existe un reacomodo de las especies de esta subfamilia, las cuales son colocadas dentro de los géneros nuevos (Apéndice 2) en relación a la clasificación presentada por Rodríguez (1992), (Apéndice 1).

### **Filogenia de la familia Trichodactylidae**

Partiendo de la revisión de Rodríguez (1992), Magalhaes y Türkay (1996a, b, c) reconocieron 15 géneros, 49 especies y subespecies. Su clasificación fue construida tomando en cuenta caracteres más complejos como las estructuras respiratorias, segmentación abdominal, los pleópodos (gonópodos 1 y 2) de los machos y el sistema endofragmal.

En el mismo año, Morrone y Lopretto (1996) realizaron un reanálisis de los resultados de Rodríguez (1992). Para dicho análisis, excluyeron de su estudio al juvenil *Z. emarginatus* debido a que consideraron que la comparación debía contener solamente individuos del mismo estadio. Sus resultados en cuanto a las relaciones presentadas entre las especies de la familia fueron diferentes (Fig. 2).

Von Sternberg (1997) basado en los resultados de Rodríguez (1992) realizó un análisis tomando en cuenta 41 caracteres morfológicos. Su análisis resultó en un cladograma apoyado por las conclusiones de Rodríguez (1992) (Fig. 3). En la misma publicación realizó una crítica al modelo obtenido por Morrone y Lopretto (1996) debido a que consideró un error el haber excluido al juvenil *Z. emarginatus* y el método por el cual obtuvieron sus resultados. Morrone y Lopretto (1997) tuvieron la oportunidad de réplica a las críticas de von Sternberg (1997) en esa misma edición.

Recientemente, Ng *et al.* (2008) dentro de su *Systema Brachiurorum* Parte I reconocen 15 géneros y 54 especies. El debate acerca de las relaciones filogenéticas entre las especies de la familia Trichodactylidae aún continúa. Cabe mencionar que todos los estudios publicados hasta ahora han sido realizados con métodos tradicionales con base en caracteres morfológicos, el uso de análisis moleculares surge como alternativa para obtener una hipótesis más precisa acerca de las relaciones que guardan las especies de la familia.

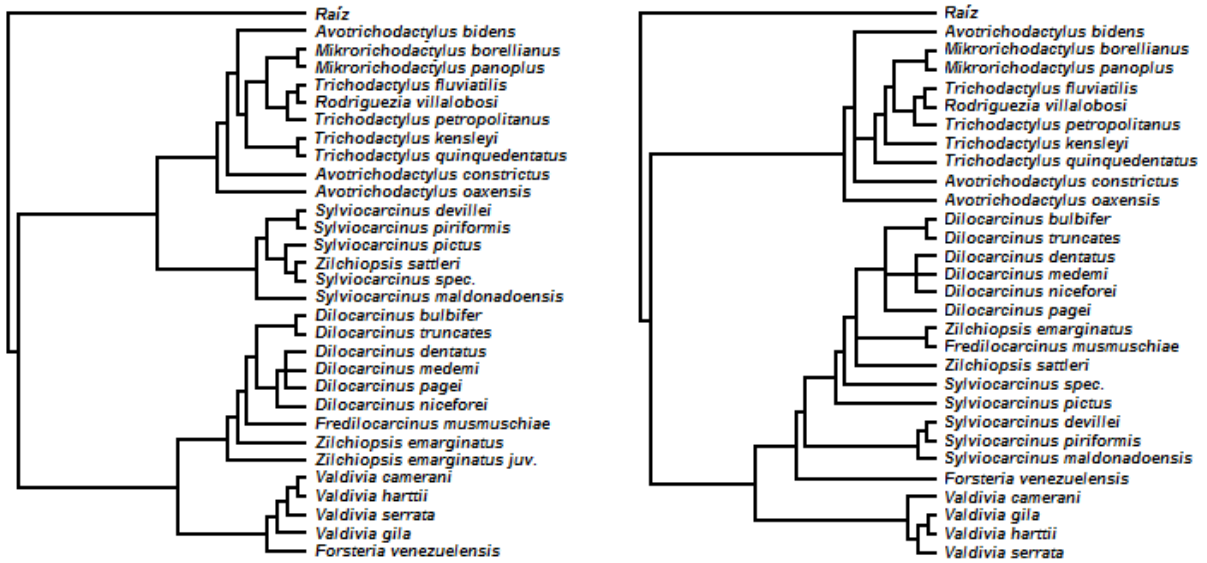


Figura 2. A, cladograma original presentado por Rodríguez (1992); B, cladograma de consenso obtenido por Morrone y Lopretto (1996).

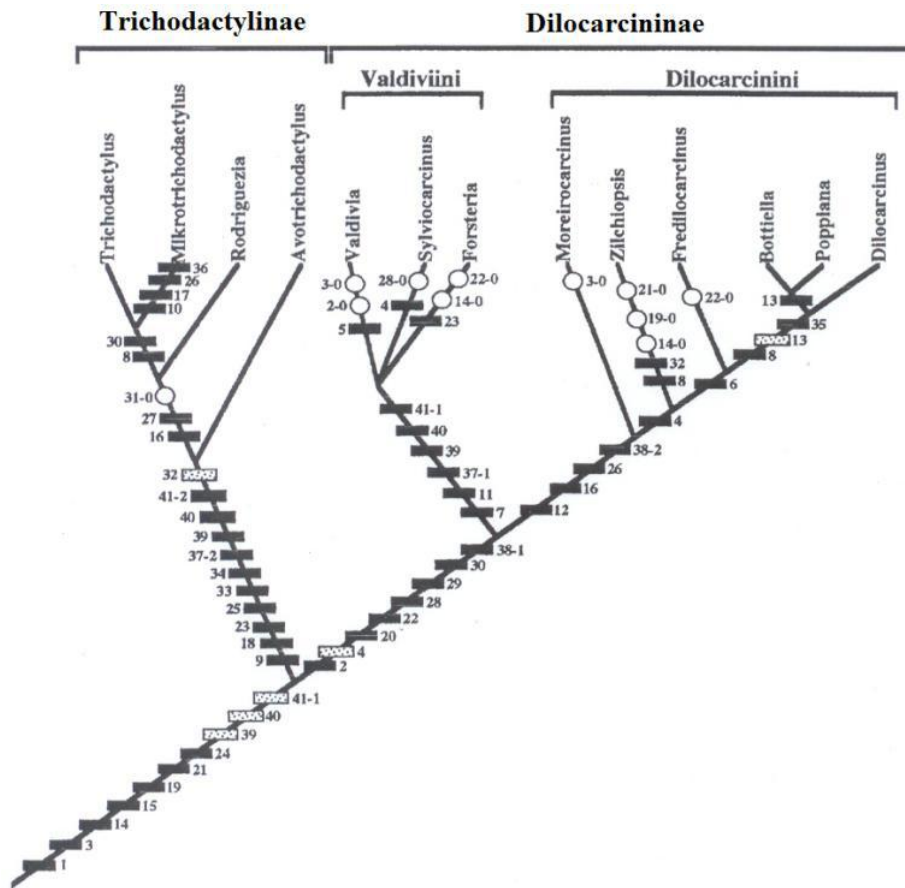


Figura 3. Cladograma de consenso obtenido por von Sternberg (1997). Cuadros negros, sinapomorfias; círculos, apomorfias; cuadros punteados, sinapomorfias con colocación ambigua.

## **Técnicas moleculares**

En la actualidad existe un variado número de técnicas moleculares que son utilizadas en estudios de diversidad genética, como genética de poblaciones, sistemática y filogeografía, entre otras (Botello, 2008). Dentro de las técnicas más utilizadas para crustáceos se encuentran la electroforesis de proteínas y las basadas en ADN, dentro de esta última, se debe hacer una extracción de material genético mediante su separación de lípidos y proteínas utilizando solventes orgánicos. Tras la extracción, una región específica es amplificada, lo que es posible gracias a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), a partir de la cual se pueden realizar diferentes análisis genéticos.

En los últimos 30 años se han desarrollado las herramientas metodológicas que permiten obtener la secuencia de nucleótidos de determinada región, lo que ha tenido como consecuencia un incremento en el número de trabajos que utilizan las secuencias para resolver problemas de diversa índole, entre los que destacan la sistemática y la filogeografía. Esto se debe a las ventajas asociadas a la naturaleza de los datos obtenidos a partir de estas técnicas, entre las que se pueden mencionar la enorme cantidad de regiones que pueden secuenciarse, tanto en el genoma nuclear como en el mitocondrial.

## **Genes mitocondriales**

Los genes mitocondriales han resultado de gran utilidad en estudios de variación genética donde se usan secuencias de nucleótidos en animales, ya que presentan diferentes características que resultan ventajosas sobre los genes nucleares. En primer lugar se trata de un genoma relativamente corto (alrededor de 16 kb) con 37 genes (dos para ARNr, 13 para proteínas y 22 para ARNt), más la región control, que no se transcribe y es altamente variable (Fig. 4), lo que ha permitido que se hayan secuenciado genomas completos en varios grupos incluyendo crustáceos (Botello, 2008).

Aunque cada gen mitocondrial tiene una tasa de mutación diferente, de manera general, las secuencias de la mitocondria son más variables que las del núcleo, al carecer prácticamente de mecanismos de reparación por lo que son ampliamente usados en estudios a niveles taxonómicos bajos, pero al mismo tiempo, el arreglo de tales genes es muy estable en el tiempo evolutivo, sólo existiendo algunas traslocaciones entre grupos relativamente lejanos.

Se puede acceder al genoma mitocondrial utilizando oligonucleótidos y la PCR (Saiki *et al.*, 1988). En el año 1985, Kary Mullis y colaboradores crearon la PCR, que está basada en la actividad de la enzima ADN polimerasa que es capaz de sintetizar una cadena de ADN complementaria a otra ya existente. Se requieren además de la ADN polimerasa y los oligonucleótidos, un buffer que establezca la reacción, dNTP's que son los nucleótidos

que arman la cadena complementaria y cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ), sin este último componente la ADN polimerasa es inactiva.

Son tres los pasos que se realizan en la PCR, el primero es la desnaturalización de la molécula de ADN para lo cual se debe elevar la temperatura aproximadamente a  $94\text{ }^\circ\text{C}$ , cada cadena actuará como molde para fabricar su complementaria. A continuación se reduce la temperatura entre  $40$  y  $60\text{ }^\circ\text{C}$ , para que ocurra el alineamiento de los cebadores a su región específica dentro de la cadena de ADN. El último paso consiste en la generación de la cadena de ADN complementaria por acción de la ADN polimerasa a  $72\text{ }^\circ\text{C}$ , estos tres pasos se repiten por varios ciclos incrementándose la cantidad de amplificado de manera exponencial. El amplificado de la PCR puede ser secuenciado para comparar genes homólogos de especies estrechamente relacionadas y de poblaciones dentro de las especies (Hillis *et al.*, 1996).

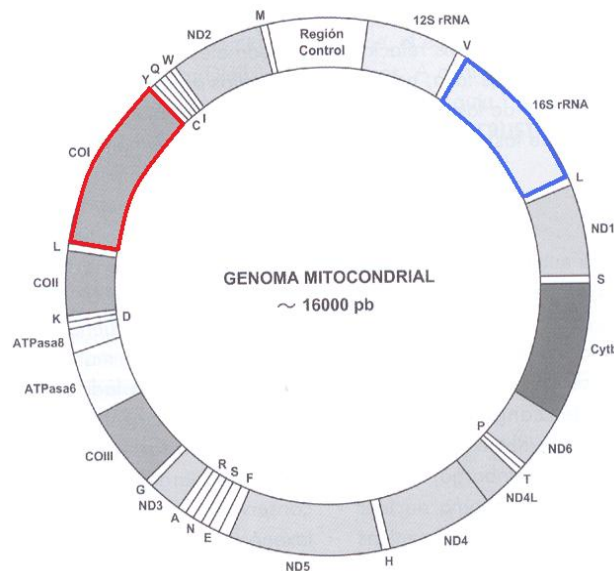
### **Gen mitocondrial COI**

El gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI) es un gen funcional, es decir, codifica para una proteína. Presenta una tasa de cambio aproximada de entre 2% por millón de años (Cox y Hebert, 2001) y 3% por millón de años (Trontelj *et al.*, 2005), sus secuencias de aminoácidos son altamente conservadas a través de los niveles jerárquicos superiores al de especie haciendo fácil alinear una secuencia con respecto de otra. Debido a este nivel de conservación, las sustituciones en los aminoácidos son raras entre las especies, lo cual permite ser una herramienta para distinguirlas. Además, las secuencias de sus aminoácidos pueden ser usadas en reconstrucciones filogenéticas de ramas evolutivas basales (Hillis *et al.*, 1996).

### **Gen mitocondrial 16S ARNr**

Los genes mitocondriales que codifican proteínas se pueden encontrar en cualquiera de las dos hebras del ADNmt. Los ARN mensajeros (ARNm) que se sintetizan a partir de genes en el ADNmt permanecen dentro de la mitocondria y son traducidos por ribosomas propios de la mitocondria. Los ribosomas mitocondriales consisten de dos subunidades como sucede con los ribosomas del citoplasma. Existen solamente dos moléculas de ARNr en el ribosoma mitocondrial de muchos organismos: una molécula de ARNr de 16S en la subunidad mayor y otra 12S en la subunidad menor del ribosoma animal. Generalmente existe sólo un gen en el genoma mitocondrial para cada una de estas dos moléculas de ARNr. La región 16S ARNr (Schubart *et al.*, 2000) presenta una tasa de mutación de 0.9% por cada millón de años (Murphy y Austin, 2005).

Existen diversas investigaciones que han buscado resolver las relaciones filogenéticas en diferentes grupos de crustáceos empleando marcadores moleculares, aunque cada vez son más frecuentes aquellas que combinan varios genes o información morfológica; dependiendo del problema que se quiera resolver y del nivel taxonómico al que se trabaje, muchas veces es necesario obtener la información genética de las especies de diversas regiones.



**Figura 4. Estructura del genoma mitocondrial de *Artemia franciscana* (modificado por Boore, 1999).**

### Límite de especies

Las técnicas genéticas pueden brindar información que nos ayude a tomar decisiones sobre el límite que existe entre especies u otros grupos taxonómicos. En muchos casos estas herramientas se emplean en conjunto con otro tipo de datos, como en el caso de los cangrejos porcelánidos del complejo *Petrolisthes galathinus*, donde se revisan las diferencias entre las especies usando secuencias mitocondriales junto con morfología de las larvas, morfometría y patrones de coloración (Hiller *et al.*, 2006); y el caso de la revisión de algunas especies de langostinos del género *Macrobrachium* utilizando isoenzimas, en combinación con microscopía electrónica de ciertos caracteres morfológicos y un análisis morfométrico (Acuña, 2002). En otros casos, sólo el análisis de la información molecular de uno o varios genes es usado para poner en duda la existencia de una especie o para sugerir la posible división en varios grupos.

## ANTECEDENTES

### Estudios ecológicos y biológicos de cangrejos tricodactílicos

Existe poca información sobre la biología y ecología de esta familia de cangrejos. Zimmermann *et al.* (2009) realizaron estudios con *Trichodactylus panoplus* bajo condiciones de laboratorio, con el objetivo de observar su comportamiento, observaron un total de 15 acciones divididas en cinco categorías: alimentación, exploración del ambiente, inmovilidad, interacción social y auto-limpieza. Los resultados que obtuvieron demuestran que estos cangrejos presentan una mayor actividad durante la noche. Además se sabe que son omnívoros, permanecen ocultos en cuevas, agujeros, en troncos sumergidos, entre la vegetación acuática o en las rocas y troncos durante el día (Magalhaes, 1999).

En contraste, se ha publicado una vasta literatura acerca de su taxonomía, y filogenia, por ejemplo, Rodríguez (1982, 1986, 1992), Magalhaes y Türkay (1996a, b, c), Morrone y Lopretto (1996, 1997), Collins *et al.* (2002) y von Sternberg (1997, 1998), que ya han sido mencionados dentro de la introducción, además, Morrone y Lopretto (2001) realizaron un estudio sobre la biogeografía de la familia en América del Sur.

Von Sternberg y Cumberlidge (2003) realizaron un estudio sobre el sistema endofragmal de tricodactílicos y los compararon con el de otros eubraquiuros, los resultados que obtuvieron sobre dicho sistema es que los tricodactílicos presentan una autapomorfia en el sistema endofragmal que los separa de los otros eubraquiuros y enfatizan una distinción morfológica del grupo.

### Estudios a nivel molecular de cangrejos tricodactílicos

Se han realizado pocos estudios moleculares en esta familia de cangrejos, entre ellos se pueden mencionar los trabajos de Weihrauch *et al.* (2004, 2009) en los cuales obtuvieron secuencias parciales (327, 372 y 606 pb) de ARNm de *Dilocarcinus pagei*, utilizando la subunidad alfa y beta de la ATPasa; Daniels *et al.*, (2006b), obtuvieron secuencias de *Dilocarcinus laevifrons* de diferentes regiones, una secuencia parcial de 307 pb del gen H3, secuencia parcial de 625 pb del gen 18S ARNr, secuencia parcial de 432 pb del gen 16S ARNr mitocondrial y secuencia parcial de 329 pb del gen 12S ARNr mitocondrial; Schubart y Reuschel (2009) obtuvieron una secuencia parcial de 328 pb de ADN del gen H3. Todas las secuencias pueden ser consultadas en la página de GenBank con las referencias AY094180, AF409119, AF409118, AY919136, AY919105, AY919093, AY919083 y FM208785.

## **Sistemática molecular**

Dependiendo del problema que se quiera resolver y del nivel taxonómico al que se trabaje, muchas veces es necesario obtener la información genética de las especies de regiones diversas. Entre los trabajos que incluyen especies mexicanas, se ha estudiado la filogenia de géneros como *Macrobrachium* (langostinos) con secuencias mitocondriales (Murphy y Austin, 2004); de *Callinectes* (jaibas) analizando secuencias de dos genes mitocondriales (Robles *et al.*, 2007); de *Lepidophthalmus* (camarones talasínidos) con aloenzimas (Staton *et al.*, 2000) y del balano del género *Chthamalus* con secuencias de dos genes mitocondriales (Wares, 2001). A nivel de superfamilia se han estudiado Penaeoidea (camarones) (Vazquez-Bader *et al.*, 2004) y Grapsoidea (cangrejos) (Schubart *et al.*, 2000), usando secuencias de un gen mitocondrial.

La sistemática molecular ha servido en algunos casos para proponer algún nuevo grupo, como es el caso de Scutocoxifera, donde gracias al sustento proporcionado por la filogenia de un gen nuclear se describe este nuevo suborden de Isopoda (Dreyer y Wägele, 2002), o la nueva familia de cangrejos Glyptograpsidae, sustentada con base en un gen mitocondrial, junto con evidencia morfológica y larval (Schubart *et al.*, 2002).

## **Uso de marcadores moleculares en crustáceos**

En diferentes estudios y en función del nivel taxonómico así como del objetivo del trabajo, se han utilizado diferentes marcadores genéticos. Schubart *et al* (1998b) utilizaron secuencias publicadas en estudios previos donde se usó el gen 16S ARNr para cuestiones de sistemática o comparación de poblaciones de crustáceos, además de presentar nuevas secuencias del gen. Este gen presenta una estructura secundaria por lo que en sus secuencias de nucleótidos se combinan regiones conservadas con otras variables, las regiones conservadas facilitan el alineamiento y permiten hacer reconstrucciones filogenéticas entre las especies y estudios a nivel de poblaciones.

Crandall *et al.* (2000) utilizaron secuencias de las regiones 18S ADNr, 28S ADNr y 16S ADNmit para estimar las relaciones filogenéticas entre la familia Astacidae, Cambaridae y Parastacidae, en su estudio se confirmó la hipótesis sobre el origen monofilético de las tres familias propuesto anteriormente con caracteres morfológicos.

En cuanto a la utilización de COI para resolver problemas taxonómicos en crustáceos, se puede mencionar a Gurney *et al* (2006) en cuyo estudio secuenciaron este gen mitocondrial en 17 individuos de *Sacculina carcini* que parasita tres especies diferentes de portúnidos *Carcinus maenas*, *Liocarcinus marmoreus* y *L. holsatus* en diferentes regiones de Europa. Debido a que existen pocos caracteres morfológicos en los cuales se pueda basar un análisis taxonómico, los autores utilizaron el COI para advertir que la

misma especie *S. carcini* es la que parasita a los tres hospederos. Carini y Hughes (2004) estudiaron la estructura genética poblacional de *Macrobrachium australiense* (Decapoda: Palemonidae), un camarón de agua dulce que habita en ríos altamente fragmentados al oeste de Queensland, Australia. Estudiaron los patrones de dispersión, obteniendo del análisis de diferencia poblacional un alto grado de subdivisión genética y flujo génico restringido. En el análisis filogenético detectaron rangos históricos de expansión que pudieron ser ocasionados por fluctuaciones climáticas durante el Pleistoceno.

En resumen, estos antecedentes, entre muchos otros estudios que existen, sugieren que el uso de marcadores moleculares como el COI en crustáceos decápodos ha sido de gran utilidad, en particular este gen mitocondrial ha demostrado tener un grado de resolución a nivel de especie suficientemente bueno. Es decir, ha sido posible en su caso identificar poblaciones que integraban diferentes especies, o bien, grupos de poblaciones altamente variables morfológicamente que en realidad constituyen una sola especie.



## **JUSTIFICACIÓN**

Las especies de cangrejos tricodactílicos de México se conocen solamente de los reportes en que fueron descritas, sin existir ningún estudio en donde se actualice y analice la información sobre su patrón de distribución. Adicionalmente no se ha evaluado la importancia de la variación morfológica en *Avotrichodactylus constrictus* que es una especie de amplia distribución en el sur de México, ni se ha evaluado el nivel de divergencia entre las especies de *Avotrichodactylus*. De esta manera, el presente estudio se basa en toda la información disponible sobre este grupo de cangrejos, generada en las últimas dos décadas, para contribuir en el estudio de las especies dulceacuícolas de México.

## **OBJETIVOS**

El objetivo general de este estudio es realizar una revisión de las especies de la familia Trichodactylidae que se distribuyen en México para reconocer los límites de variación de los caracteres morfológicos de importancia taxonómica.

Realizar un análisis de su distribución ya que hasta ahora se tienen solamente registros aislados que no permiten poner a prueba hipótesis sobre su colonización del sur de México.

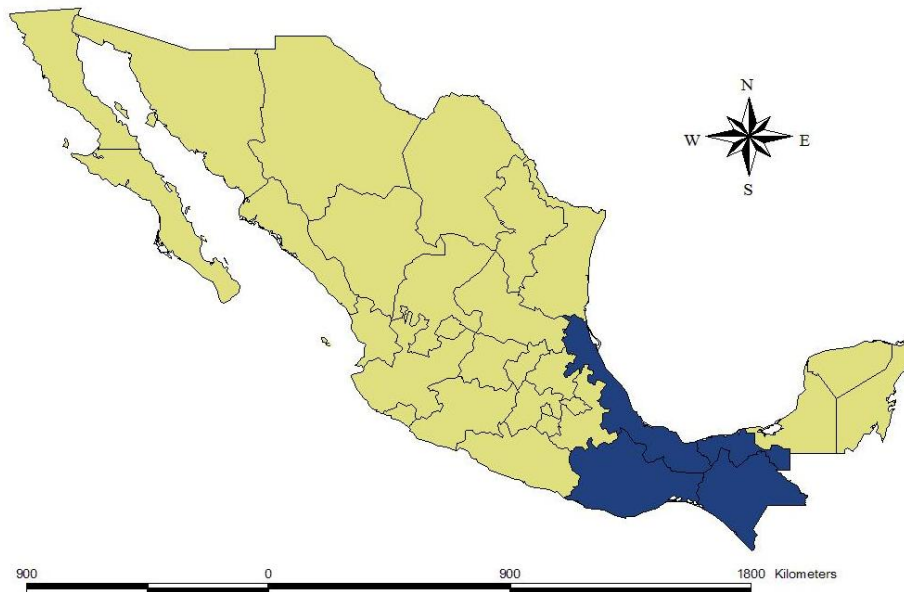
Con el resultado de este análisis, se plantea un mapa de distribución de las diferentes especies en el país.

Realizar análisis moleculares de los genes mitocondriales COI y 16S ARNr con el propósito de obtener las primeras secuencias genéticas de cangrejos tricodactílicos distribuidos en México.

## ÁREA DE ESTUDIO

### Sur de México

La familia Trichodactylidae se distribuye en ríos y lagos de las planicies costeras del sur de México en los estados de Chiapas, Oaxaca, Tabasco y Veracruz (Fig. 5).



**Figura 5. Estados del sur de México donde se distribuyen cangrejos tricodactílicos.**

### Chiapas

Estado de la República Mexicana situado en la frontera con Guatemala en la costa de océano Pacífico. Colinda con Tabasco, Veracruz, Oaxaca, Quintana Roo y Campeche. Su superficie en total es 74,211 km<sup>2</sup>, ocupando así el 3.8% de territorio nacional. La orografía del estado la componen franjas dispuestas diagonalmente: las montañas del norte, la meseta central, la depresión central, sierra madre de Chiapas y la llanura costera. La mayor elevación es el volcán Tacaná, con 4,100 m de altura ubicado en la frontera con Guatemala. En la depresión central se encuentra el Cañón de Sumidero, cuyo fondo es recorrido por el río Grijalva. Presenta un clima templado frío con lluvias en verano.

Su hidrografía la integran más de 100 ríos agrupados en 4 cuencas: Grijalva, Suchiate-Coatán, Usumancinta y la formada por la sierra de Huixtla. Algunas lagunas importantes son las de Catazajá, la de Miramar, esteros como Acapetagua y embalses artificiales como las presas de Chicoasen, Malpaso y Angostura, las tres de mayor capacidad en el país.

Chiapas cuenta con 256 km de litorales, lo que representa el 2.2% del total nacional. Los ríos chiapanecos son los que aportan mayor caudal de agua, la alimentación se debe en gran parte, a las abundantes lluvias propias de los climas cálido-húmedo.

Los principales ríos son los siguientes: Grijalva, Usumacinta, Lagartero, Coatán, Suchiate, Tiltepec, Sanatenco, Pijijiapan, Pichucalco, Tulijá, Puxcatán y Tacotalpan. Los ríos que aportan sus aguas al Golfo de México tienen un curso largo y son muy caudalosos, los más importantes son el Grijalva y el Usumacinta; pero hay otros de relevancia: Pichucalco, Teapa, Tacotalpan, Puxcatán y Tulijá, todos los cuales se unen al río Grijalva en territorio tabasqueño.

### **Oaxaca**

Se ubica al sur del país, en el extremo suroeste del istmo de Tehuantepec. Colinda con los estados de Guerrero al oeste, Puebla al noroeste, Veracruz hacia el norte y Chiapas al este. Hacia el sur posee casi 600 km de costa en el Océano Pacífico. Por su extensión, es el quinto estado más grande del país y ocupa el 4.8% de su superficie total. Es uno de los estados más montañosos del país pues en la región se cruzan la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre del Sur y la Sierra Atravesada. Mientras las montañas se caracterizan por sus bajas temperaturas, la región del istmo, la cañada (sobre todo Cuicatlán) y de la costa se caracterizan por su clima cálido.

Su río más importante es el Papaloapan, el cual se alimenta del río Tomellín y el río Santo Domingo, entre otros. Dentro de su hidrografía también se encuentran los ríos: Tehuantepec, Grande, Mixteco, Salado, Los Perros, Copalita, Verde, Colotepec, Ayutla, Tenango, Huamelula, Espíritu Santo, Ostuta, La Arena, Sarabia, El Corte, Petapa, Putla, Atoyac, Tequisistlán, Aguacatenango Jatepec y Puxmetacán Trinidad.

### **Tabasco**

Se localiza en el sureste de México, rodeando 183 de los 11,593 km de la llanura costera del Golfo de México, es decir, el 1.58%. Colinda al norte con el Golfo de México, al noreste con el estado de Campeche, al sureste con la República de Guatemala, al oeste con el estado de Veracruz y al sur con Chiapas. La superficie de su territorio ocupa una extensión cercana a los 25,000 km<sup>2</sup>.

El estado de Tabasco es la región del país donde se localiza la red hidrológica más compleja, dentro de ella se localizan los Pantanos de Centla que son una extensión de tierras bajas y humedales, declarada como área protegida con categoría de Reserva de la Biosfera y es el humedal más extenso de Norteamérica.

La llanura costera del sureste del Golfo de México cuenta con una saturada red de escurrimientos, llanuras deltaicas, sistemas lagunares, esteros, marismas, etc., que se extienden a lo largo del litoral en una distancia de más de 160 km, entre los ríos Tonalá y

San Pedro y San Pablo. En esta área quedan incluidos tres de los ríos más importantes del país, Mezcalapa, Grijalva y Usumacinta; así como los sistemas lagunares de El Carmen-Pajonal, Machona y Mecoacán, otros cuerpos de agua presentes en el estado son la laguna de Términos, los ríos Chixoy, Lacantún, San Pedro, Palizada, San Pedro, San Pablo, Chacaljá, Chumpán, Candelaria, Chilapilla, Carrizal, Samaria, Cunduacán, Caxuchapa, Viejo Mezcalapa, Mezcalapa, de la Sierra, Tacotalpa, Chilapa, Almendro, Puxcatán, Macuspana y Tabasquillo.

## **Veracruz**

Comprende una larga franja de tierra de bordes irregulares delimitada por el mar y montañas. Tiene una extensión territorial de 78,815 km<sup>2</sup> representando el 3.7% de la superficie del país. Colinda con siete estados de la República: al norte con Tamaulipas, al sur con Oaxaca y Chiapas, al oriente con el Golfo de México, al poniente con San Luis Potosí, Hidalgo y Puebla y al sureste con Tabasco. Goza de climas muy variados que van desde el tropical y subtropical en las extensas zonas costeras, hasta el frío en las zonas serranas y de montaña, pasando por el templado (en la zona montañosa central).

Su territorio es atravesado por numerosos ríos, entre los que destacan: en el norte, el Pánuco, Tuxpan, Cazones, Tecolutla y Nautla; en el centro el Actopan, Antigua y el Jamapa; y en el sur, el Papaloapan y Coatzacoalcos. Cuenta también con lagunas importantes como son las de Tamiahua, Alvarado, Sontecomapan y el lago de Catemaco, cercano a la reserva de Los Tuxtlas, cuyos principales ríos y arroyos son el río Máquinas, Frío, La Palma, Col, de Cañas y arroyo de Lisa, en la vertiente sureste el río Grande de San Andrés originado en el lago de Catemaco que también suministra a la cascada salto de Eyipantla.

## **Cuencas hidrológicas**

Se entiende por cuenca hidrológica al espacio delimitado por la unión de todas las cabeceras que forman el río principal o el territorio drenado por un único sistema de drenaje natural, es decir, que drena sus aguas al mar a través de un único río, o que vierte sus aguas a un único lago endorreico. Una cuenca hidrológica es delimitada por la línea de las cumbres, también llamada divisoria de aguas.

### **Partes de una cuenca**

Una cuenca tiene tres partes:

- Cuenca alta, que corresponde a la zona donde nace el río, el cual se desplaza por una gran pendiente.

- Cuenca media, la parte de la cuenca en la cual hay un equilibrio entre el material sólido que llega traído por la corriente y el material que sale. Visiblemente no hay erosión.
- Cuenca baja, la parte de la cuenca en la cual el material extraído de la parte alta se deposita en lo que se llama cono de eyección.

### **Tipos de cuencas:**

Exorreicas: drenan sus aguas al mar o al océano.

Endorreicas: desembocan en lagos, lagunas o salares que no tienen comunicación o salida fluvial al mar.

Arreicas: las aguas se evaporan o se filtran en el terreno antes de encauzarse en una red de drenaje.

El estudio de un río comienza por el análisis completo y detallado de su cuenca y sus características. Considerar una cuenca hidrológica como una región natural y estudiarla de la forma más completa posible es el paso previo para formular proyectos de desarrollo para dicha cuenca.

### **Distribución basada en cuencas hidrológicas**

Para realizar un análisis detallado sobre la distribución de los cangrejos tricodactílicos en México y proponer posibles relaciones entre las diferentes poblaciones, sus áreas de distribución se van a estudiar con base en las cuencas hidrológicas reconocidas por CONABIO en 1998 (Fig. 6), a las que pertenecen los ríos y lagos en donde se han recolectado estos cangrejos.

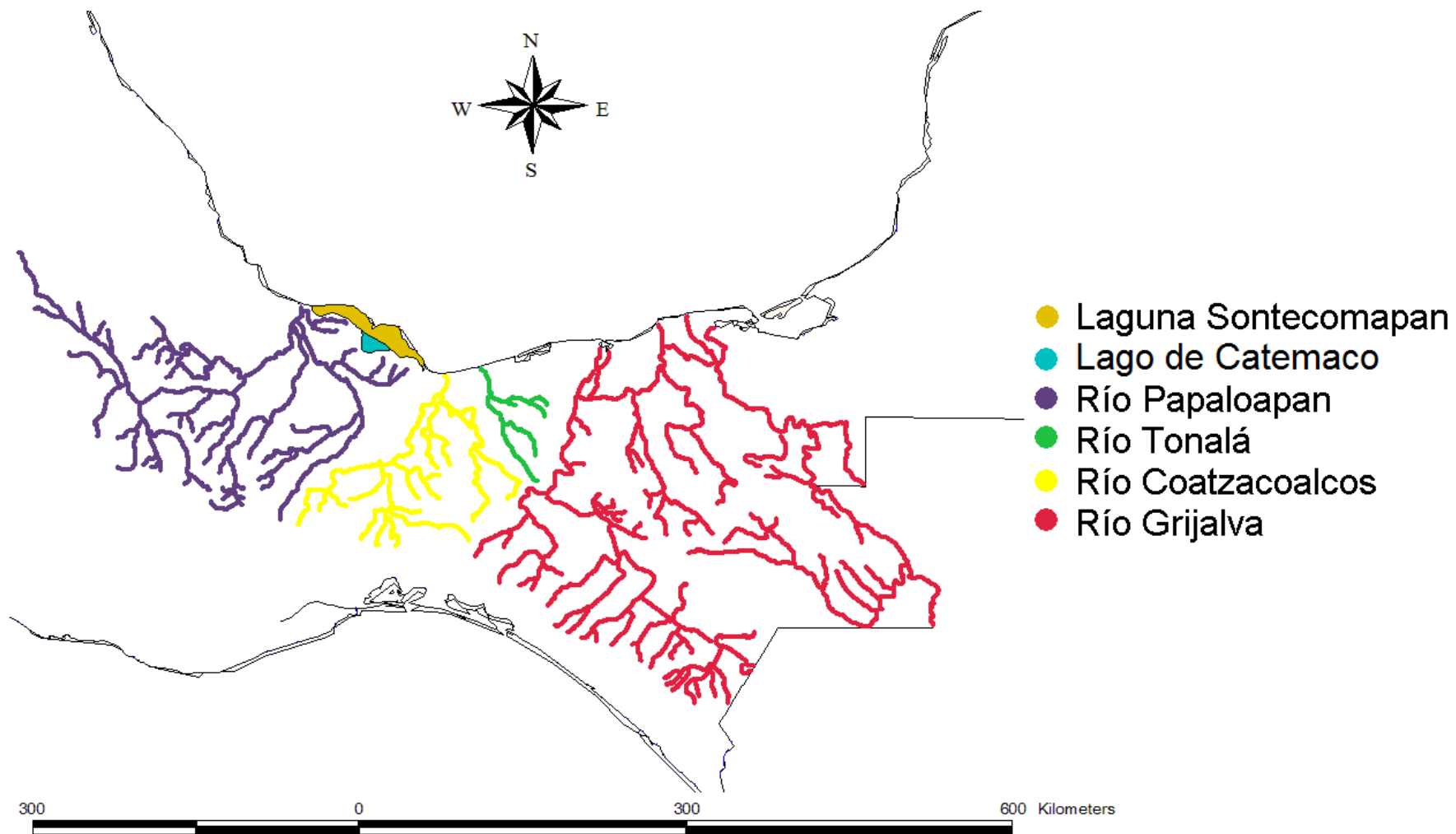


Figura 6. Cuencas hidrológicas reconocidas por CONABIO.

### **Cuenca laguna de Sontecomapan**

La laguna de Sontecomapan es el centro de una cuenca hidrográfica, que drena tanto el sector noreste de los pies del volcán San Martín Tuxtla y el sector noroeste de la Sierra de Santa Marta; se localiza al sureste del estado de Veracruz, es una laguna irregular, conectada al mar en un punto llamado barra de Sontecomapan. Numerosos ríos y arroyos cruzan el paisaje, entre ellos se encuentran los ríos Yahualtapan, Coxcoapan, Chuniapa, Sábalo, La Palma, Basura, arroyo Chuniapan, laguna El Carrizal. Dentro de esta cuenca se localiza la reserva de Los Tuxtlas, en donde se encuentran los ríos Máquinas y Agua Fría, así como las lagunas Escondida, Zacatal y Azul.

### **Cuenca lago de Catemaco**

El lago de Catemaco se localiza en el sureste del estado de Veracruz, forma parte de la cuenca del río Papaloapan a una altitud de 333 msnm; se trata de un lago de forma casi cuadrangular con una superficie de 7,254 ha, un volumen de 551,000 m<sup>3</sup> y una profundidad máxima de 11 m y una media de 7.6 m; los sedimentos predominantes son las arcillas en la parte central del lago y los limos arcillosos y las arenas gravosas en la riberas. Los recursos hídricos principales son el propio lago de Catemaco, lago cráter de San Martín y el río Grande de San Andrés.

### **Cuenca del río Papaloapan**

Es una de las cuencas hidrográficas más importantes de México con una superficie de 51,025.52Km<sup>2</sup> en 3 estados (parte norte de Oaxaca, parte sur de Puebla y parte centro de Veracruz). En el estado de Veracruz, la cuenca del Papaloapan no sólo es una región hidrográfica, se ha aprovechado para formar también una delimitación político económica, que se le denomina región del Papaloapan, integrada por 22 municipios. Al igual que en el estado de Veracruz, el estado de Oaxaca tiene una división político-económica denominada región Cuenca del Papaloapan, la cual la conforman los distritos de Tuxtepec y el de Choápam. El estado de Puebla a diferencia de Veracruz y Oaxaca, no tiene una delimitación político económica denominada Papaloapan.

Los afluentes del Papaloapan son dos: el río Tehuacán en la sierra de Puebla y el Quiotepec en la alta Mixteca oaxaqueña, al unirse reciben la denominación de río Grande, kilómetros adelante se une el río Salado, llamándose entonces Santo Domingo. En forma posterior recibe el afluente del río del Valle Nacional y a partir de ese momento es conocido como el Papaloapan.

### **Cuenca del río Coatzacoalcos**

Nace en la Sierra de Niltepec o Atravesada, en el estado de Oaxaca en la región del istmo de Tehuantepec, alimenta principalmente el sur del estado de Veracruz. Presenta una extensión de 325 km de longitud y drena una cuenca de 17,369 km<sup>2</sup>. Discurre en dirección

oeste, su río principal es el Coatzacoalcos y en su recorrido recoge las aguas de los ríos Jaltepec, Chalchijalpa, Chiquito, Sarabia, Uxpanapa, Calzadas, Huazuntlan, Minzapan y Temoloapan, así como arroyos y pequeños manantiales. El río Coatzacoalcos desemboca en el punto más austral del Golfo de México; junto a la población y en el puerto que llevan su mismo nombre. Algunas lagunas importantes son la laguna Tortuguero, laguna Pajaritos, laguna Tepache y el sistema lagunar del Ostión.

### **Cuenca del río Tonalá**

El río Tonalá es un río del sureste de México cuyo cauce recorre la zona nororiental del istmo de Tehuantepec, en la zona aledaña al Golfo de México, formando el límite entre los estados de Tabasco y Veracruz-Llave. Presenta una extensión de 300 km y sus recursos hídricos principales son el río Tonalá y afluentes Tancochapa o Pedregal, Xocuapan, Zanapa, el Blasillo y el Chicozapote, arroyos y manantiales. El río Tonalá y los ríos que le dan origen son navegables en un trayecto de 200 km. Al desembocar en el Golfo de México, forma la barra de Tonalá, sitio donde se pescan camarones.

### **Cuenca del río Grijalva**

Esta región hidrológica tiene categoría internacional, ya que se desarrolla en territorio mexicano y guatemalteco. Sus límites dentro de México quedan definidos al este por el río Suchiate, al sureste y sur por el límite político entre Chiapas y Guatemala, al noreste por el río Usumacinta, lindero natural entre Chiapas y Guatemala; y al sur y este por el límite entre Tabasco y Guatemala. La región se encuentra constituida por el sistema Grijalva-Usumacinta, en el que se incluyen los ríos Santa Ana (Tabasco) hacia el oeste y el Palizada (Campeche) hacia el este, en la amplia zona en que el sistema desemboca en el Golfo de México.

La región hidrológica del Grijalva-Usumacinta está integrada por tres subregiones: Alto Grijalva, Bajo Grijalva y Usumacinta y una parte de la subregión de Coatzacoalcos y seis cuencas: Grijalva-Tuxtla Gutiérrez, Grijalva-La Concordia, Grijalva-Villahermosa, Usumacinta, Lacantún y Chixoy.

El río Grijalva nace en Huehuetenango, en las cumbres de la sierra del Soconusco, Guatemala, para luego fluir entre las montañas chiapanecas. Por la margen derecha sus corrientes formadoras son guatemaltecas, en tanto que por su izquierda, son completamente mexicanas. Entre cañones como los de El Sumidero y La Angostura, el río cruza territorio chiapaneco y al llegar a los límites con Tabasco, cambia su nombre por el de Mezcalapa. Después de recibir el tributo del Pichucalco o Ixtacomitán, el Mezcalapa recibe inmediatamente las contribuciones del río de la Sierra, que nace en la meseta central de Chiapas y adopta nuevamente el nombre de Grijalva, con el que llega a Villahermosa, para seguir su curso hacia el mar. Todavía en este trayecto final recibe la aportación de los ríos



Chilapa y Chilapilla, que son dos brazos del río Tepetitlán o Tulijá, el último de los grandes caudales que se incorpora al Grijalva, procedente de las montañas chiapanecas.

El Usumacinta nace de los ríos Chixoy y Lacantún. El Alto Usumacinta marca la frontera entre Guatemala y México. Recorre 200 km a partir de la unión del río Salinas y el río de la Pasión, tributarios que le dan origen en el Gran Petén guatemalteco. El Usumacinta se abre paso entre desfiladeros e imponentes acantilados de más de 300 m de altura, hasta Boca del Cerro, a 12 km de Tenosique, en el estado de Tabasco. Allí comienza el Bajo Usumacinta y recibe 60 km después de Tenosique al más caudaloso de sus afluentes: el San Pedro, procedente del Petén guatemalteco. Después de Jonuta se le desprende el río San Pablo, que sirve de límite entre los estados de Tabasco y Campeche, hasta desembocar en el Golfo de México por la Barra de San Pedro.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

Se realizaron cuatro visitas a la zona de los Tuxtlas y Catemaco, Veracruz, entre noviembre del 2008 y mayo del 2010. En cada muestreo se recolectaron organismos y se hizo una breve caracterización del hábitat, ya que hasta el momento se desconocen las condiciones físico-químicas (se midieron los parámetros de calidad del agua, tipo de suelo, velocidad de corriente, temperatura, cantidad de oxígeno disuelto y salinidad) que prefieren los cangrejos de esta familia como óptimos para su asentamiento. Así mismo, aunque se sabe que habitan en zonas bajas, no se ha establecido con precisión su límite altitudinal. La información que se tiene sobre los cuerpos de agua donde han sido colectados no se ha sistematizado de manera que pueda ser útil para analizar áreas potenciales de distribución.

### **Parámetros físico-químicos**

La medición de parámetros físico-químicos se realizó con diferentes equipos según el parámetro a medir, temperatura y salinidad fueron registrados con el salinómetro digital marca YSI modelo 30/10 FT, la concentración de oxígeno disuelto con el oxímetro marca YSI modelo 5100, con sensor marca YSI modelo 5905, la velocidad de corriente y profundidad con el flujómetro marca Global Flow Probe modelo FP101-FP201.

### **Trabajo de campo**

Para la recolecta de los individuos se utilizaron redes de cuchara con malla de dos diferentes aberturas (de 0.5 mm y 5 mm), conociendo un poco acerca de la biología de estos cangrejos, se buscaron en las orillas de los cuerpos de agua con abundante vegetación y debajo de rocas en áreas someras. Cada muestreo tuvo una duración de 2 horas con el esfuerzo de trabajo de 2 personas en promedio en cada uno.

Todas las muestras biológicas se colocaron en contenedores etiquetados (fecha, localidad, colector) y fijadas en alcohol al 70%. Los individuos recolectados fueron depositados en la CNCR del IB-UNAM.

### **Trabajo de laboratorio**

Para establecer un patrón de distribución de los cangrejos tricodactílicos en el sur de México, se realizó una búsqueda en los registros de diferentes colecciones. Partiendo de los registros obtenidos de la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología, UNAM, se realizó una búsqueda en otras bases de datos con la finalidad de obtener más registros y poder diseñar un mapa de distribución más completo.

Se identificaron colecciones de crustáceos localizadas en el interior del país, tales como la Colección de Crustáceos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán; Colección de Vertebrados e Invertebrados de Tamaulipas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad del Noreste, A.C. y la Colección de Artrópodos no Insecta: Sección Crustacea de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León; se revisó además, la base de datos de crustáceos del Instituto Smithsonian. Los registros obtenidos fueron incluidos en un mapa de distribución elaborado con el programa ArcView GIS versión 3.1. Dentro de tales registros fueron incluidos los organismos que fueron colectados en las salidas al campo, realizadas para fines de este proyecto.

Se revisaron los 61 lotes de cangrejos tricodactílicos depositados en la CNCR, en donde se analizaron los caparazones de los cangrejos con la finalidad de observar diferencias en su morfología, ya que a simple vista, la forma y dentición de los mismos son caracteres comúnmente utilizados para definir a las diferentes especies. También se revisaron otros caracteres de importancia tales como el abdomen, el tercer maxilípedo, la forma de la quela y la frente lobulada, para determinar los grados de variación intra e interespecífica.

Se obtuvieron 22 muestras de gonópodos de cangrejos de 9 poblaciones diferentes de la especie *Avotrichodactylus constrictus* que es la que presenta un mayor número de individuos, para observar posibles diferencias en dicha estructura, misma que es de gran importancia taxonómica; también se analizaron gonópodos de *A. bidens* y *A. oaxensis* para poder compararlos con los de *A. constrictus*. Los gonópodos de los machos fueron montados en portaobjetos de aluminio con cinta de carbón, secados a punto crítico en un aparato marca EMITECH modelo K800, cubiertos con oro en un aparato marca SPUTTER COATER modelo K550 y fotografiados utilizando un microscopio electrónico de barrido (MEB) de la marca Hitachi modelo S-2060N localizado dentro del IB-UNAM.

Se realizó una comparación de las imágenes de los gonópodos obtenidas mediante microscopía electrónica, con el objetivo de observar posibles diferencias entre los individuos de cada cuenca hidrológica. Se tomó como referencia el surco central con el fin de que todas las imágenes estuvieran en la misma posición y pudieran ser comparadas. También se midieron los grados de angulación del ápice, para ésto, se tomó como referencia el surco central, se trazó una línea paralela al mismo, posteriormente, tomando como base la región más estrecha del “cuello” del gonópodo, se trazó una línea perpendicular; posteriormente se hizo un trazo final partiendo de la unión de las dos líneas hacía el surco central del ápice, este último trazo es el que nos proporcionó el ángulo de cada gonópodo medido con la ayuda de un transportador.

Adicionalmente al análisis morfológico, se analizaron 21 individuos de *A. constrictus* de siete poblaciones diferentes desde el punto de vista molecular. Se

secuenciaron los genes mitocondriales 16S ARNr y COI (véase la descripción aquí abajo), con el fin de obtener el grado de variación intraespecífica y determinar si se trata de una sola especie o de un grupo de especies. El mismo análisis fue realizado con 5 cangrejos de *Avotrichodactylus oaxensis* con el fin de obtener las primeras secuencias de ADN de éste género localizado exclusivamente en México.

Para obtener las muestras para el análisis molecular, se realizó una disección a cada uno de los individuos para la obtención de tejido, en todos los casos el tejido utilizado fueron las branquias. Para los individuos de tallas menores (<12 mm) también fueron utilizados el cuarto y quinto pereiópodos del lado derecho que fueron machacados y colocados con las branquias en tubos eppendorf previamente etiquetados.

El protocolo utilizado para la extracción y posterior obtención de ADN fue el de fenol-cloroformo, cuyo último paso consiste en suspender el ADN total en 100 µl de agua bidestilada y almacenar a -20 °C (Hillis *et al.*, 1996).

Posteriormente se realizó un procedimiento de amplificación mediante PCR de un fragmento del gen mitocondrial COI utilizando los oligos LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG -3') y HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA -3') (Folmer, 1994). El programa de PCR utilizado se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1. Programa utilizado en la PCR para la amplificación de ADN.**

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo (min.)	Acción
1	94	05:00	Desnaturalización
2	94	00:30	Desnaturalización
3	55	00:30	Alineamiento
4	72	01:30	Síntesis
5	Ir al paso 2 y repetir 35 veces		
6	72	01:30	Síntesis
7	4	∞	

Finalizado el programa de PCR, se realizó una electroforesis en gel a las muestras utilizando un marcador molecular, con el objetivo de observar si hubo una amplificación del ADN total.

Los productos amplificados de la PCR fueron purificados con columnas Montage™ PCR (Millipore, Bedford U.S.A.), re-suspendiendo en 20 µl de ddH<sub>2</sub>O. El paso siguiente fue la secuenciación cíclica en ambas direcciones (Hillis *et al.*, 1996) utilizando el kit

BigDye Terminador y los mismos oligonucleótidos; el programa de reacción de secuencias utilizado se presenta en la tabla 2. Para recobrar el ADN se utilizaron las columnas Centri Sep Spin Columns (Princeton Separations, Adelphia N. J.). Los productos fueron procesados en el secuenciador automático 3100 Genetic Analyzer (16 capilares) ABI Prism. El termociclador utilizado tanto en la PCR como en la reacción de secuencias fue un Eppendorf Mastercycler Gradient.

Para comprobar si se tenía ADN después de la extracción y amplificado al término de la PCR, se hicieron electroforesis en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio y se visualizaron con un UV transluminador UVP.

**Tabla 2. Programa utilizado en la reacción de secuencias.**

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo (min)“
1	96	01:00
2	96	00:05
3	50	00:10
4	60	04:00
5	Ir al paso 2 y repetir 30 veces	
6	60	00:05
7	4	∞

Utilizando las muestras de ADN total obtenidas, se realizó también el análisis para poder secuenciar un fragmento del gen 16S ARNr mitocondrial utilizando los oligos 16Sar (5'- CGCCTGTTTATCAAAAACAT -3') y 16Sbr (5'- CCGGTCTGAACTCAGATCACGT -3') (Daniels *et al.*, 2006a). El procedimiento utilizado fue el mismo que se realizó para el gen COI, lo único que cambió fue el programa de PCR, que se presenta en la tabla 3, el programa de reacción de secuencias fue el mismo para ambos genes (Tabla 2). Las muestras que se obtuvieron de la reacción de secuencias fueron enviadas al secuenciador del Laboratorio de Biología Molecular del IB-UNAM. Las secuencias obtenidas fueron revisadas con el programa Chromas Lite y alineadas con BioEdit para su análisis.

Para calcular la divergencia genética de las secuencias se utilizó el programa Model Test (Posada, 2008) que seleccionó el modelo que mejor se ajustaba a los datos y se realizó el análisis utilizando el programa PAUP (Swofford, 2002). Se elaboraron dos arboles de distancia, uno para cada gen, con el método de agrupamiento del vecino más cercano (Neighbor Joining). Para probar el soporte de ramas se llevó a cabo un bootstrap con 1000 réplicas, se utilizó como grupo externo una secuencia de *Dilocarnus laevifrons* para el gen 16S ARNr y una de *Callinectes sapidus* para el COI, los árboles fueron obtenidos utilizando el programa PAUP (Swofford, 2002).

**Tabla 3. Programa utilizado en la PCR para la amplificación de ADN, gen 16S ARNr.**

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo (min.)	Acción
1	95	02:00	Desnaturalización
2	95	00:30	Desnaturalización
3	48	00:40	Alineamiento
4	72	01:15	Síntesis
5	Ir al paso 2 y repetir 32 veces		
6	72	08:00	Síntesis
7	4	∞	

Para calcular tiempos de divergencia, se utilizaron dos tasas de mutación del COI, la que presentan especies hermanas de camarones chasqueadores del Istmo de Panamá *Alpheus* spp de 1.2% por millón de años (Ketmaier *et al.*, 2003) y la que presentan los grápsidos del género *Sesarma* en la isla de Jamaica de 2.3% por millón de años (Schubart *et al.*, 1998a). Con las tasas de mutación se hizo una regla de tres de la siguiente manera: divergencia obtenida por *Avotrichodactylus constrictus* por un millón de años entre 1.2 para calcular el mayor tiempo de divergencia o 2.3 para el menor tiempo.

## RESULTADOS

Se visitaron diferentes cuerpos de agua dentro de la zona de Los Tuxtlas y Catemaco, en el estado de Veracruz. De los parámetros físico-químicos medidos, se obtuvo un promedio (Tabla 4) sumando todos los valores correspondientes a cada parámetro de los diferentes sitios en los cuáles se encontraron cangrejos, debido a que las diferencias entre ellos eran mínimas.

**Tabla 4. Intervalo de condiciones físico-químicas donde fueron recolectados cangrejos tricodactílicos.**

Parámetro	Valores
Temperatura	21.6 - 24.6 °C
Profundidad	25 - 78 cm
Salinidad	0.14 – 0.24 ppm
Oxígeno disuelto	5.0 mg/l (61%) - 6.03 mg/l (74.1% de sat.)
Velocidad de corriente	0 - 26.6 km/h
Altitud	0 – 330 msnm.
Tipo de sustrato	rocoso (grava – arcilloso)

Se revisaron los 61 lotes (los cuales incluyen a los individuos que fueron recolectados durante este estudio) de cangrejos tricodactílicos que se encuentran depositados en la CNCR, que cuenta con un total de 296 individuos, de los cuáles tres pertenecen a especies distribuidas en Sudamérica *Trichodactylus panoplis* y *T. flubiatilis* (con uno y dos individuos respectivamente). Los 293 restantes pertenecen a las especies mexicanas, de los cuales 267 pertenecen a la especie *Avotrichodactylus constrictus*, 17 individuos de *A. oaxensis*, 8 de *A. bidens*, 1 de *Rodriguezia villalobosi* (ejemplar tipo) y no se cuenta con individuos de *R. mensabak* dentro de la colección.

### Distribución

Partiendo de los registros obtenidos de la CNCR y de la base de datos de crustáceos del Instituto Smithsonian, que cuenta con 46 individuos depositados en 10 lotes, de los

cuales 18 individuos pertenecen *Avotrichodactylus constrictus*, 17 *A. oaxensis*, 1 *A. bidens* y 10 identificados sólo hasta género, además de información bibliográfica, se elaboró un mapa de distribución obtenido con el programa ArcView GIS versión 3.1 (Fig. 7), cabe mencionar que las otras bases de datos consultadas, no aportaron información sobresaliente, debido a que no cuentan con registros de cangrejos tricodactílicos.

La especie *A. constrictus* que presenta un área de distribución mayor que el resto de las otras especies. En el estado de Veracruz es donde existe el mayor número de registros hasta el momento, también se localiza en el norte de Oaxaca, Tabasco y Chiapas, donde se han recolectado en cuerpos de agua cercanos a las ruinas de Palenque y cerca de la frontera con Guatemala.

*Avotrichodactylus oaxensis* es la segunda especie con mayor distribución, inicialmente sólo se localizaba en el norte de Oaxaca, estado del cual obtuvo su nombre, sin embargo en los últimos años también ha sido recolectada en el estado de Veracruz, cerca de Tres Zapotes y en la laguna Majahual, cercana a la región de Los Tuxtlas.

La tercera especie del género, *A. bidens*, presenta una distribución reducida y ha sido recolectada solamente en la localidad Cueva del Azufre o de las “sardinitas” en el estado de Tabasco.

Las especies del género *Rodriguezia* presentan un área de distribución reducida, sólo han sido recolectadas al norte del estado de Chiapas (Fig. 7); *R. mensabak*, es cavernícola y *R. villalobosi* presenta tallas pequeñas menores a 17 mm, lo que hace complicada la recolección de individuos.

Hasta el momento no se han registrado más de dos especies dentro de la misma porción de un río o localidad, pero si dentro de la misma región o cuenca hidrológica (Fig. 8).

### **Distribución basada en cuencas hidrológicas**

*Avotrichodactylus constrictus*, está presente en las seis cuencas hidrológicas en las cuales se tienen registros de esta familia de cangrejos, el mayor número de registros que se tienen de esta especie están en la cuenca del río Papaloapan (14 localidades), seguida de la cuenca del lago de Catemaco con seis, río Grijalva con cinco, Sontecomapan con dos, en las cuencas del río Tonalá y río Coatzacoalcos solamente se tiene registro en una localidad dentro de cada cuenca (Tabla 5).



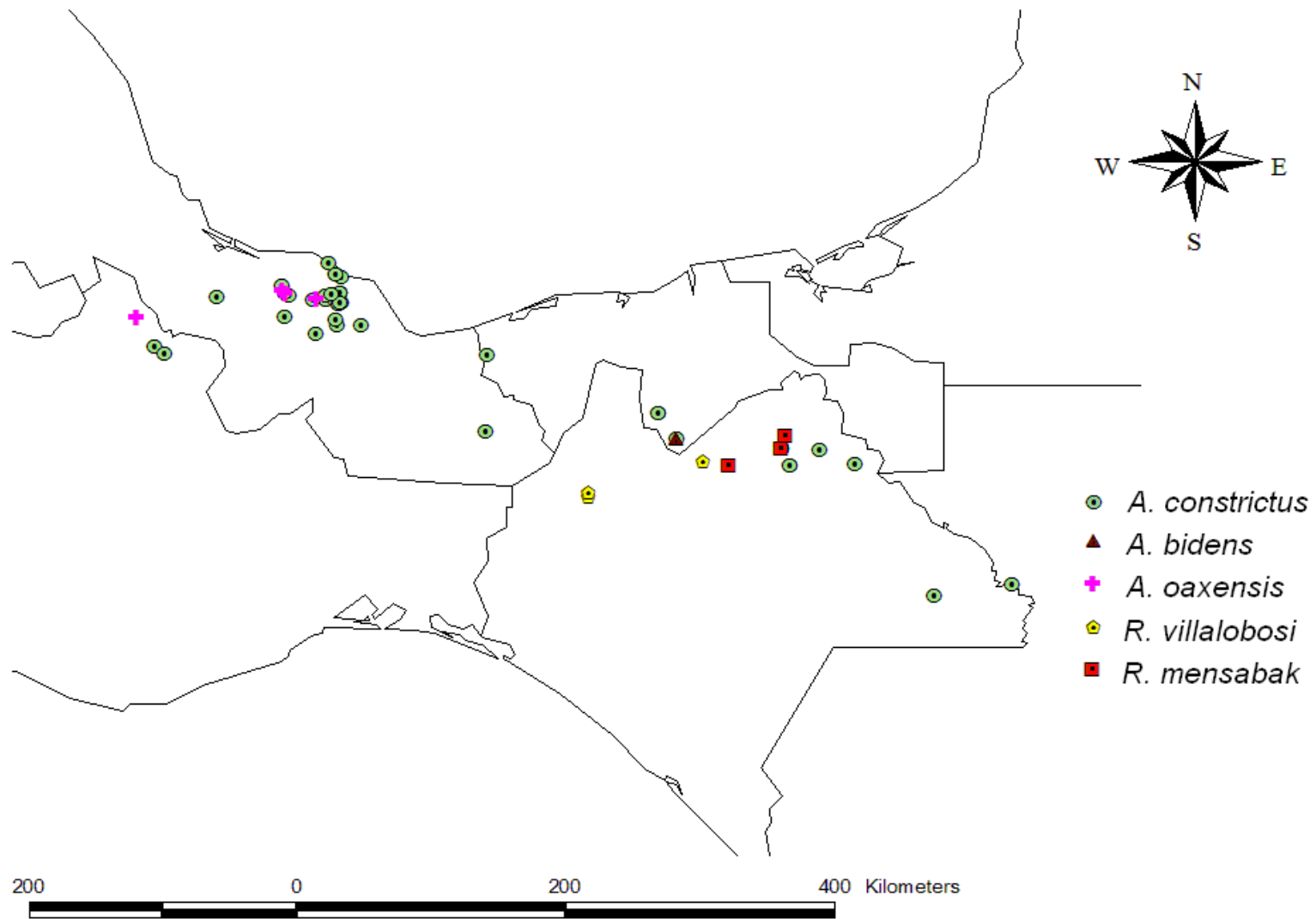


Figura 7. Mapa de distribución de las especies de la familia Trichodactylidae en México.

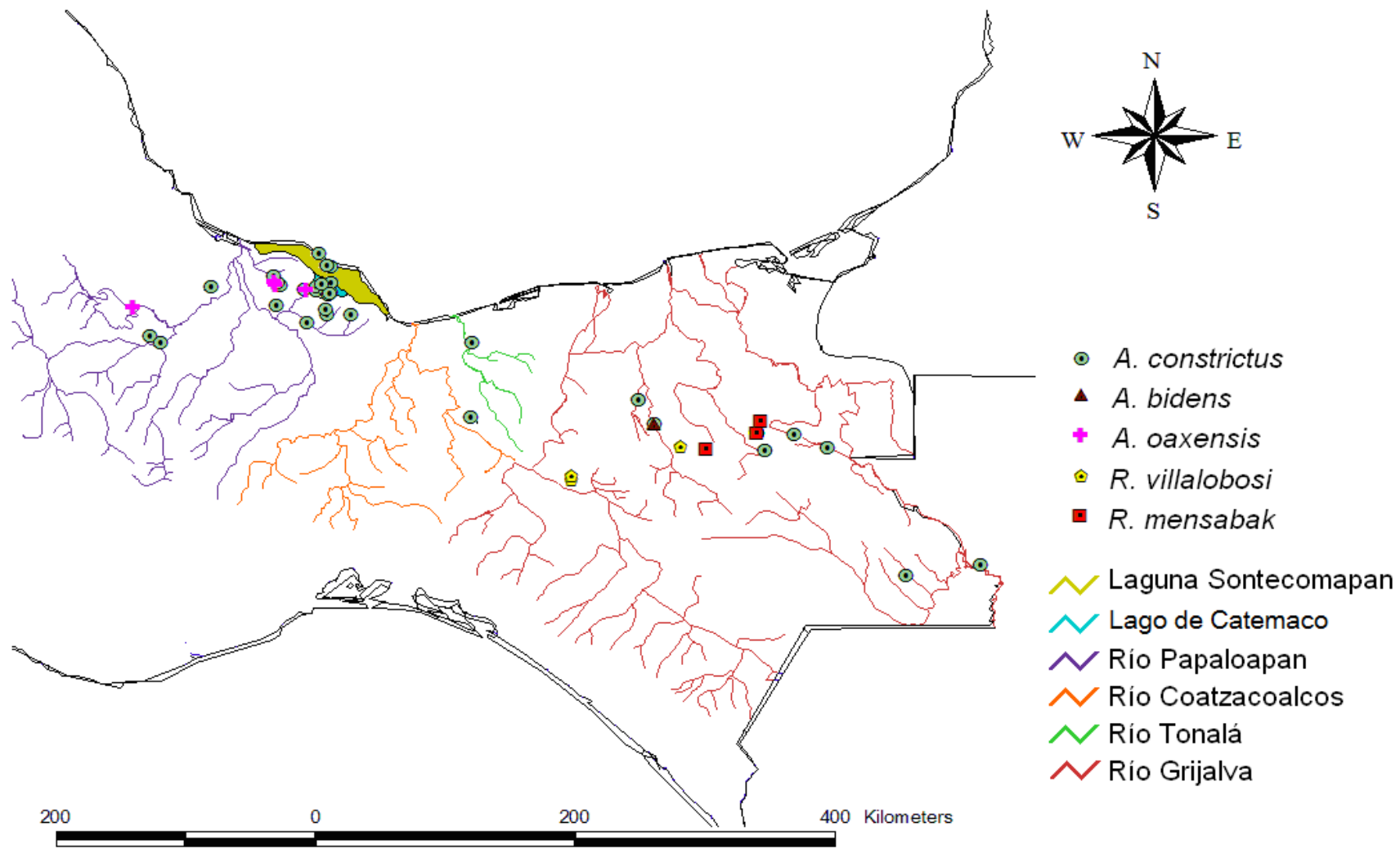


Figura 8. Cuencas hidrológicas y distribución de cangrejos tricodactílicos.

*Avotrichodactylus oaxensis* ha sido localizada solamente en la cuenca del río Papaloapan (Fig. 8, Tabla 5). A pesar de que las localidades en donde han sido recolectados presentan una distancia mayor a los 100km, es posible que existan poblaciones en puntos intermedios que no han sido muestreados hasta la fecha.

*Avotrichodactylus bidens* solamente ha sido recolectada dentro de la cuenca del río Grijalva (Fig. 8, Tabla 5). Es la especie del género *Avotrichodactylus* de la que menos registros se tienen.

*Rodriguezia villalobosi* fue recolectada en los márgenes del río Grijalva, río la Venta y en el sistema Malpaso-Pichucalco o presa "Netzahualcóyotl" dentro de la cuenca del río Grijalva (Fig. 8).

*Rodriguezia mensabak* fue recolectada en la comunidad de Tila y en un arroyo cercano a las ruinas de Palenque. La información sobre su recolecta y distribución fue obtenida a partir de revisiones bibliográficas debido a que no se cuenta con registros de ésta especie dentro de las bases de datos consultadas.

**Tabla 5. Cuerpos de agua donde se han recolectado cangrejos tricodactílicos y las cuencas hidrológicas a las que pertenecen. B, *Avotrichodactylus bidens*; C, *A. constrictus*; O, *A. oaxensis*; V, *Rodriguezia villalobosi*; M, *R. mensabak*.**

Cuenca Hidrológica	Localidad de recolecta	Especie
Laguna Sontecomapan	Río Maquinas, Montepío	C
	Río La Palma	C
Lago de Catemaco	Coyame, orilla del lago de Catemaco	C
	Playa Azul	C
	Lago de Catemaco	C
	Río entre las Margaritas y Tebanca	C
	Río a 500m antes de Las Margaritas	C
	Primer puente de las Margaritas a Tebanca	C
Río Papaloapan	Cañada Acatlan, río San Antonio	O
	Entre Tres Zapotes y Tlapacoyan	O
	Potrero	O
	Cueva de Juan Sánchez, Acatlán	O
	Laguna Majahual	O
	Piedra de Amolar Montebello	C
	Tuxtepec, Oaxaca, Papaloapan	C
	La Playita, Río Santiago	C
	Río Hueyapan	C
	Entre el Potrero de Medellín	C
	Medellín, desviación a Tres Zapotes	C
	El Zapotal	C
	La Playita, río Tepango, Santiago Tuxtla	C
	Salto de Eyipantla	C
	Puente Tesisapan, Manantial, Platanillo	C
	Arroyo Escuinapan	C
	Arroyo Pósolapan	C
Arroyo Río Tuxtla	C	
Hueyapan de Ocampo	C	
Río Coatzacoalcos	Tenochtitlan, Mesa San Lorenzo	C
Río Tonalá	Río Tonalá	C
Río Grijalva	Río Gonzáles	C
	Río Puyacatengo	C
	Cueva de Las sardinitas o del Azufre	B
	Palenque	M C
	Tila	M
	Rancho La Esperanza, Municipio El Bosque	V
	Río de la Venta	V
	Río Grande o Grijalva	V
	Malpaso-Pichucalco o Presa "Netzahualcóyotl"	V
km 27 carretera Palenque-Chancalá	C	
Río Usumacinta	C	

## Variación morfológica

La amplia distribución de *Avotrichodactylus constrictus*, incluyendo su presencia en diferentes cuencas hidrológicas, hace pensar que en realidad se trata de un conjunto de especies. De acuerdo a lo que se conoce sobre su biología, los cangrejos dulceacuícolas son especies que presentan desarrollo abreviado por lo que es muy posible que exista un cierto grado de variación morfológica que no ha sido caracterizado entre las diferentes cuencas en donde habitan estos cangrejos.

Se analizaron los caparazones de tricodactílicos de *A. constrictus* de diferentes cuencas (Fig. 9), presentan tres dientes o espinas a cada lado ubicadas por encima de la línea media del caparazón y variaciones de coloración que varían entre amarillo y naranja hasta un tono café verdoso, presentan una superficie lisa con algunos poros en los márgenes, los individuos juveniles presentan una superficie granular en algunos casos. Se observaron dos variaciones en la forma del caparazón, a) redondeados, como en el caso de los ejemplares Fig. 9e, 9m y 9p; b) semiorbiculares como el resto de los ejemplares de la Fig. 9. Al parecer, no existe una morfología que sea característica para cada cuenca, que pudiera ser el resultado del aislamiento de las poblaciones de cuencas diferentes (Fig. 8).

En la superficie del caparazón en la línea media, existe una depresión en forma de “H”, es un caracter bien definido que también presenta variaciones. Dentro de la misma cuenca o población existen individuos, principalmente los de tallas mayores, que presentan una depresión en H muy marcada y profunda, en individuos medianos existen variaciones que tienen un rango que va de profunda y marcada a muy leve y superficial.

Otra característica variable en el caparazón de esta especie es la frente lobulada. El rango de variación va de dos lóbulos perfectamente definidos a dos lóbulos poco diferenciados que dan la apariencia de ser solamente uno.

El tercer maxilípodo fue comparado entre individuos de diferentes cuencas y no se observó variabilidad en esta estructura (Fig. 10a 1-10). En relación al abdomen, los machos de esta especie no presentan variabilidad salvo en el tamaño, en las hembras se observaron dos morfologías diferentes, abdomen estrecho que no cubre por completo el área ventral (Fig. 10b 1) y abdomen grueso que cubre completamente el vientre (Fig. 10b 2).

Con respecto al caparazón de *A. oaxensis* la diagnosis de la especie dice que presenta cinco espinas o dientes laterales, es uno de los principales caracteres utilizados para identificarla de las otras dos especies del género. Presenta una superficie lisa y una tonalidad oscura, algunos individuos presentan alguna variación en el número de dientes laterales, pues existen individuos que no presentan simetría en este rasgo, teniendo cuatro dientes en uno de los lados y cinco en el otro. Caso similar se observa en *A. constrictus* en donde algunos individuos presentan tres y dos dientes a cada lado del caparazón. A decir por el número de espinas variable que presentan algunos individuos de esta especie, no existe

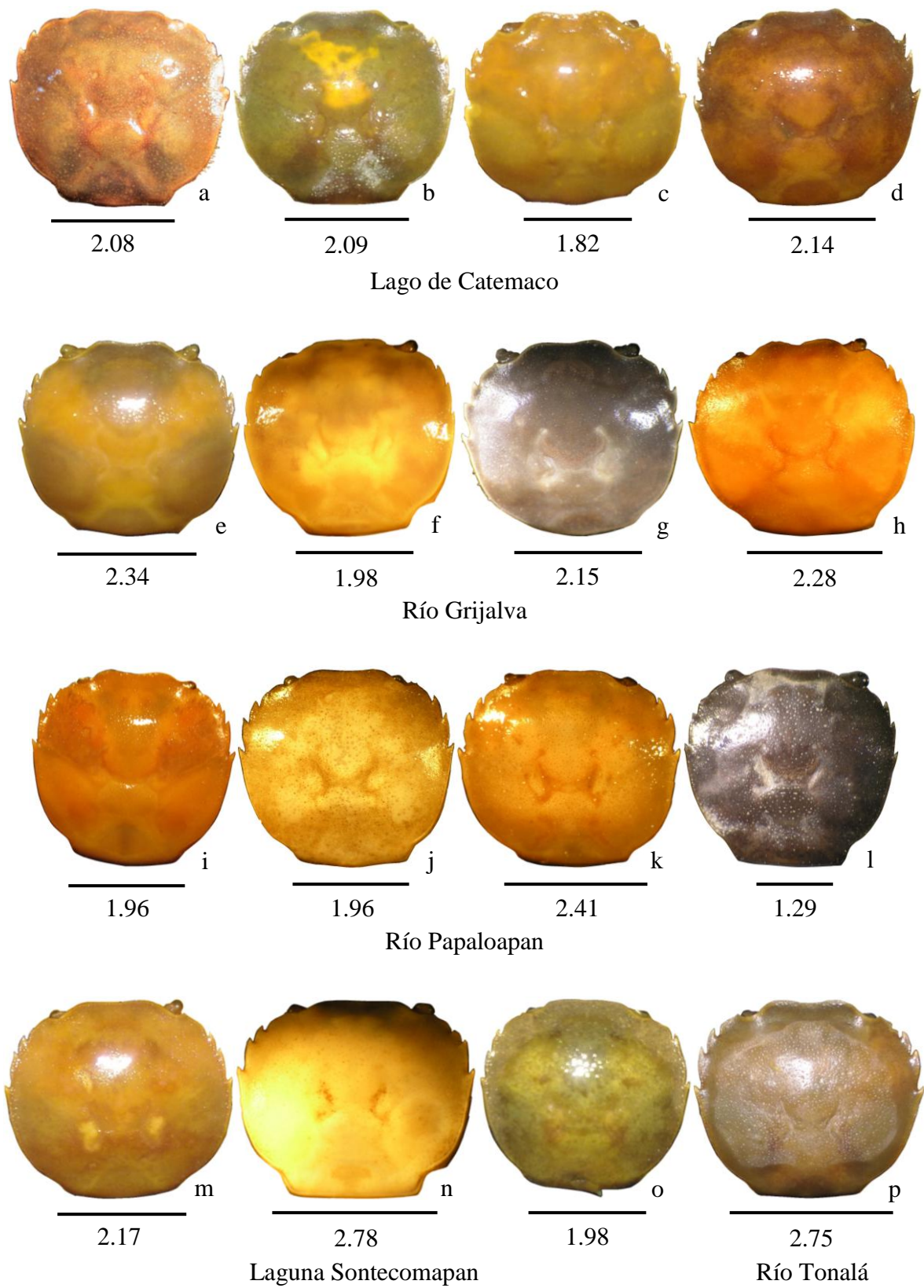
mayor variación en dicha estructura, presentan frente bilobulada y depresión en H más corta y ancha que la de *A. constrictus* (Fig. 11).

El caparazón de *Avotrichodactylus bidens* presenta dos dientes laterales al margen del caparazón (Fig. 11), la tonalidad es amarillo pálido debido a que se trata de una especie que habita en cavernas, presenta una superficie lisa, esta especie presenta gran similitud con *A. constrictus*.

Al realizar una comparación del abdomen entre las tres especies, *A. oaxensis* presenta un abdomen más redondeado en comparación con el de las otras dos especies, el abdomen de *A. constrictus* es más estrecho conforme llega al ápice (Fig. 11).

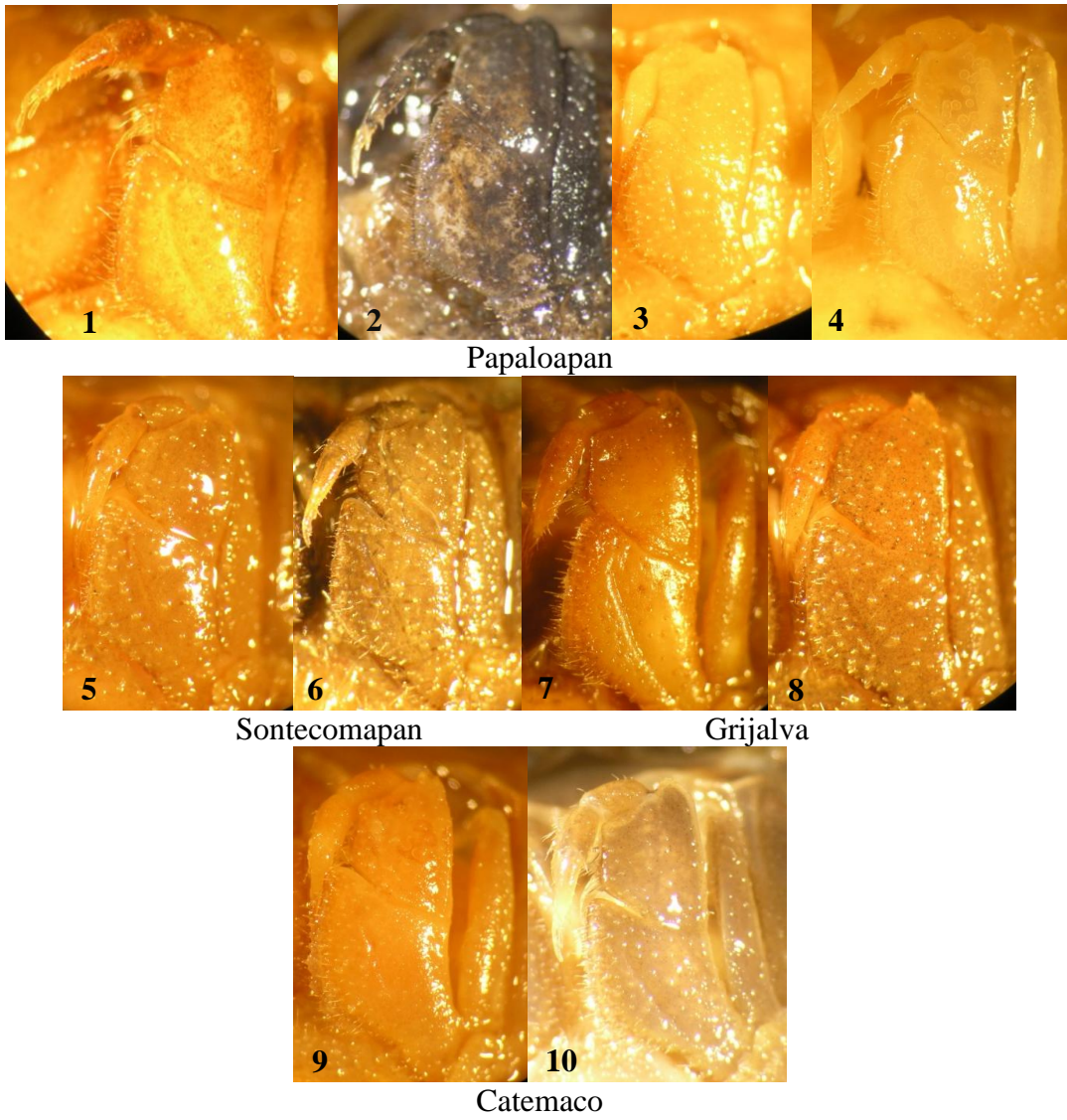
El otro género de la familia presente en México es *Rodriguezia* con dos especies, en la figura 12 se muestra al individuo holotipo de *R. villalobosi* depositado dentro de la CNCR con el número de catalogo 7832. La diagnosis de las especies de este género menciona que tienen el borde del caparazón liso, desprovisto de espinas o dientes, frente bilobulada, caparazón liso a simple vista, aunque presenta pequeños gránulos, con ausencia de pigmentación y desprovisto de córnea (*R. mensabak*) o con caparazón pigmentado y ojos provistos de córneas desarrolladas (*R. villalobosi*).

Otro carácter morfológico que fue revisado y que ha sido muy utilizado para establecer diferencias entre especies es la forma y ornamentación del gonópodo de los machos, que es característica para cada especie (Fig. 13).



**Figura 9. Caparazones de *Avotrichodactylus constrictus* de diferentes cuencas hidrológicas (medidas en centímetros).**

a



b

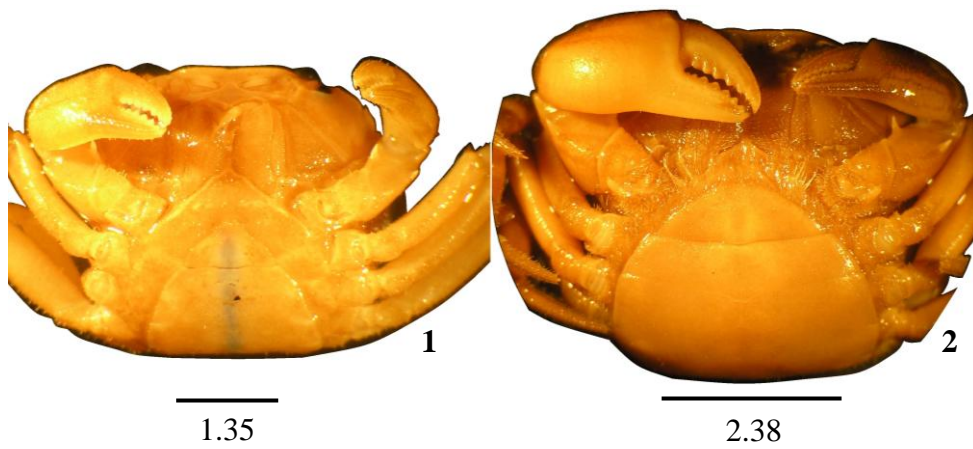


Figura 10. a, tercer maxilípido de *Avotrichodactylus constrictus* de diferentes cuencas hidrológicas; b, vista ventral de dos hembras de *A. constrictus* (medidas en centímetros).



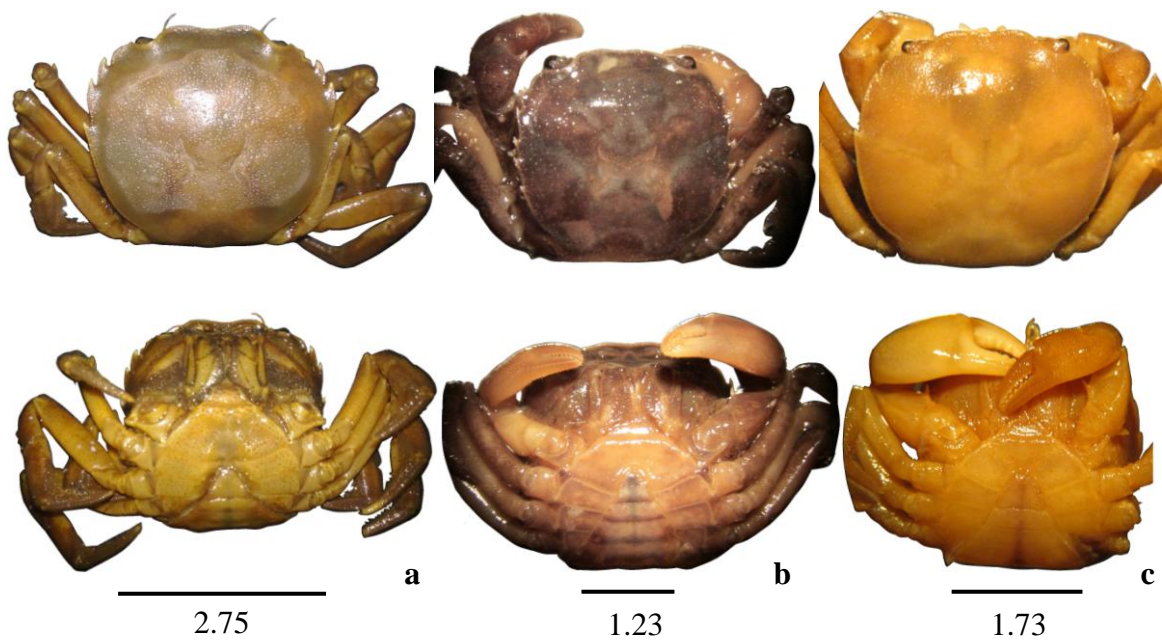


Figura 11. Caparazón y abdomen de las tres especies del género *Avotrichodactylus*; a, *A. constrictus*; b, *A. oaxensis*; c, *A. bidens* (medidas en centímetros).

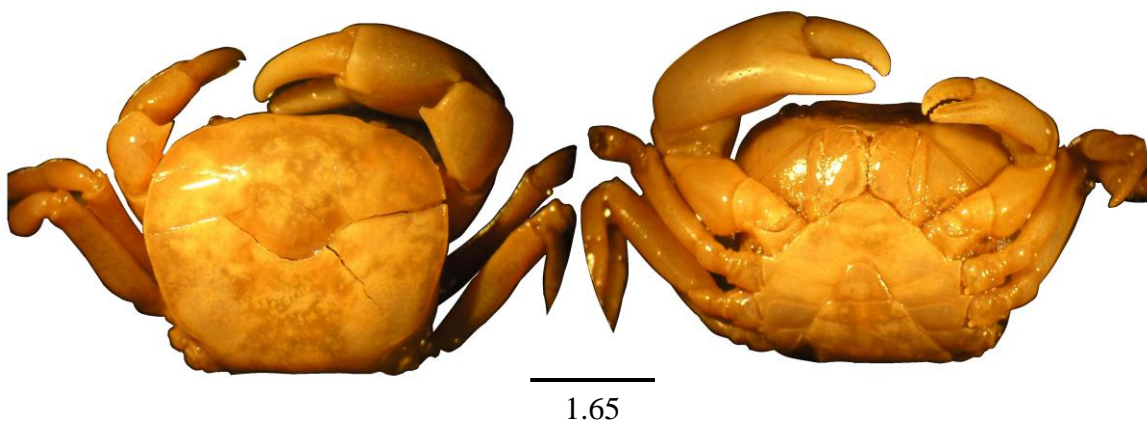
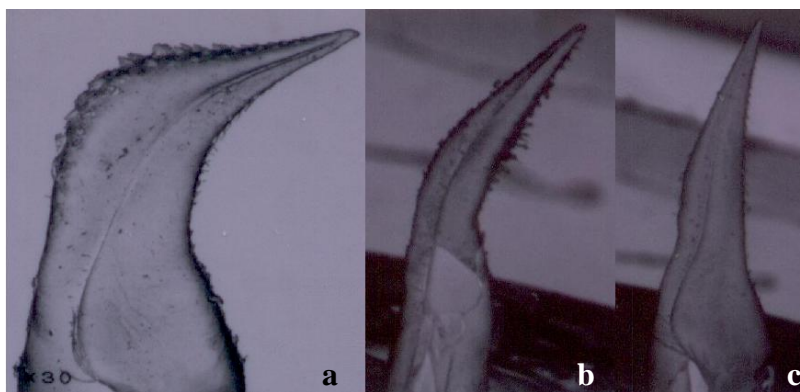


Figura 12. Individuo holotipo de *Rodriguezia villalobosi* depositado en la CNCR (medidas en centímetros).



**Figura 13. Gonópodos de las tres especies del género *Avotrichodactylus*. A, *A.constrictus*; b, *A.bidens*; c, *A.oaxensis***

Se revisaron muestras de gonópodos de 22 individuos de *Avotrichodactylus constrictus* de varias localidades (Tabla 6), los cuales fueron fotografiados utilizando el MEB del IB-UNAM, y se encontraron diferencias en dicha estructura. En la figura 14 se presenta la ubicación geográfica de las muestras de gonópodos basada en la información presentada en la tabla.

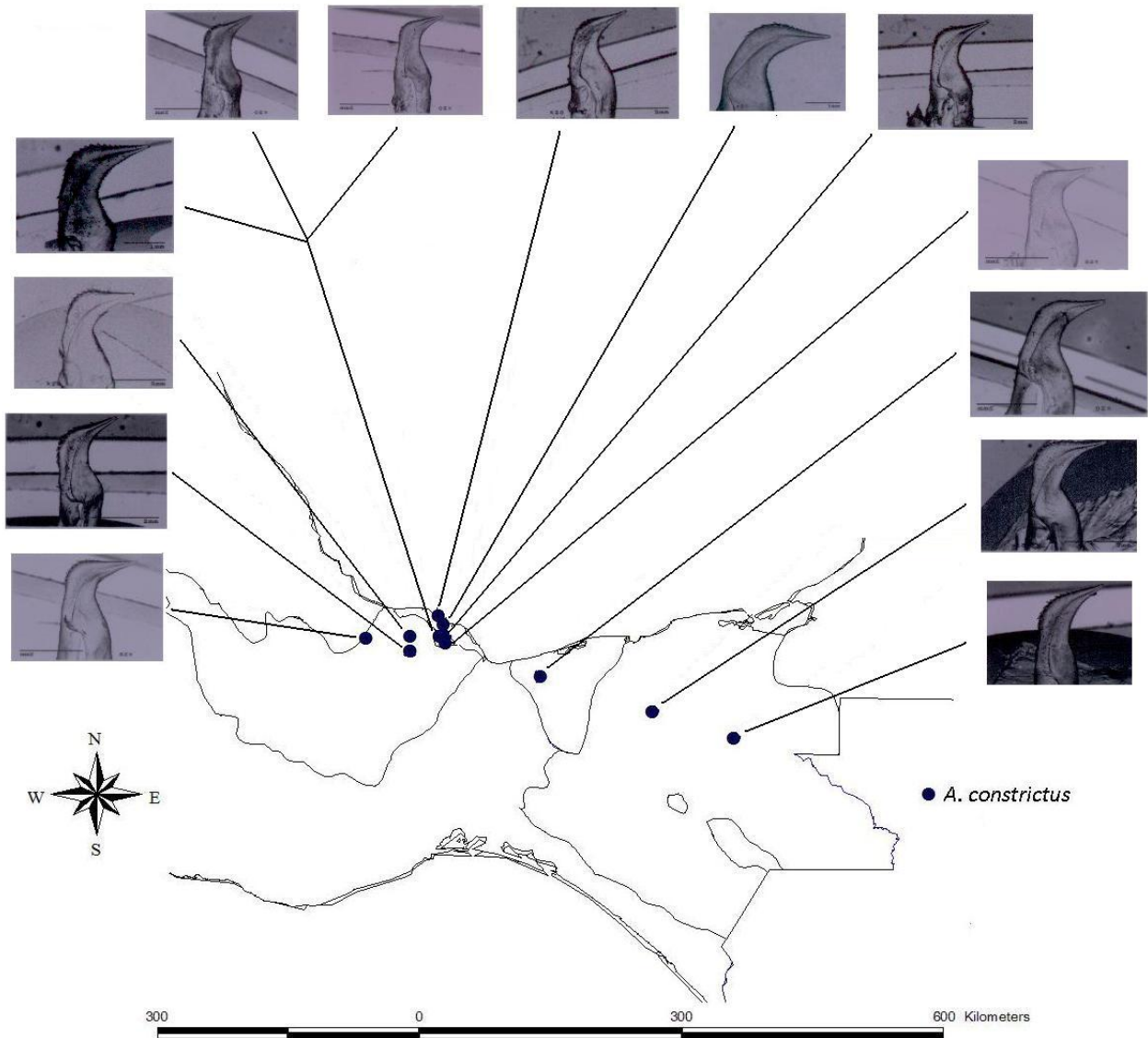
**Tabla 6. Localidades y sus respectivas cuencas a las que pertenecen las muestras de gonópodos de *Avotrichodactylus constrictus*.**

<b>Cuenca Hidrológica</b>	<b>Localidad de recolecta</b>
<b>Laguna Sontecomapan</b>	Río Maquinas, Montepío
<b>Lago de Catemaco</b>	Coyame, orilla del lago de Catemaco
	Playa Azul
	Río entre las Margaritas y Tebanca
<b>Río Papaloapan</b>	La Playita, Río Santiago
	Entre el Potrero de Medellín
	El Zapotal
<b>Río Tonalá</b>	Río Tonalá
<b>Río Grijalva</b>	Río Puyacatengo
	Palenque

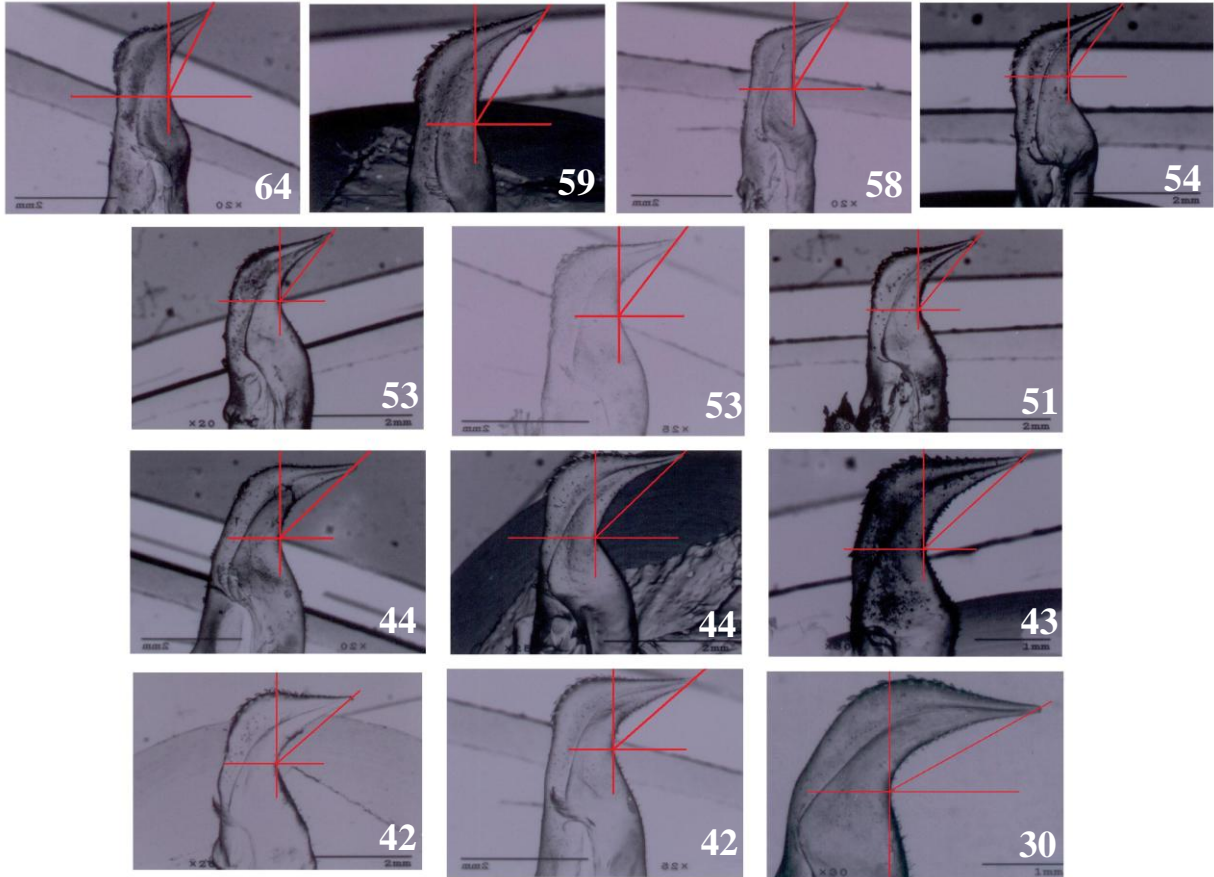
Se tomó como referencia el surco central con el fin de que todas las imágenes estuvieran en la misma posición y pudieran ser comparadas. Al comparar los gonópodos, puede apreciarse que en general presentan la misma estructura, sin embargo, es posible observar que existen diferentes grados en la angulación del ápice. En los individuos

recolectados en la cuenca del río Grijalva, se puede notar que presenta un ángulo mayor, que a simple vista parece ir disminuyendo conforme se va cambiando la longitud geográfica, en dirección este – oeste y de cuenca hidrológica, de manera tal que los individuos que se distribuyen en la cuenca del río Papaloapan presentan un ángulo más cerrado respecto a las del Grijalva (Fig. 14).

Para poder tener un valor objetivo de dicho cambio, se midieron los grados de angulación, se tomó como referencia el surco central, se trazó una línea paralela al mismo, posteriormente, tomando como base la región más estrecha del “cuello” del gonópodo, se trazó una línea perpendicular, posteriormente se hizo un trazo final partiendo de la unión de las dos líneas hacia el surco central del ápice, este último trazo es el que nos proporcionó el ángulo de cada gonópodo (Fig. 15), medido con la ayuda de un transportador.

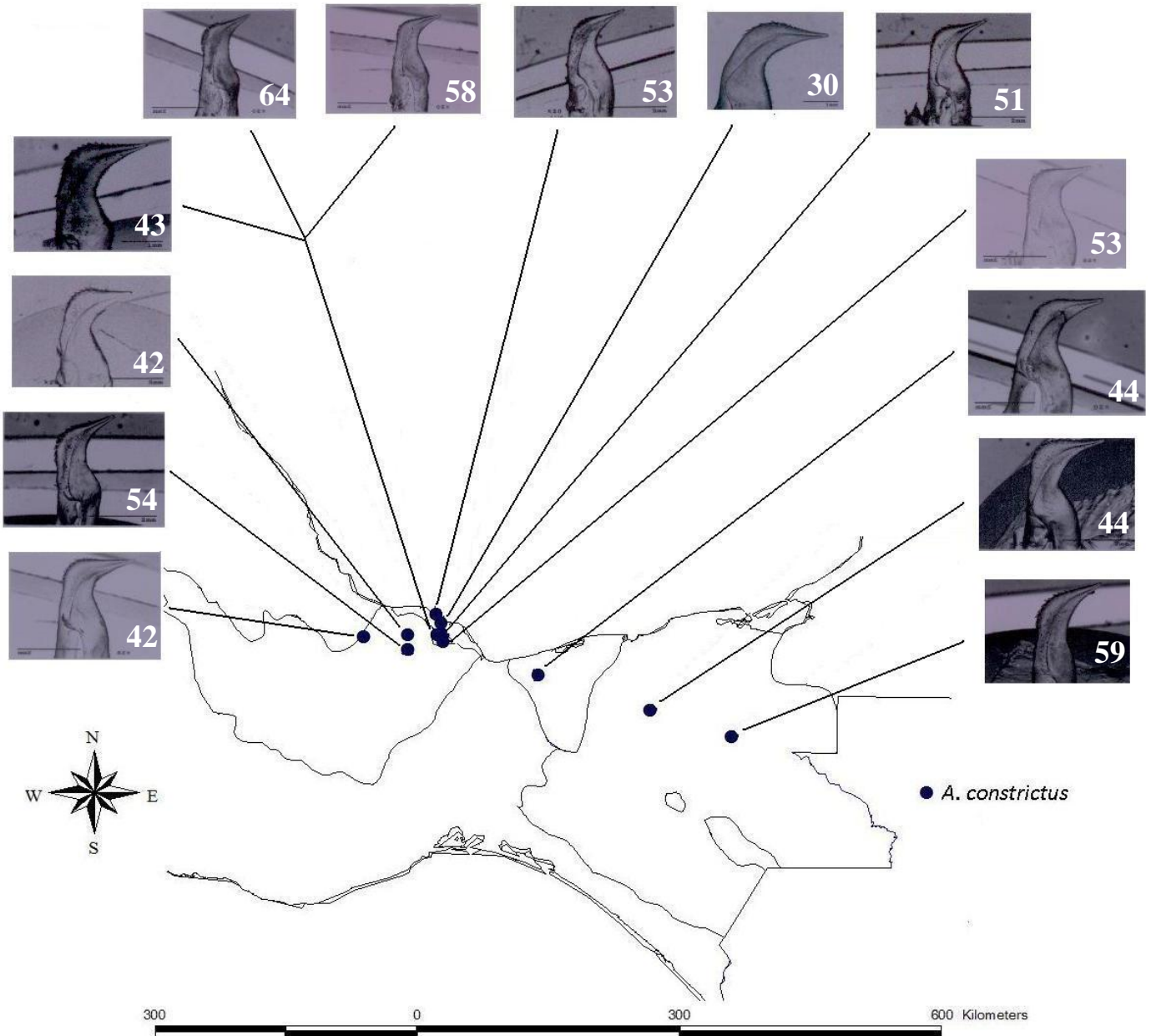


**Figura 14. Gonópodos de *Avotrichodactylus constrictus* de las diferentes cuencas que habitan.**



**Figura 15. Gonópodos de individuos de *Avotrichodactylus constrictus* de diferentes poblaciones, el número en la esquina inferior izquierda representa el ángulo del ápice.**

Se obtuvieron diferencias en los ángulos del ápice que varían en el rango de  $64^{\circ}$  –  $30^{\circ}$  (Fig. 16). Como se observa, no existe un cambio gradual en este carácter morfológico conforme cambia la ubicación geográfica, individuos dentro de la misma cuenca presentan diferentes valores respecto al ángulo del ápice, pero al compararse dichos valores entre individuos de diferentes cuencas se observa que existe similitud entre ellos, al parecer la distancia existente entre las poblaciones no afecta el grado estructural de sus individuos (Fig. 16).



**Figura 16.** Gonópodos de *Avotrichodactylus constrictus* de las diferentes cuencas que habitan, el número en la esquina inferior izquierda representa el ángulo del ápice.

### Variación genética

A la par de los análisis morfológicos, se realizó un análisis molecular con 21 individuos de *Avotrichodactylus constrictus* de siete poblaciones diferentes y cinco individuos de *A. oaxensis* de laguna Majahual (Tabla 7).

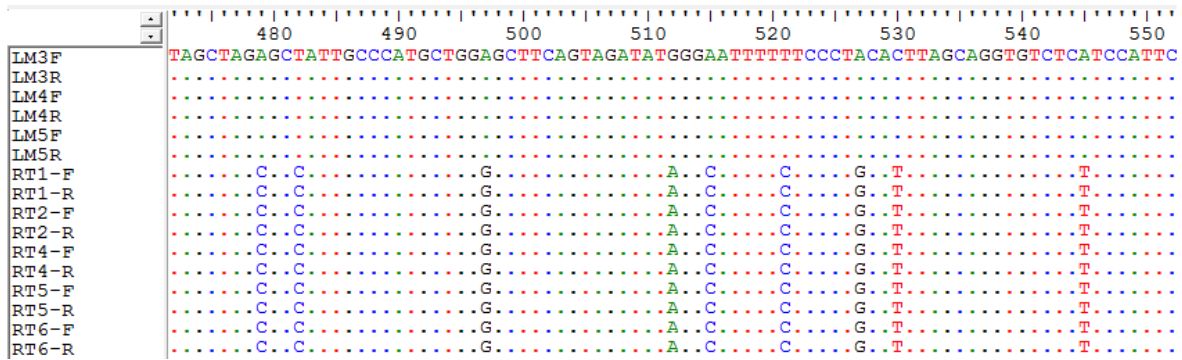
**Tabla 7. Poblaciones de *Avotrichodactylus constrictus* y *A. oaxensis* analizadas molecularmente.**

<b>Localidad</b>	<b>Individuos</b>	<b>Especie</b>	<b>Año recolecta</b>
<b>Río Tuxtla</b>	6	<i>A. constrictus</i>	30/10/2009
<b>Lago de Catemaco</b>	2	<i>A. constrictus</i>	04/08/1994
<b>Palenque</b>	3	<i>A. constrictus</i>	09/04/1986
<b>Río Tonalá</b>	2	<i>A. constrictus</i>	11/06/1997
<b>Los Azufres</b>	3	<i>A. constrictus</i>	14/10/1996
<b>Río Usumacinta</b>	2	<i>A. constrictus</i>	09/01/2002
<b>4 km antes Poza Reina</b>	3	<i>A. constrictus</i>	05/04/2002
<b>Laguna Majahual</b>	5	<i>A. oaxensis</i>	21/04/2005

De las 26 muestras obtenidas para el análisis molecular del gen mitocondrial COI, solamente se obtuvieron concentraciones altas de ADN total de las muestras de las localidades Laguna Majahual y Río Tuxtla, el resto resultaron negativas.

Se realizó un procedimiento de PCR a las muestras en las que se obtuvo ADN total, solo se obtuvieron amplificadas de 8 secuencias, tres para *A. oaxensis* y cinco para *A. constrictus*. Posteriormente se realizó un procedimiento de reacción de secuencias específico para secuenciar un fragmento del gen mitocondrial COI. Las secuencias obtenidas fueron analizadas con el programa Chromas Lite y alineadas con BioEdit (Fig. 17).

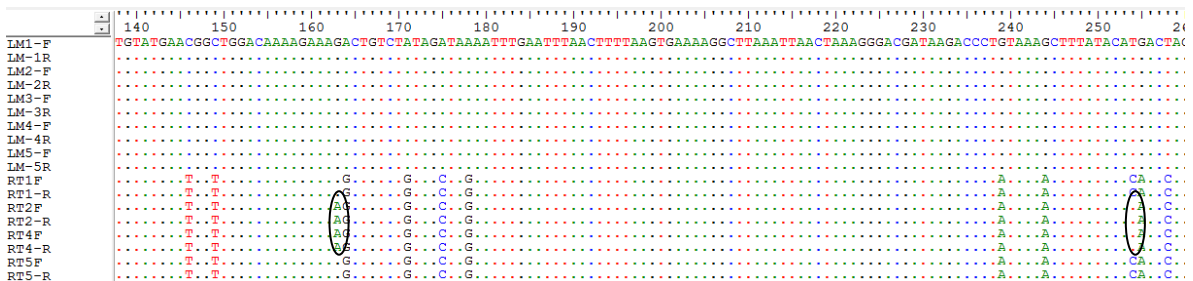
Como se puede apreciar en la figura 17, las primeras secuencias denominadas LM corresponden a la localidad laguna Majahual, sitio a la que pertenecen los individuos de *A. oaxensis*, las secuencias nombradas RT corresponden al río Tuxtla, localidad en donde se encuentran cangrejos de las especie *A. constrictus*. Se puede apreciar en esta sección de las secuencias que existen diferencias a nivel genético entre ambas especies como se esperaba.



**Figura 17.** Secuencias alineadas en BioEdit del gen COI de *Avotrichodactylus constrictus* y *A. oaxensis*. RT, río Tuxtla; LM, laguna Majahual; F, forware; R, reverse.

La longitud de la región amplificada en el gen mitocondrial COI fue de 577 pb, que corresponde al intervalo entre los sitios 73 y 649 del gen completo (1534 pb) de la jaiba *Callinectes sapidus*. La frecuencia de nucleótidos en el alineamiento fue de A = 0.2856, C = 0.2200, G = 0.1543, T = 0.3401. Las secuencias muestran 43 sitios variables, de los cuales 38 son transiciones y 5 transversiones. Todos los cambios encontrados entre las bases están en la tercera posición del codón.

Utilizando las muestras de ADN total obtenidas, se realizó el análisis para secuenciar el gen 16S ARNr mitocondrial. Las secuencias obtenidas fueron analizadas con el programa Chromas Lite y alineadas con BioEdit (Fig. 18).



**Figura 18.** Secuencias alineadas en BioEdit del gen 16S ARNr de *Avotrichodactylus constrictus* y *A. oaxensis*. RT, río Tuxtla; LM, laguna Majahual; F, forware; R, reverse. Los ovalos marcan los haplotipos diferentes encontrados.

Utilizando los oligos específicos para éste gen, se realizó una PCR. Se obtuvieron 9 amplificados (una secuencia más que las obtenidas para el gen COI), cinco de *Avotrichodactylus oaxensis* y cuatro de *A. constrictus* de las localidades laguna Majahual y río Tuxtla, respectivamente. La longitud de la región amplificada en el gen mitocondrial 16S ARNr fue de 466 pb, que corresponde al intervalo entre los sitios 13648 y 14124 del gen completo (15772 pb) del langostino *Macrobrachium rosenbergii*. La frecuencia de nucleótidos en el alineamiento fue de A = 0. 3604, C = 0. 1068, G = 0. 2069, T = 0. 3260. Las secuencias muestran 45 sitios variables, de los cuales 41 son transiciones y 4 transversiones. Todos los cambios encontrados entre las bases están en la tercera posición del codón.

Un elemento importante que se puede apreciar al comparar las secuencias es que existen dos haplotipos diferentes dentro de la especie *A. constrictus* que se ubican en la localidad del Río Tuxtla (Fig. 18), este es un elemento importante a tomar en cuenta porque son las primeras evidencias que se tienen de variabilidad genética dentro de una misma población para una especie de esta familia en México.

La otra especie del género, *A. bidens* no pudo ser secuenciada debido a lo antiguo de los ejemplares que se encuentran dentro de la CNCR, las dos especies *Rodriguezia villalobosi* y *R. mensabak* tampoco pudieron analizarse debido a que no se cuenta con ejemplares para este fin.

Para calcular la distancia genética entre las secuencias obtenidas del gen COI, se utilizó el modelo GTR elegido por Model Test (Posada, 2008) y analizado con PAUP (Swofford, 2002). Se obtuvo la matriz de la tabla 8, en donde se observa que existe variación y la divergencia genética entre las secuencias es de 8% ó 92% de igualdad.

**Tabla 8. Matriz de distancia genética entre secuencias del gen COI para dos especies de cangrejos tricodactílicos. LM, laguna Majahual; RT, río Tuxtla.**

	LM3	LM4	LM5	RT1	RT2	RT4	RT5	RT6
LM3								
LM4	0.00							
LM5	0.00	0.00						
RT1	0.08	0.08	0.08					
RT2	0.08	0.08	0.08	0.00				
RT4	0.08	0.08	0.08	0.00	0.00			
RT5	0.08	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00		
RT6	0.08	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	

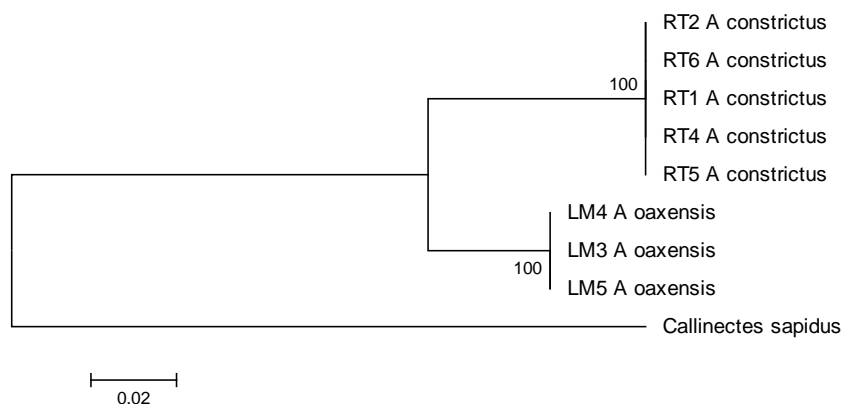


Con los resultados obtenidos se calculó el tiempo de divergencia de las secuencias, se utilizaron dos tasas de mutación del COI, la que presentan especies hermanas de camarones *Alpheus* spp. de 1.2% por millón de años (Ketmair *et al.*, 2003) y la que presentan los cangrejos grápsidos del género *Sesarma* de 2.3% por millón de años (Schubart *et al.*, 1998a).

1.2%	→	1,000,000	2.3%	→	1,000,000
8%	→	<u>6,670,000</u>	8%	→	<u>3,480,000</u>

El tiempo de divergencia entre las secuencias de las especies *Avotrichodactylus constrictus* y *A. oaxensis* esta entre los 6,670,000 y 3,480,000 años para este gen.

Se obtuvo el árbol de distancia utilizando el método Neighbor Joining y un apoyo de ramas Bootstrap de 1000 replicas (Fig. 19), en donde se puede observar el agrupamiento de las especies *A. constrictus* y *A. oaxensis*, con un apoyo de 100 en cada nodo de cada uno de los dos grupos.



**Figura 19. Árbol de distancia (Neighbor Joining) del gen COI con soporte de ramas de bootstrap en la parte superior.**

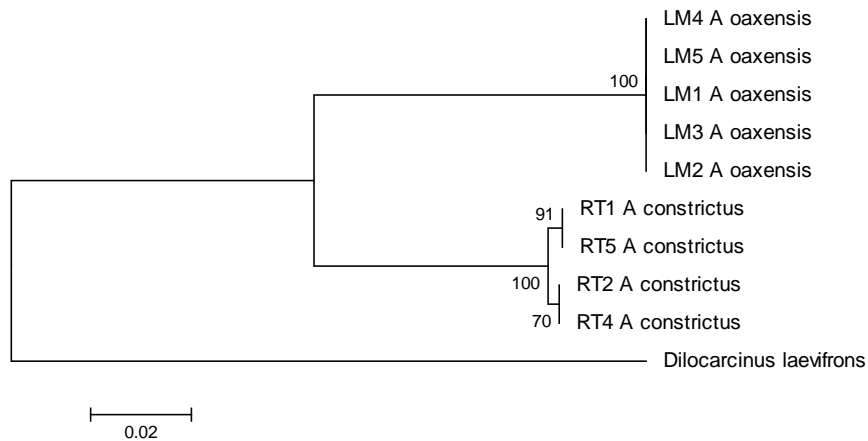
También se calculó la distancia genética entre las secuencias obtenidas del gen mitocondrial 16S ARNr, se utilizó el modelo HKY elegido por Model Test (Posada, 2008) y analizado con PAUP (Swofford, 2002). Se obtuvo la matriz de la tabla 9.

**Tabla 9. Matriz de distancia genética entre secuencias del gen 16S ARNr para dos especies de cangrejos tricodactílicos. LM, laguna Majahual; RT, río Tuxtla.**

	LM1	LM2	LM3	LM4	LM5	RT1	RT2	RT4	RT5
LM1									
LM2	0.00								
LM3	0.00	0.00							
LM4	0.00	0.00	0.00						
LM5	0.00	0.00	0.00	0.00					
RT1	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10				
RT2	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.00			
RT4	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.00	0.00		
RT5	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.00	0.00	0.00	

Se observa la variación existente, la divergencia genética entre las secuencias es de 10% ó 90% de igualdad.

Se obtuvo el árbol de distancia utilizando el método Neighbor Joining y un apoyo de ramas Bootstrap de 1000 réplicas (Fig. 20), en donde la distancia entre las secuencias de *Avotrichodactylus constrictus* y *A. oaxensis* es de 10% y se puede observar el agrupamiento de las especies, con un apoyo de 100 en cada nodo de cada uno de los dos grupos. Como grupo externo se utilizó la especie *Dilocarcinus laevifrons*, que también pertenece a la familia Trichodactylidae pero que se localiza en Sudamérica. La divergencia genética entre las secuencias de *D. laevifrons* y las mexicanas *A. constrictus* y *A. oaxensis* es de 25% ó 75% de igualdad, que corresponde a 27,780,000 años de divergencia entre ellas.



**Figura 20. Árbol de distancia (Neighbor Joining) del gen 16S ARNr con soporte de ramas de bootstrap en la parte superior.**

## DISCUSIÓN

Es muy poca la información que se tiene sobre esta familia en México, sólo han sido tomados en cuenta para estudios filogenéticos y biogeográficos en los estudios de Rodríguez (1982, 1986, 1992), Magalhaes y Türkay (1996a, b, c), Morrone y Lopretto (1996, 1997), Collins *et al* (2002) y von Sternberg (1997, 1998), como se mencionó dentro de la introducción, además, Morrone y Lopretto (2001) realizaron un estudio sobre la biogeografía de la familia en América del Sur que se mencionaron anteriormente; respecto a su biología es muy poco lo que se conoce. En los cuerpos de agua visitados dentro del área de Catemaco y Los Tuxtlas, en Veracruz, el fondo es rocoso en casi todo su cauce, en algunos sitios las orillas son lodosas y arenosas. Ríos como el Máquinas y la Palma presentan áreas deterioradas al margen de los cuerpos de agua, con presencia de remanentes de selva alta perennifolia debido al cambio en el uso de suelo que ahora es destinado principalmente al pastoreo. El lago de Catemaco presenta un alto nivel de deterioro, particularmente en una sección al sur de este cuerpo de agua; otros sitios, sin embargo, presentan un mejor nivel de conservación, debido a su relativa lejanía con asentamientos urbanos grandes.

Las condiciones de ríos y lagos en donde se han localizado estos cangrejos presentan similitudes en sus parámetros fisicoquímicos, en los resultados que se presentaron se puede observar que se localizan preferentemente en cuerpos de agua con una buena concentración de oxígeno (superior al 60% de saturación), a una profundidad no mayor a los 80 cm y con niveles muy bajos de salinidad; prefieren áreas someras o en su defecto, en cuerpos de agua donde la velocidad de corriente es mayor, se desplazan hacia las orillas y se establecen debajo de las rocas o entre la vegetación; hasta el momento su límite altitudinal lo presentan a los 330 msnm.

Las tallas de estos cangrejos (menores a los 5 cm) hace que sea complicada su recolecta, es probable que debido a esta condición y como respuesta para evadir a sus competidores o evitar ser presa de depredadores, presenten hábitos nocturnos, como lo demuestran los estudios de laboratorio de Zimmerman *et al.* (2009) en *Trichodactylus panoplus*, especie de la misma familia de cangrejos pero distribuida en Sudamérica, la cual presenta una mayor actividad durante la noche.

### Abundancia

En relación con la abundancia, *Avotrichodactylus constrictus* presenta un mayor número de individuos (267) dentro de la CNCR, además de ser la especie que presenta un área de distribución mayor en el sur del país según lo indican los registros obtenidos hasta ahora. Esta especie fue la única recolectada en las salidas al campo durante este proyecto, con un total de 33 individuos de tres localidades. Se conoce además, que puede ser

encontrada durante todo el año, al menos en el río Máquinas (Millán y Ojeda, 2007), dentro de Los Tuxtlas. *Avotrichodactylus oaxensis* es la segunda especie con mayor número de individuos (17) seguida de *A. bidens* (8). Estos números de ejemplares recolectados reflejan en el caso de las dos últimas especies su grado de rareza, Rodríguez (1992) registra 6 ejemplares más de *A. oaxensis* y 2 más de *A. bidens*.

Respecto al segundo género localizado exclusivamente en México, *Rodriguezia*, sólo se cuenta con el ejemplar tipo de *R. villalobosi*, y no se cuentan con individuos de *R. mensabak* dentro de la colección, la información sobre estas dos especies ha sido obtenida de fuentes bibliográficas, principalmente de los escritos de Rodríguez y Manrique (1966) y Rodríguez (1992).

El mayor número de individuos de *A. constrictus* y su amplia distribución, hace pensar en la idea de que en realidad se trata de un conjunto de especies y es posible que exista cierto grado de variación morfológica que no ha sido caracterizado entre las diferentes cuencas en donde habitan estos cangrejos.

## **Distribución**

Partiendo de los registros obtenidos de la CNCR y del Instituto Smithsonian, se diseñó un mapa de distribución de cangrejos tricodactílicos en el sur de México (Fig. 7), en el cual se observa la distribución que tiene cada una de las especies en el país.

El estado en el cual se encuentra el mayor número de poblaciones de estos cangrejos es Veracruz, principalmente en el sur de la entidad en las regiones de Los Tuxtlas y Catemaco, ésto debido quizás a lo mucho que ha sido estudiada la zona, en donde se desarrollan gran cantidad de trabajos de investigación. Es notable que el mayor número de poblaciones corresponde a *A. constrictus* y solamente tres poblaciones hasta la fecha se han encontrado de *A. oaxensis*. Estas son las únicas especies localizadas en esta entidad, el resto de las especies localizadas en el país presentan una distribución reducida. Chiapas es el segundo estado respecto al número de poblaciones presentes, sin embargo, es la entidad más diversa, con tres especies: *R. villalobosi*, *R. mensabak* y *A. constrictus* (Fig. 7), es el único estado en donde se encuentran distribuidas las especies del género *Rodriguezia*. El estado de Tabasco es el tercero en cuanto al número de poblaciones presentes y es el único en el que se tienen registros de *A. bidens*, especie que presenta gran similitud morfológica con *A. constrictus* y que se ha tenido la idea de que se trata de especies sinónimas (Magalhaes y Türkay, 1996a). Oaxaca es el estado en donde fue recolectada *A. oaxensis*, inicialmente sólo se tenían registros de esta especie en esta entidad, sin embargo, en los últimos años ha sido encontrada en sur de Veracruz. *A. constrictus* también se distribuye en el norte de este estado.

Como se puede observar en figura 7, a excepción de *Avotrichodactylus constrictus*, y en los últimos registros también *A. oaxensis*, las especies de cangrejos de esta familia presentan áreas de distribución muy limitadas.

*Rodriguezia mensabak* y *Avotrichodactylus bidens* solo han sido recolectadas en cavernas de acuerdo con la información que se obtuvo, sin embargo, el patrón de distribución del resto de las especies no se puede establecer basada en la información proporcionada en el mapa de distribución general (Fig. 7), razón por la cual, se recurrió a un análisis de las cuencas hidrológicas reconocidas por CONABIO, en donde han sido recolectados estos cangrejos, con el objetivo de establecer, si es posible, algún patrón que explique la distribución de estas especies.

### **Distribución basada en cuencas hidrológicas**

Son seis las cuencas en las cuales se han recolectado cangrejos tricodactílicos, laguna de Sontecomapan, lago de Catemaco, río Papaloapan, río Coatzacoalcos, río Tonalá y río Grijalva, ubicadas en los estados de Veracruz, Oaxaca, Tabasco y Chiapas.

La cuenca del río Papaloapan, ubicada en los estados de Veracruz y norte de Oaxaca es la que presenta un mayor número de poblaciones de cangrejos tricodactílicos (Tabla 5), la especie más abundante es *A. constrictus* que se localiza principalmente dentro del estado de Veracruz, en cuerpos de agua relativamente cercanos, que ramifican el mismo cauce de un río mayor. Su distribución en la zona es acorde a la información que se conoce sobre su dispersión, se extiende hasta el norte de Oaxaca, cerca de donde fue registrada *A. oaxensis*, dentro del brazo principal del río Papaloapan. Examinado la figura 8, se puede notar que, a pesar de que *A. constrictus* presenta una amplia distribución en esta región, sus poblaciones han sido localizadas muy cercanas a los brazos principales del río que da nombre a esta cuenca.

Dentro de la misma cuenca también se encuentra *A. oaxensis*, distribuida al norte de Oaxaca y sur de Veracruz (Fig. 8). En la figura 8 se puede apreciar que la distancia entre las dos poblaciones en este estado es mínima, se observa que la población ubicada al norte de Oaxaca esta ubicada cercana al brazo principal del río. A pesar de que las localidades en donde han sido recolectados presentan una distancia mayor a los 100 km, es posible que existan poblaciones intermedias que no han sido muestreadas. Dentro de esta cuenca se encuentran las dos especies ya mencionadas, las poblaciones de ambas no se localizan en la misma localidad, cada una ocupa su propia porción de río o lago, cabiendo la posibilidad de que haya alguna localidad que aún no ha sido visitada en donde interactúen las dos.

La cuenca del lago de Catemaco, que también es reconocida como subcuenca perteneciente a la del río Papaloapan, comprendida principalmente por el lago y ríos pequeños asociados, cuenta con seis poblaciones registradas, todas pertenecen a

*Avotrichodactylus constrictus*. En esta zona es en donde se localizan unidas las dos cuencas y en donde existe el mayor registro de poblaciones para esta familia, sólo comparable con la cuenca del Grijalva. La gran cantidad de registros puede representar un sesgo debido a que es una zona en donde se desarrollan muchos trabajos de investigación y recolecta de material biológico.

La pequeña cuenca de la laguna de Sontecomapan, ubicada en el área de Los Tuxtlas y muy cercana a Catemaco, cuenta con dos localidades en donde se han encontrado estos cangrejos, el río Máquinas y río la Palma, *A. constrictus* es la única especie que se ha encontrado en esta cuenca.

Respecto a la cuenca del río Coatzacoalcos, ubicada en el estado de Veracruz y muy cercana a la cuenca del Papaloapan, cuenta con sólo un registro de distribución de estos cangrejos. Se observa que sólo una población de *A. constrictus* esta presente (Fig. 8). Éste único registro fue obtenido de la base de datos del Instituto Smithsonian, por lo que no se cuenta con ejemplares de esta población para llevar a cabo un análisis morfológico de los mismos. Salvo el registro de distribución no se cuenta con información adicional de esta población. Considerando que existen poblaciones de cangrejos tricodactílicos dentro de esta cuenca y en los ríos cercanos a ella, es muy probable que existan más poblaciones dentro de su cauce.

La cuenca del río Tonalá, cuyo río principal le da el nombre y sirve también para la división política de los estados de Veracruz y Tabasco, cuenta con sólo una población registrada de *A. constrictus*. Debido a la aparente capacidad de dispersión de dicha especie, es probable que existan más poblaciones a lo largo del río que no han sido localizadas hasta la fecha.

La cuenca más grande del sur del país es la del Grijalva, también conocida como Grijalva-Usumacinta, que abarca casi en su totalidad los cuerpos de agua de Tabasco y Chiapas, En esta cuenca es donde se encuentra la mayor diversidad de especies de la familia con cuatro de las cinco descritas para México (Fig. 8), solamente *A. oaxensis* no está presente, las especies que presentan una distribución restringida, *A. bidens*, *Rodriguezia villalobos* y *R. mensabak* se localizan aquí, además de la especie con la distribución mas alta de la familia.

Como se mencionó anteriormente, las especies que presentan una distribución muy puntual habitan en cavernas, es probable que, debido a este hábitat característico, su distribución sea restringida y su densidad poblacional muy baja, por lo que se cuenta con pocos individuos de dichas especies. *Rodriguezia villalobosi* se localiza en una de las mayores presas del sur del país, la de Malpaso-Pichucalco, la extensión de este cuerpo de agua es grande y es probable que existan más poblaciones de esta especie dentro de este sistema que aún no han sido encontradas. *Avotrichodactylus constrictus* se localiza también

en esta cuenca, lo que la hace la especie con mayor distribución y la única localizada en las seis cuencas analizadas. Se observa que hay una población de *Avotrichodactylus constrictus* en la misma localidad que *A. bidens* (Fig. 8); sin embargo, las localidades donde se ubican son cercanas pero no es la misma, es debido a la escala del mapa que los puntos aparecen sobrelapados. Dentro del mapa de cuencas, se observa también que *A. constrictus* se distribuye hasta el sur de Chiapas en la frontera con Guatemala, los ríos en donde se localizan estas poblaciones también tienen su cauce en dicho país centroamericano. Esto hace pensar en la idea de que hay grandes probabilidades de que cangrejos tricodactílicos, en especial *A. constrictus* tengan presencia en Centroamérica.

Partiendo de la idea de posibles errores en las coordenadas geográficas que puedan afectar la distribución real de estas especies, cabe mencionar que muchos de los registros que se tienen carecen de ellas, por lo que las localidades de registro fueron ubicadas en mapas cartográficos de escala 1:250,000 del INEGI; aún así las coordenadas obtenidas son lo más cercanas a la distribución real, basado en las localidades de recolecta.

### **Variación morfológica**

Los cangrejos de la familia Trichodactylidae son morfológicamente los cangrejos de agua dulce más dispares entre sí dentro de la región Neotropical y muchos de los caracteres utilizados en las más recientes clasificaciones de la familia (Rodríguez, 1992; Magalhaes y Türkay, 1996a, b, c) parecen ser indicadores robustos de las relaciones que existen entre ellos (von Sternberg, 1997).

Se encontraron dos morfologías en los caparazones de *A. constrictus* redondeados, como en el caso del primer ejemplar del río Grijalva (Fig. 9e) y el primero y tercero de Sontecomapan (Fig. 9m, 9o), aunque ambas poblaciones se encuentren muy separadas entre sí (Fig. 8). La otra variedad de caparazón es semiorbicular, como los ejemplares del lago de Catemaco (Fig. 9a – 9d), el segundo de la cuenca de Sontecomapan (Fig. 9n), los del Papaloapan (Fig. 9i – 9l) y el ejemplar del río Tonalá (Fig. 9p).

La morfología del caparazón en los individuos del lago de Catemaco es muy similar entre ellos, variando sólo en las tallas, esto es congruente debido a que se localizan dentro de la misma cuenca. En la cuenca del Grijalva, se encuentran las dos morfologías de esta estructura, redondeada y semiorbicular. La morfología del caparazón de los individuos de la cuenca del Papaloapan es similar al de los individuos del Lago de Catemaco y los de la cuenca del Grijalva. En el caso de los individuos de la cuenca de Sontecomapan, dos son redondeados (Fig. 9m, 9o) y el otro presenta una estructura semiorbicular. Al momento de comparar los individuos de esta cuenca, con los de la cuenca del Grijalva, puede observarse que existe gran similitud entre ellos, ambas cuencas presentan individuos con caparazones redondeados y semiorbiculares, el caparazón del individuo del río Tonalá es más parecido a

los que se localizan en el lago de Catemaco y en el Papaloapan que con los de cualquier otra cuenca a pesar de que no existe relación entre ellas, es decir no hay ningún cuerpo de agua que las una, salvo el mar.

Luego de analizar la forma del caparazón de un gran número de individuos depositados dentro de la CNCR, no se encontró una morfología que sea característica a cada una de las cuencas, sin embargo, la morfología semiorbicular es la más común. Se esperaba que existiera una diferenciación característica de cada cuenca como resultado del aislamiento de las poblaciones.

La depresión en H y la frente bilobulada se pueden apreciar como dos caracteres que también son variables (Fig. 9). Respecto a la depresión en H, ubicada en la superficie del caparazón en la línea media, se observa que existen individuos en los cuales dicha estructura está fuertemente marcada, como los dos primeros ejemplares del lago de Catemaco (Fig. 9a, 9b), el tercero y cuarto del río Grijalva (Fig. 9f, 9g), el cuarto del río Papaloapan (Fig. 9l) y el segundo de Sontecomapan (Fig. 9n); siendo en otros muy leve y superficial (Fig. 9o), quizás la forma del caparazón condiciona esta característica, sin embargo, individuos analizados y cuyas imágenes no se muestran, presentan depresiones en H superficiales y caparazón semiorbicular. En los individuos analizados no se encontró que exista relación entre el estadio o el sexo de los cangrejos y lo profunda o superficial de la depresión en H, tanto hembras como machos adultos presentan variaciones en lo marcado de éste carácter, lo mismo se observa en individuos en estadio juvenil.

Otra característica variable dentro del caparazón es la frente bilobulada, dentro de los ejemplares analizados se encuentra un gradiente, desde dos lóbulos perfectamente marcados, como el ejemplar tres del lago de Catemaco (Fig. 9c) y el cuarto del río Grijalva (Fig. 9h), hasta individuos que a la vista parecen tener sólo uno, como se observa en el segundo ejemplar de la cuenca de Sontecomapan (Fig. 9n). Existen poblaciones que presentan este intervalo de variación entre sus individuos, por lo que no es una característica que aporte gran información para pensar en especies diferentes. Para este carácter, no se encontró que exista alguna relación respecto al sexo o al estadio de los individuos.

Otro carácter morfológico que fue analizado para observar la presencia de posibles variaciones dentro de *Avotrichodactylus constrictus* de diferentes poblaciones y cuencas fue el tercer maxilípodo, en donde se observa que no existe variación salvo en la tonalidad y textura (Fig. 10a 1-10), unos individuos presentan una superficie lisa (Fig. 10a 4, 10a 7) o con pequeños poros (Fig. 10a 1 - 2) y otros presentan vellosidades en toda la estructura (Fig. 10a 5 - 6, 10a 8), características que carecen de valor taxonómico.

En la figura 10b, se observa que existen dos morfologías en el abdomen de las hembras, unas presentan un abdomen estrecho (Fig. 10b 1) y otras presentan un abdomen



ancho (Fig. 10b 2). Esta variación puede deberse al estadio de la hembra, es probable que las hembras juveniles presenten un abdomen estrecho debido a que se encuentran en desarrollo y las que presentan un abdomen grueso sean hembras ovígeras, que presentan dicha estructura desarrollada para la carga y protección de los huevecillos. Las hembras que tienen un abdomen ancho son de tallas mayores a las hembras con abdomen estrecho. En relación al abdomen de los machos, no se ha observado variabilidad en esta estructura, las diferencias más notables se encuentran en los gonópodos.

Con respecto al caparazón de *A. oaxensis* no se encontraron diferencias en esta estructura en los individuos de las diferentes poblaciones, los individuos más pequeños (menores a 22 mm) presentan una superficie granular y blanda, esto puede deberse a que se encuentran en fase de muda. Respecto al abdomen, las hembras presentan estructuras similares a las de *A. constrictus* con abdómenes anchos y estrechos, las hembras de tallas mayores presentan abdomen grueso y otras de tallas menores estrecho, lo que refuerza la posibilidad de que sea debido al estadio en el que se encuentran que presentan una u otra forma.

*Avotrichodactylus bidens* es una especie que presenta gran similitud con *A. constrictus*, inclusive algunos autores han sugerido que se trata de especies sinónimas (Magalhaes y Türkay, 1996a). En su diagnosis se menciona que presenta dos espinas laterales en el borde del caparazón, a diferencia de *A. constrictus* que presenta tres (Fig. 11), sin embargo, esta característica puede ser mal interpretada y se corre el riesgo de identificaciones erróneas, debido a que existen individuos de *A. constrictus* que presentan tres espinas en un lado del caparazón y dos del lado opuesto, o bien las espinas no están bien definidas y sólo aparecen estructuras lobulares que si no son bien analizadas ante el microscopio podría dar la apariencia de carecer de ellas. En este caso, una probable explicación es que los individuos fueron recolectados recién pasada su muda, por lo que las estructuras aun son blandas y no están bien definidas. A pesar de esto, *A. bidens* presenta diferencias morfológicas características como son la forma del abdomen y del gonópodo de los machos (Figs. 11 y 13). Basados en la dentición del caparazón, forma del abdomen y del gonópodo, caracteres muy utilizados para diferenciar entre especies, *A. bidens* es considerada como una especie separada de *A. constrictus* dentro de éste estudio.

Al realizar una comparación del abdomen dentro de las tres especies, *A. oaxensis* presenta un abdomen más ancho y redondeado en comparación de las otras dos especies, el abdomen de *A. constrictus* es grueso en la base y se hace estrecho conforme llega al ápice, *A. bidens* presenta una forma intermedia (Fig. 11).

El otro género de la familia presente en México es *Rodriguezia* que a diferencia del género *Avotrichodactylus*, presenta un caparazón desprovisto de dientes en los bordes laterales. *Rodriguezia mensabak* esta desprovista de córneas debido a que se trata de una especie que habita en cavernas y presenta una coloración pálida, *R. villalobosi* si tiene

córneas desarrolladas y presenta una coloración más fuerte. Es muy poca la información que se tiene sobre este género, toda la información se basa en bibliografía de Rodríguez y Manrique (1966) y Rodríguez (1992), debido a que no se cuenta con ejemplares para su análisis.

En relación al análisis de los gonópodos, el de *Avotrichodactylus constrictus*, presenta una morfología que se asemeja a la cabeza y cuello de un ave, *A. bidens* presenta el ápice menos inclinado y es más estrecho, mientras que *A. oaxensis* presenta una estructura completamente vertical; al observar las tres estructuras juntas, parece existir cierto gradiente de inclinación del ápice.

Al comparar los gonópodos de individuos de *A. constrictus* distribuidos en diferentes cuencas, se aprecian leves diferencias (Fig. 14) siendo la más significativa la relacionada al grado de angulación del ápice (Fig. 15), sin embargo, aparentemente no existe un ángulo o morfología característica para cada cuenca, se observó que individuos pertenecientes a cuencas diferentes presentan similitudes en dicha estructura e individuos dentro de la misma población presentan rangos de cambio.

Dentro de la cuenca del Grijalva, los gonópodos presentan una variación  $44^{\circ}$  a  $59^{\circ}$ , caso muy similar se presenta en la cuenca del Papaloapan con intervalos de variación de  $42^{\circ}$  a  $54^{\circ}$ , individuos de la cuenca del río Tonalá presentan una curvatura de la misma medida que uno de los individuos del Grijalva con  $44^{\circ}$ , dentro de la cuenca de Sontecomapan se encuentra el individuo que tuvo el grado de angulación menor con  $30^{\circ}$ , el otro individuo de esta cuenca presenta un ángulo de  $53^{\circ}$ , medida que es muy distinta entre los dos ejemplares. Dentro de la cuenca del lago de Catemaco, principalmente entre los individuos que se recolectaron en el lago, localidad tipo para esta especie, existe un intervalo de variación muy amplio de  $43^{\circ}$  a  $64^{\circ}$ , en esta cuenca se presenta hasta el momento el individuo con el grado del ápice más abierto con  $64^{\circ}$ . En Sontecomapan se encuentra el ejemplar con el ángulo más cerrado que corresponde a  $30^{\circ}$  (Fig. 16) de acuerdo a los resultados obtenidos.

El gonópodo es una estructura importante que se toma en cuenta para la descripción de especies de la familia. Debido a la separación en diferentes cuencas, en donde no existe ningún tipo de contacto entre las poblaciones, se pensaba que existiría una morfología particular para cada una, pero como se puede apreciar no existe un cambio gradual en este carácter conforme cambia la ubicación geográfica. Individuos dentro de la misma cuenca presentan diferentes valores respecto al ángulo del ápice, pero al compararse dichos valores entre individuos de diferentes cuencas se observa que existe similitud entre ellos. Al parecer la distancia existente entre las poblaciones no afecta el grado de diferenciación en este carácter.

En relación a la morfología, durante las recolectas realizadas durante muchos años, cabe mencionar que en todas las poblaciones de cangrejos de agua dulce que los autores habían examinado en su momento, han encontrado una variación morfológica intrapoblacional muy reducida o ausente (Álvarez y Villalobos, 1997).

Durante el desarrollo de este proyecto se encontró que si existen variaciones morfológicas para los individuos de esta familia, principalmente en la especie cuya área de distribución es mayor, encontrándose en diferentes cuencas hidrológicas. No obstante, la variación observada no es lo suficientemente contundente como para considerar que en realidad se trata de un conjunto de especies. Es importante saber si ese cambio responde a las condiciones del medio, como plasticidad fenotípica intrínseca, o si en verdad dichas variaciones son considerables y estén involucrados ciclos de reproducción y elección de pareja, casos en los cuales se estaría observando un proceso de selección en camino a una posible especiación debido a la separación de las poblaciones.

### **Variación genética**

Debido a la alta distribución y número de individuos que se tienen de *Avotrichodactylus constrictus*, se realizó un análisis molecular con 21 individuos de siete poblaciones diferentes y con cinco individuos de *A. oaxensis* cuyas localidades se presentan en la tabla 7.

Cuando se iniciaron los análisis moleculares, se tenía contemplado obtener una gran cantidad de secuencias de diferentes poblaciones para ser comparadas, pero como se pudo observar, sólo una tercera parte pudieron ser secuenciadas. Entre las probables causas están: se dispuso de pocos individuos de cada población, las tallas pequeñas de los individuos no permitieron obtener gran cantidad de tejido, los métodos y programas de PCR utilizados inicialmente no eran los adecuados para estos cangrejos, la calidad de las muestras se deterioró con el tiempo e influyó el que las muestras de la CNCR IB-UNAM están preservadas en alcohol al 70%. Cabe mencionar que las muestras no mayores a cinco años (Tabla 7) fueron las que pudieron ser secuenciadas, muestras de los años 2002 hacia atrás no pudieron ser secuenciadas. Debido a que solamente pudo ser secuenciada una población de *Avotrichodactylus constrictus* y una de *A. oaxensis* el análisis molecular se centró en conocer las diferencias a nivel genético y poder conocer los tiempos de divergencia entre ambas especies. *Avotrichodactylus bidens* no pudo ser secuenciada debido a los pocos ejemplares con los que se cuenta pero sobre todo, a que las muestras son cercanas a los 15 años de antigüedad. No se cuenta con ejemplares del género *Rodriguezia* que permitan realizar un análisis molecular, solamente se tiene el holotipo de *R. villalobosi* cuya fecha de recolecta es de los años 50's. Debido a lo antiguo de la muestra y por ser el único individuo de la especie dentro de la CNCR, no se utilizó en este estudio.

El resultado que se obtuvo de los análisis moleculares de los genes mitocondriales COI y 16S ARNr muestran el porcentaje de variación que existe entre las especies *Avotrichodactylus oaxensis* y *A. constrictus*. Como se mencionó, se esperaba obtener secuencias de diversas poblaciones para poder llevar a cabo un análisis más completo y averiguar si existen diferencias en relación a las secuencias genéticas dentro de cada población o cuenca hidrológica, sin embargo, ya se mencionaron los motivos por los que esto no fue posible.

Los resultados obtenidos dentro de este estudio, no permiten obtener conclusiones sobre la diversidad genética debido a que solo se compararon individuos de una misma población para cada especie. Lo más relevante de esta sección del estudio es que, a pesar del reducido tamaño de muestra, se identificaron dos haplotipos diferentes para *A. constrictus* que se ubican en la localidad de Río Tuxtla para el gen 16S ARNr y sumado a los resultados obtenidos del gen COI, representan las primeras secuencias genéticas obtenidas para estas especies que se localizan exclusivamente en México.

El árbol de distancias genéticas (Fig. 20) muestra la relación que existe entre los individuos de las dos especies. Se observa que existe una robustez de 100 para cada uno de los nodos de cada grupo, los nodos internos que relacionan entre sí a cada uno de los individuos presenta valores muy elevados en el caso de *A. constrictus*, en relación a *A. oaxensis* las relaciones entre individuos no está resuelta debido al número tan bajo obtenido.

La divergencia genética que se obtuvo al analizar las especies mexicanas *A. constrictus* y *A. oaxensis* con la especie sudamericana *D. laevifrons* fue de 0.25, lo que indica que la separación entre ellas es muy antigua, aspecto que es discutido más adelante. Se sabe que la región 16S ARNr es más conservada en relación al COI, por lo que se esperaba que la variabilidad genética entre las especies *A. constrictus* y *A. oaxensis* en este gen fuera menor, sin embargo, dentro de los resultados obtenidos en el análisis de ambos genes en este estudio, los resultados fueron muy similares. Incluso el gen 16S presentó dos sitios variables más que los del gen COI, 45 y 43 respectivamente.

### **Tiempo de divergencia**

La presencia de cangrejos tricodactílicos en los estados del sur de México y del resto de las especies de la familia en Sudamérica, ha sido explicada por Rodríguez (1992) como consecuencia de una amplia distribución pre-cretácica de la familia (Álvarez y Villalobos, 1997). Si consideramos esta época estaríamos situándonos en un periodo de por lo menos 65 millones de años (m.a.), en donde las actividades orogénicas (formación de montañas) eran intensas, sin embargo, es necesario establecer un periodo de tiempo más corto durante el cual las poblaciones de cangrejos tricodactílicos presentes en México

hayan tenido su aparición o en este caso, tiempos de divergencia entre especies. Para este fin, se utilizaron tasas de mutación conocidas para ciertos grupos de crustáceos del gen COI, que es ampliamente utilizado para calcular divergencias.

Se obtuvo un periodo de divergencia entre los 3,480,000 y 6,670,000 de años del gen COI para *Avotrichodactylus oaxensis* y *A. constrictus*. Abarcando este periodo de tiempo que comprende las épocas del Mioceno Tardío (7 a 5 m.a.) y Plioceno (5 a 1.8 m.a.) que comprenden parte del periodo Neógeno, es posible hacer una revisión de los acontecimientos importantes de dichas épocas para observar posibles causas que originaron tal divergencia.

Dentro del área de Los Tuxtlas, que es la zona de donde fueron obtenidas las secuencias que hicieron posible obtener periodos en el tiempo de divergencia, se presentó una alta actividad volcánica observable desde mediados del Terciario con las formaciones volcanoclásticas, no es hasta fines del Mioceno y fundamentalmente el Plio-Cuaternario, cuando dominaba esta litología volcánica constituida por lavas y piroclásticos (rocas rotas provenientes del fuego: cenizas, bloques, bombas y lapille) de color oscuro y composición basáltica (Martin-Del Pozzo, 1997).

Los principales movimientos tectónicos que formaron los alticlinales del área ocurrieron a fines del Mioceno (Ríos Macbeth, 1952), las estructuras volcánicas se alinean en dirección noreste, lo que podría estar asociado a una reactivación de las fallas transformantes del antiguo sistema de *rift* que originó al Golfo de México. Durante el Mioceno temprano prevalecieron condiciones de mares tranquilos, posteriormente cambió la profundidad del mar en el área de Los Tuxtlas disminuyendo el nivel. Desde el Oligoceno, cuando se depositó la formación de La Laja, las erupciones volcánicas coexistieron con los procesos marinos, la formación de dicho depósito y las tobas en la Formación Filisola del Mioceno muestran que el vulcanismo continuó durante el resto del Terciario (Martin-Del Pozzo, 1997).

La máxima actividad volcánica en la Cuenca de Veracruz ocurrió durante el Plioceno y el Cuaternario, al igual que en la Franja Volcánica Transmexicana y en el centro volcánico de Los Tuxtlas (Padilla y Sánchez, 2007), (Gómez-Tuena, 2005). Estos episodios volcánicos del Plioceno fueron los causantes del levantamiento de la porción oriental de la Cuenca de Veracruz (Salvador, 1991). La actividad volcánica más joven ocurre desde el Pleistoceno tardío al presente y sus depósitos consisten en lava y cenizas volcánicas provenientes del volcán San Martín Tuxtla, cuyas erupciones más recientes se registraron en 1664 y 1793 (Mayer, 1962; Reinhardt, 1991).

Como se observa, durante el periodo de divergencia de las especies en Los Tuxtlas, existió gran actividad geológica que comprendió la formación de depósitos, elevaciones de

tierra y cambios en el nivel del mar, es muy probable que anterior a estos procesos existió el ancestro común que dio paso a estas especies.

La divergencia entre las especies mexicanas y la sudamericana analizadas es de 27,780,000 años, que comprenden la época del Oligoceno que comenzó hace 33 y finalizó hace 23 m.a. Durante este período, los continentes se encontraban a la deriva, las masas continentales de Norteamérica y Sudamérica se fueron acercando hacia su posición actual. Cabe mencionar que el periodo de tiempo en que divergieron los cangrejos de esta familia puede ser más antiguo al que se considera en este estudio ya que existen evidencias que sitúan a los cangrejos tricodactílicos dentro de la superfamilia Portunoidea (Rodríguez, 1992), lo que significa que los orígenes de la familia Trichodactylidae son muy antiguos, lo que explica la presencia de cangrejos tricodactílicos en el sur de México y en Sudamérica. Es posible que las tasas de mutación para algunos genes hayan cambiado a lo largo del tiempo para los cangrejos de esta familia.

## CONCLUSIONES

1. *Avotrichodactylus constrictus* es la especie con mayor distribución encontrándose en las seis cuencas hidrológicas principales del sur de México.
2. Existen variaciones morfológicas importantes entre los ejemplares de las diferentes poblaciones de *A. constrictus* que se distribuyen en cuencas hidrológicas diferentes, esto significa que no existe una morfología particular para cada cuenca o población.
3. A pesar de las variaciones morfológicas observadas en *A. constrictus*, estas no son suficientemente fuertes para considerar que se trate de un complejo de especies.
4. Basados en caracteres morfológicos, como son la forma del gonópodo y el caparazón *A. bidens* es una especie diferente a *A. constrictus*.
5. Son necesarios más muestreos, sobre todo en las localidades donde se distribuyen las especies endémicas.
6. Se obtuvieron las primeras secuencias de ADN de los genes mitocondriales COI y 16S ARNr para cangrejos tricodactílicos de México.
7. La población de Río Tuxtla cuenta al menos con dos haplotipos diferentes.
8. El tiempo de divergencia entre las especies *A. oaxensis* y *A. constrictus* fue de 6,670,000 a 3,480,000 entre ellas.
9. Los caracteres morfológicos combinados con caracteres moleculares permiten hacer una delimitación más precisa entre especies.

## RECOMENDACIONES

1. Es importante realizar más estudios sobre la biología y ecología de estos cangrejos.
2. Los ejemplares recolectados en muestreos posteriores deben de ser preservados considerando posibles análisis moleculares.

## APÉNDICE 1.

Clasificación de la familia Trichodactylidae propuesta por Rodríguez (1992) basada en la propuesta de Pretzman (1978).

### Familia Trychodactylidae

H. Milne Edwards, 1853

### Subfamilia Trychodactylinae

H. Milne Edwards, 1853

#### Género *Trichodactylus* Latreille, 1828

*Trichodactylus fluviatilis* Latreille, 1828

*Trichodactylus maytai* Pretzmann, 1978

*Trichodactylus kensleyi* Rodríguez, 1992

*Trichodactylus petropolitanus* Göldi, 1886

*Trichodactylus quinquedentatus* Rathbun, 1893

*Trichodactylus ehrardti* Bott, 1969

#### Género *Mikrotrichodactylus* Pretzmann, 1968

*Mikrotrichodactylus borellianus* Nobili, 1896

*Mikrotrichodactylus panoplus* von Martens, 1869

#### Género *Rodriguezia* Bott, 1969

*Rodriguezia mensabak* Cottarelli y Argano, 1977

*Rodriguezia villalobosi* Rodríguez y Manrique, 1967

#### Género *Avotrichodactylus* Pretzmann, 1968

*Avotrichodactylus bidens* Bott, 1969

*Avotrichodactylus constrictus* Pearse, 1911

*Avotrichodactylus oaxensis* Rodríguez, 1992

#### Subamilia Dilocarcininae Pretzmann, 1978

##### Tribu Holthuisiini Pretzmann, 1978

#### Género *Sylviocarcinus* H. Milne Edwards, 1853

*Sylviocarcinus devillei* H. Milne Edwards, 1853

*Sylviocarcinus maldonadoensis* Pretzmann, 1978

*Sylviocarcinus pictus* H. Milne Edwards, 1853

*Sylviocarcinus piriformis* Pretzmann, 1978

##### Tribu Valdiviini Pretzmann, 1978

#### Género *Valdivia* White, 1847

*Valdivia camerani* Nobili, 1896

*Valdivia gila* Pretzmann, 1978

*Valdivia harttii* Rathbun, 1906

*Valdivia latidens* A. Milne Edwards, 1869

*Valdivia serrata* White, 1847

#### Género *Forsteria* Bott, 1969

*Forsteria venezuelensis* Rathbun, 1906

##### Tribu Dilocarcinini Pretzmann, 1978

#### Género *Zilchiopsis* Bott, 1969

*Zilchiopsis chacei* Pretzmann, 1968

*Zilchiopsis cryptodus* Ortmann, 1893

*Zilchiopsis emarginatus* H. Milne Edwards, 1853

*Zilchiopsis sattleri* Bott, 1969

Género *Dilocarcinus* H. Milne Edwards, 1853

*Dilocarcinus argentinianus* Rathbun, 1906

*Dilocarcinus truncatus* Rodríguez, 1992

*Dilocarcinus bulbifer* Rodríguez, 1992

*Dilocarcinus castelnaui* H. Milne Edwards, 1853

*Dilocarcinus dentatus* Randall, 1839

*Dilocarcinus laevifrons* Moreira, 1901

*Dilocarcinus medemi* Smalley y Rodríguez, 1972

*Dilocarcinus niceforei* Schmitt y Pretzmann, 1968

*Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861

*Dilocarcinus septemdentatus* Herbst, 1783

*Dilocarcinus spinifer* H. Milne Edwards, 1853

#### Género *Fredilocarcinus* Pretzmann, 1978

*Fredilocarcinus raddai* Pretzmann, 1978

*Fredilocarcinus musmuschiae* Pretzmann y Mayta, 1980

#### *incertae sedis*

*Trichodactylus (Dilocarcinus) gurupensis*  
Rathbun, 1906

*Trichodactylus petropolitanus paranensis*  
Bott, 1969

*Trichodactylus (Valdivia) faxoni* Rathbun, 1906



## APÉNDICE 2

Clasificación de la familia Trichodactylidae, tomada de *Systema Brachyurorum* Part I (Ng *et al.*, 2008).

- Infraorden Brachyura Linnaeus, 1758
    - Sección Eubrachyura Saint Laurent, 1980
      - Subsección Heterotremata Guinot, 1977
  - Superfamily Trichodactyloidea H. Milne Edwards, 1853
    - Family Trichodactylidae H. Milne Edwards, 1853
      - Trichodactylacea H. Milne Edwards, 1853
        - Holthuisiini Pretzmann, 1978
          - Oilocarcini Pretzmann, 1978
            - Valdiviini Pretzmann, 1978
  - Subfamily Dilocarcininae Pretzmann, 1978
    - Dilocarcini Pretzmann, 1978
      - Holthuisiini Pretzmann, 1978
        - Valdiviini Pretzmann, 1978
    - Bottiella* Magalhaes & Türkay, 1996
      - = *Bottiella* Magalhaes & Türkay, 1996 (type species *Dilocarcinus (Dilocarcinus) medemi* Smalley & Rodríguez, 1972, by original designation; gender feminine)
    - Bottiella cucutensis* (Pretzmann, 1968)
    - Bottiella medemi* (Smalley & Rodríguez, 1972) [*Dilocarcinus (Dilocarcinus)*]
    - Bottiella niceforei* (Schmitt & Pretzmann, 1968) [*Trichodactylus (Valdivia)*]
  - Dilocarcinus* H. Milne Edwards, 1853
    - = *Dilocarcinus* H. Milne Edwards, 1853 (type species *Dilocarcinus spinifer* H. Milne Edwards, 1853, subsequent designation by Pretzmann, 1968; gender masculine)
  - Dilocarcinus pagei pagei* Stimpson, 1861
    - = *Dilocarcinus pagei cristatus* Bott, 1969
  - Dilocarcinus pagei enriquei* Pretzmann, 1978
  - Dilocarcinus septemdentatus* (Herbst, 1783) [*Cancer*]
    - = *Cancer orbicularis* Meuschen, 1781 [published in work rejected for nomenclatural purposes]
    - = *Dilocarcinus spinifer* H. Milne Edwards, 1853
    - = *Dilocarcinus spiniferum* Ortmann, 1897 (incorrect spelling)
  - Dilocarcinus truncatus* Rodríguez, 1992
- Forsteria* Bott, 1969
  - = *Forsteria* Bott, 1969 (type species *Valdivia (Forsteria) venezuelensis* Rathbun, 1905, by original designation; gender feminine)
- Forsteria venezuelensis* (Rathbun, 1905) [*Valdivia (Forsteria)*]
  - = *Trichodactylus (Valdivia) ornatifrons* Pretzmann, 1968
  - = *Valdivia (Forsteria) venezuelensis edentata* Bott, 1969
- Fredilocarcinus* Pretzmann, 1978
  - = *Dilocarcinus (Fredilocarcinus)* Pretzmann, 1978 (type species *Dilocarcinus (Fredilocarcinus) raddai* Pretzmann, 1978, by monotypy; gender masculine)
- Fredilocarcinus apyratii* Magalhaes & Türkay, 1996
- Fredilocarcinus musmuschiaie* (Pretzmann & Mayta, 1980) [*Dilocarcinus (Fredilocarcinus)*]
- Fredilocarcinus raddai* (Pretzmann, 1978) [*Dilocarcinus (Fredilocarcinus)*]
- Goyazana* Bott, 1969
  - = *Dilocarcinus (Goyazana)* Bott, 1969 (type species *Dilocarcinus castelnaui* H. Milne Edwards, 1853, by monotypy; gender feminine)
- Goyazana castelnaui* (H. Milne Edwards, 1853) [*Dilocarcinus*]
- Goyazana rotundicauda* Magalhaes & Türkay, 1996
- Moreirocarcinus* Magalhaes & Türkay, 1996
  - = *Moreirocarcinus* Magalhaes & Türkay, 1996 (type species *Trichodactylus (Trichodactylus) chacei* Pretzmann, 1968, by original designation; gender masculine)
- Moreirocarcinus chacei* (Pretzmann, 1968) [*Trichodactylus (Trichodactylus)*]
  - = *Zilchiopsis chacei ecuadoroides* Pretzmann, 1978

- Moreirocarcinus emarginata* (H. Milne Edwards, 1853) [*Dilocarcinus*]  
 = *Valdivia ecuadoriensis* Pretzmann, 1968
- Moreirocarcinus laevifrons* (Moreira, 1901) [*Dilocarcinus*]
- Poppiana* Bott, 1969  
 = *Orthostoma* Randall, 1840 (type species *Orthostoma dentata* Randall, 1840, by monotypy; junior homonym of *Orthostoma* Ehrenberg, 1831 [Annelida]; gender neuter)  
 = *Poppiana* Bott, 1969 (replacement name for *Orthostoma* Randall, 1840; gender feminine)
- Poppiana argentiniana* (Rathbun, 1906)  
 = *Dilocarcinus argentinianus apaluensis* Pretzmann, 1968  
 = *Trichodactylus (Dilocarcinus) bachmayeri* Pretzmann, 1968  
 = *Trichodactylus (Valdivia) boliviensis* Parisi, 1923
- Poppiana bulbifer* (Rodríguez, 1992) [*Dilocarcinus*]
- Poppiana dentata* (Randall, 1840) [*Orthostoma*]  
 = *Dilocarcinus dentatus cayennensis* Pretzmann, 1968  
 = *Dilocarcinus dentatus trinidadensis* Pretzmann, 1968  
 = *Dilocarcinus multidentatus* von Martens, 1869
- Melocarcinus* Magalhaes & Türkay, 1996  
 = *Melocarcinus* Magalhaes & Türkay, 1996 (type species *Trichodactylus (Valdivia) meekeri* Pretzmann, 1968, by original designation; gender masculine)
- Melocarcinus meekei* (Pretzmann, 1968) [*Trichodactylus (Valdivia)*]
- Rotundovaldivia* Pretzmann, 1968  
 = *Valdivia (Rotundovaldivia)* Pretzmann, 1968 (type species *Trichodactylus (Valdivia) bourgeti* Rathbun, 1905, by original designation; gender feminine)
- Rotundovaldivia latidens* (A. Milne-Edwards, 1869) [*Trichodactylus (Valdivia)*]  
 = *Trichodactylus (Valdivia) bourgeti* Rathbun, 1905  
 = *Trichodactylus (Valdivia) bourgeti falcipenis* Pretzmann, 1968
- Sylviocarcinus* H. Milne Edwards, 1853  
 = *Sylviocarcinus* H. Milne Edwards, 1853 (type species *Sylviocarcinus devillei* H. Milne Edwards, 1853, by monotypy; gender masculine)  
 = *Holthuisia* Pretzmann, 1968 (type species *Dilocarcinus pictus* H. Milne Edwards, 1853, by original designation; gender feminine)  
 = *Holthuisia* Pretzmann, 1968 (incorrect spelling)
- Sylviocarcinus australis* Magalhaes & Türkay, 1996
- Sylviocarcinus devillei* H. Milne Edwards, 1853  
 = *Sylviocarcinus peruvianus* A. Milne-Edwards, 1869  
 = *Dilocarcinus spinifrons* Kingsley, 1880  
 = *Dilocarcinus margaritifrons* Ortmann, 1893  
 = *Sylviocarcinus gigas* Smalley & Rodríguez, 1972
- Sylviocarcinus maldonadoensis* (Pretzmann, 1978) [*Holthuisia*]  
 = ?*Trichodactylus (Dilocarcinus) gurupensis* Rathbun, 1904
- Sylviocarcinus pictus* (H. Milne Edwards, 1853) [*Dilocarcinus*]  
 = ?*Dilocarcinus pardalinus* Gerstaecker, 1856  
 = *Holthuisia picta rionegrensis* Pretzmann, 1968
- Sylviocarcinus piriformis* (Pretzmann, 1968) [*Valdivia (Valdivia)*]  
 = *Valdivia (Valdivia) torresi* Pretzmann, 1968
- Valdivia* White, 1847  
 = *Valdivia* White, 1847 (type species *Valdivia serrata* White, 1847, by monotypy; gender feminine)
- Valdivia camerani* (Nobili, 1896) [*Sylviocarcinus*]
- Valdivia haraldi* Bott, 1969
- Valdivia novemdentata* (Pretzmann, 1968) [*Trichodactylus (Valdivia)*]
- Valdivia serrata serrata* White, 1847  
 = *Valdivia (Valdivia) serrata surinamensis* Pretzmann, 1968  
 = *Valdivia (Valdivia) serrata cururuensis* Bott, 1969  
 = *Rotundovaldivia hartii gila* Pretzmann, 1978
- Valdivia serrata harttii* (Rathbun, 1905) [*Trichodactylus (Valdivia)*]
- Zilchiopsis* Bott, 1969  
 = *Zilchiopsis* Bott, 1969 (type species *Zilchiopsis sattleri* Bott, 1969, by original designation; gender feminine)
- Zilchiopsis collastinensis* (Pretzmann, 1968) [*Holthuisia*]  
 = *Zilchiopsis sattleri* Bott, 1969
- Zilchiopsis cryptoda* (Ortmann, 1893) [*Dilocarcinus*]
- Zilchiopsis oronensis* (Pretzmann, 1968)

[*Valdivia (Valdivia)*]

Incertae sedis

*Valdivia convexiuscula* White, 1847 (nomen nudum)

Subfamily Trichodactylinae H. Milne Edwards, 1853

Trichodactylidae H. Milne Edwards, 1853

*Avotrichodactylus* Pretzmann, 1968

= *Trichodactylus (Avotrichodactylus)* Pretzmann,  
1968 (type species *Trichodactylus constrictus*  
Pearse, 1911, by original designation; gender masculine)

*Avotrichodactylus constrictus* (Pearse, 1911)

[*Trichodactylus*]

= *Trichodactylus bidens* Bott, 1969

*Avotrichodactylus oaxensis* Rodríguez, 1992

*Rodriguezia* Bott, 1969

= *Trichodactylus (Rodriguezia)* Bott, 1969 (type  
species *Trichodactylus villalobosi* (Rodríguez &  
Manrique, 1966, by original designation; gender feminine)

*Rodriguezia mensabak* (Cottarelli & Argano, 1977)

[*Trichodactylus (Rodriguezia)*]

*Rodriguezia villalobosi* (Rodríguez & Manrique, 1966)

[*Trichodactylus*]

*Trichodactylus* Latreille, 1828

= *Trichodactylus* Latreille, 1828 (type species

*Trichodactylus fluviatilis* Latreille, 1828, by  
monotypy; gender masculine)

= *Trichodactylus (Mikrotrichodactylus)* Pretzmann,

1968 (type species *Trichodactylus borellianus*  
Nobili, 1896, by original designation; gender masculine)

*Trichodactylus borellianus* Nobili, 1896

*Trichodactylus crassus* A. Milne-Edwards, 1869

?*Trichodactylus cunninghami* (Bate, 1868)

[*Gelasimus*]

*Trichodactylus dentatus* H. Milne Edwards, 1853

*Trichodactylus ehrhardti* Bott, 1969

*Trichodactylus faxoni* Rathbun, 1906

= *Trichodactylus (Trichodactylus) maytai*  
Pretzmann, 1978

*Trichodactylus fluviatilis* Latreille, 1828

= *Trichodactylus (Trichodactylus)*

*tifucanus theresiopolensis*

Pretzmann, 1968

*Trichodactylus kensleyi* Rodríguez, 1992

*Trichodactylus panoplus* (von Martens, 1869)

[*Sylviocarcinus*]

= *Trichodactylus (Mikrotrichodactylus)*

*borellianus brasiliensis* Pretzmann, 1968

= *Dilocarcinus panoplus* var. *marmorata*  
Nobili, 1901

*Trichodactylus petropolitanus* (Goldi, 1886)

[*Sylviocarcinus*]

= *Trichodactylus petropolitanus paranensis*  
Bott, 1969

= *Trichodactylus (Valdivia) thayeri* Rathbun,  
1906

= *Trichodactylus (Valdivia) thayeri glaber*  
Pretzmann, 1968

= *Trichodactylus (Valdivia) tifucanus*  
Rathbun, 1906

= *Trichodactylus (Valdivia) tifucanus*  
*acutidens* Pretzmann, 1968

*Trichodactylus parvus* Moreira, 1912

*Trichodactylus quinquentatus* Rathbun, 1893

Incertae sedis

*Trichodactylus affinis* White, 1847 (nomen nudum)

*Telphusa ? quadratus* Latreille, in Berthold, 1827  
(nomen nudum)

## LITERATURA CITADA

- Acuña. E.P. 2002. Estructura genética, variación isoenzimática y morfología de tres poblaciones de *Macrobrachium spp* de Veracruz, Tabasco y México. *Tesis de Maestría*, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 187 p.
- Álvarez, F. y J. L. Villalobos. 1997. *Cangrejos de Agua Dulce (Decapoda: Pseudothelphusidae, Trichodactylidae)*. En: E. González, R. Dirzo y R. Vogt (eds.), *Historia Natural de Los Tuxtlas*, Instituto de Biología, UNAM. pp. 415-418.
- Boore, J.L. 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Research* 27: 1767-1780.
- Botello, A. 2008. *Estudios de variación genética en crustáceos de México*. En: F. Álvarez y G. A. Rodríguez (eds.), *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Dirección de Publicaciones UANL. pp. 459-487.
- Bott, R. 1969. Die Süßwasserkrabben SüdAmerikas und ihres stammesgeschichte. Eine Revision der Trichodactylidae und der Pseudothelphusidae östlich der Anden (Crustacea, Decapoda). *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft* (Frankfurt am Main) 518:1-94, fig. 1-6, pl. 1-24, 4 maps.
- Carini, G. y J.M. Hughes. 2004. Population structure of *Macrobrachium australiense* (Decapoda: Palaemonidae) in Western Queensland, Australia: the role of contemporary and historical processes. *Nature* 93: 350-363.
- Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (CONABIO) 1998. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/Hlistado.html>
- Collins, P.A., V. Williner y F. Giri. 2002. A new distribution record for *Zilchiopsis oronensis* (Pretzmann, 1968) (Decapoda, Trichodactylidae) in Argentina. *Crustaceana* 75 (7): 931-934
- Cottarelli, V. y R. Argano. 1977. *Trichodactylus (Rodriguezia) mensabak* n. sp. (Crustacea, Decapoda, Brachyura), granchio cieco delle acque sotterranee del Chiapas (Messico). *Guaderni Problemi Attuali di Scienza e di Cultura, Accademia Nazionali dei Lincei* 171(3): 207-212.
- Cox, A. y P. Hebert. 2001. Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology* 10: 371-386.
- Crandall, K., D. Harris y J. Fetzner, Jr. 2000. The monophyletic origin of freshwater crayfish estimated from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Proceedings of the royal Society of London*, series B 267:1679-1686.

- Daniels, S. R., G. Gouws y K. A. Crandall. 2006a. Phylogeographic patterning in a freshwater crab species (Decapoda: Potamonautidae: Potamonautes) reveals the signature of historical climatic oscillations. *Journal of Biogeography* 33: 1538–1549.
- Daniels, S.R., N. Cumberlidge, M. Perez-Losada, S.A. Marijnissen y K.A. Crandall. 2006b. Evolution of Afrotropical freshwater crab lineages obscured by morphological convergence. *Molecular Phylogenetic and Evolution* 40(1): 227-235.
- Dreyer, H. y J.W. Wägele, 2002. The Scutocoxifera tax. nov. and the information content of nuclear SSU rADN sequences for reconstruction of isopod phylogeny (Peracarida: Isopoda). *Journal of Crustacean Biology* 22: 217-234.
- Eydoux, F. y Souleyet, L.F.A. 1842. Crustacés. Voyage autour du Monde exécuté pendant les années 1836 et 1837 sur la corvette la Bonite, commandée par M. Vaillant, Capitaine de Vaisseau. *Histoire naturelle, Zoologie* 1: 219-272, pl. 5.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz y R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Gerstäker, A. 1856. Carcinologische Beiträge. *Archiv für Naturgesellschaft* 22(1): 101-162, pl. 4-6.
- Göldi, E.A. 1886. Studien über neue und weniger bekannte Podophthalmen Brasiliens. *Archiv für Naturgesellschaft* 52(1): 19-46, pl. I-III.
- Gómez-Tuena, A., M.T. Orozco-Esquivel y L. Ferrari. 2005. Petrogénesis ígnea de la Faja Volcánica Transmexicana. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 57(3): 227-283.
- Gurney, R., P. Grewe y R. Thresher. 2006. Mitochondrial DNA haplotype variation in the parasitic cirripede *Sacculina carcini* observed in the cytochrome oxidase gene (COI). *Journal of Crustacean Biology* 26(3): 326-330.
- Herbst, J.F.W. 1783. *Versuch einer Naturgeschichte der Krabben und Krebse nebst einer systematischen Beschreibung ihrer verschiedenen Arten*, 1-3; Berlin y Stralsund.
- Hiller, A., K. Holger, A. Marc y W. Bernd. 2006. The *Petalishes galathinus* complex: Species boundaries based on color pattern, morphology and molecules, and evolutionary interrelationships between this complex and other Porcellanidae (Crustacea: Decapoda: Anomura). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:547-569.

- Hillis, D.M., B.K. Mable, A. Larson, S.K. Davis y E.A. Zimmer. 1996. *Nucleic Acids IV: Sequencing and cloning*. En: Hillis, D. M., C. Moritz y B.K. Mable (eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A. pp. 321-381.
- Ketmaier, V., R. Arango y A. Caccone. 2003. Phylogeography and molecular rates of subterranean aquatic stenaseiid isopods with a peri-Tyrrhenian distribution. *Molecular Ecology* 12: 547-555.
- Kingsley, J.S. 1880. Carcinological Notes. 1. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 1880:34-37.
- Latreille, P.A. 1828a. Trichodactyle, *Trichodactylus*. Encyclopédie Méthodique. Histoire naturelle. *Entomologie, ou histoire naturelle des Crustacés, des Arachnides et des Insectes* 10: 705.
- Latreille, P.A. 1828b. Tephuse et Trichodactyle. En: Encyclopédie méthodique. *Histoire naturelle, Entomologie* 10: 561-564.
- Magalhães, C. y M. Türkay. 1996a. Taxonomy of the Neotropical freshwater crab family Trichodactylidae. I. The generic system with description of some new genera (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Senckenbergiana Biologica* 75:63-95.
- Magalhães, C. y M. Türkay. 1996b. Taxonomy of the Neotropical freshwater crab family Trichodactylidae. II. The genera *Forsteria*, *Melanocarcinus*, *Sylviocarcinus* and *Zilchiopsis* (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Senckenbergiana Biologica* 75:97-130.
- Magalhães, C. y M. Türkay. 1996c. Taxonomy of the Neotropical freshwater crab family Trichodactylidae. III. The genera *Fredilocarcinus* and *Goyazana* (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Senckenbergiana Biologica* 75:131-142.
- Magalhães, C. 1999. *Família Trichodactylidae (caranguejos braquiúros da água doce)*, p.486-490. In: L. Buckup & G. Bond-Buckup (Eds). *Os Crustáceos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 514p.
- Magalhães, C. 2003. *Famílias Pseudothelphusidae e Trichodactylidae*. In Melo, G. A. S. (ed), *Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda de Agua Doce do Brasil*. Editora Loyola, São Paulo. pp. 143–287.
- Martin-Del Pozzo, A.L. 1997. *Geología*. En: E. González, R. Dirzo y R. Vogt (eds.), *Historia Natural de Los Tuxtlas*, Instituto de Biología, UNAM. pp. 25-31.
- Martin, J.W. y G.E. Davis. 2001. *An updated classification of the recent Crustacea*. Los Angeles, Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 39. 124p.

- Mayer Pérez Rul, F. 1962. Estudio vulcanológico de la región de Los Tuxtlas, Veracruz. *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ingeniería, UNAM, México.
- Millán, L. y J. C. Ojeda. 2007. Distribución de macroinvertebrados y peces del Río Máquinas, Los Tuxtlas, Veracruz, como información base para la creación de un Índice de Integridad Biótico. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 79p.
- Milne Edwards, A. 1869. Révision des Genres *Trichodactylus*, *Sylviocarcinus* et *Dilocarcinus* et description de quelques espèces nouvelles qui s'y rattachent. *Annales de la Société entomologique de France* 9(4): 170-178.
- Milne-Edwards, H. 1853a. Mémoire sur la famille des Ocypodiens. *Annales de Sciences Naturelles* 20(3): 163-226.
- Milne-Edwards, H. 1853b. Observations sur les affinités zoologiques et la classification naturelle des crustacés. *Annales de Sciences Naturelles, Zoologie* 20(3): 163-228, pl. 6-11.
- Moreira, C. 1901. Contribuições para o conhecimento da Fauna Brasileira. Crustaceos Thoracostraceos. *Archivos do Museu Nacional de Rio de Janeiro*. 11: i-iv, 1-151, pl. 1-5.
- Moreira, C. 1912. Crustacés du Brésil. Paris, France. *Mémoires de la Société Zoologique de France* 25:145-155.
- Morrone, J.J. y E.C. Lopretto. 1994. Distributional patterns of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) in southern South America: A panbiogeographic approach. *Journal of Biogeography* 21:97-109.
- Morrone, J.J. y E.C. Lopretto. 1995. Parsimony analysis of endemism of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) from southern South America. *Neotropica* 41(105-106)3:8.
- Morrone, J.J. y E.C. Lopretto. 1996. Cladistics of the family Trichodactylidae (Crustacea:Decapoda): a reappraisal. *Journal of Comparative Biology* 1:65-72
- Morrone, J.J. y E.C. Lopretto. 1997. Reply to von Sternberg. *Journal of Comparative Biology* 2(1):62-64.
- Morrone, J.J. y E.C. Lopretto. 2001. Trichodactylid biogeographic patterns (Crustacea:Decapoda) and the Neotropical region. *Neotropica* 47:49-55.
- Morrone, J.J. 2003. *Homología biogeográfica primaria de la familia Trichodactylidae (Crustacea: Decapoda)*. En: Morrone, J.J. y Llorente, J. (Eds.), *Una perspectiva*

- latinoamericana de la Biogeografía*. Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F., pp.241-245.
- Murphy N.P. y C.M. Austin. 2004. Phylogenetic relationships of the globally distributed freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae): biogeography, taxonomy and the convergent evolution of abbreviated larval development. *Zoologica Scripta* 34: 187–197.
- Ng, P.K.L., 1988. *The Freshwater Crabs of Peninsular Malaysia and Singapore*. Department of Zoology, National University of Singapore, Shinglee Press, Singapore, i–viii, 1–156.
- Ng, P.K.L., D. Guinot y P.J.F. Davie. 2008. Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *The Raffles Bulletin of Zoology* 17: 1-286.
- Nobili, G. 1896. Viaggio del Dott. A. Borelli nella Republica Argentina e nel Paraguay, 19. Crostacei Decapodi. *Bolletino Musei di Zoologia ed Anatomia Comparata della R. Università di Torino* 11(222): 1-4.
- Ortmann, A.E. 1893. Die-Decapoden-Krebse des Strassburger Museum, mit besonderer Berücksichtigung der von Herrn Dr Döderlein bei Japan und bei den Liu-Kiu-Inseln gesammelten und zur Zeit im Strassburger Museum aufbewahrten Formen. 7. Theil. *Zoologische Jahrbücher (Systematische)* 7: 411-495, pl. 1-17.
- Padilla y Sánchez, R.J. 2007. Evolución geológica del sureste mexicano desde el Mesozoico al presente en el contexto regional del Golfo de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 59(1): 19-42.
- Parisi, B. 1923. Un nuovo Potamonide Americano. *Annali di Museo Civico di Storia Naturale* (Genova) 51: 29-30.
- Pearse, A.S. 1911. *Report on the Crustacea collected by the University of Michigan. Walker expedition in the State of Veracruz, México*. 13<sup>th</sup> report of the Michigan Academy Science. pp. 108-112.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.
- Pretzmann, G. 1968. Die Familie Trichodactylidae (Milne Edwards 1853) Smith (vorläufige Mitteilung). *Entomologische Nachrichtenblatt* (Vienna) 15(7-8): 70-76.
- Pretzmann, G. y R. Mayta. 1980. Über einige Süßwasserkrabben aus Peru. *Sitzungsberichten der mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse der*



- Osterreichischen Akademie der Wissen-schaften* (Vienna) 1, 189(9): 137-144, fig. 1-14.
- Randall, J.W. 1839. Catalogue of the Crustacea brought by Thomas Nuttall and J. K. Townsend, from the West Coast of North America and the Sandwich Islands, with descriptions of such species as are apparently new, among which are included several species of different localities, previously existing in the collection of the Academy. *Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 8: 106-147, pl. 3-7.
- Rathbun, M.J. 1893. Descriptions of new species of American Fresh-Water Crabs. *Proceedings of the U. S. Nationals Museum* 16: 649-661, pl. 73-77.
- Rathbun, M.J. 1906. Les Crabes d'eau douce (Potamonidae) pt. 3 *Nouvelles archives du muséum d'Histoire naturelle* (Paris) 4(8): 33-122.
- Reinhardt, B. K. 1991. Volcanology of the younger volcanic sequence and volcanic hazards study of the Tuxtla volcanic field, Veracruz, Mexico. *M.S. Thesis*, Tulane University, New Orleans.
- Ríos Macbeth, F. 1952. Estudio geológico de la región de Los Tuxtlas. *Boletín de la Asociación Mexicana de Geólogos Petroleros* 4:315-377.
- Rodríguez, G. y F. Manrique. 1967. El género *Trichodactylus* en México (Brachiura, Potamonidae). *Anales del Instituto de Biología* (México) 37: 183-186, fig. 1, pl. 1.
- Rodríguez, G. 1982: "Fresh-water shrimps (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Orinoco Basin and the Venezuelan Guayana". Washington, D. C. *Journal of Crustacean Biology*, 2(3): 378-391.
- Rodríguez, G. 1986: "*Centers of radiation of freshwater crabs in the Neotropics*". En: Gore, R. H. & K. L. Heck (eds.). *Biogeography of the Crustacea. Crustacean Issues*, 3. A. A. Balkema, Róterdam / Brookfield. pp 51-67.
- Rodríguez, G., 1992. The freshwater crabs of America. Family Trichodactylidae and supplement to the family Pseudothelphusidae. *Faune Tropicale* 31: 1-189.
- Rodríguez, G. 1997. "*Trichodactylid crabs*". En: Kay, R. F.; R. H. Madden; R. L. Cifelly y J. J. Flynn (eds.). *Vertebrate paleontology in the Neotropics. The Miocene fauna of La Venta, Colombia*. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C. y London. pp. 63-66.
- Rodríguez, G. y F. Manrique. 1966. El género *Trichodactylus* en México (Brachyura, Potamonidae). *Sobretiro de los Anales del Instituto de Biología* (Universidad Nacional Autónoma de México) Tomo XXXVII números 1 y 2. pp 183-186.

- Saiki, R., D. Gelfand, S. Stoffel, S. Scharf, R. Higuchi, G. Horn, K. Mullis y H. Erlich. 1988. Primer directed enzymatic amplifications of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Salvador, A. 1991. *Origin and development of the Gulf of Mexico Basin*. En A. Salvador, (ed.) *The Gulf of Mexico Basin: Geological Society of America*. The Geology of North America, v. J, p. 389– 444
- Schmitt, W.L. y G. Pretzmann. 1968. Eine neue *Trichodactylus* Art aus Kolumbien. Vorläufige Mitteilung. *Entomologische Nachrichtenblatt* (Vienna) 15(2): 6.
- Schubart C.D., R. Diesel y S. Hedges. 1998a. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. *Nature* 393: 363-365.
- Schubart C.D., J.E. Neigel, D.L. Felder. 1998b. *Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea*. En: von Vaupel J. y F. Schram (eds.) *The biodiversity Crisis and Crustacea*. Bakelma Pub. Rotterdam. pp 817-830.
- Schubart C.D., J.E. Neigel, D.L. Felder. 2000. Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea. *Crustacean Issues* 12: 817–830.
- Schubart C.D., J.A. Cuesta, R. Diesel y D.L. Felder. 2000. Molecular phylogeny, taxonomy and evolution of nonmarine lineages within the American grapsoid crabs (Crustacea: Brachyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 15: 179-190.
- Schubart C.D., J.A. Cuesta y D.L. Felder. 2002. Glyptograpsidae, a new brachyuran family from Central America: larval and adult morphology, and a molecular phylogeny of the Grapsoidea. *Journal of Crustacean Biology* 22: 28-44.
- Schubart, C.D. y S. Reuschel. 2009. *A proposal for a new classification of Portunoidea and Cancroidea (Brachyura: Heterotremata) based on two independent molecular phylogenies*. In press.
- Smaley, W.L. y G. Rodríguez. 1972. Trichodactylidae from Venezuela, Colombia and Ecuador (Crustacea, Brachyura). *Tulane Studies in Zoology and Botany* 17: 41-55, fig. 1-23.
- Staton, J.L., D.W. Foltz y D.L. Felder. 2000. Genetic variation and systematic diversity in the ghost shrimp genus *Lepidophtalmus* (Decapoda: Thalassinidea: Callinassidae). *Journal of Crustacean Biology* 20(special number 2):157-169.
- Stimpson, W. 1861. Notes on certain Decapod Crustacea. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 13: 372-373.

- Swofford, D.L. 2002. PAUP\*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and other methods)*. Versión 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Trontelj, P., Y. Machino y B. Sket. 2005. Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 212-226.
- Villalobos-Hiriart J. L. 1998. *Taxonomía de Crustáceos con énfasis en el orden Decapoda*. CONACYT, ECOSUR. 44 p.
- Villalobos-Hiriart J. L. y F. Álvarez. 2008. *Los cangrejos de agua dulce de la familia Pseudothelphusidae (Decápoda: Brachyura: Eubrachyura) de México, con un apéndice de las especies citadas para América hasta 2006*. En: F. Álvarez y G. A. Rodríguez (eds.), *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Dirección de Publicaciones UANL. pp. 239-299.
- Von Martens, E. 1869. Südbrasilische Süß-und Brackwasser –Crustaceen nach Sammlungen des Dr Reinh. Hensel. *Archiv für Naturgesellschaft* 35(1): 1-37, pl.1-2.
- von Sternberg, R. 1997. Cladistics of the family Trichodactylidae (Crustacea:Decapoda): Appraising the reappraisal. *Journal of Comparative Biology* 2(1):49-62.
- von Sternberg, R. 1998. The sister group of the freshwater crab family Trichodactylidae (Crustacea: Decapoda Eubrachyura). *Journal of Comparative Biology* 3:93-101.
- von Sternberg, R. y N. Cumberlidge. 2003. Autapomorphies of the Endophragmal System in Trichodactylid Freshwater Crabs (Crustacea: Decapoda: Eubrachyura) *Journal of Morphology* 256:23–28.
- Vázquez Bader, A.R., J.C. Carrero, M. García Varela, A. Gracia y J.P. Laclette. 2004. Molecular phylogeny of the superfamily Penaeoidea Rafinesque-Schmaltz, 1815, based on mitochondrial 16S partial sequence analysis. *Journal of Shellfisheries Research* 23:911-917.
- Wares, J.P. 2001. Patterns of speciation inferred from mitochondrial DNA in North American *Chthamalus* (Cirripedia: Balanomorpha: Chthamaloidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:104-116.
- Weihrauch, D., J.C. McNamara, D.W. Towle, y H. Onken. 2004. Ion-motive ATPases and active, transbranchial NaCl uptake in the red freshwater crab, *Dilocarcinus pagei* (Decapoda, Trichodactylidae). *Journal of Experimental Biology* 207: 4623-4631.
- Weihrauch, D., M.P. Wilkie y P.J. Walsh. 2009. Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of Experimental Biology* 212: 1716-1730.

- White, A. 1847. Short descriptions of some new species of Crustacea in the collection of the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History* 20: 205-207. (Also in *Proceedings of the Zoological Society of London* 15: 84-86).
- White, A. 1847. *Short descriptions of some new species of Crustacea in the collection of the British Museum.*
- Yeo, D.C.J.; P.K.L. NG; N. Cumberlidge; C. Magalhães; S.R. Daniels y M.R. Campos. 2008. Global diversity of crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 275-286.
- Zimmermann, B.L., A.W. Aued, S. Machado, D. Manfio, L.P. Scarton, S. Santos. 2009. Behavioral repertory of *Trichodactylus panoplus* (Crustacea: Trichodactylidae) under laboratory conditions. *Zoologia* 26(1): 5-11.