



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

**Revisión filogenética de las especies de cangrejos semiterrestres
pertenecientes al género *Gecarcinus* Leach, 1814 (Brachyura:
Grapsoidea: Gecarcinidae) de México**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. IA ATZIMBA TOLEDANO CARRASCO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ LUIS VILLALOBOS HIRIART,
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI,
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
DR. FRANCISCO JAVIER VEGA VERA,
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

CD. MX.

ENERO, 2019



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.

OFICIO CPCB/1116/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 22 de octubre de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **TOLEDANO CARRASCO IA ATZIMBA** con número de cuenta **307313696** con la tesis titulada **"REVISIÓN FILOGENÉTICA DE LAS ESPECIES DE CANGREJOS SEMITERRESTRES PERTENECIENTES AL GENERO GECARCINUS LEACH, 1814 (BRACHYURA: GRAPSOIDEA: GECARCINIDAE), DE MÉXICO"**, realizada bajo la dirección del **DR. JOSÉ LUIS VILLALOBOS HIRIART**:

Presidente: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA
Vocal: DRA ANA MARGARITA HERMOSO SALAZAR
Secretario: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI
Suplente: DR. CARLOS SALVADOR PEDRAZA LARA
Suplente: DR. FRANCISCO JAVIER VEGA VERA

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 20 de noviembre de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



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

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por permitirme realizar los estudios de maestría en un posgrado de excelencia.

Al CONACYT por la beca otorgada durante dos años.

A los apoyos PAEP recibidos para realizar una estancia académica en la Universidad Autónoma de Nuevo León y para asistir al 9th International Crustacean Congress (ICC9).

Al Dr. José Luis Villalobos Hiriart, mi tutor principal, por brindarme su confianza una vez más, transmitirme parte de su infinito conocimiento, por acompañarme, ayudarme y alentarme durante este difícil camino de la biología molecular y por su gran amistad. Muchas gracias por todo mi estimado Pepe y sobre todo por llevarme al maravilloso mundo de los crustáceos, mi admiración es para ti.

Al Comité Tutorial conformado por el Dr. Juan José Morrone Lupi y Dr. Francisco Javier Vega Vera, por el tiempo invertido en este trabajo y por sus valiosos comentarios. Gracias por la sencillez mostrada en todo momento.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi alma máter.

A los miembros de jurado conformado por el Comité Tutorial, por el Dr. Carlos Pedraza Lara y la Dra. Margarita Hermoso Salazar, por su paciencia y apoyo para mejorar este trabajo. Es un honor para mí que formen parte de mi jurado.

A mi estimado Dr. Fernando Alvarez Noguera parte del jurado, por permitirme realizar este trabajo en la Colección Nacional de Crustáceos, por su apoyo y su sencillez admirable. Gracias Fer por tu amistad y ese gran carisma que hizo más amena mi estancia en el laboratorio.

Al Dr. Nuno Fernando Simoes por la donación de ejemplares que sin conocerme me ofreció su valiosa ayuda. Muchas gracias.

Al Dr. Christoph Schubart por la donación de tejido de *Gecarcinus ruricola*.

Al Dr. Gabino Rodríguez Almaraz por permitirme el acceso a los ejemplares de la Colección carcinológica de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Al Dr. Fernando L. Mantelatto por compartirme secuencias de ejemplares de Costa Rica y Panamá.

Al Dr. Ingo S. Wehrtmann por la donación de tejido.

Agradezco infinitamente a mis mentores y guías en este difícil mundo de la biología molecular, M. en C. Andrea Jiménez Marín, Dra. Ofelia Delgado, Dr. Juan Carlos Ojeda, Dr. Rafael Robles, Polo, Oscar, sin su valioso apoyo nada esto habría sido posible. Gracias por su paciencia, apoyo y consejos, los admiro y aprecio, no tengo palabras para agradecerles.

A la Biol. Susana Guzmán del Laboratorio de microscopía y fotografía de la Biodiversidad por la asesoría técnica en fotografía.

A mis padres Delia y Moisés, las personas más importantes en mi vida y quienes han hecho de mí una persona de bien. Gracias por su amor incondicional, apoyo y por guiarme en todo momento, los admiro por la gran labor que desempeñan en la docencia y por su calidad humana, no olviden que los amo mucho.

A mi hermana por alentarme, apoyarme y por todo el cariño. Eres un gran ejemplo como ser humano, te amo y siempre estaremos juntas, aunque tengas voz de sargento.

A mis abuelitos (maternos y paternos) a quienes tanto amo y admiro, gracias por consentirme, amarme y guiarme, son un gran ejemplo para mí. A mi hermosa familia, Tíos, primos y amigos cercanos. Tío Miguel, Emma, Tío Chava y familia, Memis, Uli, Abril, Gil, Hazel, Mingui, Héctor, Ale, Carlos, Ange y familia, Tío Carlos, Ernesto y Norma, Familia Toledano, por su amor y apoyo.

A cada uno de los profesores que han pasado y marcado mi vida en diferentes etapas, sin ustedes, simplemente no estaría hoy en este momento.

A mis compañeros de laboratorio por haberme soportado en estos dos años. Agradezco de manera muy especial a mis queridos sobrinillos, Rachel, Fabi, Viri, Chavita, Dona, Vero, Jorge Pez, Jorge güero, Aarón, Manuel, Sharif, Leo, Sergio y Monterrosas, por su amistad y apoyo en todo momento, los quiero y siempre estarán presentes. Especial reconocimiento a mi compañero de camino, mi compadre Guillermin, muchas gracias por tus consejos, enseñanzas y confianza, no pude tener mejor compañía en estos dos años.

A mi estimado amigo que se nos adelantó Adán E. Gómez por su cariño y enseñanzas. Eres y siempre serás una persona admirable, te llevo conmigo y te recordaré con mucho afecto, arriba la Agrícola vecinito.

A mis amigos tan queridos de la Facultad de Ciencias y Posgrado, Celeste, Moni, Marita, Dani Embriz, deuteropadre, Mau, Chona, Dani, Leslie, Dulce, Lalo, por su amistad tan sincera, que sin vernos seguido ha permanecido durante estos años. A mi querido amigo Diego, el destino nos juntó en ese clásico lugar llamado El Rey, muchas gracias por tu apoyo, paciencia, confianza y consejos, eres una persona especial e importante en mi vida, siempre estaré para ti.

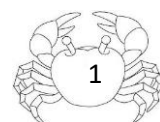
A mis amigos de la prepa, secundaria y primaria por los momentos compartidos.

A mis amigos de la UANL y de la Unidad Académica de Sisal, por hacer mis estancias divertidas y confortables, por su valioso apoyo y cariño, Víctor, Cony, Pao, Gisela, Emilio, Vero, Dulce, Ángel, Pedro Homa, Julio, Gabo, Pech y familia (colados de Mérida) muchas gracias por todo, nos vemos pronto.

A mis estimados amigos de buceo por su apoyo incondicional Sofi, Félix, Moy, July, Lupita, Miguel, Hugo, Marce, Paty, Ana, Silvia, Edwin, Adolfo, Raúl, Delmy, Javi Espino, César y demás que no los menciono ya que no acabaría nunca de escribir, saben que los estimo. Gracias por creer en mí, por su confianza y apoyo!

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN GENERAL	4
Cangrejos semiterrestres del género <i>Gecarcinus</i> Leach, 1814	5
OBJETIVO GENERAL	6
ÁREA DE ESTUDIO	6
Costas mexicanas	6
Pacífico centro-oriental	7
Golfo de México y mar Caribe	8
Formación del istmo de Panamá	9
JUSTIFICACIÓN	10
PRESENTACIÓN DE LA TESIS	10
CAPÍTULO I. Taxonomía del género <i>Gecarcinus</i> Leach, 1814	11
INTRODUCCIÓN	11
ANTECEDENTES	15
OBJETIVOS PARTICULARES	16
MATERIAL Y MÉTODO	16
RESULTADOS	17
<i>Gecarcinus</i> Leach, 1814	18
<i>Gecarcinus lateralis</i> Guerin, 1832	18
<i>Gecarcinus quadratus</i> De Saussure, 1853	22
DISCUSIÓN	26
Autoría de <i>Gecarcinus lateralis</i>	28
CONCLUSIONES	28
CAPÍTULO II. Filogenia y filogeografía	30
INTRODUCCIÓN	30
Inferencia filogenética y sus métodos	30
Reloj molecular	32
Filogeografía	33
Redes de haplotipos	34
ADN mitocondrial	35
Filogenia de la superfamilia Grapsoidea	36
ANTECEDENTES	38
OBJETIVOS PARTICULARES	39
MATERIAL Y MÉTODO	39
Obtención de tejido y extracción de ADN	39
Análisis de datos	41
RESULTADOS	42
Distancias genéticas y tiempo de divergencia	45
Inferencia filogenética	47
Redes de haplotipos y variación genética	52
DISCUSIÓN	57
CONCLUSIONES	65
LITERATURA CITADA	69
ANEXO	82



RESUMEN

El aislamiento geográfico provocado por la emersión del istmo de Panamá ha favorecido el proceso de especiación de muchas especies. Dentro de las poblaciones que fueron separadas se encuentran las del género *Gecarcinus* Leach, 1814: *G. lateralis* Guerin, 1832, *G. nobilii* Perger y Wall, 2014, *G. quadratus* De Saussure, 1853 y *G. ruricola* (Linnaeus, 1758). Taxonómicamente, varios autores trataron de diferenciar morfológicamente a *Gecarcinus lateralis* y *G. quadratus*, para ello utilizaron caracteres que presentan una alta variabilidad intra-poblacionalmente, lo cual ha dificultado la identificación, por lo que algunos las han considerado como sinónimas. En este trabajo se realizó un análisis molecular con ambas especies, incluyendo ejemplares del Pacífico y Atlántico mexicanos, para ello se utilizaron los genes mitocondriales COI y 16S, con el objetivo de aportar elementos para validar a *Gecarcinus quadratus* al evaluar la correspondencia entre la información molecular y morfológica. Los árboles de máxima credibilidad y de máxima verosimilitud mostraron dos clados con altos valores de soporte, en uno se incluye la población del golfo y en otro la del Pacífico, con una distancia genética de 5.91%. Además, la distancia promedio al interior de cada clado para las poblaciones del Atlántico (correspondiente a *G. lateralis*) fue de 1.09% y para las del Pacífico (correspondientes a *G. quadratus*) de 0.14%. Lo anterior es congruente con la existencia de *G. quadratus* como una especie válida y no como una sinonimia de *G. lateralis*. El intervalo de tiempo estimado por medio de un método de reloj estricto, para la divergencia entre ambas especies fue de 2,269,230 a 4,214,285 años. Estas fechas coinciden con las reportadas por estudios previos para el cierre definitivo del Istmo de Panamá, que incluyen rangos de tiempo de 2.8 a 4 millones de años. Respecto a la revisión morfológica, son poblaciones que presentan alta variabilidad en distintos caracteres, incluyendo los apéndices sexuales, sin embargo, se encontró que la coloración en vida, así como la forma y grado de cobertura del abdomen con respecto al esternito torácico, son rasgos que permiten la diferenciación de ambas especies.



ABSTRACT

The geographical isolation caused by the emersion of the Isthmus of Panama has favored the speciation process of many species. Within the populations that were separated are those of the genus *Gecarcinus* Leach, 1814: *G. lateralis* Guerin, 1832, *G. nobilii* Perger and Wall, 2014, *G. quadratus* De Saussure, 1853 and *G. ruricola* (Linnaeus, 1758). Taxonomically, several authors tried to differentiate *Gecarcinus lateralis* and *G. quadratus* morphologically, using characters with high intra-population variability, which has made its identification difficult, and because of that, those species were considered synonyms. In this work, a molecular analysis was performed with both species, *G. lateralis* and *G. quadratus*, including Mexican Pacific and Atlantic specimens, for which the mitochondrial COI and 16S genes were used, with the aim of providing elements to validate *Gecarcinus quadratus* when evaluating the correspondence between molecular and morphological information. The trees of maximum credibility of clades and maximum likelihood showed two clades with high values of support, one includes the population of the gulf and other the Pacific coast, with a genetic distance of 5.91%. In addition, the average distance to the interior of each clade for the Atlantic populations (corresponding to *G. lateralis*) was 1.09% and for those of the Pacific (corresponding to *G. quadratus*) was 0.14%. This is congruent with the existence of *G. quadratus* as a valid species and not as a synonym of *G. lateralis*. The estimated time of divergence calculated under a strict clock method, between both species was 2,269,230 to 4,214,285 years. These dates coincide with those reported by previous studies for the definitive closure of the Isthmus of Panama, which include time ranges of 2.8 to 4 million years. Regarding to the morphologic revision, there are populations that presented high variability in different characteristics, including sexual appendages. In this study it was found that features like the coloration when alive, as well the shape and degree of coverage of the abdomen, with respect to the thoracic sternites, in both sexes, are traits that permit the differentiation to specific level.



INTRODUCCIÓN GENERAL

México es uno de los pocos países del planeta que, por su posición geográfica, fisiografía continental y evolución geológica, posee una gran diversidad biológica y por ello es considerado como un país megadiverso. Esta riqueza biológica se ve reflejada tanto en la porción continental, como en la insular y en la marina (Quiroz-Martínez *et al.*, 2014). El aislamiento geográfico producto de una intrincada fisiografía, ha influido en la diversificación de la flora y fauna nativas, pues impide el flujo genético entre poblaciones.

En el ambiente marino, la aparición de barreras geográficas a través de la historia geológica del litoral americano (*i.e.*, emersión de islas o placas tectónicas, choque de placas continentales, cambio en el patrón de circulación de corrientes marinas, etc.), también ha provocado múltiples procesos de separación de poblaciones ancestrales ampliamente extendidas. Un ejemplo de esto ocurrió con el levantamiento de Centroamérica, que creó una barrera infranqueable para un gran número de especies, que antes de este fenómeno tenían una distribución continua que abarcaba los litorales del Atlántico y del Pacífico de América (Knowlton *et al.*, 1993; Robles *et al.*, 2007; Schubart *et al.*, 2005; Thiercelin y Schubart, 2014). La gradual elevación de esta masa continental fue separando las poblaciones de fauna y flora hasta que quedaron totalmente aisladas, siguiendo cada una, procesos de evolución y especiación divergentes, formando lo que se conoce como especies hermanas o geminadas. Esta diferenciación fue consecuencia de la aparición de una barrera que divide ambos océanos del continente americano, el istmo de Panamá, que terminó de emerger hace tres millones de años aproximadamente, y provocó la especiación de muchas especies marinas (Lessios, 2008), entre ellas, las de crustáceos. En particular para los cangrejos verdaderos de la superfamilia Grapsoidea MacLeay, 1838, varias especies fueron fragmentadas y al quedar aisladas a través de un largo periodo geológico, sufrieron especiación. Así, muchas especies que hasta hace poco tiempo se consideraban la misma, tanto en el Pacífico como en el Atlántico, han sido separadas recientemente, con base en estudios moleculares y morfológicos (Lessios, 2008).

Dentro de los grapsoideos, la familia Gecarcinidae MacLeay, 1838, es una de las más peculiares por el comportamiento semiterrestre de sus representantes, es decir, presentan adaptaciones morfológicas, fisiológicas, anatómicas, tróficas y conductuales, que



les han permitido independizarse parcialmente del ambiente marino, logrando invadir, aunque sea temporalmente, el ambiente terrestre, adyacente a los cuerpos de agua costeros. Actualmente está integrada por 22 especies pertenecientes a seis géneros (*Gecarcinus* Leach, 1814; *Cardisoma* Latreille, 1825; *Gecarcoidea* H. Milne-Edwards, 1837; *Epigrapsus* Heller, 1862; *Discoplax* A. Milne-Edwards, 1867; y *Johngarthia* Turkay, 1970), los cuales en su mayoría tienen una amplia distribución, encontrándose a lo largo de las costas americanas y sus islas, así como también, en África occidental y costas asiáticas. Por lo que respecta a América, esta familia presenta registro de los géneros *Cardisoma*, *Johngarthia* y *Gecarcinus*, en particular el último incluye a las especies: *G. quadratus* que se distribuye a lo largo del Pacífico mexicano desde Baja California hasta Perú; *G. lateralis* del lado del Atlántico desde Florida, EUA, hasta Venezuela, aunque algunos autores han tratado a estas dos especies como sinónimos (Turkay, 1970; Perger y Wall, 2014); *G. ruricola* en Florida, EUA y Nicaragua, así como en las islas Bermuda, Bahamas y en las Antillas como Cuba, Haití, República Dominicana, Jamaica, Puerto Rico, Islas del Cisne-Honduras, Santa Cruz, Saba, Montserrat, Dominica, Barbados, Curazao, Providencia, el Archipiélago de San Andrés y Santa Catalina-Colombia (Rathbun, 1918; Chace y Hobbs, 1969); y *G. nobilii* se conoce actualmente de Punta Galera y Santa Elena (Ecuador), también ha sido documentada con registro fotográfico en Isla Gorgona (Colombia), Playa Chucheros (Buenaventura, Colombia), Canangucho Forest Reserve (Nuquí, Chocó, Colombia), Ayampe (Manabí, Ecuador) e isla de la Plata (Ecuador) (Perger y Wall, 2014).

Cangrejos semiterrestres del género *Gecarcinus*

Los cangrejos semiterrestres de la familia Gecarcinidae tienen gran influencia en los ecosistemas costeros, ya que procesan grandes cantidades de materia orgánica, siendo de vital importancia en el ciclo de los nutrientes (Green *et al.*, 1999; Sherman, 2002, 2003; O'Dowd y Lake, 1991; Kellman y Delfosse, 1993). También alteran la estructura de comunidades de plantas a través del consumo selectivo de semillas y plántulas (García-Franco *et al.*, 1991; Jiménez *et al.*, 1994; Sherman, 2002). Además de esto, las madrigueras en las que viven sirven de hábitat para otros artrópodos simbioses (Bright y Hogue, 1972) y en la construcción de estos refugios, los cangrejos remueven el sustrato permitiendo la



oxigenación y la mezcla de las diferentes capas que lo componen (Sampedro-Salinas, 2012).

En las áreas donde se ha estudiado a *G. lateralis*, siempre se ha encontrado por encima de la línea de marea alta. En Bermuda, los cangrejos pueden excavar madrigueras en la parte alta de la playa arenosa y en zonas altas cubiertas de pastos, malezas y hierbas que se extienden tierra adentro (Weitzman, 1963). Se ha observado que en Bimini, Bahamas, los cangrejos construyen madrigueras en la espesa hierba que rodea la playa y se extiende hacia el interior formando zonas de césped (Bliss, 1963). Según observaciones de Klaassen (1975) indican que en el norte de Colombia este cangrejo habita suelo arcilloso entre los cocoteros. En la isla de Dominica, se pueden encontrar en elevaciones de unos 300 m (Chace y Hobbs, 1969). Durante el verano en el sureste de Florida, en época de lluvias, un gran número de cangrejos se pueden observar afuera de las madrigueras, especialmente muy temprano, por la mañana y al atardecer, siendo inusual observarlos activos durante las horas de luz del día. En Bahamas, la actividad de los cangrejos se restringe casi enteramente a las horas del crepúsculo y de oscuridad (Bliss y Sprague, 1958; Palmer, 1971), algo más inusual sucede en Colombia, en donde existe una población diurna activa viviendo a la sombra de arbustos y árboles (Henning y Klaassen, 1973; Klaassen, 1975).

OBJETIVO GENERAL

Determinar cuál es la situación taxonómica real de las especies del género *Gecarcinus* que se distribuyen en el Atlántico y Pacífico mexicanos, con base en una revisión de los caracteres morfológicos y el uso de evidencia molecular.

ÁREA DE ESTUDIO

Costas mexicanas

Las costas mexicanas se extienden a lo largo de 11,592.76 km. Están limitadas por el Océano Pacífico, el golfo de California, el golfo de México y mar Caribe. De los 32



estados que constituyen el territorio nacional, 17 tienen límites costeros. De estos estados ribereños 11 se ubican en el litoral del océano Pacífico y golfo de California y los seis restantes en el litoral del golfo de México y mar Caribe (Alvarez-Arellano y Gaitán, 1994).

La gran extensión del litoral mexicano representa un rasgo sobresaliente de la fisiografía del país, que implica una gran variedad de ambientes costeros derivados de la interacción de procesos geológicos, oceanográficos y atmosféricos a través del tiempo y el espacio. Además, la diversidad de condiciones en formas y dinámica del medio costero dan lugar a ambientes claramente distinguibles entre sí, sea por el tipo de sus sedimentos, geoformas u otro tipo de variables oceanográficas. Los ambientes costeros que se pueden encontrar son playas, islas de barrera, deltas, estuarios, planicies de marea, canales de marea, dunas y lagunas costeras (Alvarez-Arellano y Gaitán, 1994).

Pacífico centro-oriental

El Pacífico centro-oriental forma parte de la gran región zoogeográfica del Pacífico oriental, que se extiende desde Punta Barrow, EUA, hasta el estrecho de Magallanes, Chile, a lo largo de la costa occidental de América. De acuerdo con Spalding *et al.* (2007), la parte mexicana se encuentra en las provincias Pacífico Occidental Cálido-templado y Pacífico Oriental Tropical. Estas grandes regiones se dividen a su vez en diferentes bloques y las condiciones ambientales que presentan, están directamente relacionadas con los patrones climáticos locales y las corrientes oceánicas y costeras. Cada bloque aloja una fauna propia, caracterizada por un alto grado de endemismo, que va enriqueciéndose en especies en dirección hacia el ecuador, alcanzando, al igual que en otras grandes regiones del mundo la diversidad máxima en la franja tropical. Los límites de la zona tropical se localizan en dos zonas de mezcla de aguas de origen ecuatorial y templado que colindan al norte con la corriente de California y al sur, con la corriente del Perú, la cual es una prolongación de la corriente de Humboldt. El impacto de estas dos corrientes varía según el periodo del año.

En el Pacífico centro-oriental, esta última corriente alcanza máxima influencia en septiembre-octubre, cuando su extensión hacia el este sobrepasa la longitud de 90° W y contrarresta el avance de la corriente de California, la cual fluye hacia el sur a lo largo de la península de Baja California y gradualmente gira hacia el oeste para alimentar la corriente



Norecuatorial (Kessler, 2006; García-Rodríguez y Perez-Enriquez, 2008); al mismo tiempo se desarrolla una fuerte corriente costera que es la de Costa Rica, que fluye hacia el norte (Hendrickx, 1995). De julio a diciembre, la corriente de California se debilita y tiene poca influencia en la corriente Norecuatorial (Kessler, 2006; García-Rodríguez y Perez-Enriquez, 2008).

Golfo de México y mar Caribe

El golfo de México y mar Caribe, de acuerdo con Spalding *et al.* (2007), están comprendidos en tres ecorregiones. La primera ecorregión comprende la parte norteña del golfo de México y pertenece a la provincia nombrada como Atlántico occidental cálido-templado, la segunda corresponde a la parte sureña del golfo de México y la tercera a la porción caribeña occidental, las últimas dos ecorregiones se incluyen en la provincia nombrada como Atlántico occidental tropical, en ella también se consideran a las islas caribeñas (Toledano-Carrasco, 2016).

Una de las corrientes que afecta aproximadamente al 50% del golfo de México es la corriente de Lazo, la cual se forma porque el Agua Subtropical del Caribe (ASSC) con altas concentraciones de salinidad y calor, entra al golfo a través del Canal de Yucatán moviéndose en el sentido de las manecillas del reloj (anticiclónicamente), y forma una corriente en forma de lazo que alcanza hacia el Este el estrecho de Florida (Monreal-Gómez *et al.*, 2004). La temperatura del golfo está determinada por el influjo de las aguas cálidas de la corriente del Lazo, que se introduce por el canal de Yucatán y la zona del Caribe (Biggs, 1992). Se caracteriza por tener una temperatura superficial de 28 a 29 °C durante el verano, con un incremento en las aguas superficiales de noroeste a sureste; en invierno disminuye hasta los 19 o 20 °C, ya que los vientos fríos provenientes del norte ponen resistencia a las aguas cálidas procedentes del sureste, las cuales, en la trayectoria hacia el noroeste del golfo de México, van transmitiendo calor a aguas de menor temperatura (Nowlin y McLellan, 1967).

El mar Caribe tiene características propias al ser la parte del océano por donde pasa una porción importante de la corriente Ecuatorial del Norte junto con un porcentaje de masas de agua de la corriente Ecuatorial del Sur (Vázquez de la Cerda, 2004). Las



principales masas de agua superficial que entran en la región, provienen ya sea de la corriente del Norte de Brasil (que pasa alrededor de Trinidad vira al Oeste, a lo largo del talud continental, para entrar en el Sur del Caribe) o de la corriente ecuatorial del Norte, que se integra al Caribe a través de los pasos en las Antillas Menores y Mayores. Asimismo, el flujo principal de la corriente del Caribe, pasa alrededor de la parte Sur de la ecorregión hacia el canal de Yucatán, a través del cual entra al golfo de México (Wilkinson *et al.*, 2009).

Formación del istmo de Panamá

Las actuales características geológicas y ambientales del istmo han sido resultado de un proceso largo y complejo, pues no fue un evento uniforme y constante, sino que consistió en reaperturas y cierres que iniciaron hace varios millones de años (Marek, 2015).

Hace 20 millones de años aproximadamente, los continentes de América del norte y América del Sur estaban separados por una masa de agua, lo cual permitía que las aguas de los océanos Pacífico y Atlántico se mezclaran, hasta la formación del istmo de Panamá, emergido totalmente hace tres millones de años. La formación del istmo inició por el nacimiento de islas volcánicas que se fueron acumulando debido a la subducción de la placa de Cocos debajo de la Placa Caribeña y a su constante movimiento, también por la acumulación masiva de sedimentos producto de la erosión de América del norte y América del Sur, que se fueron depositando en los espacios que había entre las islas volcánicas (Coates, 1997). Se considera uno de los eventos geológicos más importantes en los últimos 60 millones de años, ya que ha tenido un gran impacto en el clima y biodiversidad del planeta, pues al impedir el contacto entre ambos océanos, forzó a las corrientes oceánicas de ambos lados a redireccionar la circulación, creando masas de agua con condiciones muy diferentes y la biota marina tuvo que cambiar y adaptarse a los nuevos escenarios ambientales (Kumar, 2013). Dando como resultado que las comunidades bentónicas del Caribe presenten una estructura ecológica dominada por corales y algas calcáreas, mientras que comunidades del Pacífico presentan una estructura ecológica dominada por moluscos (de Gracia *et al.*, 2011).



JUSTIFICACIÓN

Existen diversos estudios acerca del complejo de especies *Gecarcinus lateralis*, en los cuales se considera la distinción entre *G. lateralis* y *G. quadratus*, con base en caracteres morfológicos que presentan gran variación intra-poblacional. Otros trabajos, entre ellos el más reciente (Perger y Wall, 2014), consideran que las poblaciones del Atlántico y del Pacífico pertenecen a la misma especie, *G. lateralis*, sin embargo, no existe sustento de evidencia molecular, la cual podría revelar la existencia de uno o más linajes distintos y morfológicamente muy parecidos. Por ello, la realización de la presente tesis incidirá en la resolución de este problema taxonómico, a través de diferentes análisis de características morfológicas y genéticas, que aporten información definitiva sobre el estatus nominal de estas formas.

PRESENTACIÓN DE LA TESIS

La información obtenida en los diferentes análisis se ha organizado en dos capítulos; en el primero de ellos se llevó a cabo una revisión morfológica con el fin de evaluar si existen caracteres morfológicos (somáticos y reproductivos) de utilidad para diferenciar a las especies de *Gecarcinus* que se distribuyen en las costas de México, *G. lateralis* para el Atlántico y *G. quadratus* para el Pacífico. Se abordaron los temas relacionados con la taxonomía del género *Gecarcinus* y con base en los resultados obtenidos se desarrolló un tratamiento taxonómico monográfico para especies, en el cual se compararon y describieron detalladamente los caracteres somáticos y reproductivos que definen a las especies *G. lateralis* y *G. quadratus*, finalmente se trató de definir la variación a través de un gradiente geográfico. En el segundo, se realizó un análisis filogenético con marcadores moleculares (COI y 16S), con las secuencias obtenidas se obtuvo un árbol filogenético concatenado bajo el método de inferencia Bayesiana y Máxima verosimilitud, los cuales separaron claramente a las poblaciones del Atlántico y Pacífico mexicanos. Se realizó la matriz de distancias genéticas utilizando las secuencias del gen COI bajo el algoritmo Kimura 2 parámetros, se calculó el tiempo de divergencia entre ambos linajes en un rango y finalmente se obtuvo una red de haplotipos.



Capítulo I.

Taxonomía del género *Gecarcinus* Leach, 1814

INTRODUCCIÓN

La familia Gecarcinidae MacLeay, 1838, está constituida por los cangrejos semiterrestres que se distribuyen a lo largo de la planicie costera tropical americana, son habitantes comunes de zonas de manglar, así como de zonas más continentales adyacentes a los cuerpos de agua salobre como marismas, estuarios y lagunas costeras. Geológicamente datan de antes de la emersión de Centroamérica (Glaessner, 1969), por lo que al completarse el levantamiento de este istmo las poblaciones quedaron fragmentadas. Dentro de las especies que quedaron aisladas se encuentran las del género *Gecarcinus* Leach, 1814: *G. ruricola* (Linnaeus, 1758) y *G. lateralis* Guerin, 1832, del Atlántico, así como *G. quadratus* De Saussure, 1853 y *G. nobilii* Perger y Wall, 2014, del lado del Pacífico. Taxonómicamente, autores como Rathbun (1918), Chace y Hobbs (1969), Powers (1977), Prah y Manjarrés (1984) y Abele y Kim (1986), trataron de diferenciar morfológicamente a cada una de estas especies, pero para ello utilizaron caracteres que presentan una alta variabilidad y subjetividad. Actualmente no existe sustento con un análisis molecular, el cual podría revelar la existencia de uno o más linajes distintos, que morfológicamente son muy parecidos, o bien, si es una misma especie con gran variabilidad.

Morfológicamente la familia Gecarcinidae se caracteriza por tener un caparazón convexo y transversalmente ovalado con regiones bien definidas, márgenes antero-laterales fuertemente arqueados, no presentan ornamentación en forma de dientes o lóbulos, son lisos; los postero-laterales convergen posteriormente. La región pterigostomiana puede o no presentar una densa capa de pubescencia que no está arreglada en forma reticulada. Los terceros maxilípedos están separados, dejando entre ellos una abertura, que deja expuestas las mandíbulas; el palpo puede ser visible o estar oculto detrás del mero; el exópodo es visible o está escondido debajo del isquio; el borde distal del mero puede ser entero o con una muesca (escotadura) somera o profunda. Los ojos están bien desarrollados y pigmentados. Los dactilos de los apéndices ambulatorios presentan de cuatro a seis hileras longitudinales de espinas (Toledano-Carrasco, 2016) (Fig.1).



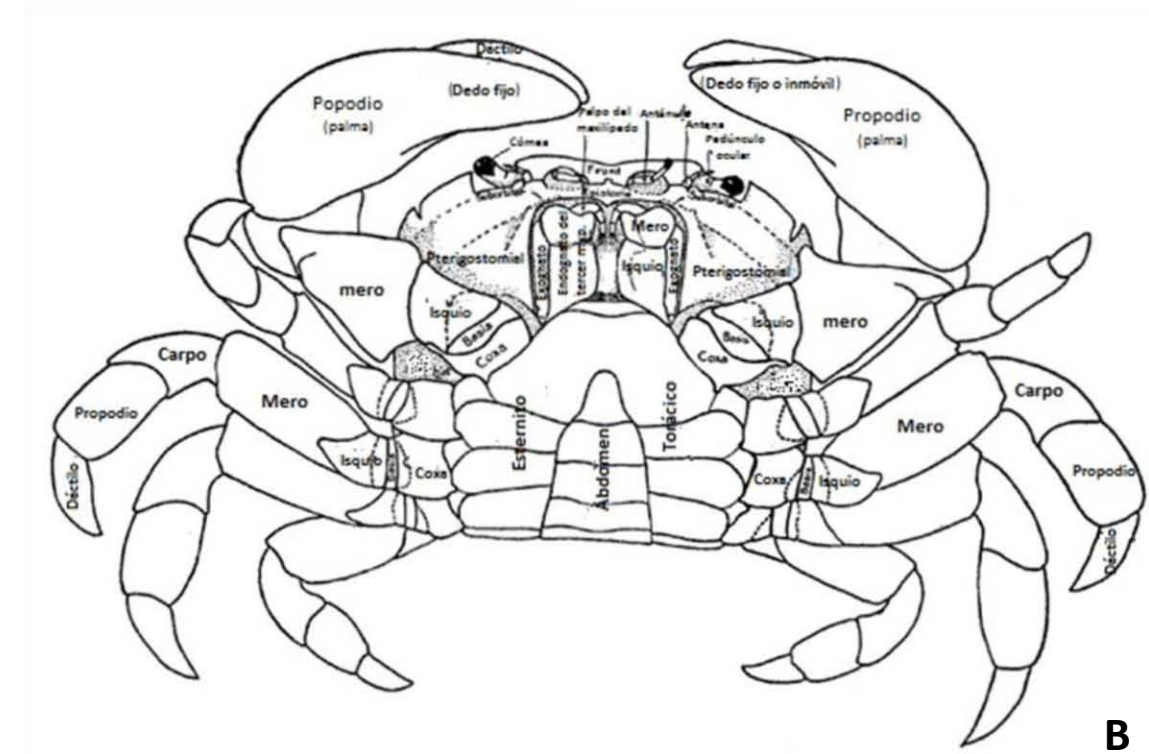
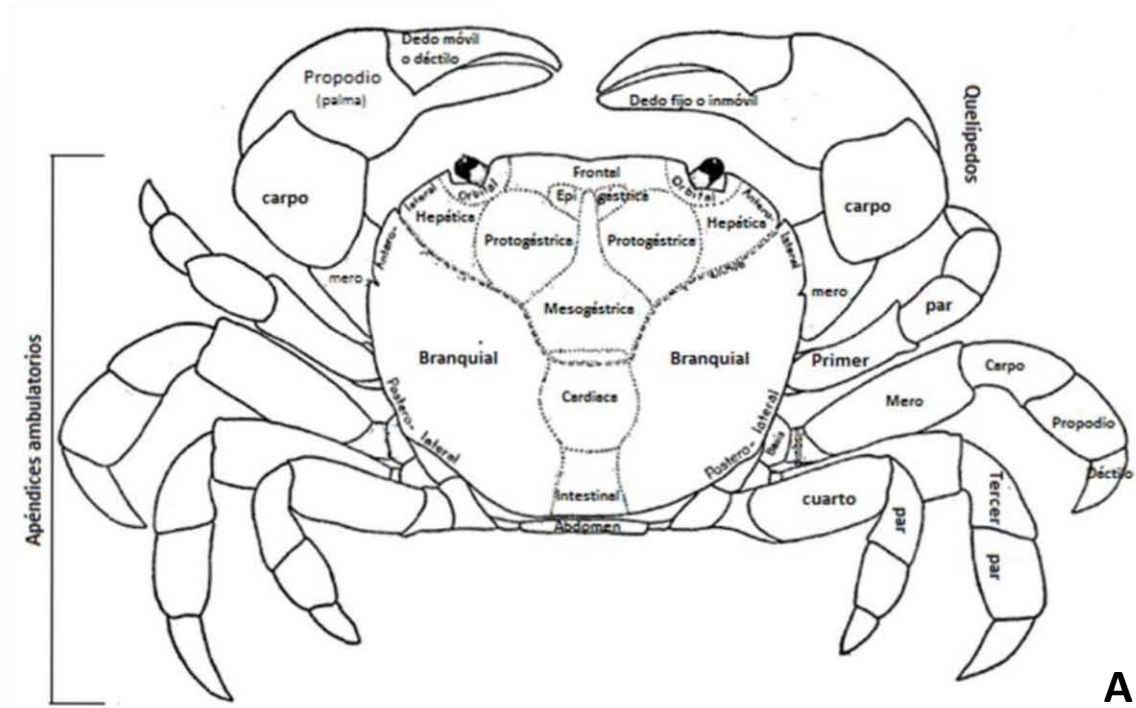


Figura 1. Regiones anatómicas de los braquiuros: A) vista dorsal; B) vista ventral (Modificado de Rathbun, 1918).

En particular el género *Gecarcinus* se caracteriza por tener las regiones pterigostomianas casi desnudas. Sólo la parte anterior del borde lateral está marcada por una línea marginal. El margen fronto-orbital mide cerca de la mitad o menos de la mitad del ancho máximo del caparazón y la frente está fuertemente dirigida hacia abajo (Rathbun, 1918). Para identificar a las diferentes especies de *Gecarcinus* (*G. lateralis*, *G. quadratus* y *G. ruricola*), tradicionalmente se utilizan caracteres como la forma del margen anterior del mero del tercer maxilípodo (con el margen entero o con una muesca), el grado de cobertura de dichos maxilípedos con respecto al margen anterior del epistoma (alcance de los maxilípedos externos en relación al margen anterior del epistoma), así como (Fig. 2: A) el número de hileras espinosas en el dactilo de los apéndices ambulatorios (cuatro en *G. lateralis* vs. seis en *G. quadratus* y *G. ruricola*) (Fig. 2: C). Sin embargo, se ha observado que estos caracteres son imprecisos para distinguir entre especies, ya que son muy variables intra-poblacionalmente, dificultando así la determinación a nivel de especie (Toledano-Carrasco, 2016). Esto concuerda con la observación de Turkay (1973), quien reportó una alta variabilidad en el margen de los terceros maxilípedos incluso en la serie tipo, por lo que consideró que *G. quadratus* como una variación de *G. lateralis*, siendo así su sinonimia. En un principio, Turkay (1970) consideró a *G. quadratus* como una subespecie de *G. lateralis*, pero con la revisión de los tipos depositados en el Museo de Historia Natural de París, llegó a la conclusión de que se trataba de una sinonimia.

El trabajo más reciente de Perger y Wall (2014), incluye una clave taxonómica, utilizando nuevos caracteres para identificar a *Gecarcinus lateralis*, *G. ruricola* y una especie nueva que proponen con el nombre de *G. nobilii*, considerando a *G. quadratus* como sinónimo de *G. lateralis*. Los caracteres utilizados tampoco fueron útiles para la identificación de los organismos del golfo de México, ya que, con base en la descripción, algunos ejemplares corresponderían a *G. nobilii*, que según los autores se encuentra distribuida en el Pacífico.



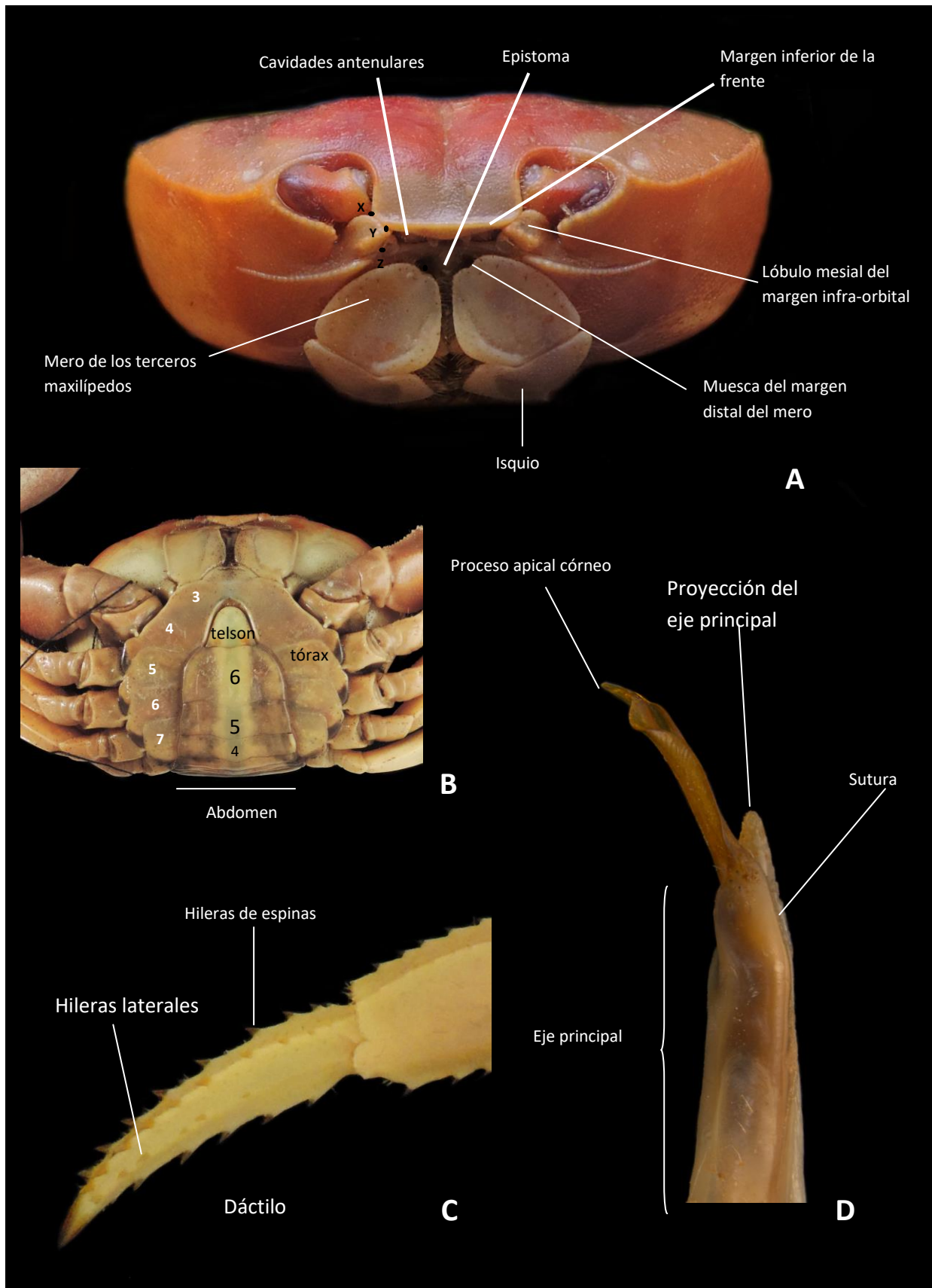


Figura 2. Estructuras de importancia taxonómica en *Gecarcinus*. A. Vista frontal (Distancias x-y y z-y tomadas por Perger y Wall (2014) para diferenciar entre *G. lateralis* y *G. nobilii*). B. Principales estructuras ventrales numerando los somitas abdominales y torácicas. C. Hileras de espinas del dáctilo. D. Estructura del gonópodo del macho, vista caudal.

Algunos autores que consideraron a *G. quadratus* como una especie válida y que la citaron para el Atlántico, son: Rathbun (1918), quien reportó a la especie en Turbo, región del Atlántico de Colombia; Buitendijk (1950) en Veracruz, entre barras de Nautla y Tecolutla; así como Powers (1977) citando las siguientes localidades: Veracruz, México hasta Turbo, Columbia (Caribe colombiano), Saint Croix, Jamaica y Barbados; así como en el Pacífico oriental, de Acapulco, México a La Libertad, Ecuador (Toledano-Carrasco, 2016).

ANTECEDENTES

Rathbun (1918), Powers (1977), Prahl y Manjarrés (1984) y Abele y Kim (1986) utilizaron la forma y tamaño del mero de los terceros maxilípedos, así como también el número de hileras en el dácilo de los apéndices ambulatorios, para diferenciar a las especies del género *Gecarcinus*. Sin embargo, Turkey (1970) consideró a *G. quadratus* como una subespecie de *G. lateralis*, con la revisión de tipos en el Museo de Historia Natural de París (Turkey, 1973), llegó a la conclusión de que se trataba de una sinonimia, ya que encontró una alta variabilidad en la forma del mero en los terceros maxilípedos, por lo que consideró que *G. quadratus* era una variación de *G. lateralis*.

Perger y Wall (2014) incluyeron una clave taxonómica, proponiendo caracteres nuevos para identificar a *Gecarcinus lateralis*, *G. ruricola* y una especie nueva que describen con el nombre de *G. nobilii*, considerando a *G. quadratus* como una sinonimia junior de *G. lateralis*. Los caracteres utilizados por estos autores son la forma del lóbulo mesial del margen infra-orbital, la robustez de las espinas laterales del dácilo (fuertes o débiles), así como algunos patrones de coloración en la superficie dorsal del caparazón. Cabe mencionar que en su trabajo solo revisaron un ejemplar del Atlántico mexicano.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Revisar el acervo de la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología, UNAM, para encontrar todos los ejemplares de las especies de *Gecarcinus* que se encuentran depositados.
- Integrar una base de datos donde se recabó toda la información de los ejemplares depositados en la CNCR, acerca de su número de catálogo, procedencia, medidas, sexado.
- Efectuar una revisión cuidadosa de los caracteres somáticos y reproductivos de importancia diagnóstica, en cada una de las especies que se encuentran presentes en las costas de México.

MATERIAL Y MÉTODO

Se revisaron los acervos de la Colección Nacional de Crustáceos (CNCR) del Instituto de Biología, UNAM, de la Colección Carcinológica del Laboratorio de Entomología y Artrópodos, Escuela de Biología de la Universidad Autónoma de Nuevo León (CCLEA) y de la Colección de Crustáceos de Yucatán (CCY) depositada en la UMDI-Sisal, de la Facultad de Ciencias, UNAM, (Anexo1). De la CNCR se obtuvieron 75 lotes procedentes del Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe. De la CCLEA se revisaron 30 ejemplares de los estados de Tamaulipas (La Laguna y playa La Pesca), Veracruz (Playa Azul, Alvarado, Barra de Cazones y Río Pánuco) y Tabasco (playas Bruja y Chiltepec). De la (CCY), se revisó un ejemplar de Arrecife Alacranes, Yucatán. Para incrementar el número de localidades, se realizaron recolectas manuales en la Barra de Sontecomapan, Veracruz y en la Barra de Boca del Cielo, Puerto Arista, Chiapas, los ejemplares fueron colocados en refrigeración durante 20 minutos, posteriormente fueron fijados en alcohol absoluto y etiquetados, además se lograron conseguir donaciones de ejemplares de playa Mahahual, Quintana Roo; Cayo Arcas, Campeche; Playa Aragón, Oaxaca y Punta de Mita, Nayarit. Cada uno de los ejemplares fue sexado, medido, analizado morfológicamente e identificado.

Se tomaron algunas medidas que fueron registradas en centímetros, como el ancho máximo del caparazón, ancho posterior del caparazón, largo del caparazón, ancho fronto-orbital, ancho frontal, largo y ancho máximo del isquio de los terceros maxilípedos, largo y ancho máximo del mero de los terceros maxilípedos, largo del maxilípedo completo y distancia desde la base del mero de los terceros maxilípedos al epistoma.

Se realizó un registro fotográfico de los ejemplares en vista dorsal, ventral y frontal, así como también del gonópodo izquierdo de los machos, los cuales fueron extraídos cortando ligeramente con la aguja de disección sobre la articulación donde estos apéndices se unen al abdomen. Se les quitaron las cerdas y fueron colocados en tubos pequeños con alcohol al 70%, para posteriormente obtener fotografías en el microscopio de capas Leica Z16APOA con una cámara LEICA DFC490 de ocho mega pixeles. Se tomaron fotografías en diferentes vistas a una magnificación de 7 X y escaladas a 2 milímetros (Fig. 2: D; Figs.14-17).

Finalmente se efectuó una descripción detallada de ambas especies.

RESULTADOS

En la revisión morfológica no se encontraron caracteres que puedan diferenciar claramente a las especies, algunos que se han observado y se han mantenido en la mayoría de los ejemplares, son la forma del abdomen que, por lo general, en las hembras del Pacífico es un poco estrecho sin llegar a cubrir por completo el esternito torácico, mientras que en las hembras del golfo de México y mar Caribe el abdomen es tan ancho que cubre al esternito torácico en gran parte o casi por completo. Esta diferencia en la forma del abdomen fue más notoria en machos, los organismos del golfo presentaron la sexta somita abdominal con los márgenes laterales fuertemente convexos (Fig. 11: B). Otro carácter en el que se presentó discrepancia fue la complejidad de los bordes que delimitan el canal eferente, pues en la mayoría de los organismos del Pacífico estos bordes están fuertemente marcados delimitando bien esta región, mientras que en los del golfo de México los bordes eran someros, y aunque en algunos la región del canal eferente estaba definida, en muchos otros no, siendo poco visible.



Gecarcinus Leach, 1814

Diagnosis.- Forma del caparazón parecida a la de *Cardisoma*, con las regiones branquiales hinchadas. Regiones pterigostomianas casi desnudas. Sólo la parte anterior del borde lateral marcada por una línea marginal. Margen fronto-orbital cerca de la mitad o menos de la mitad del ancho máximo del caparazón. Frente fuertemente dirigida hacia abajo. Órbitas profundas, no son mucho más anchas que altas; ángulo externo no prominente, el interno con un diente robusto que llega hasta la frente, separado del borde frontal por una muesca profunda en forma de U. Ojos casi llenando las órbitas. Anténulas plegadas oblicuamente y en gran parte ocultas por la frente; septo inter-antenular estrecho. Antenas muy cortas, con el segmento basal muy pequeño que no llega a la frente (Rathbun, 1918).

Epistoma linear, a veces cubierto por los terceros maxilípedos. Cavidad bucal subcircular o romboidal, más ancha en el centro, sus márgenes con una densa franja de cerdas; terceros maxilípedos separados dejando una abertura central romboidal y exponiendo las mandíbulas; isquio y mero anchos, subiguales en longitud, mero suboval, ocultando el corto y robusto palpo, articulado en la parte media del margen anterior del mero. Exognato oculto y provisto de un flagelo. Quelípedos robustos y casi lisos, pueden ser de tamaño similar o ligeramente diferente. Apéndices ambulatorios robustos, el segundo par es el más largo, últimas tres articulaciones armadas con espinas, dactilo con cuatro a seis hileras longitudinales. Placa esternal con franjas cortas de cerdas entre los esternitos cuarto y quinto. Abdomen con siete somitas en ambos sexos (Toledano-Carrasco, 2016).

Gecarcinus lateralis Guerin, 1832

(Anexo, Figs. 10: A; 11: A-D; 12: A-J; 13: A-I; 14: A-N; 15: A-N; 16: A-N; 20: A-F, I-Q)

Gecarcinus lateralis Guerin, 1832: 7, pl. 5, figs. 1, 1a-b (*In*: Cuvier, Iconographie du Règne animal). H. Milne-Edwards, 1834: pl. 18, figs. 2-6.

Ocypoda lateralis; Fremenville, 1835: 224 (*vide* Rathbun, 1918: 355)

Gecarcinus lateralis; H. Milne-Edwards, 1837: 27. De Saussure, 1858: 440. Rathbun, 1918: 355. Chace y Hobbs, 1969: 198.

Gecarcinus (Gecarcinus) lateralis lateralis; Turkay, 1970: 337.



Gecarcinus (Gecarcinus) lateralis; Turkay, 1973: 974.

Gecarcinus lateralis; Powers, 1977: 139.

Gecarcinus (Gecarcinus) lateralis lateralis; Prahly y Manjarrés, 1984: 158.

Gecarcinus lateralis; Abele y Kim, 1986: 661. Hernández-Aguilera, 1996: 92. Schubart *et al.*, 2006: 195. Ng *et al.*, 2008: 215. Felder *et al.*, 2009: 1088. Low *et al.*, 2013:101. Perger y Wall, 2014: 97. Hermoso-Salazar y Arvizu-Coyotzi, 2015: 21. Toledano-Carrasco, 2016: 37-41.

Descripción.- Caparazón transversalmente oval, más ancho en la mitad anterior y fuertemente convexo, márgenes antero-laterales fuertemente arqueados, diente antero-lateral débilmente marcado. Regiones bien definidas por surcos someros. Región braquial muy prominente. Margen fronto-orbital mide cerca de la mitad o un poco menos de la anchura máxima del caparazón. Frente mide cerca de 1/4 el largo del caparazón, esta puede tener una superficie ligeramente cóncava o recta en algunos ejemplares, margen granuloso, ligeramente cóncavo y a veces dirigido hacia abajo; lóbulos frontales poco definidos (Fig. 10: A).

Órbitas bien desarrolladas con los márgenes tuberculados. El margen infra-orbital tuberculado, interrumpido por una muesca profunda, se continúa con una placa que forma un lóbulo mesial, debajo de éste se extiende un borde suborbital (cresta) que inicia cerca del borde superior del epistoma. Terceros maxilípedos separados entre ellos dejando una abertura romboidal, pueden cubrir o quedar por debajo del epistoma (Fig. 11: A), en el margen mesial hay un borde de cerdas; isquio y mero tienen casi la misma anchura, pero respecto a la longitud, el isquio es más largo que el mero, éste último por lo general con el borde anterior recto, solo unos pocos presentan una ligera emarginación o discontinuidad. Palpo corto, oculto y articulado detrás del mero, dirigido lateralmente. Exognato corto y escondido detrás del isquio (Fig. 20: A-F, I-Q).

Quelípedos subiguales, especialmente en las hembras, en los machos de gran tamaño es posible observar una diferencia de tamaño significativa. Dáctilo y propodio puntiagudos, con la punta queratinizada, de esta se desprenden hileras de espinas que se extienden a lo largo (Fig. 11: D). Superficie de la palma hinchada con una depresión interna cerca de la zona de articulación con el carpo. Carpo subtriangular, el margen dorso-mesial puede ser liso en organismos de gran tamaño o presentar espinas en organismos pequeños.



Mero elongado y subtriangular con la superficie estriada. Apéndices ambulatorios alargados y esbeltos con setas cortas; mero alargado con la superficie estriada, margen dorsal dentado; carpo subtriangular, más corto que el propodio, casi del mismo tamaño en el quinto par de pereiópodos, margen dorsal dentado; propodio subrectangular alargado más corto que el dácilo, márgenes dorsales y ventrales formados por espinas cortas y delgadas; Dácilo de los apéndices ambulatorios pueden presentar de cuatro a seis hileras de espinas (Fig. 11: C), las espinas laterales poco definidas y pueden cubrir cerca de un cuarto de la longitud total del artejo o bien extenderse a todo lo largo, pueden ser escasas, es decir, dos o tres espinas o ser relativamente abundantes seis o más espinas débiles.

Abdomen del macho relativamente más angosto que en *G. quadratus*, con el telson redondeado en el margen distal y algunas veces ligeramente puntiagudo. Sexta somita ensanchada, con los márgenes laterales fuertemente convexos, sobresaliendo notablemente del telson (Fig. 2: B; fig. 11: B; fig. 13: A-I). En el caso de las hembras, el abdomen es subcircular y en la mayoría este es tan ancho que cubre por completo o casi por completo el esternito torácico (Fig. 12: A-J). En organismos de Cayo Arcas, el telson se observa más puntiagudo que en el resto, en los cuales éste es más redondeado.

Machos con el G1 semicilíndrico, adelgazándose distalmente, porción apical quitinizada y ornamentada con cerdas largas y esbeltas; placa apical córnea tan larga como cerca de un tercio del gonópodo; eje principal con la sutura mayormente visible en vista mesial y con la porción distal de la superficie cefálica, terminada en una proyección digitiforme que puede ser muy puntiaguda y alargada o redondeada y relativamente corta dirigida apical o cefálicamente (Fig. 16), está ornamentada con cerdas esbeltas que se extienden distalmente.

En vista lateral, porción distal del eje principal excavada y terminada en dos proyecciones, la placa apical córnea y la proyección digitiforme de la superficie cefálica, la primera se extiende distalmente, es rectangular, suavemente acanalada y termina en forma oblicua con el margen semicircular u ondulado, con el margen cefálico alcanzando más allá que el caudal; la segunda es agudamente triangular y se extiende hasta casi alcanzar la mitad de la placa apical córnea (Fig. 14). En vista caudal la excavación del eje principal es evidente, dando a la placa apical córnea una inclinación dirigida mesialmente, el patrón de ondulaciones de la placa varía (Fig. 15). En vista cefálica, placa apical dirigida disto-



lateralmente, fusionada al extremo distal de la superficie lateral y excavada en la porción superior; sutura marginal en posición meso-cefálica, evidente, se extiende a todo lo largo del eje principal (Fig. 16).

Hembras con el gonoporo situado en la sexta placa del esternito torácico y sobresale de éste. El anillo que rodea al opérculo es oval y tiene los bordes afilados; el opérculo está formado por un lóbulo grande, longitudinalmente oval y sobresaliente (Toledano-Carrasco, 2016).

Coloración. Superficie dorsal del caparazón con una pigmentación oscura, excepto en los márgenes laterales, los cuales son anaranjados, margen posterior a veces presenta un color más tenue parecido al crema. Quelípedos y porción inferior de la frente con una coloración anaranjada (Fig. 10: A).

Medidas.- Ancho máximo del caparazón: 3-6.45; Largo del caparazón: 2.73-4.91; Margen frontal: 0.56-1.24; Margen fronto-orbital: 1.72-3.33. Distancia X-Y: 0.18-0.23; Distancia Y-Z: 0.18-0.23 (Fig. 2: A).

Tabla 1. Datos de los sitios de muestreo, colección biológica en la que se encuentran los ejemplares, número de hembras, machos y juveniles, número de inventario, sexo y número asignado dentro de cada muestra (H: hembra, M: macho, JU: juvenil).

Colección biológica	Estado	Municipio	Localidad	Datos de las muestras
CCLEA	Tamaulipas	Boca de Catán	La Laguna La Pesca	(2♀, 1 juvenil) C86-07182 : H1, H2, JU
CCLEA		Soto la Marina		(2♀) C86-07094 : H2
CCLEA				(1♀, 1♂) Frasco D : H1, M1
CCLEA	Veracruz	Cazones	Barra de Cazones	(1♂) C86-06601 : M2
CNCR		Ángel R. Cabada	Río Prieto	(1♀, 2♂) CNCR 33942 : H3, M3, M4
CNCR		Catemaco	Barra de Sontecomapan	(2♂) CNCR 33943 : M1, M2
CCLEA	Tabasco	Paraíso	Playa Bruja	(1♂) C86-06495 : M2
CCLEA			Chiltepec	(1♀, 1♂) C86-06500 : H1, M1
CNCR	Campeche		Cayo Arcas	(1♀, 2♂) CNCR 34011 : H1, M1, M2
CCY	Yucatán	Progreso	Arrecife Alacranes	(1♀) YUC-CC-255-11-001024 : H1
CNCR	Quintana Roo	Othón P. Blanco	Mahahual Isla Cayo Norte Menor,	(1♂, 2 juveniles) CNCR 34010 : M1, JU1, JU2



Distribución geográfica.- Atlántico occidental: desde Florida, EUA, a Venezuela (Turkay, 1970), su distribución es parcialmente simpátrica con *G. ruricola* (Linnaeus, 1758).

Localidades citadas.- Barra de Coma, Puerto industrial de Altamira, Tampico, Tamaulipas; Isla Lobos, Tecolutla, Villa Rica, El Morro de la Mancha, Chachalacas, Veracruz, Arrecife la Blanquilla, Arrecife de En medio, Isla Verde, Isla Sacrificios, Montepío, Playa El Jicacal, Sontecomapan, Veracruz (Toledano-Carrasco, 2016); Playa Limón, Tabasco; Laguna de Términos (Toledano-Carrasco, 2016), Campeche, Campeche; Arrecife Alacranes, Yucatán (Delgado-Martínez, 2012); Isla Mujeres (Rathbun, 1918; Toledano-Carrasco, 2016) e Isla Cozumel (Rathbun, 1918) Estación ICML Puerto Morelos, Quintana Roo (Toledano-Carrasco, 2016).

Hábitat.- En madrigueras, áreas arenosas, en el dorso de dunas, bajo trozos de árboles, hojarasca, bosques densos y mangles. Hasta arriba de 304 m en Dominica (Chace y Hobbs, 1969).

Gecarcinus quadratus De Saussure, 1853

(Anexo, Figs. 10: B; 11: E-H; 12: K-O; 13: J-P; 17: A-L; 18: A-L; 19: A-L; 20: G-H, R-X)

Gecarcinus quadratus De Saussure 1853: 360 (*fide* Rathbun, 1918: 358).

Gecarcinus lateralis: Young 1900: 239.

Gecarcinus quadratus; Rathbun 1918: 358; Garth 1948:58.

Gecarcinus (Gecarcinus) lateralis quadratus; Turkay 1970:338; Prahly y Manjarrés 1984: 155.

Gecarcinus quadratus; Ng *et al.* 2008:215. Arzola-González *et al.* 2010: 187.

Gecarcinus lateralis: Perger y Wall 2014: 97.

Descripción. Caparazón transversalmente oval, más ancho en la mitad anterior y fuertemente convexo, márgenes antero-laterales fuertemente arqueados, diente antero-lateral débilmente marcado. Regiones bien definidas por surcos someros. Región braquial



muy prominente. Margen fronto-orbital mide cerca de la mitad o un poco menos de la anchura máxima del caparazón. Frente mide cerca de 1/4 el largo del caparazón, esta puede tener una superficie ligeramente cóncava o recta en algunos ejemplares, margen granulado, ligeramente cóncavo y a veces dirigido hacia abajo; lóbulos frontales poco definidos (Fig. 10: B).

Órbitas bien desarrolladas con los márgenes tuberculados. El margen infra-orbital tuberculado, interrumpido por una muesca profunda, se continúa con una placa que forma un lóbulo mesial, debajo de éste se extiende un borde suborbital (cresta) que inicia cerca del borde superior del epistoma. Terceros maxilípedos separados entre ellos dejando una abertura romboidal, pueden cubrir o quedar por debajo del epistoma (Fig. 11: E), en el margen mesial hay un borde de cerdas; isquio y mero tienen casi la misma anchura, pero respecto a la longitud, el isquio es más largo que el mero, éste último por lo general con el borde anterior recto, solo unos pocos presentan un ligera emarginación o discontinuidad. Palpo corto, oculto y articulado detrás del mero, dirigido lateralmente. Exognato corto y escondido detrás del isquio (Fig. 20: G-H, R-X).

Quelípedos subiguales, especialmente en las hembras, en los machos de gran tamaño es posible observar una diferencia de tamaño significativa. Dáctilo y propodio puntiagudos, con la punta queratinizada, de esta se desprenden hileras de espinas que se extienden a lo largo (Fig. 11: H). Superficie de la palma hinchada con una depresión interna cerca de la zona de articulación con el carpo.

Carpo subtriangular, el margen dorso-mesial puede ser liso en organismos de gran tamaño o presentar espinas en organismos pequeños. Mero elongado y subtriangular con la superficie estriada. Apéndices ambulatorios alargados y esbeltos con setas cortas; mero alargado con la superficie estriada, margen dorsal dentado; carpo subtriangular, más corto que el propodio, casi del mismo tamaño en el quinto par de pereiópodos, margen dorsal dentado; propodio subrectangular alargado más corto que el dáctilo, márgenes dorsales y ventrales formados por espinas cortas y delgadas; dáctilo de los apéndices ambulatorios casi siempre con seis hileras de espinas bien definidas (Fig. 2: C; Fig. 11: G), aunque en algunos organismos de talla pequeña pueden distinguirse solo cinco hileras, las laterales con espinas poco definidas; mientras que en los ejemplares más grandes las espinas están

tan definidas como las dorsales y ventrales. Abdomen del macho relativamente más esbelto que en *G. lateralis*, con el telson redondeado en el margen distal. Sexta somita relativamente estrecha con los márgenes laterales débilmente convexos, más marcados en los organismos de mayor talla, dando la apariencia de que los márgenes del abdomen son casi rectos desde el telson (Fig. 13: J-P). En el caso de las hembras, el abdomen es subcircular y en la mayoría relativamente angosto que no alcanza a cubrir por completo el esternito torácico (Fig. 12: K-O).

Machos con el G1 semicilíndrico, adelgazándose distalmente, porción apical quitinizada y ornamentada con cerdas largas y esbeltas; placa apical córnea tan larga como cerca de un tercio del gonópodo; eje principal con la sutura mayormente visible en vista mesial y con la porción distal de la superficie cefálica, terminada en una proyección digitiforme que puede ser muy puntiaguda y alargada o redondeada y relativamente corta dirigida apical o cefálicamente, está ornamentada con cerdas esbeltas que se extienden distalmente (Fig. 19).

En vista lateral, porción distal del eje principal excavada y terminada en dos proyecciones, la placa apical córnea y la proyección digitiforme de la superficie cefálica, la primera se extiende distalmente, es rectangular, suavemente acanalada y termina en forma oblicua con el margen semicircular u ondulado, con el margen cefálico alcanzando más allá que el caudal; la segunda es agudamente triangular y se extiende hasta casi alcanzar la mitad de la placa apical córnea (Fig. 17). En vista caudal la excavación del eje principal es evidente, dando a la placa apical córnea una inclinación dirigida mesialmente, el patrón de ondulaciones de la placa varía (Fig. 18). En vista cefálica, placa apical dirigida distolateralmente, fusionada al extremo distal de la superficie lateral y excavada en la porción superior; sutura marginal en posición meso-cefálica, evidente, se extiende a todo lo largo del eje principal (Fig. 19).

Gonoporo similar al de *G. lateralis* (Ver descripción de *G. lateralis*).

Coloración en vida. Casi toda la superficie dorsal del caparazón presenta un tono morado oscuro, en algunos organismos se observan los márgenes posterior y postero-lateral con una pigmentación amarilla o ligeramente anaranjada, al igual que los apéndices ambulatorios. Se presentan dos parches amarillos o naranja claro ubicados antero-lateralmente en la superficie dorsal del caparazón por encima de las órbitas, la frente



presenta esta misma coloración que, a veces solo se observa en la porción central pues los márgenes frontales presentan un color morado oscuro. Los quelípedos presentan una coloración violeta, siendo más intensa en el carpo y mero (Fig. 10: B).

Medidas.- Ancho máximo del caparazón: 1.25 -7.17; Largo del caparazón: 1.1-5.43; Margen frontal: 0.32-1.26; Margen fronto-orbital: 0.85- 3.31. Distancia X-Y: 0.03-0.15; Distancia Y-Z: 0.05-0.2 (Fig. 2: A).

Tabla 2. Datos de los sitios de muestreo, colección biológica en la que se encuentran los ejemplares, número de inventario, sexo y número de cada organismo asignado dentro de cada muestra (H: hembra, M: macho, JU: juvenil).

Colección biológica	Estado	Municipio	Localidad	Datos de las muestras
CNCR	Guerrero	Zihuatanejo	Playa Troncones	(1♀, 1♂, 1 juvenil) CNCR 19003 : H1, M1, JU
CNCR	Oaxaca	Santa María Tonameca	Playa Aragón	(1♀, 1♂) CNCR 34013 : H1, M3
CNCR	Nayarit	Bahía de	Punta Mita	(2♂) CNCR 33941 : M1, M2
CNCR		Banderas	Playa Higuera Blanca	(1♂) CNCR 34012 : M1
CNCR	Chiapas	Tonalá	Barra de Boca del Cielo	(2♂) CNCR 34630 :M1, M2
CNCR	Jalisco	La Huerta	Estación de Chamela	(1♂) CNCR 34846 : M1
CNCR	Sinaloa		Isla Venados	(2♀, 8♂) CNCR 362 : H1, H2, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8
CNCR	Michoacán	Maruata	Maruata	(1♂) CNCR 11736 : M1
		Lázaro Cárdenas	Río Popoyuta	(2♀) CNCR25629 : H1, H2
			Monte del Oro, carretera Tecoman-Playa Azul	(2♀, 3♂) CNCR 6158 : H1, H2, M1, M2, M3
CNCR	Oaxaca	Santa María Colotepec	Puerto Escondido , Bahía Carrizalillo	(1♀) CNCR 3031 : H1
CNCR	Jalisco	De La Huerta	Bahía de Chamela	(2♀) CNCR 3514 : H1; CNCR 3517 : H1

Distribución geográfica.- Se extiende desde el Alto Golfo de California, México a Bahía Elena, Ecuador (Brusca, 1980).

Localidades citadas.- Isla Pájaros (Arzola-González *et al.*, 2010), Mazatlán, Sinaloa (Rathbun, 1918; Rodríguez de la Cruz, 1987); Acapulco, Guerrero (Rathbun, 1918).



Hábitat.- En Isla Pájaros se observó en zonas de tallos de manglar y en la zona de vegetación costera (Arzola-González *et al.*, 2010).

DISCUSIÓN

En general, *Gecarcinus lateralis* presentó más variación en los caracteres morfológicos tradicionalmente utilizados para distinguirla de *G. quadratus*, por ejemplo, la mayoría de los individuos de *G. quadratus* presentaron el margen anterior de los terceros maxilípedos rectos o enteros (Fig. 11: E; fig. 20: G-H y R-X), pocos ejemplares tuvieron una ligera muesca en alguno de los maxilípedos, casi todos con seis hileras de espinas bien definidas en los dactilos de los pereiópodos (Fig. 11: G), en los ejemplares de menor tamaño solo se distinguían cinco. En *G. lateralis* el margen anterior del mero de los terceros maxilípedos presentó una muesca, a veces muy marcada (Fig. 20: E, O y Q) raramente fue somera o suave (Fig. 20: D, H, I, M y P), y en ocasiones, alguno de los maxilípedos o ambos tuvieron este margen entero (Fig. 20: C), carácter que tradicionalmente identificaría a *G. quadratus*. El número de hileras de espinas en los dactilos de los pereiópodos fue muy variable también, pues se observaron de cuatro a cinco hileras de espinas, las laterales poco definidas e incompletas (Fig. 11: C). En ambos casos los organismos de mayor talla presentaron el mero de los terceros maxilípedos más desarrollados y alargados.

Se observaron algunos caracteres que sí fueron diferentes inter-poblacionalmente, uno de ellos fue la coloración que a pesar de que en los ejemplares revisados se mantuvo constante, Perger y Wall (2014) registraron organismos de la costa Atlántica de Costa Rica que presentaron una coloración similar a los ejemplares de *G. quadratus*, como el color violeta en las quelas y un patrón similar en el caparazón, con excepción de los parches color naranja arriba de las órbitas. Otro problema de utilizar la coloración como característica diagnóstica, es que en organismos que se han preservado en alcohol por muchos años ya no es posible observar los tonos claramente, dificultando su identificación. Este carácter se ha utilizado en otros trabajos de decápodos, de acuerdo con Bruce (1975) y Knowlton (1986) en muchos grupos tanto la coloración, como su patrón, es útil para

distinguir especies que difieren poco morfológicamente. Diferencias genéticas y en patrones de coloración se ha observado en especies crípticas como cangrejos ermitaños (*e.g.* Malay y Paulay, 2009), langostas espinosas (Ravago y Juinio-Menez, 2003), cangrejos porcelánidos (Hiller *et al.*, 2006) y cangrejos del género *Discoplax* A. Milne-Edwards, 1867 (Ng y Davie, 2012) (*vide* Perger y Wall, 2014).

Se observó variación en la forma del abdomen, tanto en hembras como en machos, siendo más notable y constante la diferencia en los machos. El abdomen de las hembras de *G. lateralis* en su mayoría tuvo la sexta somita fuertemente ensanchada excepto en un organismo de Cayo Arcas (Fig. 12: H) el cual presentó el abdomen más estrecho dentro de la población, sin embargo, genéticamente no fue diferente al resto de la población. Respecto a las hembras de *G. quadratus* el abdomen fue relativamente estrecho sobre todo en la sexta somita, que nunca cubrió por completo el tórax ni alcanzó el margen lateral de la cuarta placa torácica (Fig. 12: K-O). Este carácter no se asoció con la talla pues incluso en organismos de tamaño similar se observaron estas diferencias, por ejemplo, al comparar el abdomen de dos hembras de talla grande, una del Morro de la Mancha, Veracruz (Fig. 12: J) y una de San Blás, Nayarit (Fig. 12: O), se observó que la sexta somita fue más ensanchada en la primera, tocando casi el margen lateral de la cuarta placa torácica. En el caso de los machos la diferencia en el abdomen fue más marcada y constante, en *G. lateralis* la sexta somita se observó muy ensanchada, con los márgenes laterales fuertemente convexos y el telson puntiagudo (Fig. 13: A-I), a diferencia de *G. quadratus*, en el cual la sexta somita fue más estrecha, con los márgenes laterales casi rectos y en algunos casos el telson muy redondeado (Fig. 13: J, K, M y O), en otros ligeramente puntiagudo (Fig. 13: L, N y P). Los individuos de El Morro de la Mancha, Veracruz (Fig. 13: I) y de Zihuatanejo, Guerrero (Fig. 13: P) presentaron una talla grande y también se observaron las diferencias en la forma del abdomen. Algunos individuos no fueron analizados genéticamente debido a que el tejido ya se encontraba en mal estado (Fig. 12: J y O; fig. 13: I y P).

Ng y Shih (2015) utilizaron la forma del abdomen como un carácter para distinguir especies dentro del complejo *Discoplax longipes* A. Milne-Edwards, 1867, en el cual hubo una ligera variación en la forma de la sexta somita del macho. En *D. longipes* la sexta



somita fue más ancha y los márgenes laterales más convexos, mientras que en *D. michalis* Ng y Shih, 2015 fue menos ancha y los márgenes laterales menos convexos.






Es importante mencionar que, en los braquiuros, un carácter robusto para diferenciar entre especies es la morfología del gonópodo (G1) de los machos, sin embargo, en este grupo existe gran variación morfológica sin que se observe un patrón geográfico claro, como Toledano-Carrasco (2016) había reportado para el golfo de México y Caribe mexicano. Dicha variación podría ser resultado de la variación producida por el ambiente y los genes como lo ha citado anteriormente Dujardin (2002). Esta variación también se ha observado en otras especies de crustáceos como *Strengeriana maniformis* Campos y Rodríguez, 1993, en la cual, la región más variable fue el proceso mesial (Pedraza y Campos, 2007).

Autoría de *Gecarcinus lateralis*

La autoría del nombre *Gecarcinus lateralis* se le ha atribuido a Freminville (1835) quien originalmente nombró *Ocypoda lateralis* a los organismos provenientes de las Antillas Francesas: María Galante, La Désirade, Guadalupe y Martinica. Sin embargo, Low *et al.* (2013) reportaron que, anteriormente Guerin en 1832, ya había utilizado el nombre de “*Gecarcinus lateralis* Freminv.” en su *Iconographie du Règne animal de G. Cuvier*, razón por la cual se le debería reconocer como autor de este nombre. Esta es la razón por la cual en el presente trabajo al igual que en Low *et al.* (2013), la autoría del nombre se le atribuye a Guerin (1832).

CONCLUSIONES

-  *Gecarcinus lateralis* presentó más variación morfológica intra-específica que *G. quadratus* en los caracteres revisados, tales como, la forma del mero de los terceros maxilípedos y el número de hileras de espinas en los dácilios de los pereiópodos.
-  Los caracteres diferentes inter-poblacionalmente fueron la coloración en vida, la forma y grado de cobertura del abdomen con respecto al tórax y la complejión de los bordes que delimitan el canal eferente.

-  La coloración no se consideró un carácter robusto, pues, a pesar de que en los ejemplares revisados en este trabajo se mantuvo constante, en el Atlántico de Costa Rica se encontraron ejemplares con una coloración similar a los ejemplares de *G. quadratus* del Pacífico mexicano.
-  La diferencia en la forma del abdomen se observó tanto en hembras como en machos, siendo más notable y constante en los machos. En *G. lateralis* tanto en hembras como en machos la sexta somita se notó más ensanchada y en el caso de los machos, los márgenes laterales estaban fuertemente convexos, mientras que en *G. quadratus* fueron ligeramente convexos casi rectos. Además, *G. lateralis* presentó el telson más puntiagudo que *G. quadratus*.
-  Respecto a los bordes que delimitan el canal eferente, en la mayoría de los organismos del Pacífico estaban fuertemente marcados delimitando bien esta región, mientras que en los del golfo de México los bordes eran someros, y aunque en algunos la región del canal estaba definida, en muchos otros no, siendo poco visible.
-  En estos cangrejos los caracteres sexuales no fueron de utilidad para distinguir entre especies pues tanto el gonópodo del macho como el gonoporo de la hembra, presentaron gran variación morfológica sin corresponder a un patrón geográfico.
-  Debido al estado de conservación de la mayoría de los ejemplares revisados, no fue posible incluirlos en el análisis genético pues el tejido ya estaba muy deteriorado, dejando fuera varias localidades de los estados de Michoacán, Jalisco, Sinaloa, Baja California, Tabasco y Campeche, entre ellos, los ejemplares de mayor tamaño, a menudo confundidos con ejemplares de *G. ruricola*.

Capítulo II.

Filogenia y filogeografía

INTRODUCCIÓN

Inferencia filogenética y sus métodos

Actualmente existe un gran número de técnicas moleculares aplicables a sistemática, siendo el análisis más popular en la mayoría de los estudios recientes, la comparación de la variación en secuencias de ADN y/o proteínas (San Mauro y Agorreta, 2010), que es utilizada en investigaciones de diversidad genética, como genética de poblaciones, sistemática y filogeografía, entre otras (Botello, 2008).

Los métodos de inferencia filogenética (el patrón de relaciones históricas entre linajes de organismos y/o secuencias) van desde lo más simple, basados en parsimonia, hasta los más complejos y altamente parametrizados basados en máxima verosimilitud y enfoques bayesianos. En general, la sistemática molecular provee un marco estadístico poderoso para evaluar hipótesis y estimación de procesos evolutivos, incluyendo los tiempos de divergencia entre taxones. De los métodos que se han desarrollado para reconstruir relaciones filogenéticas, existen tres que han dominado en los estudios de sistemática molecular: máxima parsimonia, máxima verosimilitud e inferencia bayesiana (San Mauro y Agorreta, 2010). El método de Neighbour-Joining (NJ) se usa frecuentemente, sin embargo, no es un método filogenético ya que solo agrupa por el grado de parecido, sin reflejar las relaciones evolutivas (Peña, 2011).

El algoritmo Neighbour-Joining consiste en generar un único “árbol filogenético” final, el cual, según Saitou y Nei (1987), no necesariamente será el “árbol verdadero”. Consiste en unir las dos secuencias que tengan la menor distancia genética. Posteriormente, este par inicial se considera como una sola entidad, y se busca el siguiente terminal que tenga la menor distancia genética con este. El procedimiento continúa hasta unir todos los terminales al “árbol filogenético” (Saitou y Nei, 1987). En el caso de secuencias de ADN, la distancia genética entre dos terminales se calcula en base al número total de sustituciones de bases nitrogenadas, es decir, en el número de bases nitrogenadas que son diferentes en

estas dos secuencias. Para seleccionar los terminales que tengan menor distancia genética, es necesario construir una matriz estándar de distancias entre todas las posibles combinaciones de terminales. Entonces se construye el “árbol filogenético” agregando terminales tomando como información los valores de la matriz de distancias (Saitou y Nei, 1987).

El método de máxima parsimonia utiliza los estados de carácter y se basa en el criterio de optimización, el cual es una regla para decidir cuál de los árboles alternativos es el mejor. Este criterio selecciona el árbol o árboles que requieran el menor número de cambios de estado de carácter, tratando de minimizar la homoplasia. La búsqueda de todas las topologías o árboles posibles puede ser heurística o exhaustiva. El primer tipo de búsqueda es aquella en la que no se evalúan todos los árboles posibles, por lo cual no se puede garantizar obtener el árbol óptimo, mientras que en la segunda, se analizan todos los árboles posibles, se utiliza cuando las secuencias que se analizan son pocas, lo cual garantiza obtener el árbol más óptimo (San Mauro y Agorreta, 2010). La ventaja de este método, es la rapidez al analizar grandes bases de datos que contienen muchas secuencias, es robusto si las ramas del árbol son cortas, esto puede deberse a que las secuencias están estrechamente relacionadas o porque el muestreo de los taxones es denso. Sin embargo, la parsimonia máxima puede funcionar mal e incluso ser seriamente engañosa, si hay una variación sustancial en las tasas de evolución entre los taxones. En este caso, los taxones con las tasas de sustitución más rápidas aparecen en el árbol como ramas largas y tienden a agruparse artificialmente (San Mauro y Agorreta, 2010).

Máxima verosimilitud (ML) e Inferencia Bayesiana (IB) son métodos estadísticos basados en modelos de evolución molecular, donde se toma en cuenta conocimiento a priori acerca de los caracteres, especialmente cuando son caracteres moleculares, frecuentemente secuencias de nucleótidos de ADN. El método ML estima la probabilidad de qué tan bien la matriz de caracteres es explicada por los árboles filogenéticos (Felsenstein, 2004), mientras que IB estima la probabilidad de qué tan bien los árboles filogenéticos son explicados por los datos (la matriz de caracteres) (Huelsenbeck *et al.*, 2001; Brooks *et al.*, 2007). ML necesita calcular cada árbol posible que pueda ser derivado de los datos según el modelo de evolución seleccionado. Además, debe calcular la longitud de ramas para cada árbol

diferente (Huelsenbeck y Rannala, 1997). Algunos prefieren usar IB sobre ML debido a que el primer método utiliza “atajos” para los cálculos al emplear el algoritmo conocido como Markov Chain Monte Carlo (MCMC), el cual permite realizar búsquedas a través de un número menor de árboles según sus valores de probabilidades posteriores (Huelsenbeck *et al.*, 2001). Esto permite que la IB demande menos poder computacional y sea más rápida que ML. El árbol que refleja una aproximación más real de la historia evolutiva de un grupo de secuencias se define como el árbol con la máxima credibilidad de clados (MCC) (Pérez-Parra, 2016).

Reloj molecular

Una forma sencilla de evaluar las relaciones evolutivas entre diferentes alelos es estimar cuánto difieren dos secuencias homólogas. Es decir, se puede estimar hace cuánto tiempo divergieron dos secuencias con base en qué tan diferentes son una de otra, pues secuencias similares en general habrán divergido recientemente y secuencias muy diferentes habrán sido evolutivamente independientes por un tiempo relativamente largo (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009a). Dicha estimación sobre la divergencia de un linaje se basa en el hecho de que a medida que pasa el tiempo, las diferencias genéticas entre un par de secuencias se acumulan. La hipótesis del reloj molecular postula que las secuencias de ADN evolucionan a tasas casi constantes, por lo cual, la cantidad de diferencias moleculares entre un par de secuencias es aproximadamente proporcional al tiempo transcurrido desde que divergieron de su ancestro común (Zuckerkandl y Pauling, 1965; Magallón, 2004). Para calibrar la escala de tiempo de una filogenia se debe asignar una edad absoluta a un nodo dentro del árbol filogenético con el fin de convertir los tiempos de divergencia en unidades absolutas de tiempo (*e.g.*, millones de años) (Magallón, 2004). La calibración puede derivar de información del registro fósil, información biogeográfica o tectónica, tasas de sustitución molecular absolutas conocidas a priori, o fechas obtenidas en estudios independientes (Magallón, 2018). Las calibraciones temporales pueden ser implementadas como una edad puntual y fija, como una edad mínima o como una edad máxima. Las calibraciones puntuales son arriesgadas, ya que implican que la edad de calibración se conoce sin error; es decir, que la edad de la fuente de calibración (*e.g.*, el fósil o el evento de vicarianza) es verídica, que la edad está siendo aplicada al nodo

correcto en el árbol filogenético y que la edad corresponde exactamente al momento de la divergencia de un par de linajes en el árbol filogenético. Las calibraciones implementadas como edades mínimas implican que el nodo calibrado es de la misma edad, o más viejo, que la edad de calibración. Esta implementación es adecuada cuando la fuente de la calibración proviene del registro fósil, ya que cualquier fósil es, por definición, más joven que el evento de bifurcación filogenética que originó el linaje al que pertenece. Cuando una calibración es implementada como edad máxima, el nodo calibrado es de la misma edad o más joven que la edad asignada. Estas calibraciones son útiles cuando la fuente de la edad es, por ejemplo, un evento tectónico o geológico que originó la divergencia por vicarianza de las ramas que derivan del nodo calibrado. Sin embargo, la aplicación de este tipo de calibraciones requiere de evidencia sólida de que el evento geológico precedió a la divergencia filogenética (Magallón, 2004). Las especies geminadas son un punto de calibración potencialmente importante y poderoso para el reloj molecular en organismos marinos, que a su vez se puede utilizar para estimar los tiempos de divergencia en otras especies (Collins, 1996; Knowlton y Weigt, 1998; Lessios, 1998).

El reloj molecular puede utilizar dos métodos para calcular el tiempo de divergencia, estricto o relajado. Un reloj molecular relajado es una técnica filogenética que da cabida a las diferentes tasas de sustitución molecular en diferentes ramas del árbol filogenético (Pybus, 2006; Magallón, 2018), bajo el concepto del reloj molecular estricto las tasas de cambio molecular son universalmente constantes (Magallón, 2018). El uso extenso de los métodos de reloj molecular relajado ha identificado condiciones metodológicas y situaciones empíricas en las que los modelos implementados no corresponden a la realidad, llevando a resultados erróneos. El reloj molecular estricto, presenta varios problemas, tanto biológicos como metodológicos. Uno de los más severos es que las tasas de cambio molecular difieren, a veces profundamente, entre los linajes biológicos, inclusive entre poblaciones de la misma especie y especies muy cercanamente relacionadas (Magallón, 2018).

Filogeografía

En un sentido amplio, la filogeografía comprende los estudios filogenéticos de la distribución espacial de cualquier característica (morfológica, etológica, etc.), en una



definición más específica, es el estudio de principios y procesos que rigen la distribución geográfica de los linajes genealógicos, especialmente los que están dentro y entre especies estrechamente relacionadas (Avice *et al.*, 1987), basándose, en su mayoría, en el análisis de ADN mitocondrial (ADNmt). Dado que los haplotipos o variantes del ADNmt registran una historia matrilineal de eventos mutacionales, es posible conectarlos de un modo filogenéticamente comprensible en un filograma, el cual se superpone con la distribución geográfica del grupo en estudio (Avice, 2000). Esta disciplina parte de la idea de que la gran mayoría de las especies en la naturaleza muestran cierto grado de estructura genética asociada con la historia geográfica. Dicha estructura puede volverse compleja debido a que las especies habitan áreas de fuerte actividad tecto-volcánica o paleoclimática, o ser menos compleja, como en el caso de las poblaciones con tasas altas de migración, o cuyo aislamiento es relativamente reciente en términos geológicos. Además se puede utilizar como una herramienta para esclarecer patrones históricos y evolutivos entre poblaciones de una misma especie, para inferir procesos demográficos históricos como flujo génico, tamaño efectivo de la población, secuencias de colonización, cuellos de botella, o también para determinar fronteras entre especies e identificar unidades de conservación (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). El crecimiento del número de trabajos sobre filogeografía, desde sus inicios en 1987, ha sido explosivo y abarca casi todos los grupos animales (Avice, 1998, 2000).

Redes de haplotipos

La filogeografía utiliza con más frecuencia tanto métodos filogenéticos tradicionales como de reconstrucción filogenética. Las redes de haplotipos permiten describir relaciones evolutivas en forma de árboles multifurcados, en los cuales, un único haplotipo puede dar origen a muchos haplotipos arreglados en forma de redes. Estas redes son conocidas como redes mínimas de haplotipos, en otras palabras, las conexiones entre haplotipos son dadas por el mínimo número posible de mutaciones entre ellos (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009b; Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Las conexiones entre haplotipos representan eventos coalescentes y a partir de la red de parsimonia pueden hacerse predicciones como:

- Los haplotipos con mayor frecuencia tienen alta probabilidad de ser alelos ancestrales.
- Los haplotipos que tienen múltiples conexiones muy probablemente son ancestrales.
- Dentro de la red, los haplotipos ancestrales son los que se encuentran al interior del diagrama y los nuevos, tienen mayor probabilidad de ser periféricos.
- Se espera que los haplotipos ancestrales tengan una amplia distribución geográfica debido a que los individuos que los poseen, han tenido mayor tiempo para dispersarse.
- Los haplotipos con una única conexión, se prevé están unidos a haplotipos de la misma población, dado que han evolucionado recientemente y por lo tanto no ha tenido tanto tiempo para dispersarse (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009b).

ADN mitocondrial

En especies animales, el ADNmt se ha convertido en un instrumento fundamental del análisis filogeográfico, ya que además de no recombinar, presenta una tasa de mutación elevada debido a que es una molécula circular que carece de histonas asociadas y a un sistema de reparación del ADN ineficiente (Bogenhagen, 1999; Gredilla, 2010), aunado a esto, es de herencia casi exclusivamente materna (herencia matrilineal), restringiendo la transmisión de ADNmt a través del esperma a unas pocas especies (Gillespie, 1986; Harrison, 1989; Anderson *et al.*, 1995), a diferencia de los genes nucleares (Brown *et al.*, 1979; Wolfe *et al.*, 1987). Las células somáticas típicas poseen cientos a miles de mitocondrias, cada una con varias copias de ADNmt, sin embargo, en general existe un haplotipo mitocondrial preponderante por cada individuo (Lanteri y Confalonieri, 2002). Todas estas características facilitan la amplificación e interpretación de las secuencias resultantes (Schubart *et al.*, 2000). Algunos de los genes utilizados en este tipo de estudios son los mitocondriales citocromo oxidasa subunidad I (COI), citocromo b (cyt-b), 12S y 16S ARNr, los dos primeros son codificantes, mientras que los otros dos son estructurales y no codificantes (Schubart *et al.*, 2000). En particular, el gen 16S se utiliza frecuentemente para análisis filogenéticos de muchos taxones animales, debido a que es un gen relativamente conservado que permite hacer comparaciones entre linajes evolutivos a nivel de especie (Ptacek *et al.*, 2001; García-Rodríguez y Perez-Enriquez, 2008). En crustáceos,

su secuencia completa es bien conocida solo para una especie, el anostraco *Artemia franciscana* Kellog, 1906, sin embargo, una región en particular de aproximadamente 520 pares de bases ha llegado a ser una de las secuencias más utilizadas para estudios de molecular en crustáceos (Schubart *et al.*, 2000). El gen COI se utiliza como un identificador único para cada especie del reino animal (Hebert *et al.*, 2003), además permite descubrir especies crípticas en grupos de morfología compleja o inaccesible (Hebert *et al.*, 2003; Silva-Brandão *et al.*, 2009). El alineamiento se facilita, debido a que las secuencias de aminoácidos de este gen son altamente conservadas a través de los niveles jerárquicos superiores al de especie. Así, dado el nivel de conservación, las sustituciones en los aminoácidos son raras entre las especies, lo cual permite que sea una buena herramienta para distinguirlas (Hillis *et al.*, 1996).

Filogenia de la superfamilia Grapsoidea

Respecto a las relaciones de los Gecarcinidae dentro de la superfamilia Grapsoidea, Schubart y colaboradores (2006), realizaron un estudio filogenético, utilizando el método de máxima parsimonia e inferencia Bayesiana (Fig. 3). La familia Gecarcinidae junto con los géneros *Plagusia* Latreille, 1804 y *Euchirograpsus* H. Milne-Edwards, 1853 de la familia Plagusiidae Dana, 1851, formaron un clado parafilético. Los tres géneros de Gecarcinidae (*Cardisoma*, *Gecarcoidea* y *Gecarcinus*) siempre aparecieron cercanos, pero formaron un grupo parafilético debido a la inclusión de Plagusiidae.

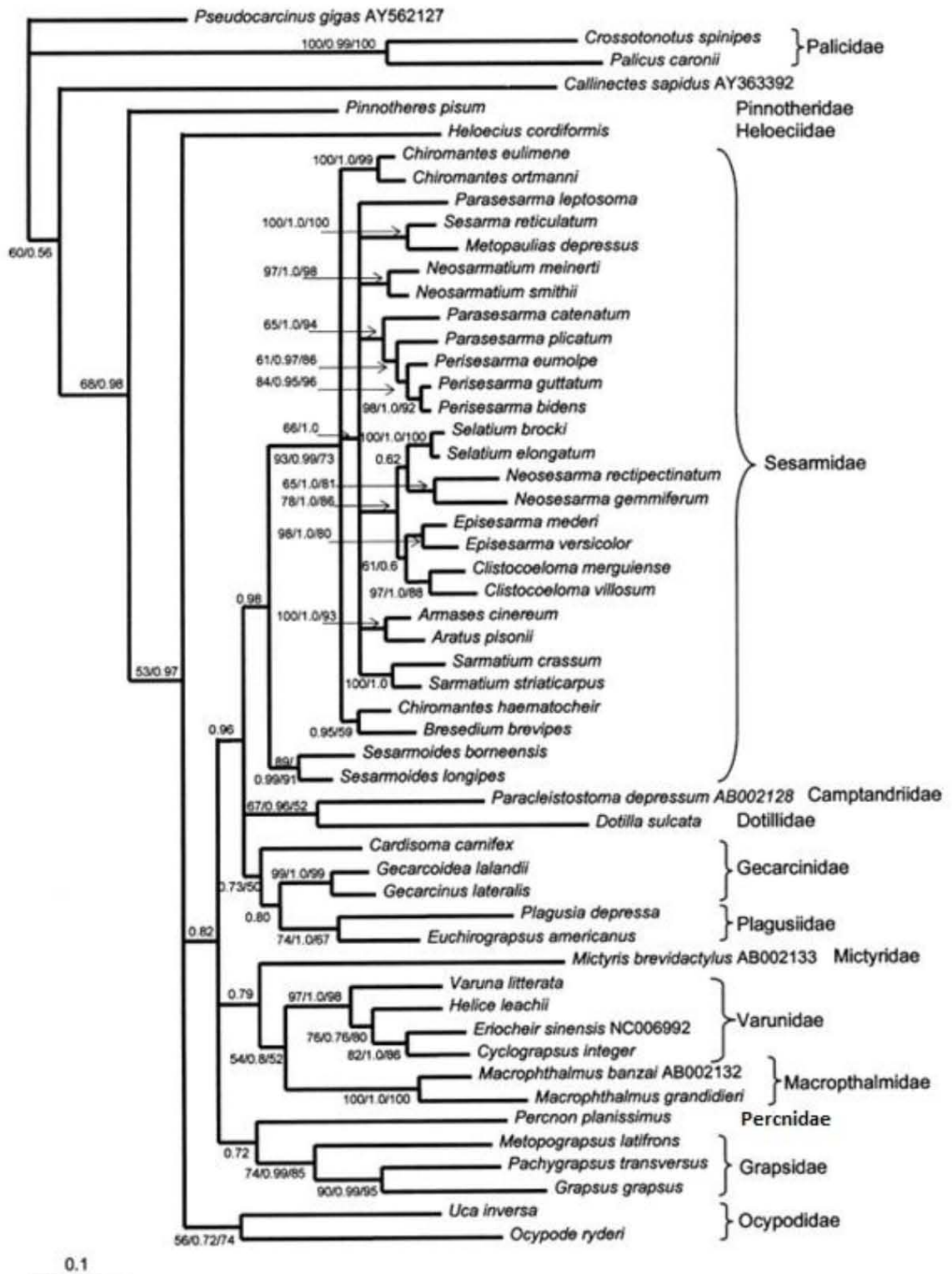


Figura 3. Filogenia molecular de la superfamilia Grapsoidea modificada de Schubart *et al.* (2006).

ANTECEDENTES

Existen varios trabajos acerca de especies trans-ístmicas que han sido reconocidas con ayuda de herramientas moleculares, los cuales abarcan grupos como peces marinos, moluscos, poliquetos y crustáceos (Schubart *et al.*, 2014). Dentro de los crustáceos, Laguna (1987) describió un nueva especie de percebe del Pacífico tropical oriental, nombrada como *Euraphia eastropacensis* Laguna, 1987 que fue separada de su congénere *E. rhizophorae* (de Oliveira, 1940) mediante evidencia morfológica y electroforética.

Anker *et al.*, 2009 realizaron una revisión morfológica de especies pertenecientes al género *Alpheus* Fabricius, 1798, utilizando también evidencia molecular. *Alpheus bouvieri* A. Milne-Edwards, 1878, se consideraba una especie distribuida tanto en el Atlántico occidental como en el Pacífico oriental, sin embargo, los autores restringieron su distribución al Atlántico, mientras que la especie del Pacífico se nombró *A. javieri* Anker *et al.*, 2009. Otra especie nueva, *A. agilis* Anker *et al.*, 2009, cercanamente relacionada a la especie del Pacífico oriental *A. hebes* Kim y Abele, 1988, fue descrita con base en especímenes del Atlántico oriental y Atlántico occidental.

Específicamente en la superfamilia Grapsoidea, *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850), que era considerada una forma anfiamericana, fue dividida por Schubart *et al.* (2005), en dos especies hermanas, *P. transversus* para el Atlántico y *P. socius* Stimpson, 1871 para el Pacífico, revalidando esta última. Otro caso es el del género *Aratus* H. Milne-Edwards, 1853, ya que su única especie *A. pisonii* (H. Milne-Edwards, 1837), registrada par ambas costas de América, fue separada por Thiercelin y Schubart (2014), quedando la forma antes mencionada, restringida al Atlántico y *A. pacificus* Thiercelin y Schubart, 2014, para el Pacífico. En estos trabajos, además de algunos caracteres morfológicos que muestran ligeras variaciones, también se utilizaron métodos de inferencia filogenética y filogeográficos para separar a las especies.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la existencia de las especies hermanas *Gecarcinus lateralis* y *G. quadratus* mediante el uso de herramientas moleculares.
- Calcular el tiempo de divergencia.
- Caracterizar la diversidad genética en cada clado.

MATERIAL Y MÉTODO

Obtención de tejido y extracción de ADN

Se tomaron en cuenta los ejemplares más recientes para realizar la extracción de tejido y posteriormente la de ADN, tratando de abarcar todo el rango de distribución de la especie en México o incluso en otros países del Caribe y Centroamérica. También se intentó obtener ADN de ejemplares antiguos y no se tuvo éxito. El tejido se obtuvo de las branquias o del músculo de los apéndices ambulatorios, colocándose en tubos Eppendorf con alcohol absoluto manteniéndose en congelación para conservar el tejido.

La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo del kit “Animal and Fungi DNA Preparation Kit, L pack. Solution based genomic DNA purification from animal tissue and fungi” del laboratorio Jena Bioscience. Una vez obtenido el ADN, se llevó a cabo la cuantificación con el uso de un espectrofotómetro Nano Drop 2000 Spectrophotometer de Thermo Scientific y la electroforesis en gel de agarosa al 1% para ver su estado de integridad. Posteriormente mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificaron fragmentos de los genes citocromo oxidasa subunidad I (COI) y de la subunidad del ribosoma 16S ARNr, con el Kit MyTaq, para el primero se utilizaron los oligos LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994); mientras que para el segundo se utilizaron dos juegos de oligos, 16Sa (5'-CGCCTGTTTACTAAAAACAT-3') y 16Sb (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') (Daniels *et al.*, 2006) y 16SA-L2510 (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') y 16SB-H3080 (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') (Kang *et al.*, 2015).



Se probaron varios programas de PCR con pequeñas variaciones en la temperatura de alineamiento, el que amplificó al gen COI fue el siguiente: Desnaturalización de 4 minutos a 94° C, 35 ciclos de desnaturalización por 45 segundos a 94° C, alineamiento por 45 segundos a 48° C y extensión por 1 segundo a 72° C, seguido por una extensión final a 72° C por 10 minutos. Para el gen 16S se utilizó para el primer juego de oligos, una desnaturalización de 5 minutos a 94° C, 35 ciclos de desnaturalización por 40 segundos a 95° C, alineamiento por 40 segundos a 48°-50° C y extensión por 40 segundos a 72° C, seguido por una extensión final a 72° C por 10 minutos, para el segundo par, una desnaturalización de 2 minutos a 94° C, 35 ciclos de desnaturalización por un minuto a 94°C, alineamiento por un minuto a 50° C y extensión por un minuto a 72° C, seguido por una extensión final a 72° C por 8 minutos.

Las reacciones se realizaron en un volumen final de 15 µL, de los cuales, 1 µL fue de ADN, 9.9 µL agua, 3 µL de buffer de reacción del kit MyTaq, 0.2 µL de oligos, 0.1 µL de la polimerasa MyTaq, 0.6 µL de BSA (Albúmina de suero bovino). Para saber si los productos de PCR amplificaron, se realizaron electroforesis en gel de agarosa a una concentración del 1%, teñido con GelRed y Loading buffer (LB) y visualizados en un transluminador de luz ultravioleta. El gel se corrió en buffer TAE a 500 mA, 100 volts durante 30 minutos. Los productos de PCR fueron enviados al Laboratorio de secuenciación genómica de la biodiversidad y de la salud del Instituto de Biología para ser purificados y secuenciados. La purificación se realizó con columnas de Sephadex, centrifugando a 2,800 rpm. La reacción de secuenciación se llevó a cabo para los dos oligos utilizando el kit BigDye, el volumen final fue de 10 µL de los cuales, 1 µL fue de Terminator Ready Reaction Mix (BIG DYE), 2 µL de buffer, 1 µL de primer, 3.5 µL de agua desionizada y 2.5 µL de ADN. El programa utilizado fue desnaturalización de 5 minutos a 96° C, 25 ciclos de desnaturalización por 10 segundos a 96° C, alineamiento por 5 segundos a 50° C y extensión por 4 minutos a 60° C, por último 10 segundos a 4° C. Las reacciones de secuenciación se purificaron utilizando columnas de Sephadex y fueron secuenciadas utilizando el secuenciador automático 3500 xL Genetic Analyzer de Applied Biosystems. Dentro del análisis se incluyeron secuencias de los genes mitocondriales 16S y COI obtenidas del GenBank, para 16S se incluyó un organismo de Punta Delgada, Veracruz con el número de acceso AJ130804.2. Para ambos genes se incluyeron secuencias



de *Johngarthia lagostoma* (H. Milne-Edwards, 1837) con el número de acceso KT159739.1 para el gen 16S y KM578842.1 para el gen COI, como grupo externo se utilizaron las de *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1828, MF490171.1 para 16S y MF490075.1 para COI.

Análisis de datos

Las secuencias fueron editadas con el programa CLC Sequence Viewer 7.8.1 y Finch TV 1.4.0, en el cual se observaron los electroferogramas. Posteriormente las secuencias del gen COI fueron alineadas con el programa MEGA 7.0.26 utilizando el algoritmo Clustal W descartando la presencia de codones de paro, mientras que las del gen 16S con MAFFT v7.397 utilizando el programa en línea del mismo nombre y bajo el algoritmo L-INS-i. En MEGA 7.0.26 se obtuvieron la matriz de distancias genéticas para el gen COI bajo el modelo de Kimura 2 parámetros (K2P), el número de sitios variables e informativos y la composición nucleotídica en los alineamientos.

Para ambos genes se identificaron los haplotipos, se obtuvo el número de sitios variables, la diversidad haplotípica (HD) y la diversidad nucleotídica (π) con el programa DnaSP v6.10.01. La red de haplotipos se realizó usando el algoritmo Median-Joining con el programa Network 5.0.0.3.

Respecto a la inferencia filogenética se realizó un análisis independiente para cada uno de los genes bajo los métodos de inferencia Bayesiana (IB) y máxima verosimilitud (ML). El análisis de IB fue corrido en el programa Mr. Bayes on XSEDE 3.2.6 del portal en línea CIPRES. Los modelos de sustitución fueron obtenidos con JmodelTest2.1.10 y seleccionados con el criterio de información de Akaike con corrección. El gen COI fue particionado en PAUP y los modelos obtenidos fueron SYM+I para la primera posición del codón, F81 para la segunda y GTR para la tercera. En el caso del gen 16S el modelo de sustitución utilizado fue GTR+G. Posteriormente se realizó el análisis de inferencia Bayesiana particionado, utilizando ambos genes. La búsqueda fue corrida 100 millones de generaciones con cuatro cadenas, muestreando árboles cada 1000 generaciones. Se utilizó la muestra de árboles obtenidas con Mr. Bayes on XSEDE para realizar el árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) en el programa de Tree Annotator v1.10.0., para ello se descartaron los primeros 10,000 árboles, ya que se alcanzó una distribución estacionaria,

estos valores se obtuvieron con Tracer v1.6. Se realizó el árbol de ML para cada uno de los genes y también para la concatenación de ambos, el análisis se corrió en RAxML-HPC BlackBox 8.2.10 del portal de CIPRES. El bootstrap fue calculado automáticamente por el programa y el modelo utilizado fue GTR+G+I. Para calcular el tiempo de divergencia de las secuencias se utilizaron dos tasas de mutación del gen COI, la de los camarones pertenecientes al género *Alpheus* del istmo de Panamá de 1.4% por millón de años (Knowlton y Weigt, 1998) y 2.6% por millón de años (Knowlton *et al.*, 1993). Se utilizó una regla de tres realizada de la siguiente manera, para calcular el tiempo mayor y menor: la divergencia genética promedio entre ambas poblaciones se multiplicó por un millón y se dividió entre 1.4 para el tiempo mayor, y entre 2.6 para el menor.

RESULTADOS

Se obtuvieron 37 secuencias del gen COI pertenecientes a las especies del género *Gecarcinus* de diferentes localidades (Fig. 4), 11 de *G. quadratus*, 25 de *G. lateralis* y una de *G. ruricola*. Para el gen 16S se obtuvieron 34 secuencias del género, 10 de *G. quadratus*, 23 de *G. lateralis*, una de *G. ruricola* y una de *Johngarthia planata* (Stimpson, 1860) (Tabla 3).

Tabla 3. Datos de los individuos que fueron secuenciados para ambos genes, incluyendo el número de inventario en las colecciones biológicas respectivas o el número de acceso en GenBank, la localidad y la clave asignada para cada individuo en el análisis filogenético. En la clave asignada, la última letra indica si el organismo es macho (M), hembra (H) o juvenil (JU) seguida del número de individuo. Los guiones representan secuencias que no se pudieron obtener, ya sea porque no fue posible amplificarlas o no estaban disponibles en GenBank.

Datos de las muestras	Localidad	Estado/País	Clave COI	Clave 16S
CNCR 19003	Playa Troncones	Guerrero	PTGRO_H1	PTGRO_H1
			PTGRO_M1	PTGRO_M1
			PTGRO_JU	PTGRO_JU
CNCR 34013	Playa Aragón	Oaxaca	PAOAX_H1	PAOAX_H1
			PAOAX_M3	PAOAX_M3
CNCR 33941	Punta Mita	Nayarit	PMNAY_M1	PMNAY_M1
			PMNAY_M3	PMNAY_M3
CNCR 34012	Playa Higuera Blanca		PHNAY_M1	PHNAY_M1
CNCR 34630	Barra de Boca del Cielo	Chiapas	BCCHI_M1	BCCHI_M1
			BCCHI_M2	BCCHI_M2



CNCR 34846	Estación de Chamela	Jalisco	CHJAL_M1	CHJAL_M1
C86-7182	La Laguna	Tamaulipas	BCTAM_H1	-
C86-07094	La Pesca		BCTAM_H2	-
Frasco D			BCTAM_JU	BCTAM_JU
			LPTAM94_H2	LPTAM94_H2
			LPTAM94_M1	LPTAM94_M1
			LPTAMD_M1	LPTAMD_M1
			LPTAMD_H1	LPTAMD_H1
C86-06601	Barra de Cazones	Veracruz	BCVER_M2	BCVER_M2
CNCR 33942	Río Prieto		RPVER_H3	RPVER_H3
			RPVER_M3	RPVER_M3
CNCR 33943	Barra de Sontecomapan		RPVER_M4	RPVER_M4
			BSVER_M1	BSVER_M1
AJ130804.2			BSVER_M2	BSVER_M2
(GenBank)	Punta Delgada		-	PDVER
C86-06495	Playa Bruja	Tabasco	PBTAB_M2	PBTAB_M2
C86-06500	Chiltepec		CHTAB_H1	CHTAB_H1
			CHTAB_M2	CHTAB_M2
CNCR 34011	Cayo Arcas	Campeche	CACAM_H1	-
			CACAM_M1	CACAM_M1
			CACAM_M2	CACAM_M2
YUC-CC-255-11-001024	Arrecife Alacranes	Yucatán	AAYUC_H1	AAYUC_H1
CNCR 34010	Mahahual	Quintana Roo	MHQRO_M1	MHQRO_M1
			MHQRO_JU1	MHQRO_JU1
CNCR 30834	Isla Cayo Norte Menor, Banco Chinchorro		MHQRO_JU2	MHQRO_JU2
			BCQRO_M1	BCQRO_M1
CCDB1520	Puerto Viejo, Limón	Costa Rica (Atlántico)	-	PVIE_CR
			-	
CCDB1109	Puerto Vargas, Parque Nacional Cahuita	Costa Rica		PVAR_CR
AM_Gruricola		Cuba	G_ruricola	G_ruricola
CNCR 19002	Playa Troncones	Guerrero	-	J_planata
KT159739.1	-	-	J_lagostoma	J_lagostoma
KM578842.1				
(GenBank)				

La longitud del fragmento obtenido del gen mitocondrial COI fue de 635 pares de bases, de los cuales 150 fueron sitios variables y de estos 73 informativos y su composición nucleotídica fue T=0.36, C= 0.17, A= 0.30 y G=0.17. La longitud del fragmento de 16S fue de 539 pb con 45 sitios variables de los cuales 18 fueron informativos y su composición nucleotídica fue T=0.36, C=0.10, A=0.37 y G=0.17.



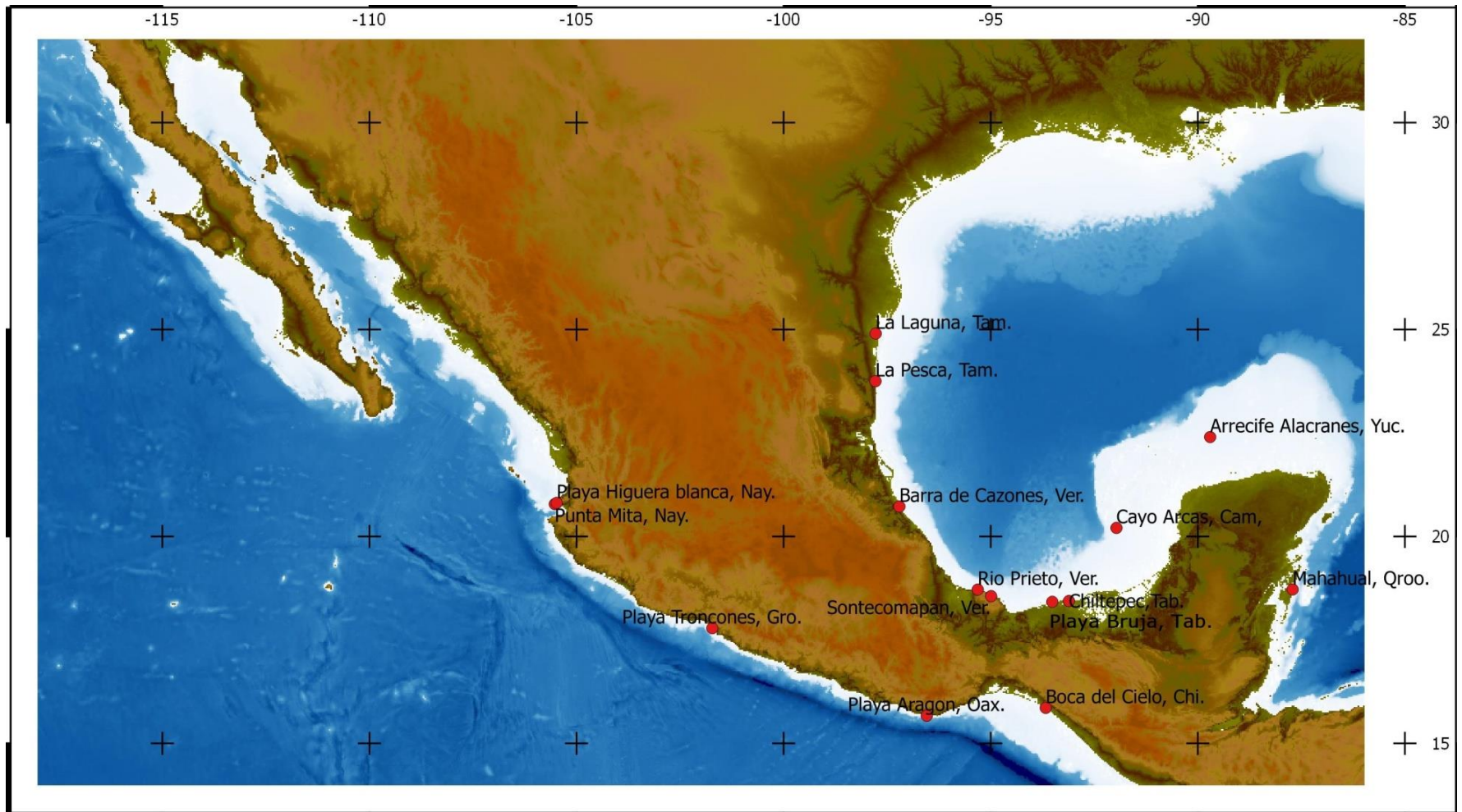
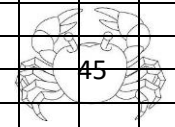


Figura 4. Localidades de los organismos que secuenciados para los genes 16S y COI.

Distancias genéticas y tiempo de divergencia

Tabla 4. Matriz de distancias genéticas para el gen COI obtenidas mediante el algoritmo de Kimura 2 parámetros. De color azul se observan las distancias genéticas intra-específicas de *Gecarcinus lateralis*, en rosa la distancia entre la población del Caribe, en amarillo las distancias de *G. quadratus*, en anaranjado las distancias entre *G. lateralis* y *G. quadratus*, en verde las distancias con *G. ruricola*, en gris las distancias con *Johngarthia lagostoma* y en café las distancias con *Cardisoma guanhumi*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	
1 C_guanhumi																																							
2 BCCHI_M1	21.89%																																						
3 BCCHI_M2	21.89%	0.00%																																					
4 PMNAY_M1	21.89%	0.00%	0.00%																																				
5 PMNAY_M2	21.89%	0.00%	0.00%	0.00%																																			
6 PHNAY_M1	21.89%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%																																		
7 CHJAL_M1	21.89%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%																																	
8 PTGRO_M1	21.53%	0.39%	0.39%	0.39%	0.39%	0.39%	0.39%																																
9 PTGRO_H1	21.89%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.39%																															
10 PTGRO_JU	21.89%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.39%	0.00%																														
11 PAOAX_M3	22.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.58%	0.19%	0.19%																													
12 PAOAX_H1	21.53%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.19%	0.59%	0.19%	0.19%	0.39%																												
13 BCQRO_M1	22.55%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.92%	6.43%	6.43%	6.65%	6.19%																											
14 CHTAB_M2	22.19%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.72%	5.25%	5.25%	5.47%	5.02%	1.39%																										
15 BCTAM_JUV	22.92%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.67%	6.19%	6.19%	6.41%	5.95%	1.39%	1.19%																									
16 BCTAM_H1	22.19%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.72%	5.25%	5.25%	5.47%	5.02%	1.39%	0.00%	1.19%																								
17 BCTAM_H2	23.66%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	6.19%	5.72%	5.72%	5.93%	5.48%	2.01%	1.39%	1.80%	1.39%																							
18 LPTAM94_H2	23.29%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	6.43%	5.95%	5.95%	6.17%	5.72%	1.19%	0.98%	0.98%	0.98%	1.59%																						
19 LPTAMD_M1	22.19%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	6.19%	5.72%	5.72%	5.93%	5.48%	0.98%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%																					
20 LPTAM94_M1	21.89%	6.70%	6.70%	6.70%	6.70%	6.70%	6.70%	7.19%	6.70%	6.70%	6.92%	6.45%	1.59%	1.79%	0.98%	1.79%	2.42%	1.59%	1.79%																				
21 LPTAMD_H1	22.55%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.95%	5.48%	5.48%	5.70%	5.25%	0.78%	0.59%	0.59%	0.59%	1.19%	0.39%	0.59%	1.18%																			
22 RPVER_M4	21.84%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.92%	6.43%	6.43%	6.65%	6.19%	1.19%	1.39%	0.59%	1.39%	2.01%	1.19%	1.39%	0.39%	0.78%																		
23 BCVER_M2	21.84%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	6.43%	5.95%	5.95%	6.17%	5.72%	0.78%	1.39%	1.39%	1.39%	2.01%	1.19%	0.19%	1.59%	0.78%	1.19%																	
24 BSVER_M1	21.48%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	6.19%	5.72%	5.72%	5.93%	5.48%	1.80%	1.59%	0.78%	1.59%	2.22%	1.39%	1.59%	1.38%	0.98%	0.98%	1.80%																
25 BSVER_M2	22.19%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.72%	5.25%	5.25%	5.47%	5.02%	1.39%	0.00%	1.19%	0.00%	1.39%	0.98%	1.19%	1.79%	0.59%	1.39%	1.39%	1.59%															
26 RPVER_M3	22.19%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.72%	5.25%	5.25%	5.47%	5.02%	1.39%	0.00%	1.19%	0.00%	1.39%	0.98%	1.19%	1.79%	0.59%	1.39%	1.39%	1.59%	0.00%														
27 RPVER_H3	22.19%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	6.19%	5.72%	5.72%	5.93%	5.48%	0.98%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%	0.00%	1.79%	0.59%	1.39%	0.19%	1.59%	1.19%	1.19%													
28 PBTAB_M2	22.55%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.48%	5.95%	5.48%	5.48%	5.70%	5.25%	1.19%	0.19%	0.98%	0.19%	1.19%	0.78%	0.98%	1.59%	0.39%	1.19%	1.19%	1.39%	0.19%	0.19%	0.98%												
29 CHTAB_H1	22.19%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.25%	5.72%	5.25%	5.25%	5.47%	5.02%	1.39%	0.00%	1.19%	0.00%	1.39%	0.98%	1.19%	1.79%	0.59%	1.39%	1.39%	1.59%	0.00%	0.00%	1.19%	0.19%											
30 CHTAB_M1	22.55%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	6.43%	5.95%	5.95%	6.17%	5.72%	1.19%	1.39%	1.39%	1.39%	2.01%	1.19%	0.19%	2.00%	0.78%	1.59%	0.39%	1.80%	1.39%	1.39%	0.19%	1.19%	1.39%										
31 CACAM_M2	22.19%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	5.72%	6.19%	5.72%	5.72%	5.93%	5.48%	0.98%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%	0.00%	1.79%	0.59%	1.39%	0.19%	1.59%	1.19%	1.19%	0.00%	0.98%	1.19%	0.19%									
32 CACAM_M1	21.84%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	5.95%	6.43%	5.95%	5.95%	6.17%	5.72%	0.78%	0.59%	1.39%	0.59%	1.59%	1.19%	1.39%	1.59%	0.78%	1.19%	1.19%	1.80%	0.59%	0.59%	1.39%	0.39%	0.59%	1.59%	1.39%								
33 CACAM_H1	22.19%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.92%	6.43%	6.43%	6.65%	6.19%	1.59%	1.39%	0.59%	1.39%	2.01%	1.19%	1.39%	1.18%	0.78%	0.78%	1.59%	0.59%	1.39%	1.39%	1.39%	1.19%	1.39%	1.59%	1.39%	1.59%							
34 MHQRO_M1	22.92%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.67%	6.19%	6.19%	6.41%	5.95%	0.19%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%	0.78%	1.38%	0.59%	0.98%	0.59%	1.59%	1.19%	1.19%	0.78%	0.98%	1.19%	0.98%	0.78%	0.98%	1.39%						



35	MHQRO_JU1	22.92%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.67%	6.19%	6.19%	6.41%	5.95%	0.19%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%	0.78%	1.38%	0.59%	0.98%	0.59%	1.59%	1.19%	1.19%	0.78%	0.98%	1.19%	0.98%	0.78%	0.98%	1.39%	0.00%						
36	MHQRO_JU2	22.92%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.19%	6.67%	6.19%	6.19%	6.41%	5.95%	0.19%	1.19%	1.19%	1.19%	1.80%	0.98%	0.78%	1.38%	0.59%	0.98%	0.59%	1.59%	1.19%	1.19%	0.78%	0.98%	1.19%	0.98%	0.78%	0.98%	1.39%	0.00%	0.00%					
37	AAYUC_HI	22.55%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.43%	6.92%	6.43%	6.43%	6.65%	6.19%	0.00%	1.39%	1.39%	1.39%	2.01%	1.19%	0.98%	1.59%	0.78%	1.19%	0.78%	1.80%	1.39%	1.39%	0.98%	1.19%	1.39%	1.19%	0.98%	0.78%	1.59%	0.19%	0.19%	0.19%				
38	G_ruricolaCUB	20.98%	11.08%	11.08%	11.08%	11.08%	11.08%	11.35%	11.08%	11.08%	11.32%	10.80%	10.62%	9.81%	11.45%	9.81%	11.17%	10.62%	10.89%	11.14%	10.62%	11.17%	10.62%	10.35%	9.81%	9.81%	10.89%	10.08%	9.81%	11.17%	10.89%	10.08%	11.17%	10.35%	10.35%	10.35%	10.62%			
39	J_lagostoma	17.63%	12.48%	12.48%	12.48%	12.48%	12.48%	12.77%	12.48%	12.48%	12.73%	12.19%	10.83%	10.56%	12.23%	10.56%	11.94%	11.38%	11.66%	11.69%	11.38%	11.94%	11.38%	11.11%	10.56%	10.56%	11.66%	10.83%	10.56%	11.94%	11.66%	10.29%	11.38%	11.11%	11.11%	11.11%	11.11%	10.83%	8.01%	

En la matriz de distancia los valores más altos se obtuvieron al comparar todas las especies con respecto al grupo externo *Cardisoma guanhumi*, para los *Gecarcinus* de México se obtuvo un valor promedio de 22.20%, para *G. ruricola* 20.98% y para *Jonhngarthia lagostoma* 17.63%. Al comparar a *J. lagostoma* con sus congéneres se obtuvieron los siguientes valores promedio, 12.50% con *G. quadratus*, 11.21% con *G. lateralis* y 8.01% con *G. ruricola*. Al comparar *G. ruricola* con el resto, el promedio fue de 11.10% con *G. quadratus* y 10.55% con *G. lateralis*. Finalmente, al comparar las distancias entre *G. quadratus* y *G. lateralis* en promedio la divergencia fue de 5.91% siendo relativamente alta en comparación con las distancias intra-específicas que fueron de 1.09% para las poblaciones de *G. lateralis* y 0.14% para las de *G. quadratus*. La distancia genética entre las poblaciones de *G. lateralis* del golfo de México y mar Caribe, fue de 1.2%. El tiempo de divergencia se calculó utilizando la distancia genética promedio entre ambos clados, 5.91%, y las tasas de mutación de COI de 1.4% y 2.6% por millón de años, dando como resultado un rango de tiempo de 2,269,230 a 4,214,285 años.

Inferencia filogenética

Los clados mostrados en el árbol de MCC obtenido bajo el método de IB, del gen COI, en general tuvieron soportes de rama altos, en comparación con los de ML (Fig. 5). En ambos análisis, primero se observó la separación entre ambas especies, en clados con valores altos de soporte. Por un lado, las poblaciones que habitan el Pacífico, identificadas como *Gecarcinus quadratus* y resaltadas en color azul, por el otro lado, las poblaciones del golfo de México pertenecientes a *G. lateralis*, resaltadas en color rojo. Se recuperó además, un clado resaltado en color amarillo que incluye las poblaciones del Caribe dentro del clado de *G. lateralis*. A su vez, el grupo con las especies de *Gecarcinus* mexicanos apareció como hermano de *G. ruricola* de Cuba. *Jonhngarthia lagostoma* se recuperó como grupo hermano de todos los *Gecarcinus*. Dentro del golfo se observaron otros clados bien soportados mientras que en el Pacífico solo hubo un clado bien soportado, el resto formaron una politomía (Fig. 5).

La topología del fragmento de 16S varió un poco con respecto a la de COI. Se definieron los clados del Pacífico y del golfo de México con altos valores de soporte tanto en IB como en ML (Fig. 6). Sin embargo, para la región del golfo resaltada en color rojo,



prácticamente ningún clado formado estuvo soportado, ambos organismos del Atlántico de Costa Rica, que se incluyeron en este análisis, aparecieron inmersos con los del golfo de México. En el Pacífico, los organismos de *G. quadratus* de color azul, aparecieron agrupados en una politomía, excluyendo únicamente a un organismo de Punta Mita, Nayarit. Por su parte, *Gecarcinus ruricola* formó un clado con *Johngarthia lagostoma* y *J. planata*, aunque en el árbol de ML el soporte de este clado fue muy bajo (Fig. 6).

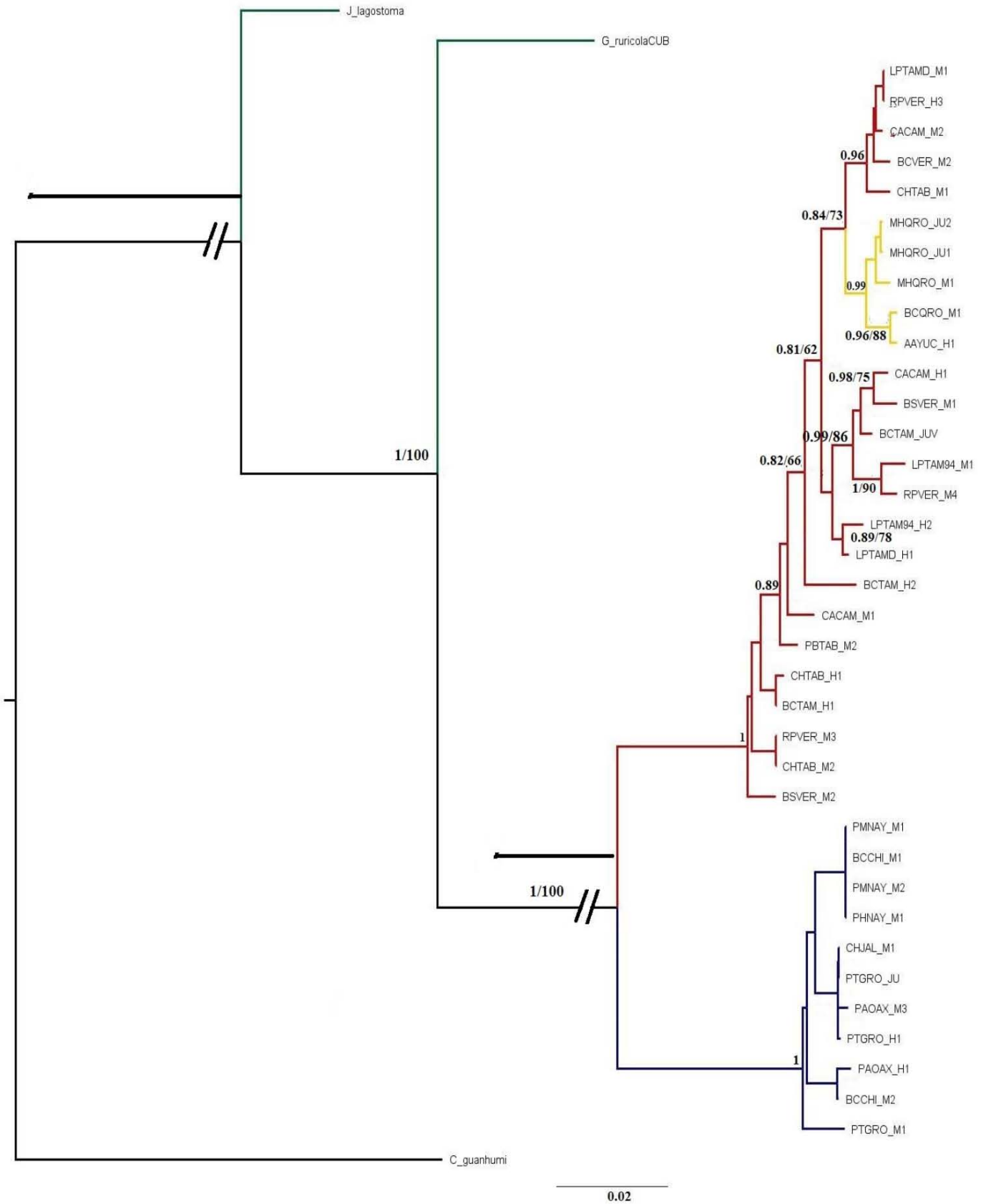


Figura 5. Árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) del gen COI del género *Gecarcinus* de las costas mexicanas. Los valores de en los nodos representan la probabilidad posterior y la máxima verosimilitud. En las tablas 5 y 6, se incluyen las abreviaturas usadas para reconocer los ejemplares de cada localidad.

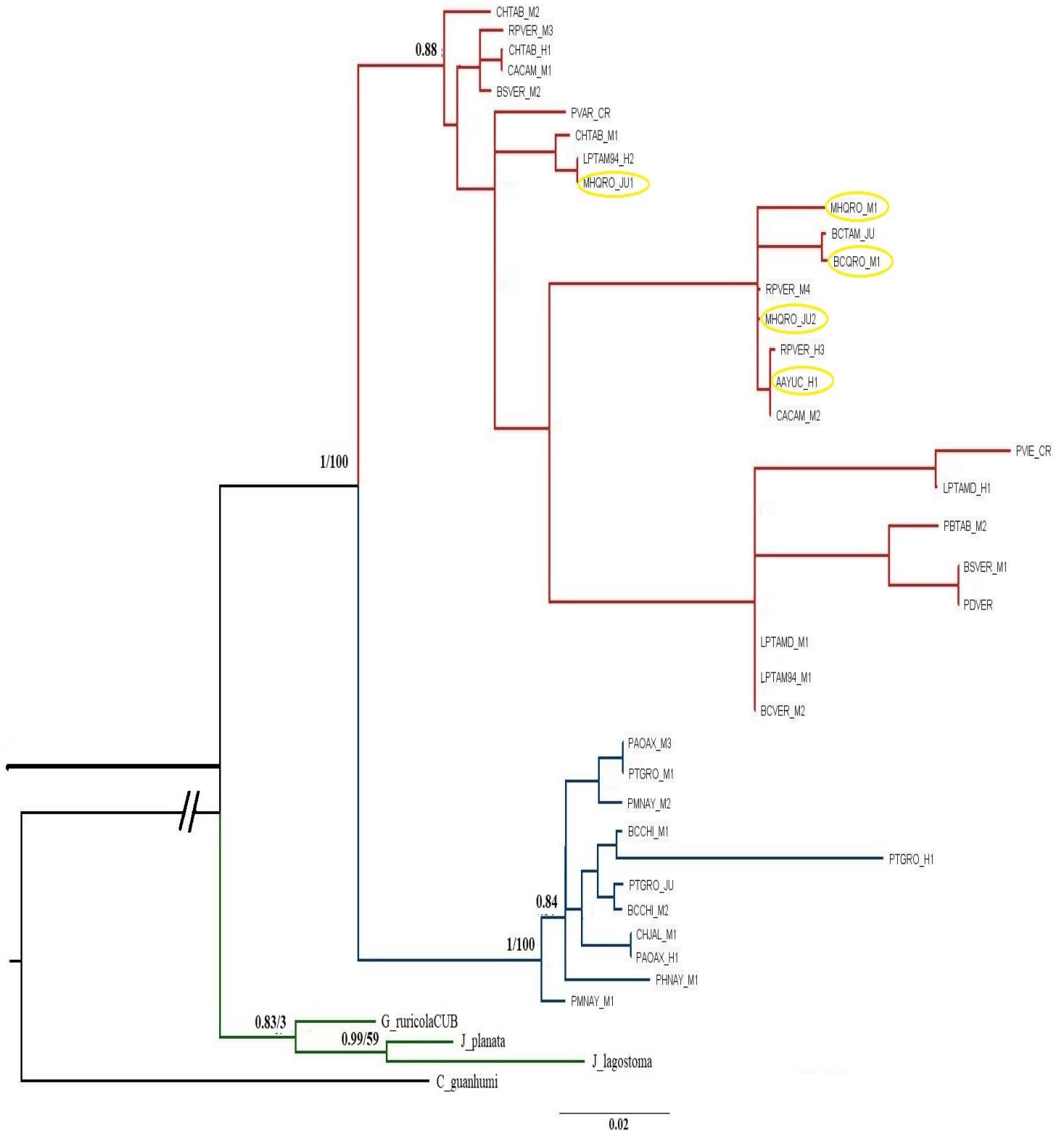


Figura 6. Árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) del gen 16S del género *Gecarcinus* de las costas mexicanas. Los valores de en los nodos representan la probabilidad posterior y la máxima verosimilitud. En las tablas 5 y 6, se incluyen las abreviaturas usadas para reconocer los ejemplares de cada localidad.

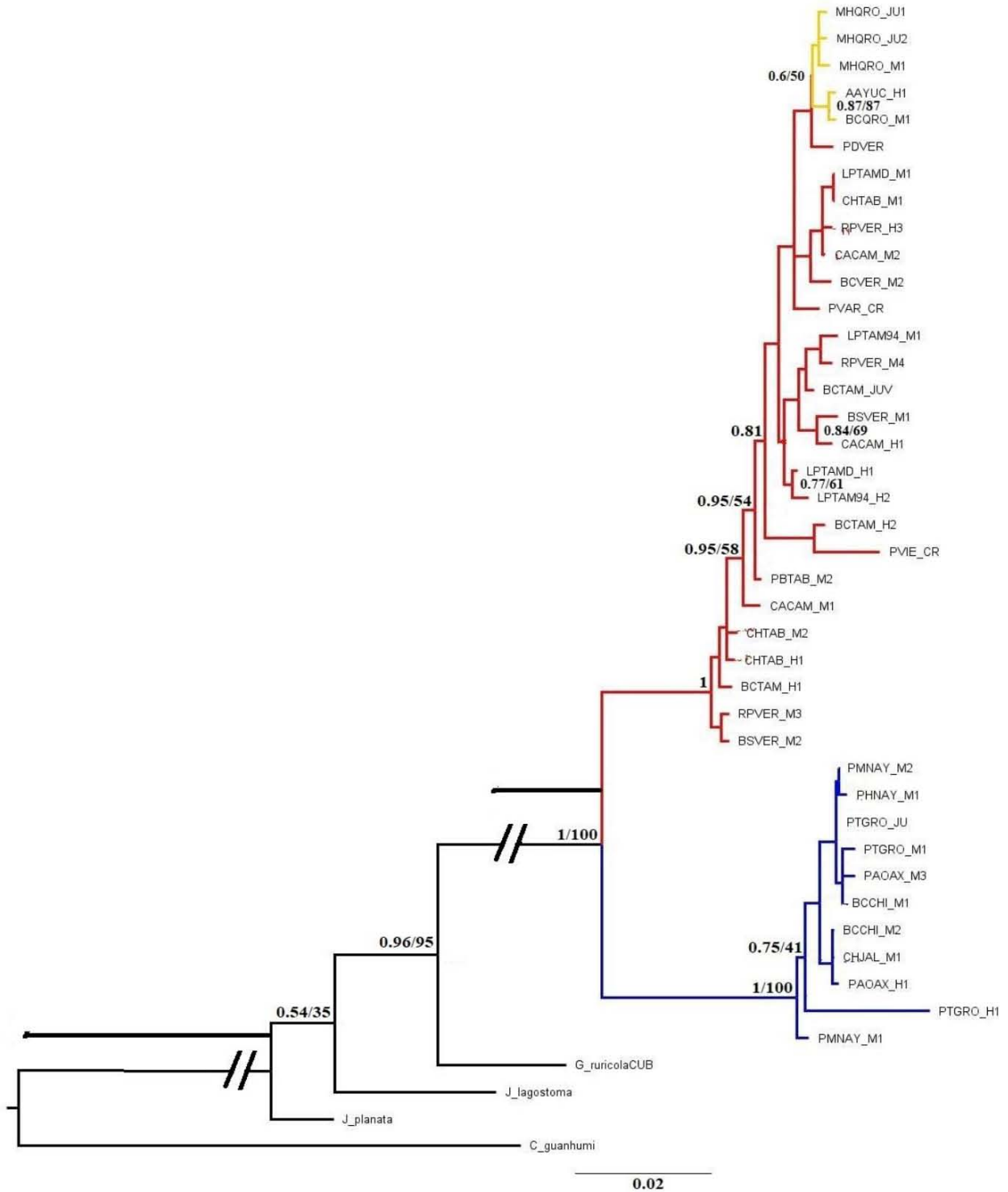


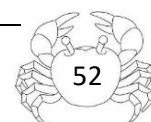
Figura 7. Árbol de máxima credibilidad de clados (MCC) del género *Gecarcinus* de las costas mexicanas basado en la concatenación de los genes 16S y COI. Los valores de en los nodos representan la probabilidad posterior y la máxima verosimilitud. En amarillo, el clado del Caribe mexicano, en rojo el del golfo de México y Atlántico de Costa Rica y en azul el del Pacífico mexicano. En las tablas 5 y 6, se incluyen las abreviaturas usadas para reconocer los ejemplares de cada localidad.

Redes de haplotipos y variación genética

En las poblaciones del Atlántico se observó una mayor diversidad haplotípica (HD) y nucleotídica (π) para ambos genes, siendo más notoria en los valores para el gen COI, lo cual se vio reflejado también en el número de haplotipos, pues en el gen COI *G. quadratus* tuvo un menor número de haplotipos con cuatro, mientras que *Gecarcinus lateralis* tuvo 16 (Tablas 5, 6, 7).

Tabla 5. Información de los haplotipos del gen COI del golfo de México y mar Caribe, incluyendo el número de haplotipo, las localidades donde se encontraron, el número de individuos para cada uno y la clave del individuo con ese haplotipo.

Número de haplotipo	Localidades	Número de individuos	Clave asignada al individuo
H_1	Banco Chinchorro, Quintana Roo	1	BCQRO_M1
	Arrecife Alacranes, Yucatán	1	AAYUC_H1
H_2	Chiltepec, Tabasco	2	CHTAB_H1; CHTAB_M2
	Boca de Catán, Tamaulipas	1	BCTAM_H1
	Barra de Sontecomapan, Veracruz	1	BSVER_M2
	Río Prieto, Veracruz	1	RPVER_M3
H_3	Boca de Catán, Tamaulipas	1	BCTAM_JU
H_4	Boca de Catán, Tamaulipas	1	BCTAM_H2
H_5	La Pesca, Tamaulipas	1	LPTAM94_H2
H_6	La Pesca, Tamaulipas	1	LPTAMD_M1
	Río Prieto, Veracruz	1	RPVER_H3
	Cayo Arcas, Campeche	1	CACAM_M2
H_7	La Pesca, Tamaulipas	1	LPTAM94_M1
H_8	La Pesca, Tamaulipas	1	LPTAMD_H1
H_9	Río Prieto, Veracruz	1	RPVER_M4
H_10	Barra de Cazonés, Veracruz	1	BCVER_M2



H_11	Barra de Sontecomapan, Veracruz	1	BSVER_M1
H_12	Playa Brujas, Tabasco	1	PBTAB_M2
H_13	Chiltepec, Tabasco	1	CHTAB_M1
H_14	Cayo Arcas, Campeche	1	CACAM_M1
H_15	Cayo Arcas, Campeche	1	CACAM_H1
H_16	Mahahual, Quintana Roo	3	MHQRO_M1 ;MHQRO_JU1; MHQRO_JU2

Tabla 6. Información de los haplotipos del gen COI del Pacífico mexicano, incluyendo el número de haplotipo, las localidades donde se encontraron, el número de individuos para cada uno y la clave del individuo con ese haplotipo.

Número de haplotipo	Localidades	Número de individuos	Clave asignada al individuo
H_1	Punta Mita, Nayarit	2	PMNAY_M1; PMNAY_M2
	Playa Higuera Blanca, Nayarit	1	PHNAY_M1
	Chamela, Jalisco	1	CHJAL_M1
	Playa Troncones, Guerrero	2	PTGRO_H1; PTGRO_JU
	Boca del Cielo, Chiapas	2	BCCHI_M2; BCCHI_M1
H_2	Playa Troncones, Guerrero	1	PTGRO_M1
H_3	Playa Aragón, Oaxaca	1	PAOAX_M3
H_4	Playa Aragón, Oaxaca	1	PAOAX_H1

Tabla 7. Variación genética de los genes COI y 16S para ambas costas de México. N: número de secuencias, K: número de sitios variables, H: número de haplotipos, HD: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica,

Gen	Vertiente	N	K	H	HD	π
COI	Atlántico	25	29	16	0.9433	0.01018
COI	Pacífico	11	8	4	0.4909	0.00231
16S	Atlántico	25	8	5	0.5133	0.00169
16S	Pacífico	11	15	4	0.4909	0.00555

Respecto a la red de haplotipos en el golfo de México, el haplotipo más frecuente fue el dos (H_2) con cinco, distribuido en cuatro localidades diferentes, el resto de los haplotipos, en su mayoría solo tuvieron un individuo. Playa Brujas, Tabasco (H_12) y Barra de Cazones (H_10) solo tuvieron un haplotipo debido a que solo se secuenció un individuo. En la región del Caribe se encontraron dos haplotipos (H_1 y H_16) distribuidos en tres localidades, Mahahual y Banco Chinchorro en Quintana Roo y Arrecife Alacranes en Yucatán, de los cuales el haplotipo 16 (H_16) tuvo más organismos (Fig. 8; tabla 5). En el Pacífico no se observaron haplotipos únicos para alguna localidad y el haplotipo uno (H_1) fue el que tuvo un mayor número de individuos con ocho y se encontró en cinco localidades (Fig. 9; tabla 6).

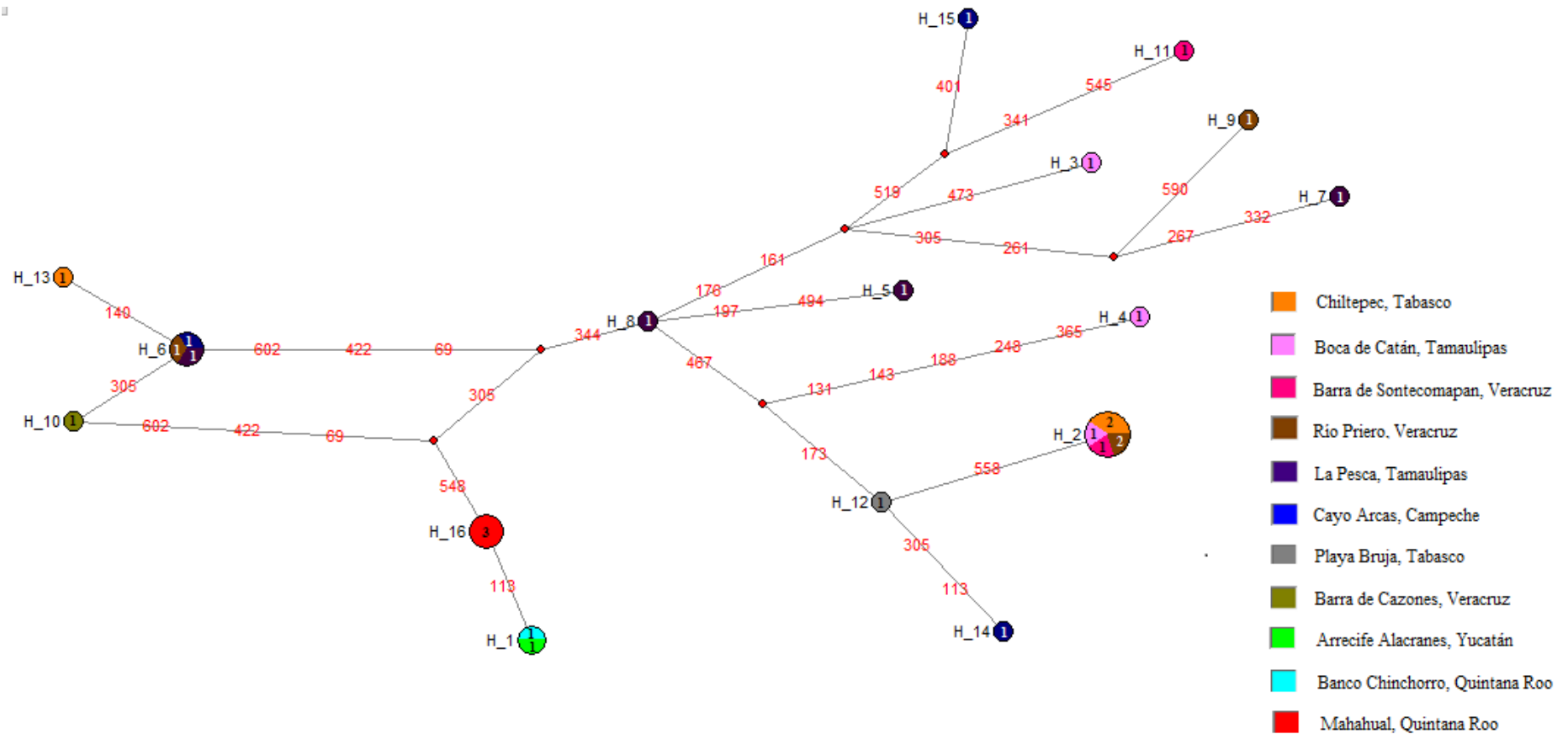


Figura 8. Red de haplotipos del gen COI de *Gecarcinus lateralis* en la que se observan 16 haplotipos. Los números en rojo representan el número de mutaciones entre haplotipos, cada círculo representa un haplotipo y su diámetro la frecuencia. Los colores representan cada una de las localidades y el número adentro de cada uno representa el número de organismos. Los pequeños círculos rojos representan ancestros hipotéticos para conectar a los haplotipos.

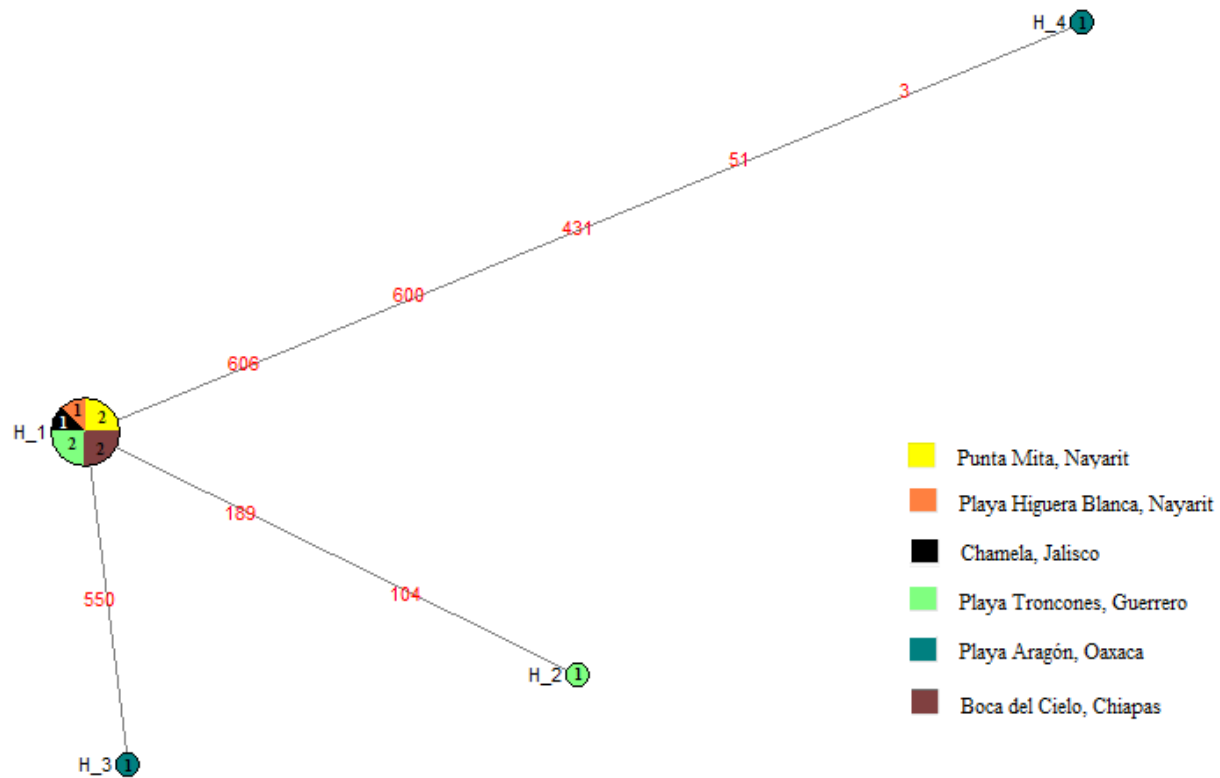


Figura 9. Red de haplotipos del gen COI de *Gecarcinus quadratus* en la que se observan 4 haplotipos. Los números en rojo representan el número de mutaciones entre haplotipos, cada círculo representa un haplotipo y su diámetro la frecuencia. Los colores representan cada una de las localidades y el número adentro de cada uno representa el número de organismos. Los pequeños círculos rojos representan ancestros hipotéticos para conectar a los haplotipos.

DISCUSIÓN

El gen 16S, presentó una variabilidad genética intra e inter-poblacional baja (diversidad haplotípica y nucleotídica), debido a que es un gen relativamente conservado con una tasa de mutación baja, como fue reportado en el trabajo de García-Rodríguez y Perez-Enriquez (2008) con la especie *Panulirus inflatus*, en el cual, de tres genes analizados, 16S tuvo la menor variabilidad genética.

Se observó que el gen COI no fue muy variable en la región amplificada, lo cual también se ha visto en otros crustáceos. Para el camarón *Creaseria morleyi* (Creaser, 1936), Botello y Alvarez (2010) obtuvieron fragmentos de 654 pb para COI, con 17 sitios polimórficos, de los cuales 11 fueron informativos. En otro trabajo previo para el complejo de *Gecarcoidea* usando un fragmento de 658 pb del gen COI, 25 sitios fueron variables y 17 informativos (Lai *et al.*, 2017). Ng y Shih (2014) trabajaron con el grupo de especies *Discoplax hirtipes* (Dana, 1851), describiendo una nueva especie, *D. celeste* Ng y Davie, 2012, para ello, el fragmento que obtuvieron para 16S fue de 554 pb, de esos 37 sitios polimórficos y 23 informativos, el de COI fue de 658 pb sin especificar sitios polimórficos ni informativos. En el caso de las especies de *Ocypode* Weber, 1795 se obtuvo un fragmento de 636 pb, de los cuales 156 fueron variables y 130 informativos (Wong *et al.*, 2012). A pesar de esta poca variación en el gen COI, se logró separar claramente a ambas especies trans-ístmicas.

La distancia genética entre ambas poblaciones (5.91%), demuestra la clara separación de las especies, valores similares han sido utilizados para separar otras especies de braquiuros trans-ístmicos como en *Aratus pisonii* y *A. pacificus* con un rango de 4.5-5.7% (Thiercelin y Schubart, 2014). En otros complejos de especies como las del este asiático, *Ocypode mortoni* George, 1982 y *O. stimpsoni* Ortmann, 1897, la divergencia promedio fue de 6.5% (Wong *et al.*, 2012). Específicamente dentro de la familia Gecarcinidae, se han tratado complejos de especies, separándolas con valores de divergencia más bajos, como en el caso de *Gecarcoidea* y su especie pseudocríptica *G. humei*, distribuida en el océano Índico, la cual presentó una divergencia genética con *G. natalis* de 2.07% y con *G. lalandii* de 1.47%, y a la vez las distancias genéticas intra-específicas fueron muy bajas en un rango de 0 a 0.61% (Lai *et al.*, 2017). Otro caso es del

complejo de especies del género *Discoplax*, distribuido en el Pacífico Indo-oeste, *Discoplax*, en el cual la distancia genética de *D. magna* con respecto a su especie más cercana *D. celeste* fue de 1.23% (Ng y Shih, 2014). Tomando en cuenta los últimos valores, se puede sugerir la presencia de una especie críptica en el Caribe, pues la distancia genética con respecto a la población del golfo de México fue de 1.2%.

En el presente estudio el análisis de los valores de distancia genética intra-poblacional (Tabla 4), registró los más altos en el golfo de México, incluso en individuos de la misma muestra se obtuvieron valores cercanos o mayores a 1.0%; por ejemplo; por ejemplo, comparando el individuo BCTAM_H2 con el BCTAM_H1, ambos de La Laguna, Tamaulipas, la distancia genética entre ellos fue de 1.39%, entre los individuos BCTAM_H1 y BCTAM_JU fue de 1.19%. En Cayo Arcas, Campeche, el individuo CACAM_M1 con el CACAM_M2 mostró una distancia de 1.39% y entre CACAM_H1 y CACAM_M1 fue de 1.59%. El valor más alto fue al comparar el individuo con clave BCTAM_H2 con el resto, alcanzando 2.42% al compararlo con un organismo de La Pesca, Tamaulipas (LPTAM94_M1). A pesar de ello, morfológicamente no presentó diferencias significativas con respecto al resto de los individuos. En la región del Atlántico, las poblaciones del Caribe mexicano tuvieron los valores de distancia más pequeños, entre los ejemplares de Mahahual, Quintana Roo (MHQRO_M1, MHQRO_JU1 y MHQRO_JU2) fue de 0%, la distancia de Arrecife Alacranes, Yucatán (AAYUC_H1) con Mahahual fue de 0.19%. Entre Banco Chinchorro, Quintana Roo (BCQRO_M1) y Mahahual fue de 0.19 % y entre Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro fue de 0%.

Al comparar la distancia entre las poblaciones del golfo de México con las del mar Caribe (arrecife Alacranes, Mahahual y Banco Chinchorro), se obtuvieron valores de 1.2%, lo cual sugiere un periodo reciente de divergencia, sin embargo, para confirmar este posible aislamiento es necesario realizar otro tipo de análisis de genética de poblaciones, que permita estimar el flujo génico entre las poblaciones o realizar un análisis de delimitación de especies.

Por el contrario, en el Pacífico las distancias genéticas fueron muy pequeñas, los valores de divergencia más altos (0.58%), se obtuvieron al comparar un organismo de playa Troncones, Guerrero (PTGRO_M1), con el resto de los ejemplares, especialmente con los

de playa Aragón, Oaxaca (PAOAX_H1 y PAOAX_M3), con el resto de los individuos mostró una divergencia de 0.39%. Comparando entre individuos de la misma muestra, la divergencia entre PAOAX_M3 y PAOAX_H1 fue de 0.39%, entre los de Punta Mita (PMNAY_M1, PMNAY_M2 y PHNAY_M1) fue de 0% y entre los de Boca del Cielo, Chiapas (BCCHI_M1 y BCCHI_M2) fue de 0% también.

Las distancias genéticas mayores, se registraron en las especies del grupo externo. Llama la atención el comportamiento de *G. ruricola*, que presentó una distancia genética menor con *J. lagostoma* (8.01%) que con las especies mexicanas congéneres (11.10% con *G. quadratus* y 10.55% con *G. lateralis*), siendo lo suficientemente alta como para poner en duda su posición taxonómica dentro del género *Gecarcinus*, haciendo necesario un estudio morfológico y genético más detallado, incluyendo más especies de la familia.

Al analizar el árbol concatenado de máxima credibilidad, se observó que tanto *Gecarcinus lateralis* como *G. quadratus* son grupos monofiléticos. Las poblaciones de ambas especies quedaron separadas en diferentes clados con un soporte de rama robusto, que tuvo un valor de 1 y 100 para IB y ML, respectivamente. El primer clado incluyó a los organismos del golfo de México y Caribe mexicano, mientras que el segundo a los del Pacífico mexicano. Dentro del golfo se observó un tercer clado definido, pero con un bajo soporte que corresponde a los organismos del Caribe mexicano (Fig. 7), pudiendo observar la división de grandes regiones geográficas. Respecto a los organismos de las distintas localidades del golfo de México, se observaron mezclados en los diferentes clados, esto puede deberse a la presencia de varios haplotipos que están distribuidos por los diferentes estados. El árbol concatenado de ML, también mostró la separación de ambas poblaciones y conservó la estructura de algunos clados, entre ellos los del Caribe mexicano (Fig. 7). A pesar de que el clado formado por los cuatro organismos de Quintana Roo y el de Yucatán tuvo un soporte de rama débil en ambos análisis, en la red de haplotipos los tres organismos de Mahahual, Q. Roo, aparecieron con un haplotipo único, cercano al haplotipo que agrupó a los organismos de Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro (Fig. 8), esto podría indicar que las corrientes crean una barrera que separa las zonas del Banco de Campeche y el Caribe. Debido a que únicamente se utilizó un organismo de Arrecife Alacranes y uno de Banco Chinchorro es necesario incluir más individuos de las localidades citadas y de otras,

pues según Som (2014), un muestreo denso y extensivo del taxón es uno de los factores más importantes en la precisión de una estimación filogenética. Esta separación en el Atlántico occidental tropical se ha estudiado para otras especies que se dispersan a través de larvas planctónicas: Johnson *et al.* (2013), modelaron el transporte larval del pargo *Lutjanus campechanus* en el golfo de México y mostraron que la conexión entre el Banco de Campeche y el oeste del golfo, estaba limitada debido a la presencia de giros en dirección occidental de larga duración, derivados de la corriente de Lazo y a la corta duración de la etapa larval de dicho pez. Sanvicente-Añorve *et al.* (2014) modelaron la dispersión larval de corales en el golfo de México y encontraron que los sistemas de arrecifes del lado occidental (Lobos, Tuxpan y Veracruz), estaban débilmente conectados con los del Banco de Campeche (Arcas, Triángulos, Arenas y Alacranes). Además, Jordán-Dahlgren (2002) dedujo, a partir de observaciones directas de la distribución y abundancia de 31 especies de corales gorgonias, que había una conectividad limitada entre los arrecifes del Banco de Campeche y los del lado occidental.

Existen estudios de estructura genética en otras especies del golfo de México que a continuación se mencionan, en los cuales se hace evidente la presencia de una barrera parcial, que impide el flujo de genes o una barrera inconstante formada recientemente (miles de años) (Knowles y Maddison, 2002). Heist y Gold (2000) realizaron un estudio de estructura genética del pargo *Lutjanus campechanus* y encontraron variación genética entre dos poblaciones de dicho pez, por un lado, el norte del golfo de México (Florida, Alabama, Texas) y por el otro el Banco de Campeche, concluyendo que la población de esta área era diferente al resto. En los camarones fantasma *Callichirus islagrande* y en las especies de braquiuros *Menippe adina* y *M. mercenaria*, también se presentaron diferencias genéticas entre las poblaciones del noreste del golfo y las del noroeste, aunque únicamente las últimas dos especies se reconocen formalmente por la presencia de diferencias morfológicas (Bert, 1986; Williams y Felder, 1986; Staton y Felder, 1995; Schneider-Broussard *et al.*, 1998; Bilodeau *et al.*, 2005), por esta razón sería interesante revisar ejemplares de *Gecarcinus lateralis* del noreste del golfo de México, incluyendo individuos de Estados Unidos.

Los tres análisis realizados, la matriz de distancia genética, los árboles filogenéticos y la red de haplotipos, sugieren un posible aislamiento entre la región del golfo de México y la del mar Caribe.

Los organismos de *G. lateralis* de Cayo Arcas incluidos en la filogenia, mostraron mayor afinidad genética con los organismos del resto del golfo y no con los de Arrecife Alacranes (Fig. 7), que también se considera parte del sistema arrecifal de Banco de Campeche, esto coincide con observaciones de Sanvicente-Añorve *et al.* (2014), quienes sugieren, que la conexión entre Arcas, Triángulos y Arenas fue más alta que con Alacranes.

Respecto a la presencia de *Gecarcinus ruricola* en el norte de México como había sido reportado por Leija-Tristán (1985), se corroboró que fue una mala identificación producto de la variabilidad de los caracteres morfológicos utilizados para reconocer las especies del género, pues en el árbol concatenado de MCC (obtenido bajo el método de IB) y ML, *G. ruricola* proveniente de Cuba apareció como grupo hermano del clado formado por *Gecarcinus quadratus* y *G. lateralis* (Fig. 9). Se mostró una discordancia entre las topologías de los genes 16S y COI. En el árbol del primer gen, con ambos métodos, *G. ruricola* apareció como grupo hermano de *Johngarthia lagostoma* y *J. planata*, aunque el valor de bootstrap con ML fue muy bajo con un valor de tres; mientras que en el de COI, *J. lagostoma* apareció como grupo hermano de las especies mexicanas de *Gecarcinus* y de *G. ruricola* con un soporte de rama muy robusto en ambos análisis (Figs. 5 y 6), para *J. planata* no se pudo obtener la secuencia de este gen.

En la topología del gen COI, los clados que se mantuvieron fuertemente soportados con ambos métodos (IB y ML) fueron el del Pacífico, el del golfo de México y el del Caribe mexicano. La separación de *G. ruricola* con las especies mexicanas también mantuvo un soporte alto (Fig. 5).

La topología del gen 16S también mostró la separación entre *Gecarcinus quadratus* y *G. lateralis*, con un soporte alto en ambos métodos de análisis, en el caso del clado Atlántico no se definieron subclados, pues las agrupaciones recuperadas no están soportadas. Por la parte del Pacífico, el único clado que se mantuvo soportado en ambas topologías es el de PMNAY_M1, con el resto de los individuos, esto no indica que este

individuo sea una especie nueva, sino que hace falta incluir más ejemplares de esa y otras localidades, que posiblemente sean haplotipos intermedios (Figs. 6), pues como ya se ha mencionado la deficiencia de muestras puede llevar a una topología poco fiable.

En este árbol se registró al organismo PTGRO_H1 con una rama larga, esto se debió a que su secuencia presentó varios sitios variables y al compararla con las del resto de los ejemplares, por ejemplo, con respecto a los otros dos de la misma muestra, PTGRO_JU y PTGRO_M1, mostró 13 y 18 sitios variables, respectivamente, pero al comparar a estos dos últimos individuos (PTGRO_JU y PTGRO_M1), prácticamente no hubo diferencias. La calidad de la secuencia fue buena pues no hubo contaminación y tanto el forward como el reverse coincidieron en todas las bases al obtener la secuencia consenso.

Para resolver la incongruencia entre las topologías de ambos genes, es necesario incluir más organismos de las especies *G. ruricola*, *Jonhngarthia lagostoma* y *J. planata*, así como más información genética. Existen varios trabajos que han abordado el efecto del muestreo de taxones en la reconstrucción filogenética, especialmente en relación con la densidad de muestreo, en estos se menciona que un incremento del muestreo, mejora considerablemente la estimación filogenética o incrementa los soportes de rama (Hillis, 1998; Zwickl y Hillis, 2002; Hedtke *et al.*, 2006; Torres-Pérez *et al.*, 2017). Heath *et al.* (2008), realizaron un estudio exhaustivo sobre el muestreo de taxones y concluyeron que un muestreo denso tiene muchas ventajas, sugiriendo valorar el esfuerzo de muestreo al interpretar los resultados del análisis filogenético, para explicar cualquier patrón imprevisto. Por otro lado, al añadir más información genética, ya sea, incluyendo secuencias con más pares de bases o más genes, se podría reducir el error estocástico o sesgo de muestreo de caracteres, el cual se relaciona con la longitud de los genes, desapareciendo cuando se concatenan más datos (Som, 2014). Por ejemplo, Evans *et al.* (2010) observaron que, al eliminar una serie de sitios dentro de las secuencias moleculares, se puede provocar un cambio en la topología del árbol y en consecuencia, apoyar una hipótesis diferente. Una razón más en la variación de las topologías, es que no se logró obtener el mismo número de secuencias para ambos genes, habiendo datos faltantes para individuos del género *Gecarcinus* y de *Jonhngarthia planata*, lo cual provocó incongruencias, pues como reportaron Torres-Pérez *et al.* (2017) y Som (2014), en los

análisis filogenéticos la inclusión o exclusión de ciertos taxones, puede influir en la precisión de la estimación y dar lugar a diferentes topologías, que a su vez, pueden conducir a nuevos reordenamientos taxonómicos y/o relaciones filogenéticas.

En cuanto a la red de haplotipos, se realizó una para ambas especies, en la cual *G. quadratus*, apareció separada de *G. lateralis* por 602 pasos mutacionales. Sin embargo, para apreciar mejor las redes, los diagramas de las poblaciones se presentaron por separado, observando una estructura compleja en el golfo de México, pues de 25 individuos se obtuvieron 16 haplotipos (Fig. 10; tabla 5). Los tres organismos de Mahahual, Q. Roo, aparecieron con un único haplotipo, cercano al haplotipo que agrupa a los organismos de Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro (Fig. 10), lo cual ya se ha explicado anteriormente con detalle. En el caso de Playa Brujas y Barra de Cazones habría que incrementar el número de individuos analizados para obtener más haplotipos y un resultado más real, pues solo se utilizó un individuo para cada localidad.

La complejidad en el golfo puede asociarse a los eventos geológicos, climáticos e históricos que ocurrieron en el periodo Neógeno (23 millones de años hasta el presente), pues como ya ha sido reportado, son factores potenciales en la generación de diversidad de especies y en la conformación de la variación genética entre las especies de esta región. Dos de los mecanismos vicariantes que se han considerado muy importantes, son la emersión de Centroamérica y el Istmo de Panamá en el Plioceno, el cual impidió el flujo génico entre la biota de ambas litorales, originando especies hermanas o geminadas como en el caso de *Gecarcinus lateralis* y *G. quadratus*, además, se alteraron los patrones de circulación oceánica en el Caribe y golfo de México. El segundo mecanismo vicariante, fueron los cambios asociados con los ciclos repetidos de glaciación a lo largo del Neógeno, estos alteraron los niveles del mar y el clima, lo cual provocó fragmentación en la distribución de las especies al quedar poblaciones aisladas y que posteriormente volvieron a tener contacto. Prácticamente todas las especies del golfo han experimentado los efectos de las glaciaciones, ya que el periodo glaciario más reciente acabó hace 12,000 años (Neigel, 2009). El tiempo de divergencia calculado en un intervalo de 2,269,230 a 4,214,285 años coincide con el cierre definitivo del Istmo de Panamá, el cual ha sido datado por varios autores en diferentes rangos de tiempo, por Collins (2003) hace cuatro millones de años,

Coates y Obando (1996) entre 2.8-3.1 millones de años y Jackson y O'dea (2013) y Weir, Bermingham y Schluter (2009) entre tres y cuatro millones de años, sin embargo, el tiempo exacto del cierre de istmo está en discusión.

En el caso del Pacífico, de 11 individuos solo se encontraron cuatro haplotipos desde Nayarit hasta Chiapas y ninguna localidad tuvo un haplotipo único (Fig. 9; tabla 6). La reducción en el número de haplotipos podría deberse a un cuello de botella que causó pérdida de diversidad genética seguido de una expansión reciente, para corroborarlo habría que realizar otros análisis. Una hipótesis similar fue propuesta por Dudoit *et al.* (2018) al analizar las poblaciones del camarón bandeado de coral *Stenopus hispidus* (Olivier, 1811) del Atlántico occidental y del Indo-Pacífico. Ellos observaron que la diversidad genética en la población del Atlántico fue mucho más alta ($h=0.929$; $\pi=0.004$) comparada con la del Indo-Pacífico ($h=0.105$; $\pi < 0.001$). Una de sus posibles explicaciones fue que la población del Indo-Pacífico experimentó un evento reciente de cuello de botella, reduciendo la variación genética (Nei *et al.*, 1975). Los autores plantearon que bajo este escenario, o bien, se favoreció selectivamente a un solo haplotipo de ADNmt o únicamente un haplotipo sobrevivió al cuello de botella, además, que este evento hipotético no tuvo un impacto similar en ninguna otra especie estudiada hasta la fecha y no afectó al Océano Atlántico. Posteriormente, la población sobreviviente tuvo una expansión reciente. Arnaud *et al.* (2000), propusieron que las posibles causas de un cuello de botella en poblaciones marinas pueden ser problemas epidemiológicos, cambios ambientales o el impacto humano. Resultados similares a los del presente estudio, obtuvieron García-Rodríguez y Perez-Enriquez (2008) al analizar la estructura genética de la langosta espinosa azul *Panulirus inflatus* (Bouvier, 1895) del Pacífico mexicano, utilizando los genes mitocondriales de la región control, 12S y 16S, no encontraron variabilidad en la estructura genética por el alto flujo genético entre los individuos a lo largo de toda la costa y sugirieron que la falta de variación podría estar relacionada con los procesos oceanográficos, especialmente las corrientes, que varían estacional y anualmente, así como un período larvario extendido, propusieron también. En otras especies de crustáceos como en el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), se ha reportado la presencia de subpoblaciones utilizando como marcadores moleculares los microsatélites. En este estudio se reportaron tres sub-poblaciones, la parte baja del golfo de California, la región media de

México, entre Cabo Corrientes, Jalisco y Salina Cruz, Oaxaca, y la última del sur de Salina Cruz hasta Panamá (Valles-Jiménez *et al.*, 2005). Arnaud *et al.*, (2000) observaron en poblaciones de la ostra *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), la diferenciación de tres grupos utilizando los genes mitocondriales 12S y COI. La primer sub-población incluyó a los individuos del golfo de California (Isla Espíritu Santo, Bahía Merito, Loreto y Guaymas) excepto Bahía Concepción, la segunda incluyó al sur de México (Puerto Vallarta, Oaxaca y Manzanillo) y la tercera a Panamá. Por esta razón, al ampliar el muestreo de *Gecarcinus quadratus* hacia las localidades del Pacífico Norte y de Centroamérica, se esperaba encontrar sub-poblaciones diferentes.





Finalmente, a pesar del número limitado de muestras que se utilizaron en el presente estudio, sobre todo para el Pacífico, las estimaciones obtenidas sobre la variación genética de las poblaciones analizadas, dan indicio de que existe una fragmentación en la conectividad genética intra-específica, a través del gradiente geográfico estudiado para cada especie, en ambos litorales. Esta estratificación se ha registrado en diferentes grupos de organismos marinos, y las causas que la han provocado van desde extrínsecas a las especies, como la evolución geológica y climática de los continentes, y el comportamiento actual de los patrones de circulación de las corrientes oceanográficas hasta intrínsecas como las características del ciclo biológico, la capacidad de dispersión de las larvas y variabilidad genética. Sin embargo, es claro que, para obtener un resultado más robusto, habría que incluir más individuos por localidad y tratar de abarcar un mayor número de localidades dentro de la distribución de cada una de las especies.

CONCLUSIONES


- 🦀 La inferencia filogenética utilizando los métodos de IB y ML con los genes COI y 16S genes, así como la distancia genética y la red de haplotipos basados en el gen COI, mostraron que *G. quadratus* es una especie válida y no una sinonimia de *G. lateralis* como fue considerado por otros autores, entre ellos Perger y Wall (2014).

- 🦀 La distancia genética promedio entre *G. quadratus* y *G. lateralis* fue de 5.91%, siendo relativamente alta en comparación con las distancias intra-específicas que fueron de 1.09% para *G. lateralis* y 0.14% para *G. quadratus*.
- 🦀 El tiempo de divergencia calculado va de un rango de 2,269,230 a 4,214,285 años, que coincide con el cierre definitivo del Istmo de Panamá, el cual ha sido datado por varios autores en diferentes rangos de tiempo desde 2.8 a 4 millones de años, sin embargo, el tiempo exacto del cierre de istmo está en discusión.
- 🦀 En el árbol concatenado de MCC obtenido bajo IB, se observó que tanto *Gecarcinus lateralis* como *G. quadratus* son grupos monofiléticos. Dentro del clado que representó las poblaciones de *Gecarcinus lateralis*, se formó un subclado, definido, pero con un soporte bajo, que correspondió a los organismos del Caribe mexicano, lo cual puede representar una fragmentación en la conectividad genética, entre las regiones que abarca su distribución geográfica. Las poblaciones dentro del golfo de México aparecieron mezcladas en los diferentes subclados, indicando la existencia de un contacto regular.
- 🦀 En la inferencia filogenética del gen COI, el subclado del Caribe se mantuvo bien soportado en los árboles de MCC y ML.
- 🦀 La distancia genética entre la población del golfo de México y mar Caribe (1.2%), sugiere un posible aislamiento entre las dos regiones, lo cual debe corroborarse analizando genéticamente más individuos de cada región. Sin embargo, esta separación ya se ha mencionado en otros estudios para otros organismos.
- 🦀 La separación de las poblaciones de *G. lateralis*, del golfo de México y del mar Caribe, puede estar indicando que la corriente de Yucatán forma una barrera parcial entre las poblaciones de ambas regiones.
- 🦀 Genéticamente el golfo de México fue más diverso que el Pacífico, en la red de haplotipos se observó una estructura compleja en el golfo de México, de 25 individuos se obtuvieron 16 haplotipos. La complejidad en el golfo puede

asociarse a eventos geológicos, climáticos e históricos que ocurrieron en el periodo Neógeno (23 millones de años hasta el presente), pues como ya ha sido reportado, son factores potenciales en la generación de diversidad de especies y en la conformación de la variación genética entre las especies de esta región. Los tres organismos de Mahahual, Q. Roo, aparecieron con un único haplotipo, cercano al haplotipo que agrupa a los organismos de Arrecife Alacranes y Banco Chinchorro. Es necesario incluir otro tipo de análisis de genética de poblaciones, que permitan estimar el flujo génico entre las poblaciones o realizar un análisis de delimitación de especies, utilizando además de genes mitocondriales otros marcadores como los microsátélites.

-  En el caso del Pacífico, de 11 individuos solo se encontraron cuatro haplotipos desde Nayarit hasta Chiapas, ninguno de ellos único para alguna localidad.
-  Se descarta la presencia de *Gecarcinus ruricola* en el norte de México, que había sido citado por otros autores, pues en el árbol concatenado, esta especie apareció como grupo hermano del clado formado por *Gecarcinus quadratus* y *G. lateralis*.
-  Se mostró una discordancia entre las topologías de los genes 16S y COI, en el árbol de 16S con los métodos de ML y IB, *G. ruricola* apareció como grupo hermano de *Johngarthia lagostoma* y *J. planata*, aunque el bootstrap con ML fue muy bajo. Mientras que en el de COI, *J. lagostoma* apareció como grupo hermano de las especies mexicanas de *Gecarcinus* y de *G. ruricola*, con un soporte de rama muy robusto en ambos análisis. Para *J. planata* no se pudo obtener la secuencia de este gen. Por lo tanto, se pone en duda la posición taxonómica de *G. ruricola* dentro del género *Gecarcinus*, es necesario un análisis morfológico y molecular más detallado, incluyendo más individuos de dichas especies, para corroborar esto.
-  La discordancia en las topologías se debió al diferente número de individuos utilizado en las filogenias de ambos genes, ya que la inclusión o exclusión de ciertos taxones, puede influir en la precisión de la estimación y dar lugar a

diferentes topologías, que tendrán como resultado nuevos reordenamientos taxonómicos y/o relaciones filogenéticas. La incongruencia también podría deberse a un error estocástico, el cual se puede reducir al concatenar más datos genéticos, ya sea, obteniendo secuencias con más pares de bases de los genes utilizados o aumentando el número de marcadores moleculares.

 Debido al número limitado de muestras que se utilizaron, sobre todo en el Pacífico, las estimaciones de diversidad deben tomarse solo como una aproximación, pues para tener un resultado más certero, habría que incluir más individuos por localidad y tratar de abarcar una distribución más amplia de la especie.

LITERATURA CITADA

ABELE, L.G. y **KIM W.**, 1986. *An illustrated guide to the marine decapod crustaceans of Florida*. Department of Environmental Regulation, State of Florida. Technical Series, 8(1): 320.

ALVAREZ-ARELLANO, A. D. y **GAITÁN MORÁN, J.**, 1994. Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano: Geología (13-74p.). *In:* de la Lanza-Espino, G. y Cáceres-Martínez, C. (Eds.), *Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano*. UNAM-UABCS, 525 pp.

ANDERSON, T. J. C., KOMUNIECKI R., KOMUNIECKI P. R. y **JAENIKE J.**, 1995. Are mitochondria paternally inherited in *Ascaris*?. *International Journal for Parasitology*, 25: 1001-1004.

ARNAUD, S., MONTEFORTE, M., GALTIER, N., BONHOMME, F., y BLANC, F., 2004. Population structure and genetic variability of pearl oyster *Pinctada mazatlanica* along Pacific coasts from Mexico to Panama. *Conservation Genetics*, 1: 299-308.

ARZOLA-GONZÁLEZ, J. F., FLORES-CAMPAÑA, L. M., y VÁZQUEZ-CERVANTES, A., 2010. Crustáceos decápodos intermareales de las islas de la costa de Sinaloa, México. *Universidad y ciencia*, 26(2): 179-193.

AVISE, J. C., ARNOLD, J., BALL, R.M., BERMINGHAM, E., LAMB, T., NEIGEL, J.E., REEB, C.A. y **SAUNDERS, N.**, 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18: 489-522.

AVISE, J. C., 1998. The history and purview of phylogeography: A personal reflection. *Molecular Ecology*, 7: 371-379.

AVISE, J. C., 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Londres.

BERT, T. M., 1986. Speciation in western Atlantic stone crabs (Genus *Menippe*): the role of geological processes and climatic events in the formation and distribution of species. *Marine Biology*, 93: 157-170.

BIGGS, D.C., 1992. Nutrients, plankton, and productivity in a warm-core ring in the western Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research*, 97(C2): 2143-2154.

BILODEAU, A. L., FELDER, D. L. y **NEIGEL, J. E.**, 2005. Population structure at two geographic scales in the burrowing crustacean *Callichirus islagrande* (Decapoda, Thalassinidea): historical and contemporary barriers to planktonic dispersal. *Evolution*, 59: 2125-2138.



BLISS, D. E., y SPRAGUE P.C., 1958. Diurnal locomotor activity in *Gecarcinus lateralis*. *Anatomical Record*, 132: 416-417.

BLISS, D. E., 1963. The pericardial sacs of terrestrial Brachyura (59-78p.). *In:* Whittington, H. B. y Rolfe, W. D. I. (Eds.), *Phylogeny and evolution of Crustacea*. Cambridge, Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, Special Publication, Harvard University, 192 pp.

BOGENHAGEN, D.F., 1999. DNA repair 1999: repair of mtDNA in vertebrates. *American Journal of Human Genetics*, 64: 1276-1281.

BOTELLO, A., 2008. Estudios de variación genética en crustáceos de México (459-487 p.). *In:* Álvarez, F. y Rodríguez, G.A. (Eds.), *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Dirección de Publicaciones UANL. 522 pp.

BOTELLO, A., y ALVAREZ, F., 2010. Genetic variation in the stygobitic shrimp *Creaseria morleyi* (Decapoda: Palaemonidae), evidence of bottlenecks and re-invasions in the Yucatan Peninsula. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99: 315-325.

BRIGHT, D.R. y HOGUE C.L., 1972. A synopsis of the burrowing land crabs of the world and list of their arthropod symbionts and burrow associates. *Natural History Museum. Los Angeles County Contributions in Science*, 220: 1-58.

BROOKS, D. R., BILEWITCH, J., CONDY, C., EVANS, D. C., FOLINSBEE, K. E., FROBISCH, J., HALAS, D., HILL, S., McLENNAN, D. A., MATTERN, M., TSUJI, L. A., WARD, J. L., WAHLBERG, N., ZAMPARO, D. y ZANATTA, D., 2007. Quantitative Phylogenetic Analysis in the 21st Century. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78: 225-252.

BROWN, W. M., GEORGE, M., JR. y WILSON, A. C., 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 1967-1971.

BRUCE, A. J., 1975. Coral reef shrimps and their colour patterns. *Endeavour*, 34: 23-27.

BRUSCA, R., 1980. Common intertidal invertebrates of the Gulf of California. University of Arizona Press, Tucson U.S.A. 427 pp.

BUITENDIJK, A.M., 1950. Note on a collection of Decapoda Brachyura from the Coast of Mexico, including the description of a new genus and species. *Zoologische Mededelingen uitgegeven door het Rijksmuseum van Natuurlijke Historiete Leiden*, 30(17): 269-282.

CHACE, F.A., JR. y HOBBS H.H., JR., 1969. The freshwater and terrestrial decapod crustaceans of de West Indies with special reference to Dominica. *Bulletin of United States National Museum*, 292: 1-256.



COATES, A. G., 1997. The forging of Central America (1-37p.). *In*: Coates, A. G. (Ed.), *Central America: A Natural and Cultural History*. New Haven: Yale University Press. 277 pp.

COATES, A. G. y OBANDO, J. A., 1996. The geologic evolution of the Central American Isthmus (21-56 p.). *In*: Jackson, J. B. C., Budd, A. F. y Coates, A. G. (Eds.), *Evolution and Environment in Tropical America*. The University of Chicago Press, Chicago. 436 pp.

COLLINS, T. M., 1996. Molecular comparisons of transisthmian species pairs: rates and patterns of evolution (303-334 pp.). *In*: Jackson, J. B. C., Budd, A. F. y Coates, A. G. (Eds.). *Evolution and environment in tropical America*. University of Chicago Press, Chicago. 436 pp.

COLLINS, L. S., 2003. Micropaleontological evidence for closure of the Central American Seaway. *Geological Society of America. Abstracts with Programs* 35, 85.

CUNNINGHAM, C.W., BLACKSTONE N.W. y BUSS L.W., 1992. Evolution of king crabs from hermit crab ancestors. *Naturae*, 355: 539-542.

DANIELS, S. R., GOUWS G. y CRANDALL K. A., 2006. Phylogeographic patterning in a freshwater crab species (Decapoda: Potamonautidae: Potamonautes) reveals the signature of historical climatic oscillations. *Journal of Biogeography*, 33: 1538-1549.

De GRACIA, C., O'DEA, A., RODRÍGUEZ, F. y D'CROZ, L., 2011. Respuesta ambiental en el Pacífico frente a la subducción de la dorsal asímica de Cocos (Panamá y Costa Rica). *Revista de Biología Tropical*, 60 (2): 893-908.

De SAUSSURE, H., 1853. Description de quelques crustacés nouveaux de la cote occidentale du Mexique. *Revue et Magasin de Zoologie*, (2)5: 354-368.

De SAUSSURE, H., 1858. Mémoire sur divers Crustacés nouveaux des Antilles et du Mexique. *Memoires de la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève*, 14: 417-496, pl. 1-6.

DELGADO-MARTÍNEZ, C. G., 2012. *Riqueza de Crustáceos Decápodos (Brachyura) de la costa noroeste del estado de Yucatán, México*. Tesis de Maestría, Posgrado en ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. 204 pp.

DOMINGUEZ-DOMINGUEZ, O. y VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E., 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32.1: 59-70.

DUDOIT, A., IACCHEI, M., COLEMAN, R. R., GAITHER, M. R., BROWNE, W., BOWEN, B. W., y TOONEN, R. J., 2018. The little shrimp that could: Phylogeography



of the circumtropical *Stenopus hispidus* (Crustacea: Decapoda), reveals divergent Atlantic and Pacific lineages, PeerJ, 2018(3): [e4409].

DUJARDIN, J. P., 2002. PADwin_47: version 2, Unité de Recherches 062-Unité Mixte de Recherches UMR9926. Institut de Recherches pour le Développement (IDR, France).

EVANS, N. M., HOLDER, M. T., BARBEITOS, M. S., OKAMURA, B. y CARTWRIGHT, P., 2010. The phylogenetic position of Myxozoa: exploring conflicting signals in phylogenomic and ribosomal datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 27: 2733-46.

FELDER, D. L., ÁLVAREZ, F., GOY, J.W. y LEMAITRE, R., 2009. Decapoda (Crustacea) of the Gulf of Mexico, with Comments on the Amphionidacea (1019-1104 p.). *In: Felder, D. L., y Camp, D. K. (Eds.), Gulf of Mexico origin, waters, and biota.* Texas A&M University Press, U.S.A. 1374 pp.

FELSENSTEIN, J., 2004. *Inferring phylogenies.* Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

FOLMER, O., BLACK, M., HOECH, W., LUTZ, R. y VRIJENHOEK, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-299.

FREMINVILLE, M., 1835. Notice sur les tourlouraux ou crabes de terre des Antilles. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie*, 2(2): 213-224.

FROHLICH, D. R., TORRES-JEREZ, I., BEDFORD I. D., MARKHAM P. G. y BROWN J. K., 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology*, 8: 1683-1691.

GARCÍA-FRANCO, J. G., RICO-GRAY V. y ZAYAS O., 1991. Seed and seedling predation of *Bromelia pinguin* L. by the red land crab *Gecarcinus lateralis* Frem. in Veracruz, Mexico. *Biotropica*, 23: 96-97.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, F. J. y PEREZ-ENRIQUEZ, R., 2008. Lack of genetic differentiation of blue spiny lobster *Panulirus inflatus* along the Pacific coast of Mexico inferred from mtDNA sequences. *Marine Ecology Progress Series*, 361: 203-212.

GARTH, J. S., 1948. The Brachyura of the Askoy Expedition. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 92: 1-66.

GILLESPIE, J. H., 1986. Variability of evolutionary rates of DNA. *Genetics*, 113: 1077-1091.

GLAESSNER, M. F., 1969. Decapoda (399-533 p.). *In: Moore, R. C. (ed.), Arthropoda 4. Part R, vol. 2. Treatise on Invertebrate Paleontology.* Geological Society of America and



University of Kansas Press, Lawrence.

GREDDILLA, R., 2010. DNA damage and base excision repair in mitochondria and their role in aging. *Journal of Aging Research*, 2011(1): 257093.

GREEN, P. T., LAKE P. S. y O'DOWD D. J., 1999. Monopolization of litter processing by a dominant land crab on a tropical oceanic island. *Oecologia*, 119: 435-444.

GUERIN, F.-E. 1829-1837. Crustacés (9-35 p.; pls. 1-8, 8 bis.). *In: Iconographie du Règne animal de G. Cuvier, ou représentation d'après nature de l'une des espèces les plus remarquables et souvent encore non figurées, de chaque genre d'animaux. Avec un texte descriptif mis au courant de la science. Ouvrage pouvant servir d'atlas a tous les traités de zoologie.* J.B. Baillière, Paris and London, 3, [1-4]: 426 pp.

HARRISON, R. G., 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 4: 6-11.

HEATH, T., HEDTKE, S. y HILLIS, D. M., 2008. Taxon sampling and the accuracy of phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 46: 239-57.

HEBERT, P. D. N., CYWINSKA, A., BALL, S. L. y DEWAARD, J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of Biological Sciences / The Royal Society*, 270: 313-21.

HEDTKE, S., TOWNSEND, T. y HILLIS D. M., 2006. Resolution of phylogenetic conflict in large data sets by increased taxon sampling. *Systematic Biology*, 55: 522.

HEIST, E. J., y GOLD, J. R., 2000. DNA microsatellite loci and genetic structure of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in the Gulf of Mexico. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129: 469-475.

HENDRICKX, M. E., 1995. Cangrejos (565-636 p.). *In: Fisher, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E. y Niem, V.H. (Eds), Guía FAO para los fines de pesca. Pacífico centro-oriental. Vol. 1. Plantas e invertebrados.* FAO, Roma, Italia. 646 pp.

HENNING, H. G. y KLAASSEN F., 1973. Dekapode Crustaceen auf der Isla de Salamanca (Atlantik-Küste, Kolumbien). *Mitteilungen Instituto Colombo-Aleman de Investigaciones Científicas*, 7: 63-84.

HERMOSO-SALAZAR, M., y ARVIZU-COYOTZI, K., 2015. Crustáceos del Sistema Arrecifal Veracruzano (1-26 p.). *In: Granados-Barba, A., Ortiz-Lozano, L. D., Salas-Monreal, D. y Gonzalez-Gandara, C. (Eds.), Aportes al conocimiento del Sistema Arrecifal Veracruzano: hacia el corredor arrecifal del noroeste del Golfo de México.* Universidad Veracruzana. 366 pp.



HERNÁNDEZ-AGUILERA, J. L., TORAL-ALMAZAN, R. E. y RUIZ-NUÑO, J. A., 1996. *Especies catalogadas de Crustáceos estomatópodos y decápodos para el Golfo de México, Río Bravo, Tamps. A Progreso, Yuc., DGONSM-CONABIO, México, D.F.* 132 pp.

HILLER, A., KRAUS, H., ALMON, M. y WERDING, B., 2006. The *Petrolisthes 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., MABLE B. K., LARSON A., DAVIS S. K. y ZIMMER E. A., 1996. Nucleic Acids IV: Sequencing and cloning (321-381). *In: Hillis, D. M., Moritz, C. y Mable, B. K. (Eds.), Molecular Systematics.* Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, U.S.A. 655 pp.

HILLIS, D. M., 1998. Taxonomic sampling phylogenetic accuracy and investigator bias. *Systematic Biology*, 47: 3-8.

HUELSENBECK, J. P., y RANNALA B., 1997. Phylogenetic methods come of age: testing hypotheses in an evolutionary context. *Science*, 276: 227-232.

HUELSENBECK, J. P., RONQUIST, F., NIELSEN, R. y BOLLBACK, J. P., 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294: 2310-2314.

JACKSON, J. B. y O'DEA, A., 2013. Timing of the oceanographic and biological isolation of the Caribbean Sea from the tropical eastern Pacific Ocean. *Bulletin of Marine Science*, 89: 779-800.

JIMÉNEZ, C., ORTEGA-RUBIO, A., ÁLVAREZ-CÁRDENAS, S. y ARNAUD, G., 1994. Ecological aspects of the land crab *Gecarcinus planatus* (Decapoda: Gecardinidae) in Socorro Island, Mexico. *Biological Conservation*, 69: 9-13.

JOHNSON, D. R., PERRY, H. M. y LYCZKOWSKI-SHULTZ, J., 2013. Connections between Campeche Bank and red snapper populations in the Gulf of Mexico via modeled larval transport. *Transactions of the American Fisheries Society*, 142: 50-58.

JORDÁN-DAHLGREN, E., 2002. Gorgonian distribution patterns in coral reefs environments of the Gulf of Mexico: evidence of sporadic ecological connectivity?. *Coral Reefs*, 21: 205-215

KANG, J. H., NOH, E. S., PARK, J. Y., AN, C. M., CHOI, J. H. y KIM, J. K., 2015. Rapid origin determination of the Northern Mauxia Shrimp (*Acetes chinensis*) based on allele specific polymerase chain reaction of partial mitochondrial 16S rRNA gene. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28: 568-572.



KELLMAN, M. y DELFOSSE, B., 1993. Effect of the red land crab *Gecarcinus lateralis* on leaf litter in a tropical dry forest in Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 9: 55-65.

KESSLER, W. S., 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography*, 69: 181-217.

KLAASSEN, F., 1975. Okologische und ethologische Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie von *Gecarcinus lateralis* (Decapoda, Brachyura). *Forma Functio*, 8: 101-174.

KNOWLES, L. L. y MADDISON, W. P., 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*, 11: 2623-2635.

KNOWLTON, N., 1986. Cryptic and sibling species among the decapod Crustacea. *Journal of Crustacean Biology*, 6: 356-363.

KNOWLTON, N., WEIGT, L. A., SOLÓRZANO, L. A., MILLS, D. K. y BERMINGHAM, E., 1993. Divergence in proteins, mitochondrial DNA, and reproductive compatibility across the Isthmus of Panama. *Science*, 260(5114): 1629-1632.

KNOWLTON, N., y WEIGT, L. A., 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences Royal Society*, 265: 2257-2263.

KUMAR, A., 2013. "Geology of the Isthmus of Panama, History of the Panama Canal and a Visit to the Barro Colorado Island." *Earth Science India. Popular Issue VI (IV)*: 1-13. Web.

LAI, J. C. Y., SHIH, H.-T. y NG, P. K. L., 2017. The systematics of land crabs of the genus *Gecarcoidea* and recognition of a pseudocryptic species, *G. humei*, from the eastern Indian Ocean (Crustacea: Decapoda: Gecarcinidae). *Invertebrate Systematics*, 31: 406-426.

LANTERI, A. A. y CONFALONIERI V. A., 2002. Filogeografía: Objetivos, Métodos y ejemplos (185-193p.). *En: Llorente-Bousquets, J. y Morrone, J. J. (Eds.). Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía*. Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM, Mexico, D.F. 307 pp.

LEACH, W.E., 1814. Crustaceology. *In: Brewster, D. (Ed.) The Edinburgh Encyclopaedia*, 7: 383-437.

LEIJA-TRISTÁN A., 1985. *Contribución al Estudio de los Cangrejos Brachyura-Grapsoida (Decapoda- Reptantia), del golfo de México depositados en la Colección Artropodológica de la Facultad de Ciencias de la UANL México*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León. 69 pp.



LESSIOS, H. A., 1998. The first stage of speciation as seen in organisms separated by the Isthmus of Panama (186-201 p.). In: HOWARD, D. y BERLOCHER, S. (Eds.) *Endless forms: species and speciation*. Oxford University Press, Oxford. 470 pp.

LESSIOS, H. A., 2008. The great American schism, divergence of marine organisms after the rise of the central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39: 63-91.

LINNAEUS, C., 1758. *Systema Naturae per Regna Tria Naturae, Secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum Characteribus, Differentiis Specierum, Synonymis, Locis*. Edition 10, vol.1. 824 pp.

LOW, M. E. Y. NG P. K. L. y EVENHUIS N. L., 2013. Names and publication dates of the Brachyura in F.É. Guérin (Guérin-Méneville) (Crustacea: Decapoda). *Zootaxa*, 3736 (2): 101-127.

MAGALLÓN, S. A., 2004. Dating lineages: molecular and paleontological approaches to the temporal framework of clades. *International Journal of Plant Sciences*. The University of Chicago Press, Chicago, 165(4 Suppl.): S7-S21.

MAGALLÓN, S. A., 2018. Capítulo 8. Calibración temporal con relojes moleculares (327-335 p.). In: Mata-López, R., Castañeda-Sortibrán, A. N., García-Trejo, E. A., Honey-Escandón, M.B.I., Mendoza-Garfias M.B. y Cervantes-Aguilar, I. P. (Eds.), *Sistemática Molecular y Bioinformática, Guía Práctica*. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 470 pp.

MALAY, M. C. D. y PAULAY, G., 2009. Peripatric speciation drives diversification and distribution patterns of reef hermit crabs (Decapoda: Diogenidae: *Calcinus*). *Evolution*, 64: 634-662.

MAREK, C., 2015. The Emergence of the Isthmus of Panama - a biological perspective -. Tesis doctoral, Facultades científicas de Justus-Liebig, Universität Gießen. 216 pp.

MILNE-EDWARDS, H., 1837. *Histoire naturelle des Crustacés, comprenant l'anatomie, la physiologie et la classification de ces animaux*. Vol. 2, 532 p. Atlas (1834, 1837, 1840). París.

MONREAL-GÓMEZ, A., SALAS-DE LEÓN, D. y VELASCO-MENDOZA, H., 2004. La hidrodinámica del golfo de México. 1. Físico química del Golfo de México (47-105 p.). In: Caso, M., Pisanty, I. y Ezcurra, E. (Comps.), *Diagnóstico ambiental del Golfo de México*. INE- SEMARNAT. México, D.F. 626 pp.

NEI, M., MARUYAMA, T. y CHAKRABORTY, R., 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29: 1-10.



NEIGEL, J. E., 2009. Population Genetics and Biogeography of the Gulf of Mexico (1353-1363 p.). In: Felder, D. L., y Camp, D. K. (Eds.), *Gulf of Mexico origin, waters, and biota*. Texas A&M University Press, U.S.A. 1374 pp.

NG, P. K. L., GUINOT, D. y DAVIE, P. J. F., 2008. Systema Brachyurorum: Parte I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *The Raffles Bulletin of Zoology*, (Supplement) 17: 1-286.

NG, P. K. L. y DAVIE, P. J. F., 2012. The Blue Crab of Christmas Island, *Discoplax celeste*, new species (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Gecarcinidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 60(1): 89-100.

NG, P. K. L. y SHIH, H. T., 2014., The systematics of the land crabs of the *Discoplax hirtipes* (Dana, 1851) species-group (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Gecarcinidae), with description of a new species from the eastern Indian Ocean. *Raffles Bulletin of Zoology*, 30: 109-135.

NG, P. K. L. y SHIH H. T., 2015. The land crabs of the *Discoplax longipes* A. Milne-Edwards, 1867 species group, with description of a new species from Guam (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Gecarcinidae). *Zootaxa*, 3980(3): 379-405.

NOWLIN, W. D. y MCLELLAN, H. J., 1967. A characterization of the Gulf of Mexico water in winter. *Journal of Marine Research*, 25: 29-59.

O'DOWD J. D. y LAKE, P. S., 1991. Red crabs in rainforest, Christmas Island: removal and fate of fruits and seeds. *Journal of Tropical Ecology*, 7: 113-122.

PALMER, J. D., 1971. Comparative studies of circadian locomotory rhythms in four species of terrestrial crabs. *American Midland Naturalist*, 85: 97-107.

PEDRAZA, M. y CAMPOS, M. R., 2007. Estudio de la variación morfológica del gonópodo de *Strengeriana maniformis* (Brachyura: Pseudothelphusidae) mediante aplicación de morfometría geométrica. *Caldasia*, 29(1): 143-152.

PEÑA, C., 2011. Métodos de inferencia filogenética. *Revista Peruana de Biología*, 18(2): 265-267.

PÉREZ-PARRA, S., 2016. *Las herramientas de análisis filogenético para el estudio de la propagación de la epidemia de VIH-1 en Andalucía Oriental*. Tesis doctoral, Universidad de Granada, España. 165 pp.

PERGER, R. y WALL, A., 2014. The description of a new species of the Neotropical land crab genus *Gecarcinus* Leach, 1814 (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Gecarcinidae). *ZooKeys*, 435: 93-109.



POWERS, L.W., 1977. A Catalogue and Bibliography to the crabs (Brachyura) of the Gulf of Mexico. Contributions in Marine Science (Supplement), 20: 128-138.

PRAHL, H. von y MANJARRÉS G., 1984. Cangrejos Gecarcinidos (Crustacea; Gecarcinidae) de Colombia. Caldasia, 14(66): 149-168.

PTACEK, M. B., SARVER, S. K., CHILDRESS, M.J. y HERRNKIND, W. F., 2001. Molecular phylogeny of the spiny lobster genus *Panulirus* (Decapoda: Palinuridae). Marine and Freshwater Research, 52: 1037-1047.

PYBUS, O.G., 2006. Model selection and the molecular clock. PLoS Biol, 4(5): e151.

QUIROZ-MARTÍNEZ B., ALVAREZ, F., ESPINOSA H. y SALGADO-MALDONADO, G., 2014. Concordant biogeographic patterns among multiple taxonomic groups in the Mexican freshwater biota. Plos One, 9(8): 1-9.

RATHBUN, M. J., 1918. The grapsoid crabs of America. Bulletin of the United States National Museum, 97: 1-461.

RAVAGO, R. G. y JUNIO-MEÑEZ, M. A., 2003. Phylogenetic position of the striped-legged forms of *Panulirus longipes* (A. Milne-Edwards, 1868) (Decapoda, Palinuridae) inferred from mitochondrial DNA sequences. Crustaceana, 75: 1047-1059.

ROBLES R., SCHUBART C. D., CONDE J. E., CARMONA-SUAREZ C., ALVAREZ, F. VILLALOBOS J. L. y FELDER, D. L., 2007. Molecular phylogeny of the American *Callinectes* Stimpson, 1860 (Brachyura: Portunidae, based on two partial mitochondrial genes. Marine Biology, 150: 1265-1274.

RODRÍGUEZ DE LA CRUZ, M. C., 1987. Crustáceos decápodos del golfo de California. Secretaría de Pesca. ISBN 968-817-103-4.

SAITOU, N. y NEI, M., 1987. The Neighbor-Joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.

SAN MAURO, D. y AGORRETA, A., 2010. Molecular systematics: A synthesis of the common methods and the state of knowledge. Cellular & Molecular Biology Letters, 15: 311-341.

SANVICENTE-AÑORVE, L., ZAVALA-HIDALGO, J., ALLENDE-ARANDÍA, M. E. y HERMOSO-SALAZAR, M., 2014. Connectivity patterns among coral reef systems in the southern Gulf of Mexico. Marine Ecology Progress Series, 498: 27-41.

SAMPEDRO-SALINAS, X. L., 2012. Distribución especial de madrigueras del cangrejo azul, *Cardisoma guanhumi* Latreille, 1825, en el paraje Los Pollos, laguna de Sontecomapan, Veracruz. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 45 pp.



SILVA-BRANDÃO, K. L., LYRA, M. L. y FREITAS, A. V. L., 2009. Barcoding Lepidoptera: current situation and perspectives on the usefulness of a contentious technique. *Neotropical entomology*, 38: 441-51.

SCHNEIDER-BROUSSARD, R., FELDER, D. L., CHLAN, C. A. y NEIGEL, J. E., 1998. Tests of phylogeographic models with nuclear and mitochondrial DNA sequence variation in the stone crabs, *Menippe adina* and *Menippe mercenaria*. *Evolution*, 52: 1671-1678.

SCHUBART, C. D., CUESTA, J. A. y FELDER, D. L., 2005. Phylogeography of *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850): The effect of the American continent and the Atlantic Ocean as gene flow barriers and recognition of *Pacygrapsus socius* Stimpson 1871 as a valid species. *Nauplius*, 13(2): 99-113.

SCHUBART C. D., CANNICCI, S., VANNINI, M. y FRATINI, S., 2006. Molecular phylogeny of grapsoid crabs (Decapoda, Brachyura) and allies based on two mitochondrial genes and a proposal for refraining from current superfamily classification. *Journal compilation, JZS* 44(3): 193-199.

SCHUBART, C. D., NEIGEL, J. E. y FELDER, D. L., 2000. The use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and biogeographic studies of Crustacea. *Crustacean Issues*, 12: 817-830.

SHERMAN, P. M., 2002. Effects of land crabs on seedling densities and distributions in a mainland neotropical forest. *Journal of Tropical Ecology*, 18: 67-89.

SHERMAN, P. M., 2003. Effects of land crabs on leaf litter distributions and accumulations in a mainland tropical rainforest. *Biotropica*, 35: 365-374.

SOM, A., 2014. Causes, consequences and solutions of phylogenetic incongruence. *Briefings in Bioinformatics*, 16(3): 536-548.

SPALDING, M. D., FOX, H. E., ALLEN, G. R., DAVIDSON, N., FERDAÑA, Z. A., FINLAYSON, M., HALPERN, B. S., JORGE, M. A., LOMBANA, A., LOURIE, S. A., MARTIN, K. D., MCMANUS, E., MOLNAR, J., RECCHIA, CH. A. y ROBERTSON, J., 2007. Marine Ecoregions of the World: A Bioregionalization of Coastal and Shelf Areas. *BioScience*, 57(7): 573-583.

STATON, J. L., y FELDER, D. L., 1995. Genetic variation in populations of the ghost shrimp genus *Callichirus* (Crustacea, Decapoda, Thalassinoidea) in the western Atlantic and Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 56: 523-536.

STIMPSON, W. M., 1871. Notes on North American Crustacea in the Museum of the Smithsonian Institution, no. III. *Annals of the Lyceum of Natural History of New York*, 10: 92-136.



THIERCELIN, N. y SCHUBART, C. D., 2014. Transisthmian differentiation in the tree-climbing mangrove crab *Aratus* H. Milne Edwards, 1853 (Crustacea, Brachyura, Sesamidae), with description of a new species from tropical eastern Pacific. *Zootaxa*, 3793(5): 545-560.

TOLEDANO-CARRASCO, I. A., 2016. *Taxonomía y distribución geográfica de la superfamilia Grapsoidea (Crustacea: Decapoda: Brachyura) del golfo de México y mar Caribe*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 214 pp.

TORRES-PÉREZ, F., BORIC-BARGETTO, D., RODRÍGUEZ-VALENZUELA, E., ESCOBAR, C., y PALMA, R., 2017. Molecular phylogenetic analyses reveal the importance of taxon sampling in cryptic diversity: *Liolaemus nigroviridis* and *L. monticola* (Liolaeminae) as focal species. *Revista Chilena de Historia Natural*, 90: 1-10.

TURKAY, M., 1970. Die Gecarcinidae Amerikas. Miteinem Anhangüber *Ucides* Rahbun (Crustacea: Decapoda). *Senckenbergiana Biologica*, 51(5/6): 333-354.

TURKAY, M., 1973. Bemerkungenzueinigen Landkrabben (Crustacea, Decapoda). *Bulletin du Muséum National D'Histoire Naturelle*, (142): 969-978.

VALLES-JIMENEZ, R., CRUZ, P. M. y PÉREZ-ENRÍQUEZ, R., 2004. Population Genetic Structure of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: Microsatellite DNA Variation. *Marine Biotechnology*, 6: 475-484.

VÁZQUEZ DE LA CERDA, A. M., 2004. Análisis descriptivo de las masas de agua oceánica que arriban al Golfo de México (69-104 p.). *In*: Caso, M., Pisanty, I. y Ezcurra, E. (Comps.), *Diagnóstico ambiental del Golfo de México*. INE- SEMARNAT. México, D.F. 626 pp.

VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E., CASTAÑEDA-RICO, S., GARRIDO-GARDUÑO, T., y GUTIÉRREZ-GARCÍA, T. A., 2009a. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural*, 82: 277-297.

VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E., HERNÁNDEZ-VALDÉS, A., ROJAS-SANTOYO, A. y ZAMBRANO, L., 2009b. Contrasting genetic structure in two codistributed freshwater fish species inhabiting highly seasonal systems. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80: 181-192.

WEIR, J. T., BERMINGHAM, E. y SCHLUTER, D., 2009. The Great American Biotic Interchange in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 21737-21742.

WEITZMAN, M. C., MS. 1963. The biology of the tropical crab, *Gecarcinus lateralis* (Fremerville). Unpublished thesis for the Ph.D. degree. New York: Albert Einstein College of Medicine, Yeshiva University.



WILKINSON, T., WIKEN, E., BEZAURY CREEL, J., HOURIGAN, T., AGARDY, T., HERRMANN, H., JANISHEVSKI, L., MADDEN, C., MORGAN, L. y PADILLA, M., 2009. *Ecorregiones marinas de América del Norte*. Comisión para la Cooperación Ambiental, Montreal. 200 pp.

WILLIAMS, A. B. y FELDER, D. L., 1986. Analysis of Stone crabs: *Menippe mercenaria* (Say), restricted, and a previously unrecognized species described (Decapoda: Xanthidae). *Proceeding of the Biological Society of Washington*, 99: 517-543.

WOLFE, K. H., LI, W. H. y SHARP, P. M., 1987. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNA's. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84: 9054-9058.

WONG, K. J. H., SHIH, H. T. y CHAN, B. K. K., 2012. The ghost crab *Ocypode mortoni* George, 1982 (Crustacea: Decapoda: Ocypodidae): redescription, distribution at its type locality, and the phylogeny of East Asian *Ocypode* species. *Zootaxa*, 3550: 71-87.

YOUNG, C. G., 1900. The stalk-eyed Crustacea of British Guiana, West Indies and Bermuda.

ZUCKERKANDL, E. y PAULING, L., 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins (97-166 p.). *In*: Bryson, V. y H.J. Vogel, (Eds.) *Evolving genes and proteins*. New York: Academic Press. 168 pp.

ZWICKL, D. J. y HILLIS, D. M., 2002. Increased taxon sampling greatly reduces phylogenetic error. *Systematic Biology*, 51: 588-98.



ANEXO

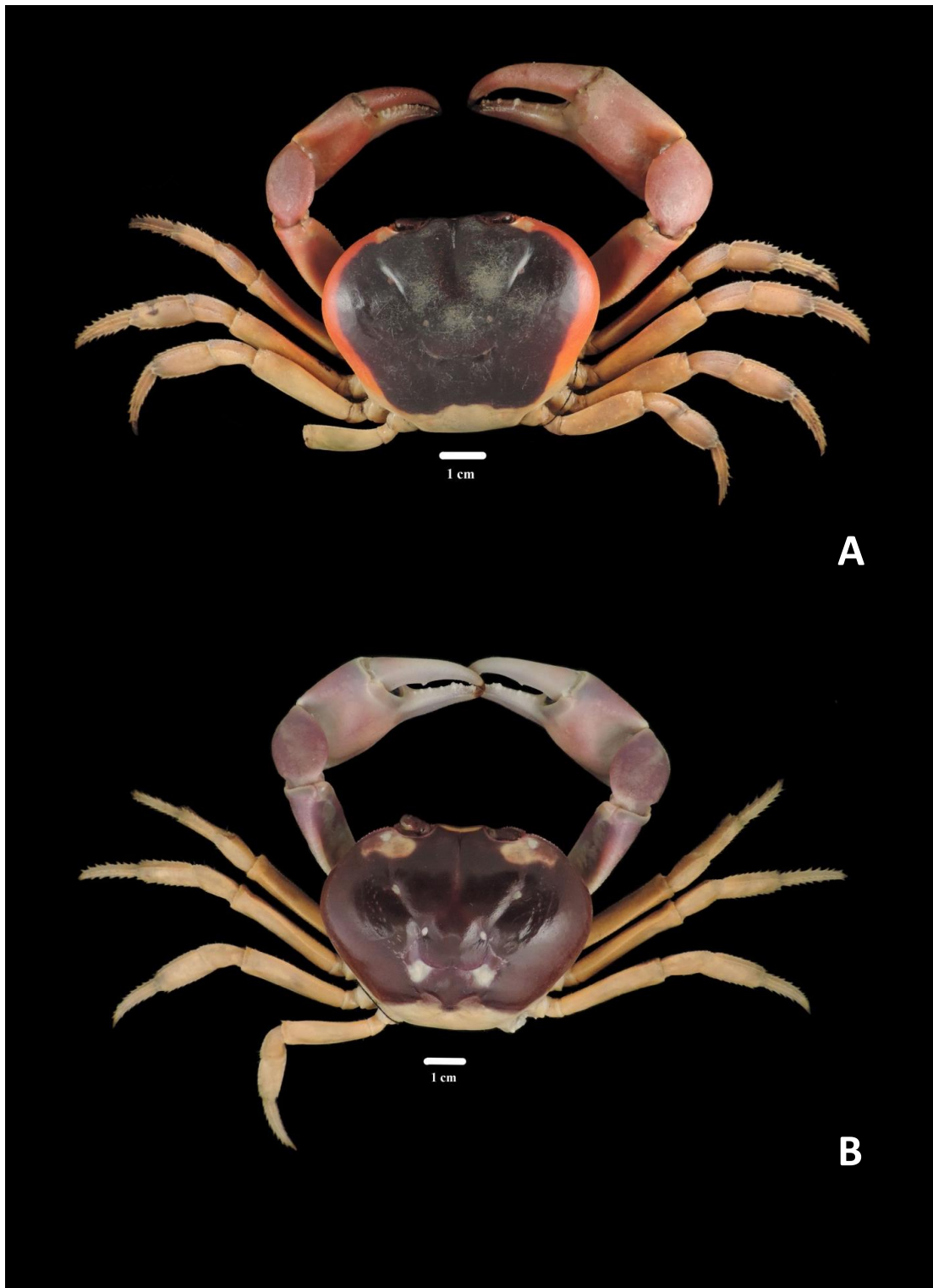


Figura 10. Vista dorsal de A) *Gecarcinus lateralis* y B) *G. quadratus*.

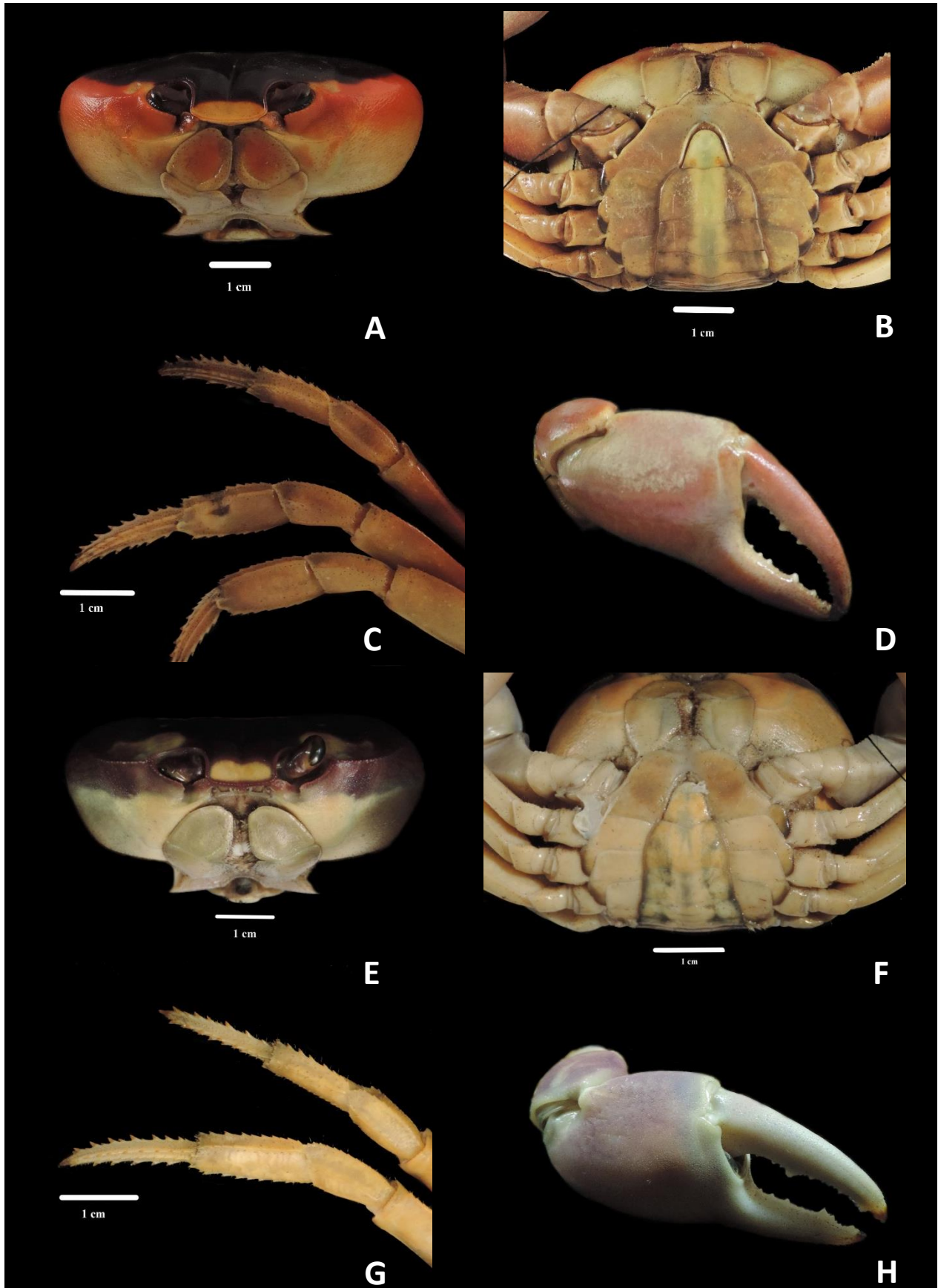
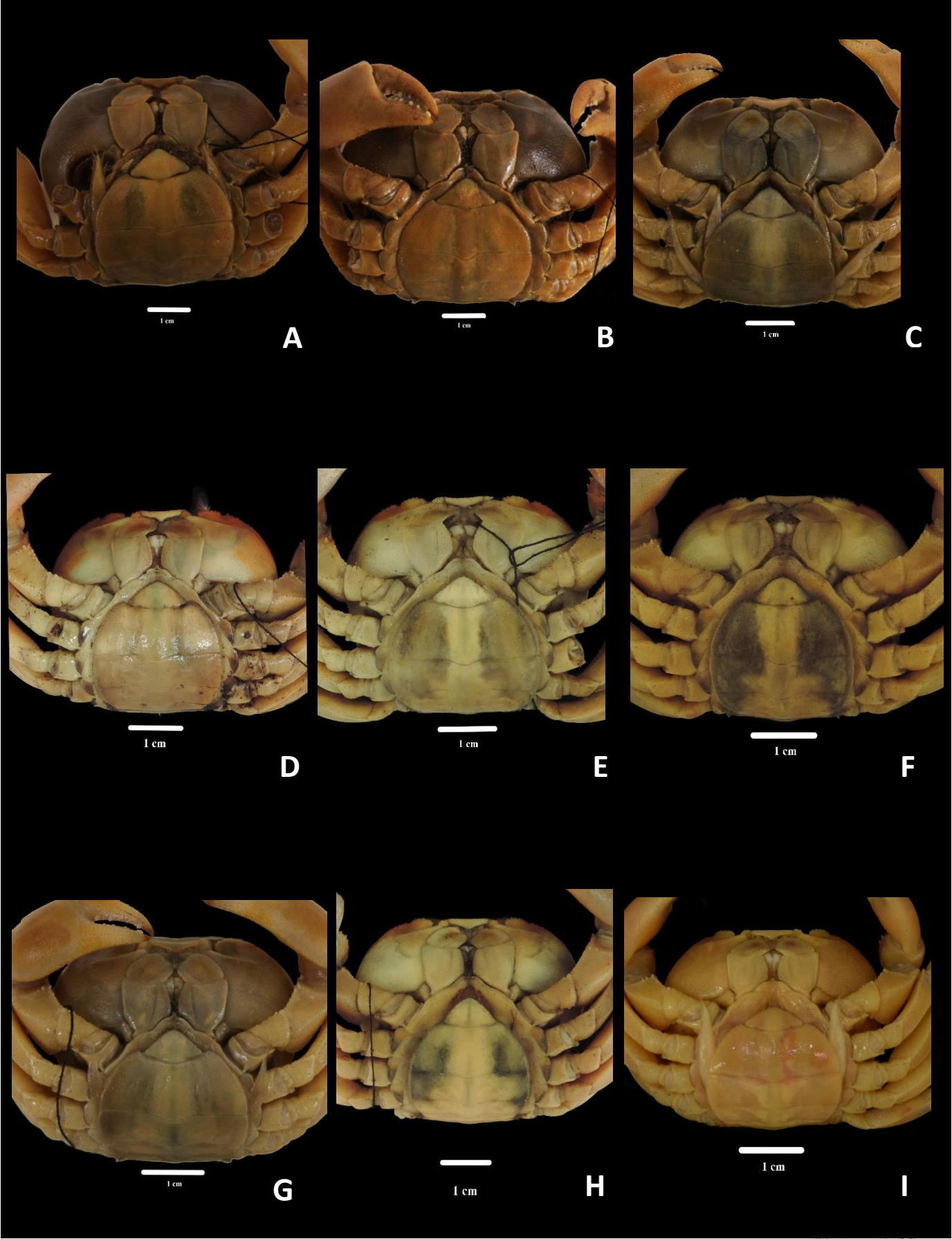


Figura 11. *Gecarcinus lateralis*: A) Vista frontal, B) Abdomen, C) Dáctilo de los pereiópodos, D) Quela. *G. quadratus*: E) Vista frontal, F) Abdomen, G) Dáctilo de los pereiópodos, H) Quela.



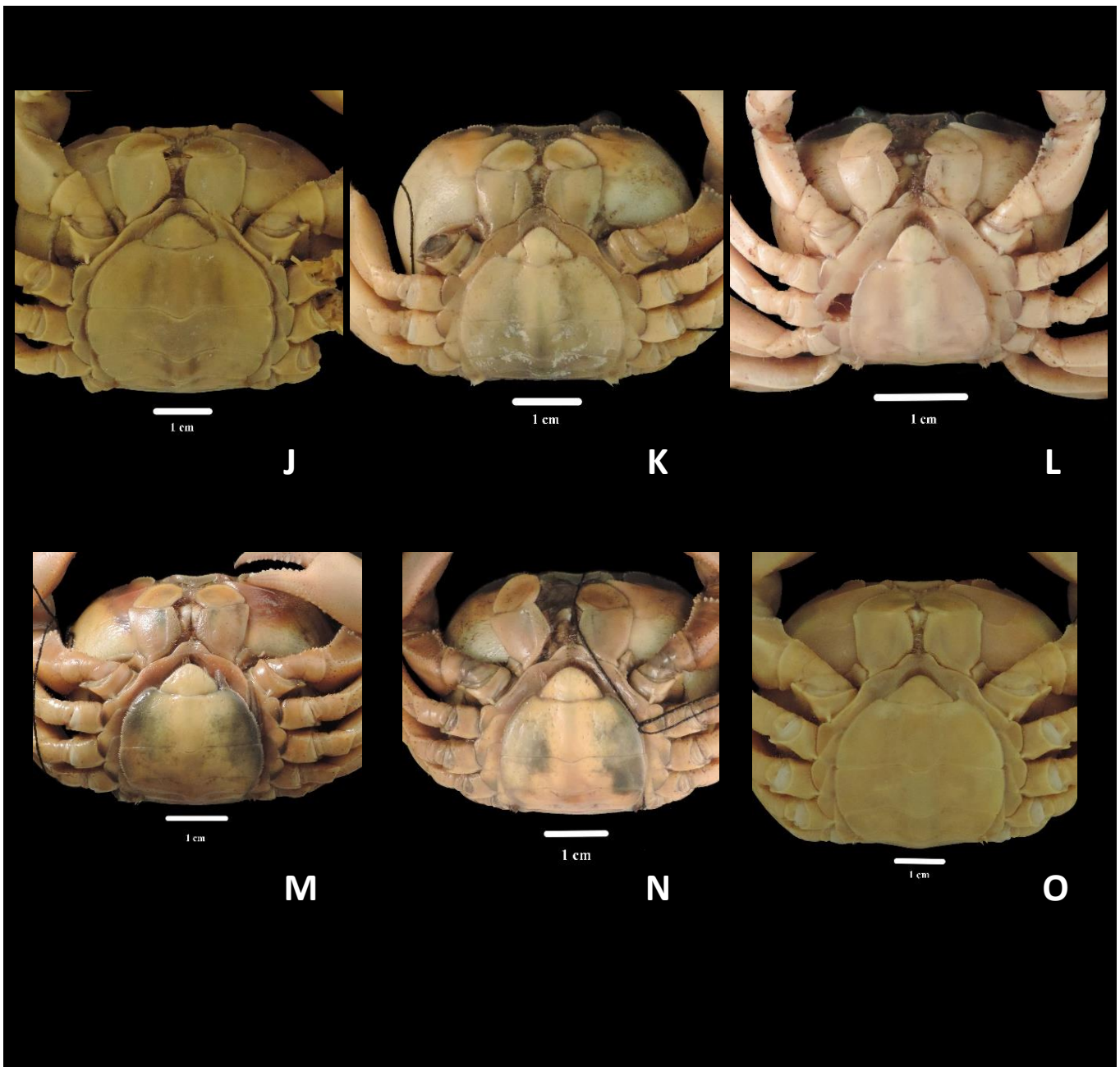
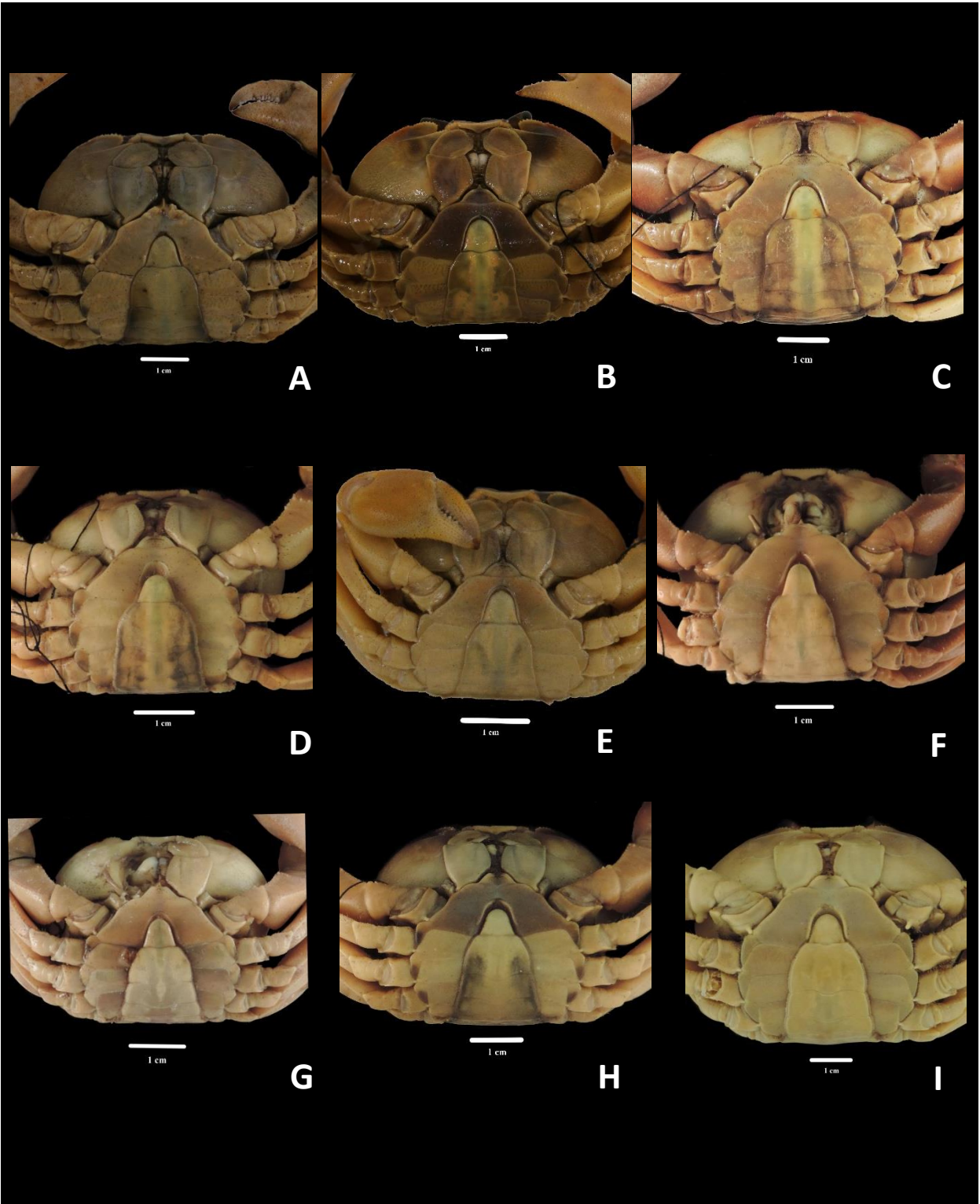


Figura 12. Abdomen de las hembras. *Gecarcinus lateralis*: A-J y *G. quadratus*: K-O. A) 86-7182 H1: La Laguna, Boca de Catán, Tamaulipas; B) 86-7182 H2: La Laguna, Boca de Catán, Tamaulipas; C) frasco D H1: La Pesca, Tamaulipas; D) 33942 H3: Río Prieto, Veracruz; E) 33943 H1: Barra de Sontecomapan, Veracruz; F) 33943 H1: Barra de Sontecomapan, Veracruz; G) C86-06500 H1: Chiltepec, Tabasco; H) CNCR 34011 H1: Cayo Arcas, Campeche; I) YUC-CC-255-11-001024 H: Arrecife Alacranes, Yucatán; J) CNCR 3581 H: El Morro de la Mancha, Veracruz; K) CNCR 34012 H: Playa Higuera Blanca, Nayarit; L) CNCR 19003 H: Playa Troncones, Guerrero; M) CNCR 34013 H1: Playa Aragón, Oaxaca; N) CNCR 34013 H2: Playa Aragón, Oaxaca; O) CNCR 855 H: San Blás, Nayarit.



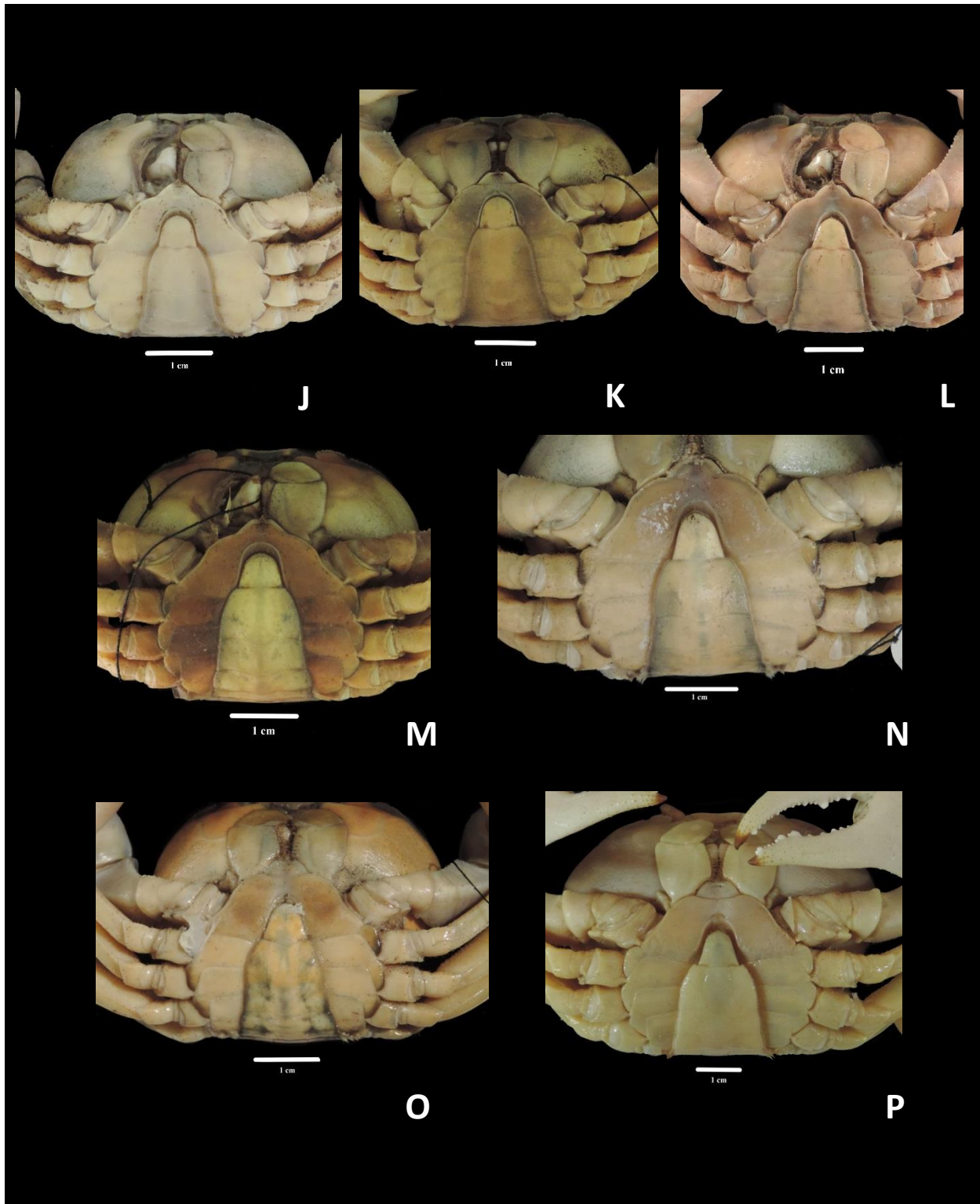


Figura 13. Abdomen de los machos. *Gecarcinus lateralis*: A-I y *G. quadratus*: J-P. A) Frasco D M: La Pesca Tamaulipas; B) 86-06601 M2: Barra de Cazones, Veracruz; C) CNCR 33942 M3: Río Prieto, Veracruz; D) C86-06495 M2: Playa Bruja, Tabasco; E) C86-06500 M1: Chiltepec, Tabasco; F) CNCR 34011 M1: Cayo Arcas, Campeche; G) CNCR 34011 M2: Cayo Arcas, Campeche; H) CNCR 34010 M: Mahahual, Quintana Roo; I) CNCR 3581 M: El Morro de la Mancha, Veracruz; J) CNCR 34012 M: Playa Higuera Blanca, Nayarit; K) CNCR 33941 M2; Punta Mita, Nayarit; L) CNCR 19003 M: Playa Troncones, Guerrero; M) CNCR 34013 M3: Playa Aragón, Oaxaca; N) CNCR 34630 M1: Barra de Boca del Cielo, Chiapas; O) CNCR 34630 M2: Barra de Boca del Cielo, Chiapas; P) CNCR 16817 M: Zihuatanejo, Guerrero.

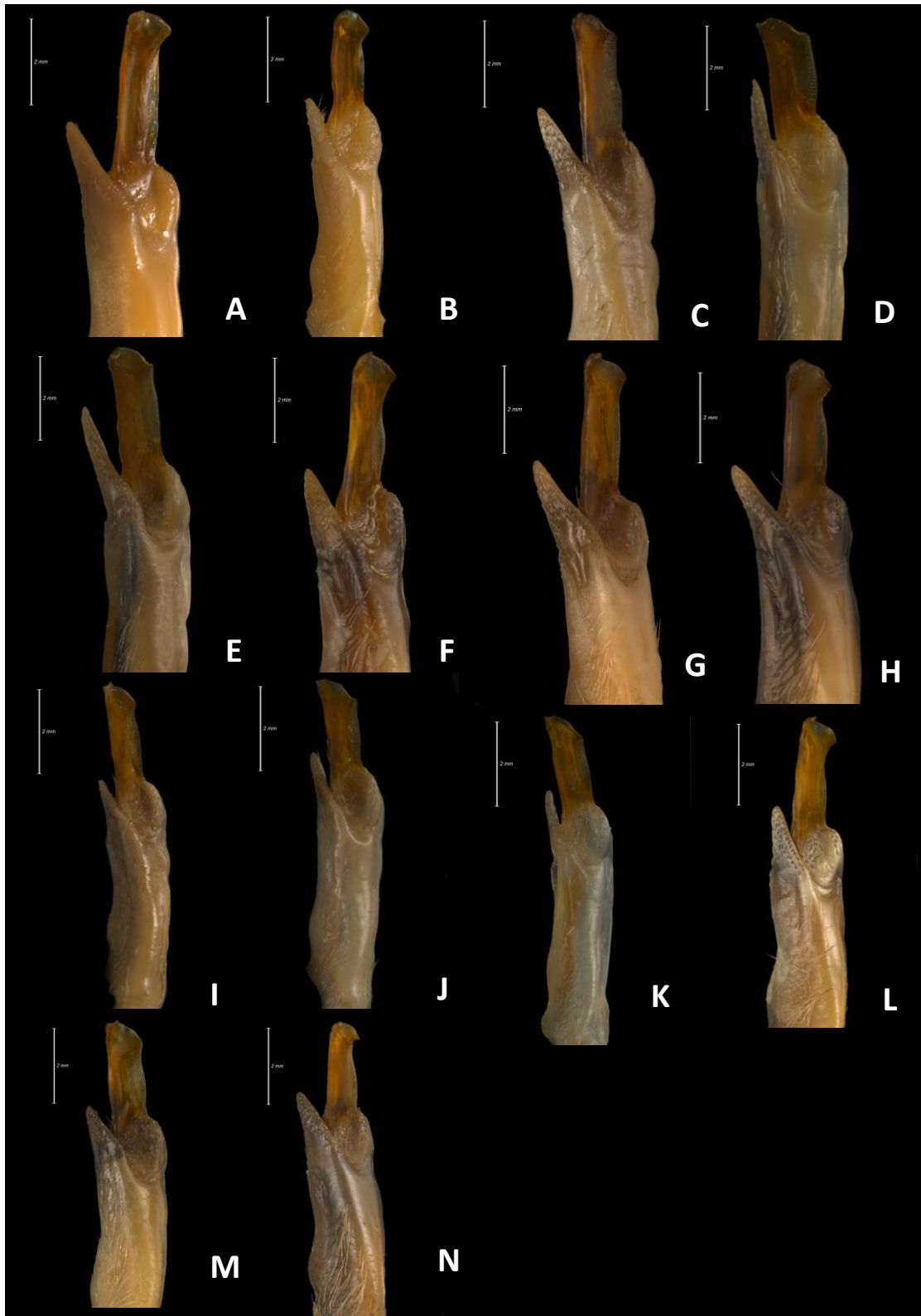


Figura 14. Vista lateral de gonópodos de *Gecarcinus lateralis*. A) C86-07094 M1: La Pesca, Tamaulipas. B) C86-07094 M2 La Pesca, Tamaulipas. C) Frasco D M: La Pesca, Tamaulipas. D) C86-06601 M2: Barra de cazones, Veracruz. E) C86-06601 M3: Barra de cazones, Veracruz. F) CNCR 33942 M3: Río Prieto, Veracruz. G) CNCR 33943 M1: Barra de Sontecomapan, Veracruz. H) CNCR 33943 M2: Barra de Sontecomapan, Veracruz. I) C86-06495 M1: Playa Bruja, Tabasco. J) C86-06500 M: Chiltepec Tabasco. K) C86-06500 M2: Chiltepec Tabasco. L) CNCR 34011 M1: Cayo Arcas, Campeche. M) CNCR 34011 M2: Cayo Arcas, Campeche. N) CNCR 34010 M1: Mahahual, Quintana Roo.

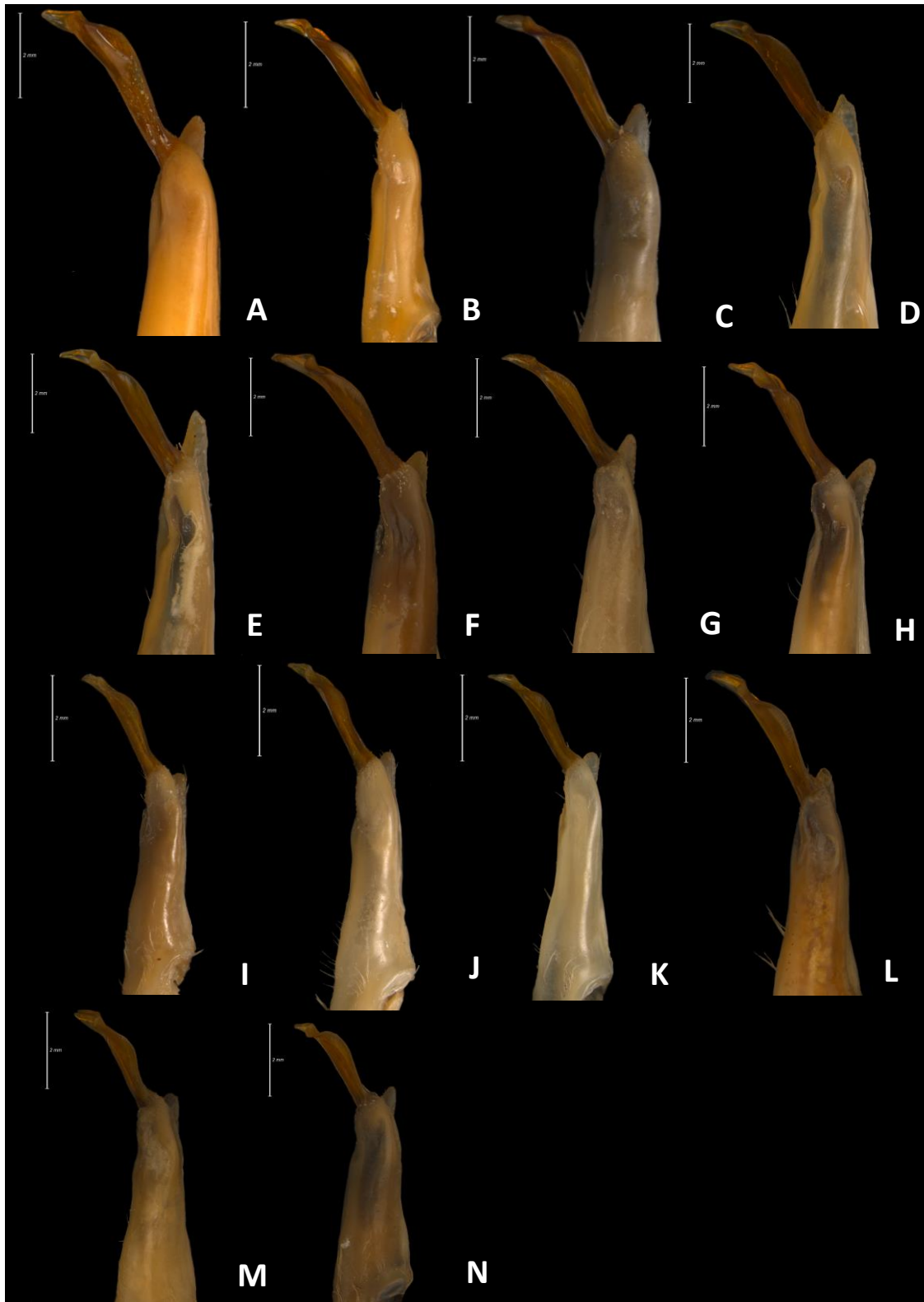


Figura 15. Vista caudal de gonópodos de *Gecarcinus lateralis*. A) C86-07094 M1: La Pesca, Tamaulipas. B) C86-07094 M2 La Pesca, Tamaulipas. C) Frasco D M: La Pesca, Tamaulipas. D) C86-06601 M2: Barra de cazones, Veracruz. E) C86-06601 M3: Barra de cazones, Veracruz. F) CNCR 33942 M3: Río Prieto, Veracruz. G) CNCR 33943 M1: Barra de Sontecomapan, Veracruz. H) CNCR 33943 M2: Barra de Sontecomapan, Veracruz. I) C86-06495 M1: Playa Bruja, Tabasco. J) C86-06500 M: Chiltepec Tabasco. K) C86-06500 M2: Chiltepec Tabasco. L) CNCR 34011 M1: Cayo Arcas, Campeche. M) CNCR 34011 M2: Cayo Arcas, Campeche. N) CNCR 34010 M1: Mahahual, Quintana Roo.

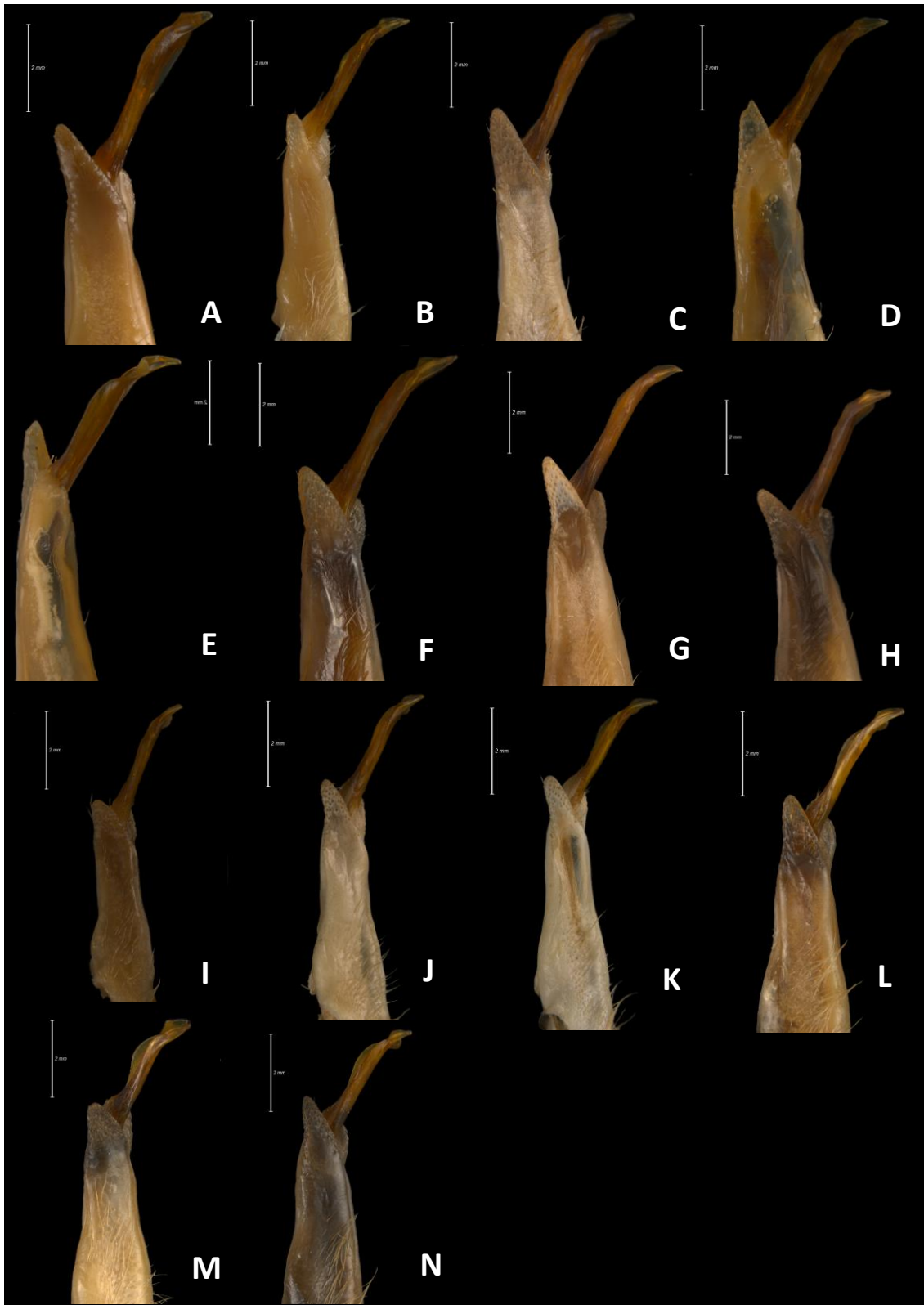


Figura 16. Vista cefálica de gonópodos de *Gecarcinus lateralis*. A) C86-07094 M1: La Pesca, Tamaulipas. B) C86-07094 M2 La Pesca, Tamaulipas. C) Frasco D M: La Pesca, Tamaulipas. D) C86-06601 M2: Barra de cazones, Veracruz. E) C86-06601 M3: Barra de cazones, Veracruz. F) CNCR 33942 M3: Río Prieto, Veracruz. G) CNCR 33943 M1: Barra de Sontecomapan, Veracruz. H) CNCR 33943 M2: Barra de Sontecomapan, Veracruz. I) C86-06495 M1: Playa Bruja, Tabasco. J) C86-06500 M: Chiltepec Tabasco. K) C86-06500 M2: Chiltepec Tabasco. L) CNCR 34011 M1: Cayo Arcas, Campeche. M) CNCR 34011 M2: Cayo Arcas, Campeche. N) CNCR 34010 M1: Mahahual, Quintana Roo.

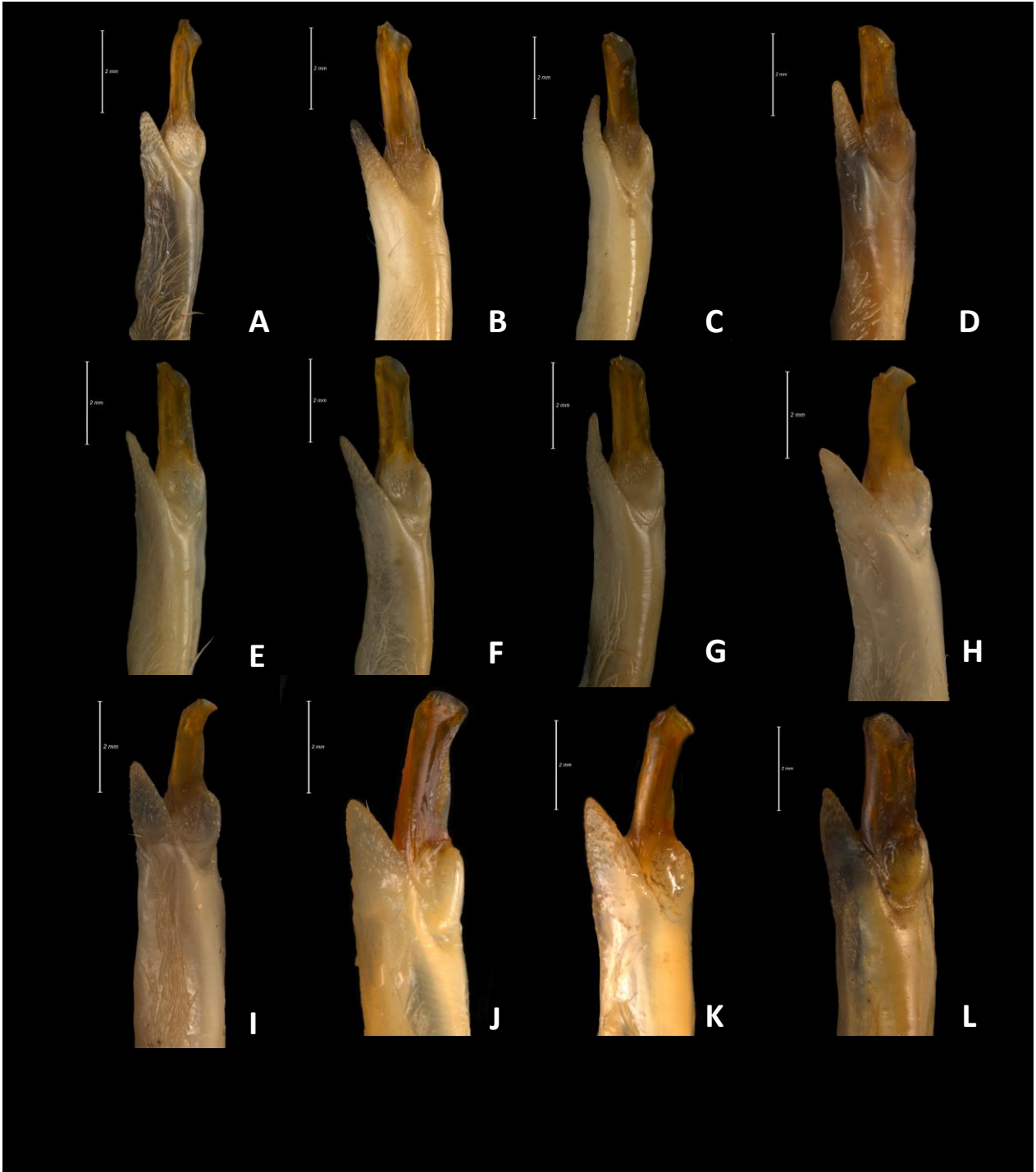


Figura 17. Vista lateral de gonópodos de *Gecarcinus quadratus*. A) CNCR 34012 M1: Playa Higuera Blanca, Nayarit. B) CNCR 33941 M1: Punta Mita, Nayarit. C) CNCR 33941 M2: Punta Mita, Nayarit. D) CNCR 19003 M1: Playa Troncones, Guerrero. E) CNCR 34013 M1: Playa Aragón, Oaxaca. F) CNCR 34013 M2: Playa Aragón, Oaxaca. G) CNCR 34013 M3: Playa Aragón, Oaxaca. H) CNCR 34630 M1: Boca del Cielo, Chiapas. I) CNCR 34630 M2: Boca del Cielo, Chiapas. J) CNCR 362 M4: Isla Venados, Sinaloa. K) CNCR 362 M5 Isla Venados, Sinaloa L) CNCR 12120 M2: Isla Isabel, Nayarit.

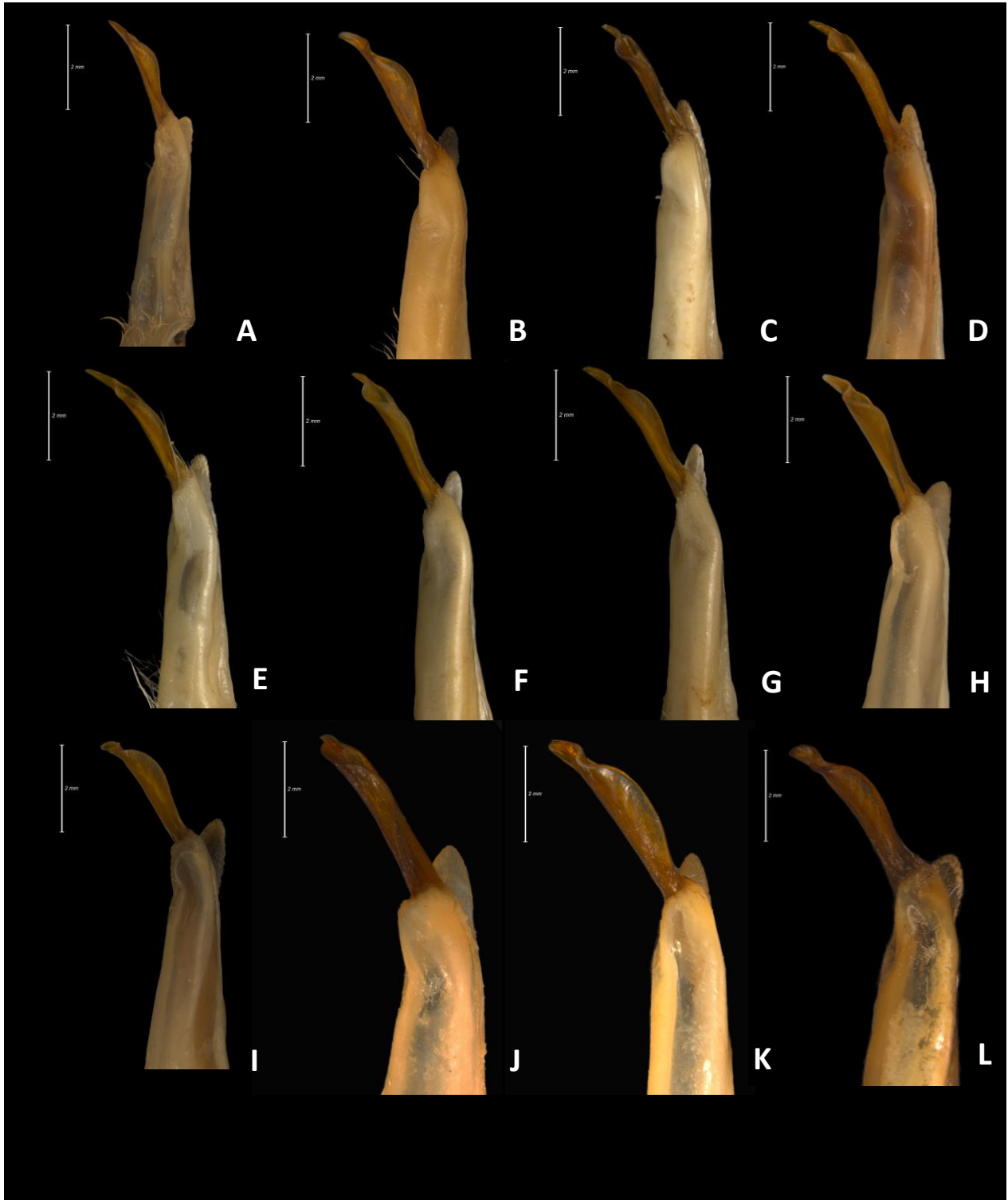


Figura 18. Vista caudal de gonópodos de *Gecarcinus quadratus*. A) CNCR 34012 M1: Playa Higuera Blanca, Nayarit. B) CNCR 33941 M1: Punta Mita, Nayarit. C) CNCR 33941 M2: Punta Mita, Nayarit. D) CNCR 19003 M1: Playa Troncones, Guerrero. E) CNCR 34013 M1: Playa Aragón, Oaxaca. F) CNCR 34013 M2: Playa Aragón, Oaxaca. G) CNCR 34013 M3: Playa Aragón, Oaxaca. H) CNCR 34630 M1: Boca del Cielo, Chiapas. I) CNCR 34630 M2: Boca del Cielo, Chiapas. J) CNCR 362 M4: Isla Venados, Sinaloa. K) CNCR 362 M5 Isla Venados, Sinaloa L) CNCR 12120 M2: Isla Isabel, Nayarit.

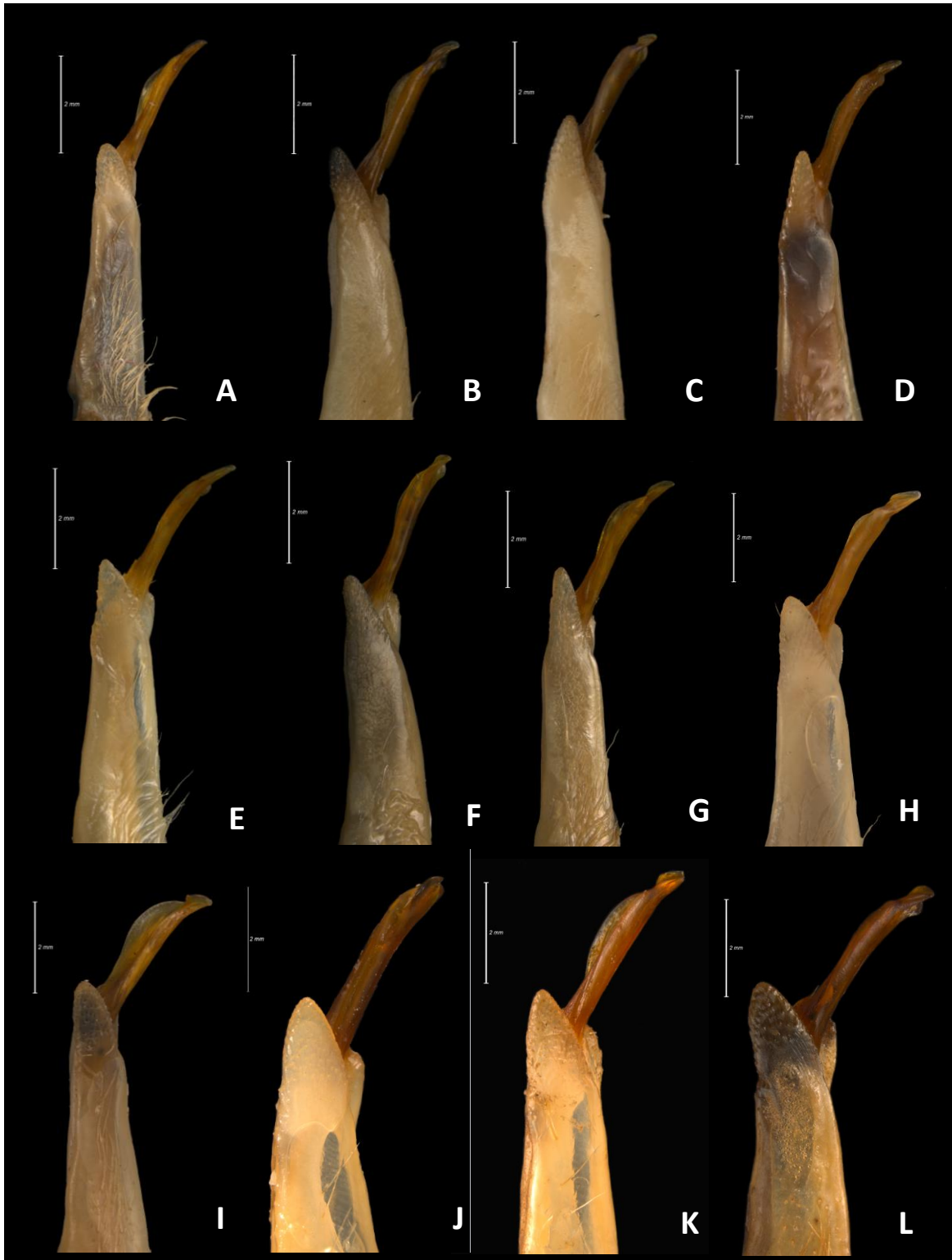
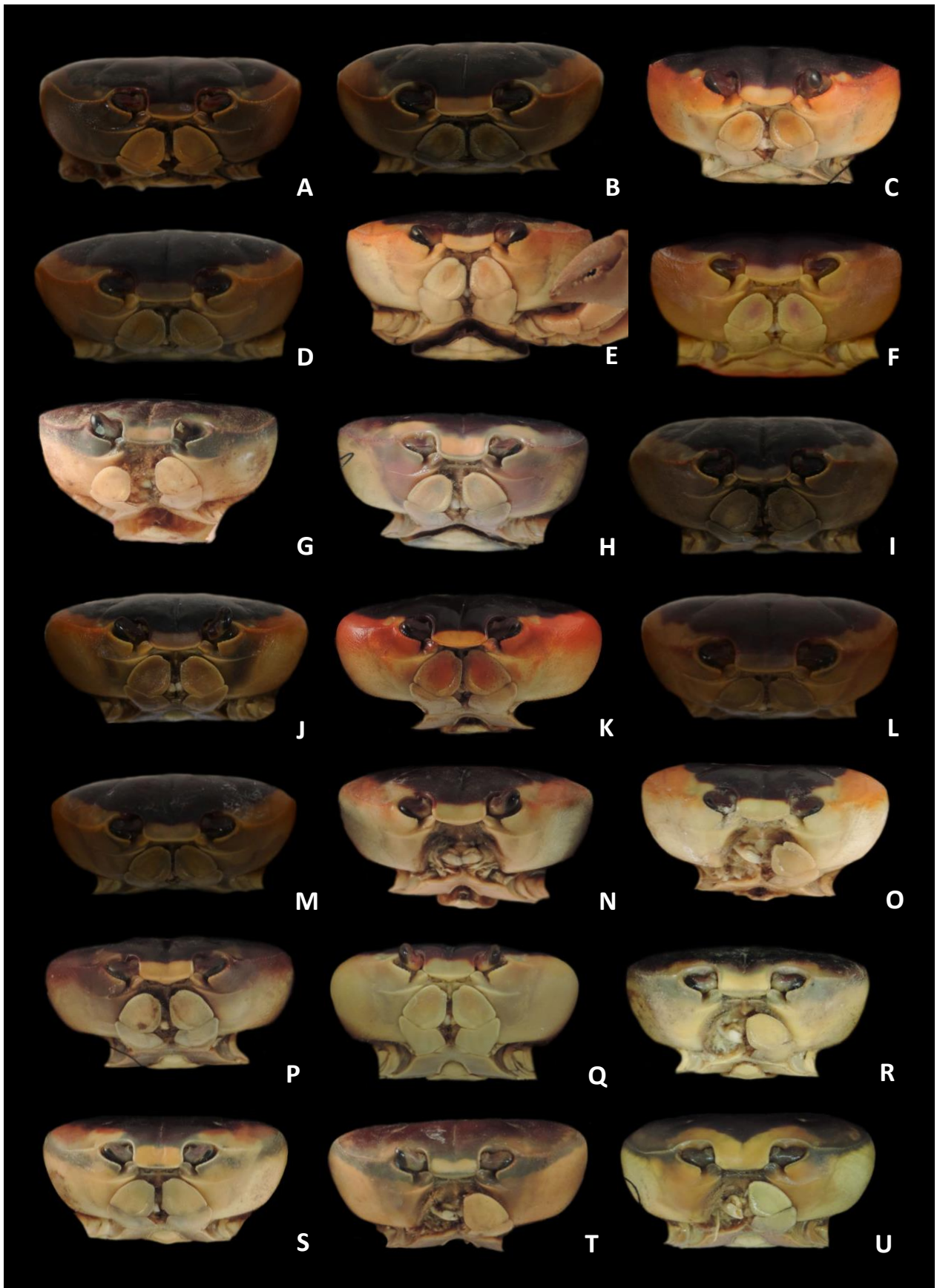


Figura 19. Vista cefálica de gonópodos de *Gecarcinus quadratus*. A) CNCR 34012 M1: Playa Higuera Blanca, Nayarit. B) CNCR 33941 M1: Punta Mita, Nayarit. C) CNCR 33941 M2: Punta Mita, Nayarit. D) CNCR 19003 M1: Playa Troncones, Guerrero. E) CNCR 34013 M1: Playa Aragón, Oaxaca. F) CNCR 34013 M2: Playa Aragón, Oaxaca. G) CNCR 34013 M3: Playa Aragón, Oaxaca. H) CNCR 34630 M1: Boca del Cielo, Chiapas. I) CNCR 34630 M2: Boca del Cielo, Chiapas. J) CNCR 362 M4: Isla Venados, Sinaloa. K) CNCR 362 M5 Isla Venados, Sinaloa L) CNCR 12120 M2: Isla Isabel, Nayarit.



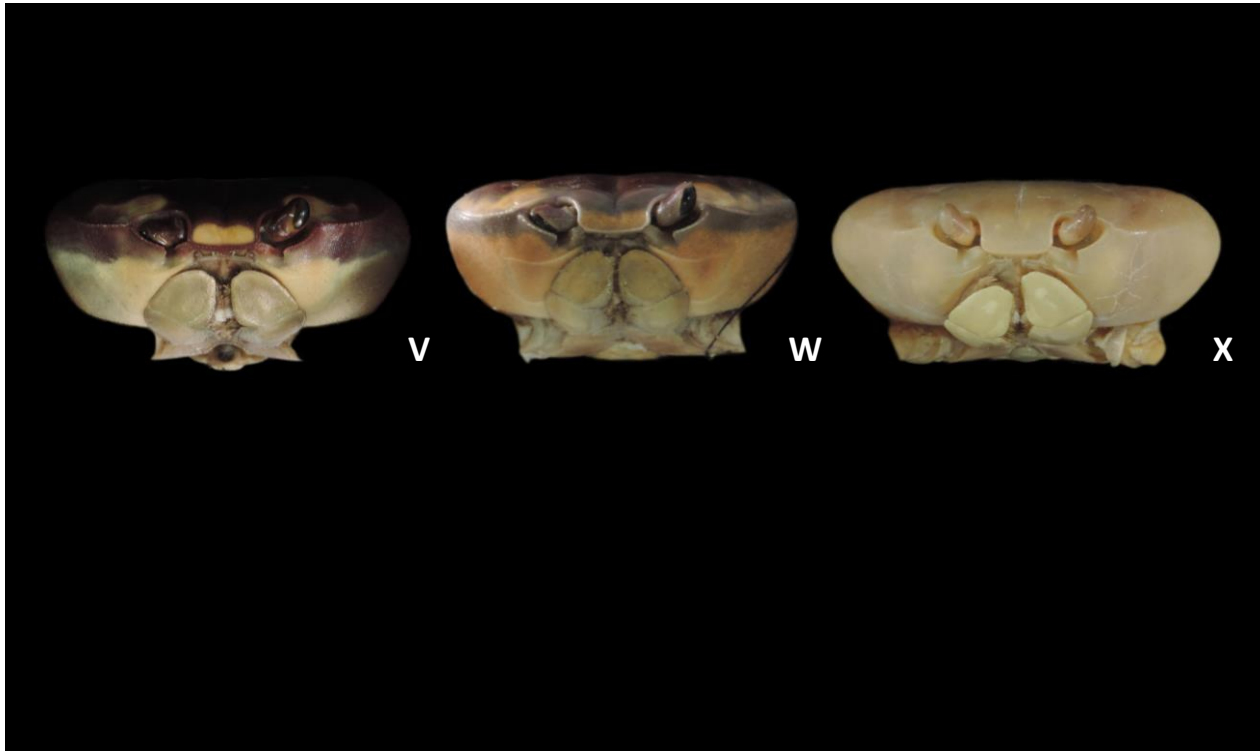


Figura 20. Vistas frontales de las **hembras** de *Gecarcinus lateralis* (A-F). A) 86-7182 H1: La Laguna, Boca de Catán, Tamaulipas; B) frasco D H1: La Pesca, Tamaulipas; C) 33942 H3: Río Prieto, Veracruz; D) C86-06500 H1: Chiltepec, Tabasco; E) CNCR 34011 H1: Cayo Arcas, Campeche; F) YUC-CC-255-11-001024 H: Arrecife Alacranes, Yucatán. Vistas frontales de las **hembras** de *Gecarcinus quadratus* (G-H). G) CNCR 19003 H: Playa Troncones, Guerrero; H) CNCR 34013 H1: Playa Aragón, Oaxaca. Vistas frontales de **machos** de *Gecarcinus lateralis* (I-Q). I) Frasco D M: La Pesca Tamaulipas; J) 86-06601 M2: Barra de Cazones, Veracruz; K) CNCR 33942 M3: Río Prieto, Veracruz; L) C86-06495 M2: Playa Bruja, Tabasco; M) C86-06500 M1: Chiltepec, Tabasco; N) CNCR 34011 M1: Cayo Arcas, Campeche; O) CNCR 34011 M2: Cayo Arcas, Campeche; P) CNCR 34010 M: Mahahual, Quintana Roo; Q) CNCR 3581 M: El Morro de la Mancha, Veracruz. Vistas frontales de **machos** de *Gecarcinus quadratus* (R-X). R) CNCR 34012 M: Playa Higuera Blanca, Nayarit; S) CNCR 33941 M2; Punta Mita, Nayarit; T) CNCR 19003 M: Playa Troncones, Guerrero; U) CNCR 34013 M3: Playa Aragón, Oaxaca; V) CNCR 34630 M1: Barra de Boca del Cielo, Chiapas; W) CNCR 34630 M2: Barra de Boca del Cielo, Chiapas; X) CNCR 16817 M: Zihuatanejo, Guerrero.